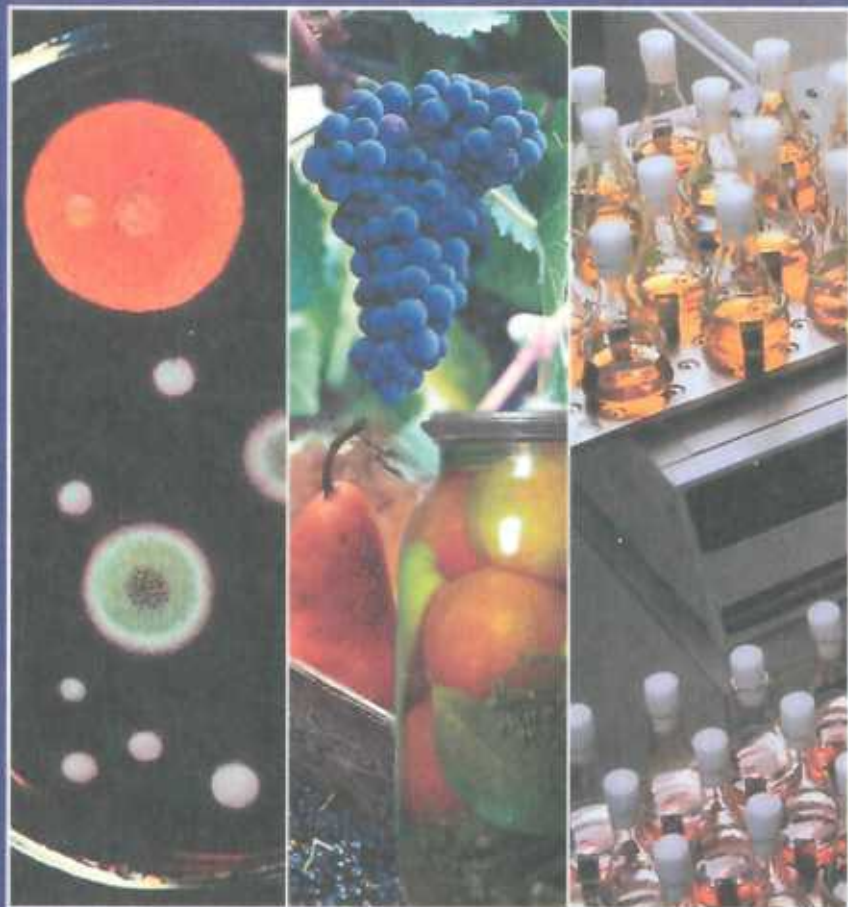


МИКРОБИОЛОГИЯ

В. К. Шильникова, А. А. Ванькова, Г. В. Годова



С Р Е Д Н Е Е
П Р О Ф Е С С И О Н А Л Ь Н О Е
О Б Р А З О В А Н И Е



Рецензенты:

кафедра биологии почв факультета почвоведения
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова
(зав. кафедрой д-р биол. наук, академик РАЕН *Д. Г. Звягинцев*);
д-р биол. наук, проф. *Л. И. Воробьева* (кафедра микробиологии
биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова)

Шильникова, В. К.

Ш60 Микробиология : учебное пособие для ссузов / В. К. Шильникова,
А. А. Ванькова, Г. В. Годова. - М. : Дрофа, 2006. - 268, [4] с. : ил.,
16 л. цв. вкл.

ISBN 5-7107-8201-7

Особенность и своеобразие данного пособия - в объединении в одном издании общей (основы микробиологии), специальной (микроорганизмы плодов и овощей, микробиологические основы их хранения и переработки, консервирования и виноделия) и санитарной (инфицирование сельскохозяйственной продукции при хранении, возможные последствия употребления такой продукции в пищу) микробиологии.

Для студентов средних специальных учебных заведений сельскохозяйственного профиля, обучающихся по специальности «Хранение и переработка растениеводческой продукции». Может быть использовано в вузах, овощеводами-практиками, а также специалистами разного профиля, которым по роду деятельности необходимо понимание сути микробиологических процессов.

УДК 579(075.32)

ББК 28.4я723

Микробиология — важная составная часть человеческих знаний — используется в разнообразных областях науки и практической деятельности человека.

Микробиология — одна из ведущих естественнонаучных базовых дисциплин, составляющих фундамент знаний специалистов сельского хозяйства. Она находится на стыке многих наук, таких как биотехнология, экология, медицина, почвоведение, агрохимия, физиология, фитопатология, экология.

В настоящее время роль микробиологии стремительно возрастает, и в связи с этим к микробиологическому образованию специалистов сельскохозяйственного профиля предъявляются более высокие требования.

При написании пособия авторы использовали свой многолетний опыт чтения лекций студентам Российского государственного аграрного университета — МСХА им. К. А. Тимирязева, отобрав для учащихся ссузов самый необходимый и современный материал. Авторы стремились адаптировать курс высшей школы к потребностям среднего специального образования с тем, чтобы привить читателю минимум «микробиологического мировоззрения».

Своеобразие книги состоит в объединении в одном издании *общей, специальной и санитарной микробиологии* (соответственно разделы I, II и III), что, несомненно, продиктовано современными условиями жизни, ухудшающейся экологической обстановкой и связанной с этим необходимостью всестороннего микробиологического образования молодых специалистов в области хранения и переработки растениеводческой продукции.

В первом разделе — «Общая микробиология» — представлены сведения по морфологии, систематике (новые направления в классификации), физиологии микроорганизмов, рассматривается их роль в круговоротах органических и минеральных соединений в природе, отношение к факторам внешней среды.

Во втором разделе — «Микробиологические процессы при хранении и переработке плодоовощной продукции» — приведены данные о составе эпифитных микроорганизмов на поверхности плодов и овощей и продуктах их переработки, а также микробиологические аспекты консервирования и виноделия. Большое внимание уделено микробиологическим основам хранения и переработки растительной продукции на принципах биоаэрации, анабиоза, абиоза, ценанабиоза, разработанных Я. Я. Никитинским. Рассматриваются новые перспективные способы хранения растениеводческой продукции, меры предупреждения ее порчи и принципы биоконтроля.

В третьем разделе — «Основы санитарно-микробиологического контроля хранения растениеводческой продукции» — впервые для учащихся ссузов и вузов сельскохозяйственного профиля детально освещены вопросы инфицирования плодов, овощей и зерна при неправильном их хранении, пищевые отравления микробного происхождения, распространение в природе сапротрофных и патогенных микроорганизмов, причины попадания санитарно-показательных микроорганизмов на сельскохозяйственную продукцию и возможные последствия употребления такой продукции в пищу.

Пособие адресовано в первую очередь учащимся средних специальных учебных заведений сельскохозяйственного профиля, обучающимся по специальности «Хранение и переработка растениеводческой продукции». Вместе с тем оно может быть использовано в вузах, овощеводами-практиками, а также специалистами разного профиля, которым по роду деятельности необходимо понимание сути микробиологических процессов.

Общая микробиология

В. К. Шильникова

Введение в общую микробиологию

Вся биосфера заселена микроорганизмами, и едва ли можно найти какой-либо ее участок, где не было бы этих крошечных созданий. Распространены микроорганизмы повсеместно: в почвах, водоемах, воздухе, на поверхности и внутри всех живых существ. Естественным путем с воздушными потоками микробные «десанты» легко распространяются на огромные расстояния.

Нет такого процесса в природе, в котором бы не участвовали микроорганизмы. Не имея о них представления, нельзя оценить все многообразие жизни на планете, понять закономерности круговоротов веществ, в которых микроорганизмам принадлежит огромная роль. Микроорганизмы необходимы и полезны в сельском хозяйстве, используются в промышленности, медицине, быту, участвуют в очистке окружающей среды, но они же вызывают и болезни человека, животных, растений.

Микроорганизмы — древнейшие представители жизни на нашей планете. Их мельчайшие размеры и чрезвычайно высокая биохимическая активность определили резкое отличие истории микробиологии от истории развития других наук, которые с самого начала возникновения имели дело с видимыми объектами. Микроорганизмы невидимы невооруженным глазом, и человек, с древнейших времен повседневно сталкиваясь с результатами их деятельности (приготовление кисломолочных продуктов, сыра, вина, пива, уксуса, болезни человека, животных, растений), долгое время не знал, что первопричиной всего этого являются микроорганизмы.

Микробиология — относительно молодая наука, ее трехсотлетие отмечали во всем мире в 1973 г. (по дате первого письма в Лондонское королевское общество голландского любителя-натуралиста *Антони ван Левенгука*, 1632—1723). Увлечшись изготовлением и шлифовкой линз для контроля за качеством ткани, этот мануфактурщик из г. Дельфта первым увидел микроорганизмы и вошел в историю как «Колумб нового мира». Конструкции А. Левенгука, напоминавшие примитивные микроскопы, давали увеличение в 200—270 раз. Он пер-

вым оценил размеры бактерий, сравнивая их с глазами взрослой вши, первым наблюдал за движением бактерий и первым установил движение крови в капиллярах (кровеносных сосудах).

До середины XIX в. шло накопление отдельных разрозненных наблюдений, фактов. Это был описательный «морфологический» период в развитии микробиологии, когда с микроскопическими существами не связывали ими вызываемые физико-химические процессы. Обращать внимание на функции микроорганизмов (их физиологию) стали только после того, как великий французский ученый *Луи Пастер* (1822—1895) показал, что химические превращения и заболеваня вызывают микроорганизмы.

Его работы положили начало «физиологическому» периоду в истории микробиологии и заложили основы современной микробиологии. Луи Пастер не только «отец» современной микробиологии и создатель экспериментального метода в микробиологии, но и основоположник учения об инфекционных болезнях. Ему принадлежит открытие процессов брожения («жизни без кислорода»), заслуга создания теории анаэробноз — микробиологической доктрины, обосновавшей специфичность микроорганизмов и наличие причинной связи между жизнью микроорганизмов и превращениями веществ в окружающей их среде. Эта доктрина, которую известный немецкий зоолог *Оскар Гертвиг* назвал «вторым главным приобретением XIX в. в области биологии после клеточной теории», составила целую эпоху в науке, приведя к полному преобразованию медицины, биологии, почвоведения. Благодаря работам Л. Пастера микроорганизмы впервые стали рассматриваться как носители химической энергии и химических преобразований.

Л. Пастер установил, что каждое брожение имеет своего специфического возбудителя, а каждое инфекционное заболевание вызывается специфическим патогенным (болезнетворным) микроорганизмом, он открыл возможность создания искусственной невосприимчивости человека к заразным болезням, послужившей основой учения об иммунитете. Л. Пастеру принадлежат разработки важнейших практических методов на основе безупречных теоретических доказательств. Плоды его трудов используют не только в биологии и медицине, но и в различных отраслях промышленности и сельского хозяйства, в частности связанных с такими процессами, как консервирование, хлебопечение, производство уксуса, спирта, кисломолочных продуктов, силосование кормов. Исследования Л. Пастера позволили понять сущность процессов гниения, квашения, хранения пищевых продуктов. Разработанный им прием *пастеризации* позволяет уничтожать неспорообразую-

щие бактерии в продуктах (пиве, вине, молоке и др.). Поскольку при кипячении эти продукты теряют свои полезные качества, он предложил прогревать их при температурах ниже 100°C: при 60 °C — в течение 30 мин, при 70 °C — в течение 15 мин, при 80 °C — в течение 10 мин, при 90 °C — сразу охладить после нагревания.

Установив, что ряд болезней человека и животных (сибирская язва, куриная холера) вызывают особые бактерии, и используя опыт английского врача *Эдуарда Дженнера* (1749—1823), предлагавшего для предупреждения оспы в период эпидемии втирать людям оспенные корочки от коров, больных коровьей оспой, Л. Пастер разработал *метод предохранительных прививок* ослабленными болезнетворными микроорганизмами — *вакцинацию* (лат. *vacca* — корова). Наивысшим достижением Л. Пастера можно считать предложенные им прививки против бешенства (бешенство вызывает вирус, о котором в те годы ничего не знали). Мудрость и научная интуиция позволили Л. Пастеру найти способ борьбы с возбудителем бешенства. Исходя из того, что бешенство имеет длительный (до 1,5 лет) инкубационный период, Л. Пастер предложил, казалось бы, совершенно нелогичный прием: укушенному бешеным животным человеку многократно (ежедневно в течение 15 и более дней) вводить ослабленный вирус, который мобилизует иммунные силы организма прежде, чем агрессивный вирус достигнет своей мишени.

Накопление микробиологических знаний способствовало выяснению функций микроорганизмов в круговороте веществ в природе и оказало большое влияние на формирование новых представлений о почве, растениях, животных, связав то, что прежде считалось разрозненным и несовместимым.

Развитие представлений о биохимии микроорганизмов, их роли в круговороте веществ тесно связано с исследованиями выдающегося русского ученого-микробиолога *Сергея Николаевича Виноградского* (1856—1953). Им разработан *метод элективных, или избирательных, культур*, позволяющий дифференцировать микроорганизмы по их физиологическим особенностям, создано *учение о хемосинтезе* — автотрофном усвоении CO₂ как единственного источника углерода за счет энергии окисления химических соединений неорганической природы. До С. Н. Виноградского питание диоксидом углерода считалось привилегией лишь зеленых растений, осуществляющих фотосинтез. По сути, он открыл в мире бактерий настоящих «диабетиков», не переносящих присутствия Сахаров в питательных средах, а иногда и вообще не требующих никаких готовых органических соединений. Открытия Л. Пастером анаэробноз и С. Н. Виноградским нового типа питания

обосновали положение о необычайной физиологической специализации микроорганизмов, которое легло в основу современной сравнительной биохимии. Расширились представления о роли микроорганизмов в естественных процессах: их стали рассматривать наравне с другими биологическими группами, такими как растения или животные.

Бурное развитие микробиологии во второй половине XIX в. привело к возникновению отдельных дисциплин на основе специальных разделов микробиологии. От *общей* микробиологии отделились *промышленная (техническая)* микробиология, а также *медицинская, сельскохозяйственная, почвенная, водная, геологическая* микробиология. В *санитарную* микробиологию частично вошли микробиология воды, воздуха, почвы и пищевых продуктов.

В XX в. произошло сближение микробиологии, химии, биохимии, генетики, возникла *молекулярная биология*, появились *космическая, химическая* микробиологии, *экология микроорганизмов, биотехнология, природоведческая* микробиология.

1. Прокариоты и другие микроскопические существа

Микробиология изучает строение, закономерности развития и жизнедеятельности микроорганизмов, их обмен веществ, изменчивость и наследственность, взаимоотношения, роль в природе, в превращениях различных веществ, значение для человека, возможности усиления их положительных свойств и устранения отрицательных.

Общие признаки микроорганизмов: малые размер (за пределами границы видимости невооруженным глазом) и масса клетки; высочайшая скорость размножения; огромная активная поверхность клетки и поразительное по силе химическое воздействие на живую и косную (неживую) среду.

Очень долго решался вопрос о том, к какой группе живых существ отнести микроорганизмы: к животным или растениям. В 1937 г. французский исследователь Э. Шаттон (*E. Chatton*) предложил на основе единства структуры и эквивалентности функций клетки разделить все организмы на имеющие настоящее ядро, или **эукариоты** (гр. *eu* — истинный, *karyon* — ядро), и на не имеющие настоящего ядра, или **прокариоты** (гр. *pro* — перед, раньше, вместо), и рассматривать их как основные типы клеточной организации. Предложение, хотя и не сразу, было принято, и к эукариотам отнесли грибы, водоросли (за исключением синезеленых, или цианобактерий), простейшие, клетки растений и животных, а к прокариотам — бактерии и цианобактерий.

1.1. Прокариоты, или бактерии

Бактерии существуют обычно в виде одиночных клеток; иногда они могут также образовывать ассоциации сходных клеток, характеризующиеся клеточными, но не организменными свойствами. Они не являются многоклеточными организмами, так как для истинных многоклеточных характерна функциональная дифференциация. Только нитчатым цианобактериям свойственны элементы клеточной дифференциации. Некоторые бактерии имеют *трихомный* (гр. *trichoma* — волос, нить) тип строения, образуя в редких случаях нити с перегородками (*сентами*).

К особенностям строения прокариот можно отнести слабую дифференциацию клетки, отсутствие эндоплазматического ретикула, комплекса Гольджи, митохондрий, хлоропластов, истинного ядра. Некоторые прокариоты наделены структурами, отсутствующими у эукариот, — эндоспорами, аэросомами, бактериальными жгутиками. Цитоплазма прокариот неподвижна.

Особенности питания прокариот — поглощение клеткой питательных веществ в молекулярной форме, транспортный механизм поступления питательных веществ, отсутствие эндоцитоза (фагоцитоза и лизоцитоза).

Для клеток прокариот характерна высочайшая скорость обмена веществ и необычайно сильное воздействие на окружающую среду, поскольку они активно взаимодействуют с субстратом и окружающей средой всей поверхностью. У бактерий очень высокая скорость размножения — за короткий срок можно получить большую биомассу; они синтезируют разнообразные соединения: антибиотики, витамины, ростовые вещества, ферменты.

Прокариоты характеризуются разнообразием метаболических путей, особенно анаэробных энергетических реакций, в то время как всем эукариотам присуща монополия анаэробного гликолиза — схема Эмбдена—Мейергофа—Парнаса. Нельзя не упомянуть и об их исключительной приспособленности к окружающей среде, повсеместности распространения в природе и о том, что только прокариоты способны осуществлять такие процессы, как **азотфиксация** (с. 112), **метаногенез** (с. 23, 34, 75) и **сульфидогенез** (с. 23, 126).

1.2. Вирусы, вирионы, прионы

Вирусы (лат. *vir* — яд) ранее относили к протогенам, или царству *Vira*, позднее их назвали **акариотами** (лат. *a* — отрицание), т. е. не имеющими ядра.

Можно сказать, что вирус — это функционально существо, а морфологически — вещество. Как живые существа вирусы содержат ДНК (или РНК) и способны к репродукции в клетке хозяина. При этом у ДНК-содержащих вирусов ДНК, поступая в рибосомы клетки-хозяина, служит матрицей для синтеза вирусной информационной РНК, обеспечивая синтез вирусного белка. У РНК-содержащих вирусов функцию ДНК выполняет РНК. И те и другие вирусы характеризуются раздельным способом воспроизводства в клетке хозяина: из разрушенных ими клеток белок и нуклеиновые кислоты высвобождаются по отдельности и сразу же объединяются. Как живым существам, вирусам свойственна изменчивость, а также способность инфицировать клетки хозяина, вызывая инфекционный процесс.

С веществом вирусы объединяет то, что вне клетки хозяина они неживые, не имеют клеточного строения, собственного обмена веществ, многие вирусы получены в кристаллической форме. Увидеть их можно только в электронный микроскоп — размеры вирусов находятся в диапазоне 0,015—0,2 мкм.

После открытия в 1892 г. вируса табачной мозаики российским ученым *Дмитрием Иосифовичем Ивановским* (1864—1920), а в 1898 г. — независимо от работ Д. И. Ивановского — голландским ученым *Мартинусом Бейеринком* (1851—1929) и выделения этого вируса в виде кристалла в 1935 г. американским вирусологом, биохимиком *Уэнделлом Мередитом Стэнли* (1904—1971) вирусы стали объектами самостоятельной науки — **вирусологии**, а впоследствии — и молекулярной биологии, и молекулярной генетики.

По форме вирусы бывают спиралевидными — вирус табачной мозаики (рис. 1.1, а, б), вирус желтухи свеклы — и кубическими — вирус мозаики огурцов, вирус оспы, вирус человеческой бородавки, вирус гриппа (рис. 1.1, в). Спиралевидные вирусы обычно выглядят как палочки, поскольку расположенная в центре нуклеиновая кислота покрыта белком. Так, у вируса табачной мозаики РНК-содержащий нуклеокапсид, имеющий 130 витков, покрыт белковым капсидом, состоящим из 2200 капсомеров (белковых субъединиц), каждый из которых состоит из 158 аминокислот. При кубической симметрии плотно упакованные блоки нуклеиновых кислот в белковых капсидах образуют многогранник (тетраэдр, октаэдр или икосаэдр у ДНК-содержащего вируса оспы).

Вирусы — возбудители многих заболеваний человека (оспа, корь, бешенство, полиомиелит, грипп), животных (лейкоз птиц, чума свиней, ящур, вирусные болезни пчел, шелковичных червей), растений (вирусные болезни злаков, овощей, плодов).

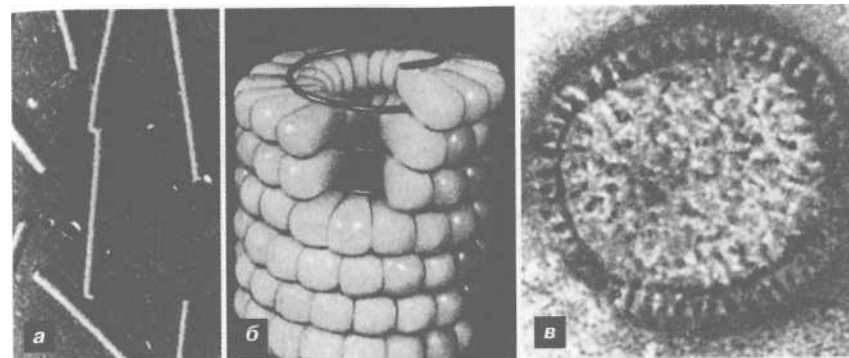


Рис. 1.1. Вирус табачной мозаики (а), $\times 65\ 000$ и его модель (б); вирус гриппа А2 (в), $\times 250\ 000$ [по: Шлегель, 1987]

Существуют вирусы с широким спектром агрессивных возможностей, поражающие и человека, и животных (вирус ящура, вирус бешенства), и узкоспецифичные (например, вирус табачной мозаики, поражающий только растения табака; вирусы гриппа, вызывающие заболевание только свиней или только кошек).

Вирусы бактерий называют **бактериофагами** (гр. *phagos* — пожирающий). Впервые фаги обнаружил канадский исследователь *Феликс д'Эррель* (1873—1949) в 1917 г. в кале больных, выздоравливающих после дизентерии, и предложил использовать бактериофаги для лечения инфекционных заболеваний.

Фаги (рис. 1.2) очень специфичны — они поражают только определенные виды бактерий. Если фаг поражает возбудителя инфекционного заболевания, то его эффект можно оценить положительно; при поражении бактерий, продуцирующих биологически ценные соединения, воздействие фага оценивается как отрицательное.

Фаги, заражающие и лизирующие клетки бактерий, называются **вирулентными**, заражающие, но не размножающиеся в клетке автономно и не лизирующие ее — **умеренными**. Нуклеиновая кислота умеренного фага встраивается в бактериальную хромосому, и фаг теряет автономию, переходя в неинфекционное неактивное состояние **профага**. Культура бактерий, которая в этом случае размножается синхронно с умеренным фагом, называется **лизогенной**, т. е. **лизогения** — это фагоносительство.

Для микробиологических производств, например при производстве сыра, лизогенные бактерии (молочнокислые или пропионовокислые) даже желательны, поскольку они не поражаются другими (виру-

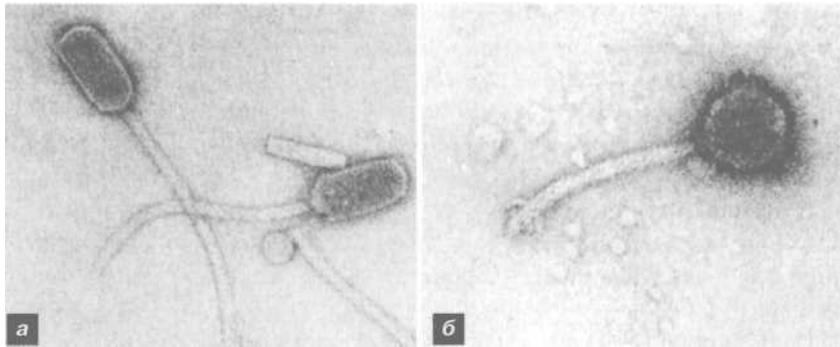


Рис. 1.2. Фаги клубеньковых бактерий: *a* — из лизогенной культуры *Rhizobium trifolii*, $\times 100\ 000$; *б* — из лизогенной культуры *R. meliloti*, $\times 160\ 000$

лентными) фагами. Переход же профага в исходное инфекционное состояние, приводящий к высвобождению фага из хромосомы бактериальной клетки, осуществляющей молочнокислое или пропионовокислое брожение, и вызывающий ее лизис, на производствах практически исключен, так как может произойти только при действии индукторов (УФ-лучей, физических и химических факторов).

К вириодам отнесены «живые молекулы нуклеиновой кислоты» (суперспирализованная молекула РНК без белковой оболочки с молекулярной массой 100—130 Да¹). Термин «вириоды» введен в 1971 г. Фредом Дайнером, хотя заболевания, вызываемые данными инфекционными агентами, были известны много ранее.

С вириодами связывают болезнь мозга овец — *скрейпи*, более двух веков знакомую английским фермерам.

Прионы — это «живая молекула белка» с молекулярной массой 20—30 Да. Расшифровка химической структуры вириодов и прионов может помочь понять разницу между живым и неживым. Название «прионы» предложил американский биохимик *Стенли Прузинер* в 1982 г.

С прионами связывают болезнь *куру*, распространенную в племени каннибалов (людоедов) Новой Гвинеи. Многие особенности этой болезни стали известны благодаря исследованиям антрополога и вирусолога *Карлтона Гайдушека*, который, начиная с 1957 г., более 20 лет изучал болезнь куру.

И вириоды, и прионы, как и вирусы, также относящиеся к акариотам, — возбудители медленных инфекций, поражают нервные клетки

Да - Дальтон, равен $1,66033 \cdot 10^{-27}$ кг.

центральной нервной системы, разрушают нервные волокна в мозгу, и мозг становится пористым, как губка. Это передаваемая инфекция.

Предполагают, что молекула нуклеиновой кислоты вириода не несет наследственной информации, но дезорганизует, отвлекает на себя деятельность клеточных ферментов и тем самым тормозит и нарушает развитие организма хозяина.

В отношении прионов есть версия, что они — индукторы и вместе с тем продукты автономного гена человека или животного, вызывающие также заболевание центральной нервной системы с постепенным превращением мозговой ткани в губчатую массу.

И вириоды, и прионы в настоящее время пристально изучаются медицинскими микробиологами и молекулярными биологами.

Микроскопические эукариоты — мицелиальные грибы, дрожжи и некоторые водоросли — служат прежде всего объектами ботаники, фитопатологии, биологии почв и микробиологии.

2. Действие факторов внешней среды на микроорганизмы

Процессы развития микроорганизмов тесно связаны с физико-химическими условиями среды, в которой они обитают. Подвергаясь их воздействию, микроорганизмы, в свою очередь, влияют на окружающую среду и изменяют ее. Изменение одного из факторов окружающей среды может изменить реакцию микроорганизма на действие других факторов.

Значение физико-химических факторов для жизнедеятельности разных групп микроорганизмов различно. Так, для фотосинтезирующих бактерий наличие света — непереносимое условие развития, для большинства других бактерий свет практически не имеет значения.

Химические соединения в зависимости от их концентрации по-разному воздействуют на микроорганизмы. Так, сахар в концентрации 0,5—2,0% служит для многих из них источником питания, а в концентрациях свыше 20—40% сахар угнетает развитие большинства микроорганизмов, и это используется, в частности, для хранения плодов.

Малая величина прокариот не дает возможности в полной мере оценить механизм повреждения и гибели клеток под действием физико-химических факторов, кроме как связать их с отдельными структурами клетки, ферментами или мембранами. Эффект оценивают либо по минимальному времени воздействия (если это темпера-

тура, рН или другие физико-химические факторы), либо по минимальной концентрации (если это вещество), которые требуются для достижения эффекта, проявляющегося в отношении наиболее чувствительного к данному фактору компонента или структуры клетки. Интенсивное или длительное воздействие почти любого фактора внешней среды может привести к гибели микробной клетки. Исключения составляют устойчивые к действию факторов внешней среды споры бактерий (см. с. 49).

Редко все жизненно важные факторы находятся в оптимальных для развития того или иного микроорганизма диапазонах. Чаще хотя бы один из них выпадает из оптимального диапазона и становится *лимитирующим*, решающим, и именно от него обычно зависит нормальное развитие микроорганизма.

Разнообразие условий биосферы определяет у микроорганизмов разнообразие свойств и адаптационных приспособлений к ним. По сравнению с высшими организмами у микроорганизмов значительно больший набор субстратов, используемых в качестве источников питания, и многообразнее реакции на тот или иной фактор воздействия. Отдельные виды микроорганизмов приспособились к жизни в экстремальных условиях: при очень высоких и очень низких температурах, в высококонцентрированных растворах солей, при очень кислой реакции среды и т. п.

2.1. Вода как основной фактор в жизнедеятельности микроорганизмов

Главнейшим регулирующим фактором в жизнедеятельности микроорганизмов в природе является вода. Вода — основной компонент клетки, универсальная среда любой живой материи. Даже организмы, которые на первый взгляд существуют лишь в газообразной среде, на самом деле живут в водной, что легко обнаружить, если рассматривать жизнь на клеточном уровне.

Любое проявление жизнедеятельности клетки в целом и отдельных ее структур возможно только в присутствии воды. Не только вегетативные клетки содержат от 65 до 90% воды, но даже в покоящихся клетках, например спорах бактерий или семенах растений, на долю воды приходится не менее 10—12%. Вода поддерживает тургорное давление в клетках. Она структурный компонент как биополимеров, так и биомембран.

В клетках вода в чистом виде не встречается, а образует дисперсную фазу сложных растворов неорганических и органических веществ. Кроме *свободной воды*, непосредственно участвующей и опре-

деляющей биохимические реакции дыхания, фотосинтеза, гидролиза, в клетке имеется *связанная вода*, определяющая физические свойства клеточных компонентов и структур. Связанная вода контактирует с заряженными ионами (в микробной клетке ее 15—20%). Под связанной водой понимают ту часть воды в биологических объектах, которая с трудом удаляется при сушке. В криобиологии (гр. *kryos* — холод, лед) связанной называют воду, которая не замерзает.

Являясь превосходным растворителем самых разных соединений: от электрически нейтральных органических веществ до солей, диссоциированных на ионы, вода обеспечивает обмен веществами между клеткой и средой, который происходит через водные растворы. Если в окружающей среде содержание влаги меньше 18—20% (до 30%), то гибнут неспорообразующие бактерии, если меньше 13—15%, — гибнут грибы. Понижение влажности до 12% полностью предотвращает развитие микроорганизмов.

Труднообъяснимое разнообразие видов и высокую численность микроорганизмов в почве пустынь (10^3 — 10^8 клеток в 1 г), где влажность составляет лишь около 1—2%, объясняют их способностью использовать метаболическую воду, образующуюся при дыхании, или накапливать воду в капсулах, а также возможностью существования в этих почвах микрозон с различными условиями.

По отношению к влажности микроорганизмы делят на гидрофилы (гр. *hydor* — вода; *phileo* — люблю) — влаголюбивые и ксерофилы (гр. *xeros* — сухой) — сухолюбивые.

Большинство микроорганизмов (бактерии и дрожжи) относятся к гидрофилам. Многие грибы занимают промежуточное положение, но среди них есть как ксерофилы, так и гидрофилы.

Содержащаяся в почве вода не всегда доступна микроорганизмам. Так, почвы могут иметь одинаковую влажность, но вода в них может быть в различной степени доступна микроорганизмам. Это обусловлено степенью растворения в ней солей (концентрация питательных веществ в почвенном растворе обычно очень низкая). Химически связанная вода, например в коллоидах, недоступна клеткам, так как не может служить растворителем питательных веществ. В природе нет химически чистой воды, в ней всегда содержатся различные соединения в разных концентрациях.

Степень чистоты воды или степень связанности ее молекул — это показатель, характеризующий *активность воды* (a_w), или доступность воды для микроорганизмов. Показатель a_w — это отношение давления пара воды над исследуемым объектом к давлению пара над чистой водой (например, дистиллированной) при одной и той же температуре.

Активность чистой воды равна 1,0. При повышении концентрации растворенных веществ значения активности воды снижаются. Микроорганизмы развиваются в диапазоне a_w от 0,99 до 0,62. Следовательно, чтобы сохранить продукты, необходимо снизить a_w до 0,8, а если есть опасность развития грибов, — то до 0,6. При влажности, соответствующей $a_w = 0,2$, споры бактерий обладают максимальной термостойкостью, при этом внутриклеточные структуры и макромолекулы покрыты в основном только связанной водой.

Водный потенциал — это количество термодинамической работы, которую затрачивает организм, извлекая воду. Потенциал чистой воды равен 0. По отношению к чистой воде все растворы имеют отрицательный потенциал. В солевых растворах активность воды и водного потенциала резко падает и для микроорганизмов создаются условия осмотического стресса, при котором они развиваются так же, как при засухе, когда вода вследствие увеличения концентрации солей становится недоступной.

Устойчивость микроорганизмов к высыханию (недостатку влаги) определяет их свойства осмофильности (гр. *osmos* — толчок, давление) и галофилии (гр. *hals, halos* — соль). *Осмофильность* — это устойчивость клеток к высоким концентрациям органического вещества, в частности сахара, *галофилия* — к высоким концентрациям NaCl. Наиболее устойчивы к высыханию и высоким концентрациям сахара и соли микроскопические грибы, дрожжи. Это связано с высоким осмотическим давлением в их клетках, достигающим $2,0\text{—}2,5 \cdot 10^5$ Па. Так, грибы развиваются на варенье, дрожжи — даже в меду, где концентрация сахара достигает 70—80%.

К умеренным галофилам относят морские бактерии, живущие при 3,5% NaCl (концентрация соли в морской воде). Экстремальными галофилами являются археобактерии *Halobacterium salinarium*, *Halococcus morrhuae*, живущие в растворах NaCl при концентрациях, близких к насыщению раствора.

Места обитания высокоспециализированных в физиологическом отношении экстремальных галофилов — высококонцентрированные или насыщенные растворы солей (например, Великое соленое озеро в США или соляные чеки — испаряющиеся лагуны, где испарение ведет к концентрированию солей). Их можно встретить на кристаллах соли в рапе солевых озер, в естественных морских солеварнях и даже на разлагающейся засоленной рыбе, которую они как облигатные протейолики, нуждающиеся в аминокислотах, подвергают аммонификации в аэробных условиях (при этом углеводы они не используют). Концентрация солей в клетках таких микроорганизмов равна кон-

центрации внешнего раствора, но вместо натрия в клетках преобладают калий. Его концентрация внутри клеток галообактерий в 800 раз выше, чем снаружи.

Развитие большинства микроорганизмов угнетает NaCl (начиная с 3%-ной концентрации).

Для предотвращения развития микроорганизмов, вызывающих порчу пищевых продуктов, существуют разные способы консервации (например, сушка, вяление), основанные на *обезвоживании* продукта, т. е. снижении в нем активности воды до критических для микроорганизмов пределов.

Консервирование с помощью высоких концентраций сахара и соли, по существу, тоже приводит к снижению активности воды в продуктах, поскольку при диффундировании растворов сахара и соли в продукты вода из них переходит в растворы.

Сушат и вялят овощи, фрукты, травы, мясо, рыбу. Муку, крупы, молоко можно сохранять в сухом виде при влажности 12% и ниже. Заготовленные продукты следует хранить при пониженных температурах.

2.2. Влияние температуры на микроорганизмы

Поскольку микробные клетки используют воду в жидкой фазе, находящейся в области температур от -2 до примерно $+100$ °C (в так называемой *биокинетической зоне*), факторы влажности и температуры неразрывно связаны и имеют первостепенное значение для жизнедеятельности клетки.

У микроорганизмов нет терморегуляции, но они обладают способностью приспосабливаться к условиям окружающей среды. Для каждого микроорганизма существуют свои минимальная, оптимальная и максимальная температуры роста: при *оптимальной* температуре клетка растет с наибольшей скоростью, при температуре ниже *минимальной* и выше *максимальной* роста не происходит. Оптимальная температура всегда ближе к максимальной, чем к минимальной. Оптимальная, минимальная и максимальная температурные точки называются *кардинальными* (лат. *cardinalis* — главный). Температурные границы развития вегетативных клеток и спор прокариот сильно различаются. Пределы нижней границы для спор могут достигать -196 °C (температура жидкого азота, при такой температуре иногда хранят культуры микроорганизмов) и даже -252 °C (температура жидкого водорода), а предел верхней границы достигает $+160$ °C. Для вегетативных клеток бактерий, даже самых морозостойких — криофилов — эти границы составляют -18 °C и $+50\text{—}60$ °C соответственно.

По отношению к температурам, лежащим в пределах биокинетической зоны, микроорганизмы сильно отличаются друг от друга. Для большинства микроорганизмов оптимальной является температура в пределах 20—40 °С — это мезофилы. Они широко распространены в природе: в почве, воде, растениях, в организме человека и животных. Температурный оптимум для размножения у них часто не совпадает с оптимумами температуры для метаболических процессов, таких, как синтез пигментов, образование жгутиков, которые идут при более высоких температурах. В мембранах мезофилов преобладают жирные кислоты с 15 атомами углерода.

Микроорганизмы, которые развиваются при температурах ниже 20 °С (диапазон развития от 0 до 20 °С, в том числе при отрицательных температурах, например при контакте с нижней поверхностью плавучих льдов), называются психрофилами (гр. *psychria* — холод). К психрофилам относят *Yersinia psychrophila*, вызывающую порчу продуктов в холодильнике (выдерживает температуру -18 °С, при 0 °С не размножается, активно размножается при +5 °С), *Nitrosomonas cryotolerans* — обитателя холодных вод.

Психрофилы выявлены среди многих известных родов бактерий: *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* и др.

Холодоустойчивость психрофилов связывают с особенностями их химического состава: в фосфолипидах цитоплазматической мембраны содержится большое количество ненасыщенных жирных кислот, препятствующих застыванию мембран и хотя бы частично не дающих замерзнуть воде. Ферменты характеризуются низкой температурой активации, и даже незначительное повышение температуры вызывает их денатурацию; иногда нарушение деятельности только одного фермента приводит к сбою целого звена реакций, например гликолиза у *Clostridium pasteurianum*. Активный транспорт питательных веществ у психрофилов идет при низких температурах, поэтому его рассматривают как один из важных факторов, определяющих минимальную температуру роста.

Микроорганизмы, которые предпочитают для роста температуры выше 40 °С (температурный максимум составляет 70 °С), относят к термофилам. Экстремальные термофилы имеют температурный максимум около 90 °С и не растут при 60—70 °С, у гипертермофилов (обитателей гидротерм и нагретой подземной гидросферы) температурный максимум выше 100 °С.

Адаптация к высоким температурам также связана с перестройкой химического состава клетки. В мембранах термофилов преобладают жирные кислоты с разветвленной цепью с 16—17 атомами углерода,

а у экстремальных и гипертермофилов — с 17—19 атомами углерода; белки-ферменты имеют низкую молекулярную массу, высокотермостабильны; такой же термостойкостью характеризуются рибосомы, мембраны, особенно клеточные; в клетках повышено содержание ионов кальция, что также способствует их стабильности при высоких температурах. Вместе с тем, для объяснения механизмов термо- и психроадаптации микроорганизмов требуются дальнейшие серьезные исследования физико-химических (и молекулярных) основ термо- и психрофилии.

Термофилы широко распространены в природе: в горячих источниках, саморазогревающихся субстратах — навозе, торфе, сене, компостах, зерне, силосе. Саморазогревание навоза используют для отопления парников.

Термофилы обитают в кишечном тракте человека и животных. Это позволило *Евгению Николаевичу Мишустину* (1901—1991) рассматривать их как показатель окультуренности почвы, как свидетельство того, что в почву внесен навоз.

Высокие температуры более губительны для микроорганизмов, чем низкие. На подавляющем действии высоких температур основаны различные методы сохранения продуктов питания: кипячение, пастеризация (частичная стерилизация, см. с. 6, 7), стерилизация сухим жаром (в сушильных шкафах или печах Пастера при 160—170 °С в течение 2 ч) и автоклавирование, или влажная стерилизация (в автоклавах при давлении выше атмосферного, температурах выше 100 °С в течение 30—60 мин).

Скорпортящиеся продукты непродолжительное время хранят в холодильниках при температурах от +10 до -2 °С в охлажденном состоянии и длительное время при замораживании (плоды, овощи, мясо, рыба и другие продукты).

2.3. Микроорганизмы и реакция среды (рН)

Концентрация водородных ионов определяет границы существования микроорганизмов, влияя на их рост и размножение. Для ее выражения используют показатель рН — отрицательный логарифм концентрации ионов водорода (H⁺).

Концентрация H⁺ в чистой пресной воде составляет 10⁻⁷ ион/л, следовательно, рН пресной воды — 7,0 {нейтральная реакция}. Значения рН от 7,0 до 1,0 — показатель степени ее кислотности, от 7,0 до 14,0 — степени щелочности. Прокариоты развиваются в диапазоне рН от 1,0 до 11,0.

Нельзя забывать, что рН — это логарифмическая функция и, стало быть, раствор с рН 3,0 в 10 раз кислее раствора с рН 4,0.

Кислотность среды влияет на клетку непосредственно (воздействие H^+) и косвенно (через влияние на ионное состояние и доступность метаболитов и ионов клетке). Состояние многих соединений в среде зависит от рН. Так, при низких значениях рН (кислая среда) снижается растворимость CO_2 - источника углерода для автотрофных бактерий, а растворимость ионов меди, алюминия и некоторых других металлов увеличивается и они становятся токсичными для клеток. При высоких значениях рН (щелочная среда), напротив, резко снижается растворимость многих необходимых клетке катионов (железа, кальция и др.) и они становятся для нее недоступными.

По отношению к реакции среды микроорганизмы делят на нейтрофилы, ацидофилы и алкалофилы. Подавляющее большинство микроорганизмов относится к нейтрофилам. Интервал рН для их развития — 4,0—9,0, оптимум — 6,5—7,5. Грибы, являясь нейтрофилами, прекрасно развиваются в условиях кислой реакции среды, поскольку при этом минимальна конкуренция с бактериями за источники питания. Более того, некоторые банальные плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* могут расти в интервалах рН от 2,0 до почти 10. Такие, как *Trichosporon cereberiae*, развиваются даже в растворах HCl и H_2SO_4 .

Некоторые нейтрофилы, например отдельные представители аммонификаторов, также могут хорошо расти за пределами своего оптимума рН в более щелочной среде (рН 8—9). Так, *Urobacillus pasteurii* лишь в щелочной среде (при рН около 11) расщепляет мочевины с образованием аммиака.

К ацидофилам относят уксуснокислые бактерии и другие микроорганизмы, которые накапливают в среде органические кислоты. Они хорошо растут при рН 3,5—4,0. Иногда к ним относят дрожжи и грибы, хотя, как сказано выше, эти микроорганизмы развиваются в больших интервалах рН среды. Примером экстремальных ацидофилов (рН 0,9—4,5) с оптимумом рН 2,5 служат железобактерии *Leptospirillum ferrooxidans* (с. 131) и археобактерии *Sulfolobus Thermoplasma*, окисляющие серу до серной кислоты (с. 129).

Некоторые бактерии предпочитают щелочную реакцию среды (рН 8,5—11,0). Это алкалофилы. Наиболее устойчивы к щелочной среде сульфатовосстанавливающие бактерии. На слабощелочных средах хорошо растут некоторые цианобактерии и нейтрофильные стрептомицеты (актиномицеты).

Холерный вибрион *Vibrio cholerae* развивается только при рН около 9,0 и более. В России конца XIX в. во время летних вспышек холе-

ры для предотвращения заболевания на рынках ставили баки с уксусом для ополаскивания фруктов и овощей. Считается, что у людей с высокой кислотностью среды желудочно-кишечного тракта холеры не бывает.

Независимо от внешней среды, где рН может колебаться в широких пределах, внутриклеточное значение рН у всех групп микроорганизмов лежит в зоне нейтральных значений. Это связывают с тем, что концентрация ионов H^+ и OH^- в цитоплазме достаточно постоянна, а также с тем, что нейтральное значение рН цитоплазмы наиболее благоприятно для микроорганизмов, поскольку такие компоненты клеток, как ДНК и АТФ, разрушаются в кислой среде, а фосфолипиды и РНК — в щелочной. К тому же оптимум рН для большинства *эндоферментов* (гр. *endon* — внутри), т. е. ферментов, находящихся в клетке, составляет около 7,0; для *экзоферментов* (гр. *exo* — снаружи), т. е. ферментов, выделяющихся в среду, оптимум может быть близким к значению рН среды, в которой находятся микроорганизмы.

Алкалофилы, особенно ацидофилы, могут существовать в условиях значительных перепадов рН в среде, когда значения рН в 10 и более раз превышают значение внутриклеточного рН. Например, у термофильной ацидофильной бактерии *Thermoplasma* внутриклеточное значение рН — 6,3—6,8, а развивается данный микроорганизм при рН 0,5—4,0.

Существует ряд гипотез, пытающихся объяснить способность клеток микроорганизмов сохранять нейтральное значение рН в цитоплазме. Возможно это связано с инертностью и непроницаемостью для ионов H^+ цитоплазматической мембраны, наличием в цитоплазме буферных систем. Вероятно, с помощью мембранного механизма ацидофилы удаляют избыток водородных ионов, а алкалофилы — избыток гидроксильных ионов или удерживают ионы водорода. Не исключено, что изменение рН среды у многих микроорганизмов вызывает изменение заряда клеточных коллоидов на поверхности клетки, увеличивая суммарный положительный заряд при низких значениях рН и суммарный отрицательный заряд при высоких значениях рН.

Влияние внеклеточного рН сказывается и на активности ферментов клетки. В результате может измениться метаболизм клетки. Так, пекарские дрожжи в кислой среде ведут спиртовое брожение, а в щелочных условиях переключаются на глицериновое (с. 77).

Механизм приспособления микроорганизмов к экстремальным показателям кислотности и щелочности среды имеет для них особое значение при возрастании загрязнения окружающей среды, поскольку число неблагоприятных местообитаний резко увеличивается.

Для сохранения пищевых продуктов, в частности овощей, широко используется маринование с использованием уксусной кислоты, квашение с помощью молочнокислого брожения, поскольку подкисление среды предотвращает развитие гнилостных бактерий (оптимальное значение рН для них 7,5), вызывающих порчу продукта.

2.4. Микроорганизмы и кислород

Кислород (диоксиген) поддерживает жизнь и сам является продуктом жизнедеятельности. Его роль в природе очень велика, так как он входит практически во все жизненно необходимые вещества.

Сам по себе молекулярный кислород слабо активен, но его реакционная способность возрастает при присоединении к молекуле кислорода одного или нескольких электронов и образовании в результате этого *озона* (O_3), *супероксида* (O_2^-), *пероксида водорода* (H_2O_2), *гидроксильного радикала* (OH^\cdot), *синглетного кислорода* (1O_2), токсичных для многих микроорганизмов.

Содержание свободного кислорода в атмосфере — 21%. Микроорганизмы используют кислород в растворенном состоянии. Объем растворенного кислорода составляет 3–5% от объема воды при температурах 15–30 °С соответственно. Невысокая растворимость O_2 в воде, особенно при повышенных температурах, ограничивает развитие аэробных микроорганизмов.

Отношение микроорганизмов к молекулярному кислороду различно. *Аэробы* — это микроорганизмы, которым кислород необходим для дыхания. У аэробов, растущих в жидкой среде, потребность в кислороде удовлетворяется сначала за счет кислорода, растворенного в питательной среде, а затем, по мере его использования, — за счет кислорода, поступающего в среду из атмосферы. Если аэробы используют в качестве акцептора электронов только кислород и не имеют других способов добывания энергии, их называют *облигатными* (лат. *obligatus* — обязательный, неременный), или *строгими*, *аэробами*. К ним относят уксуснокислые бактерии, грибы.

У аэробов в дыхательной цепи имеется ряд переносчиков электронов, при прохождении их в цепи могут образовываться токсичные формы неполного восстановления кислорода. Поэтому аэробы имеют защиту от активных форм O_2 . Защитные функции выполняют супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза. Супероксиддисмутаза сначала быстро разрушает супероксид — очень токсичное соединение, при распаде приводящее к образованию еще более токсичного короткоживущего радикала OH^\cdot и пероксида, который далее разрушается перокси-

дазами. Для удаления токсичного синглетного кислорода, необратимо разрушающего хлорофилл, оксигенные фотосинтезирующие бактерии синтезируют каротиноиды.

Микроаэрофилы довольствуются небольшими количествами кислорода (менее 1 мг/л). Они не имеют ферментов, расщепляющих токсичные соединения кислорода, но обладают высоким сродством к O_2 , и это позволяет им развиваться при низких концентрациях кислорода в среде (приблизительно 0,5–1,0%). К ним относятся бактерии рода *Aquaspirillum* — водные спириллы, клубеньковые бактерии (последние живут в клубеньках бобовых растений, где содержание кислорода очень низкое).

Анаэробы живут без доступа кислорода. Его отсутствие — необходимое условие для их развития. Они получают энергию для метаболических процессов за счет сопряженного окисления-восстановления субстрата. У некоторых из них, таких как представители рода *Clostridium*, нет ферментов, расщепляющих пероксид водорода, образующийся в присутствии кислорода. Это *облигатные анаэробы*. Л. Пастер открыл, что особо чувствительные к O_2 облигатные анаэробы не переносят его концентрации в атмосфере, превышающей 1%.

Есть микроорганизмы, способные альтернативно переходить с процесса брожения на процесс дыхания в зависимости от содержания кислорода в среде. Их называют *факультативными аэробами*, или *факультативными анаэробами*.

С биогеохимических, природоведческих позиций облигатные анаэробы делят на первичные и вторичные. *Первичные анаэробы* характеризуются бродильным метаболизмом и не используют внешние акцепторы водорода. К ним относятся спорообразующие палочковидные бактерии рода *Clostridium*. Многие из них обладают мощным гидролитическим ферментным аппаратом и сбраживают полимерные углеводы, белки, жиры с образованием летучих жирных кислот (и спиртов), H_2 , ацетона.

Вторичные анаэробы используют все конечные продукты первичных анаэробов в качестве субстратов. Им свойствен анаэробный окислительный обмен с использованием внешнего окислителя: если окислителем служит H_2 , то это *водородотрофные* вторичные анаэробы, если ацетат, то *ацетотрофные* вторичные анаэробы. Продукты вторичных анаэробов — полностью окисленный диоксид углерода (CO_2) и восстановленные неорганические соединения: H_2S (*сульфидогенез*) и CH_4 (*метаногенез*).

Аэротолерантные бактерии индифферентны (безразличны) к кислороду и в присутствии воздуха ведут анаэробный процесс (брожение). К ним относятся молочнокислые бактерии.

3. Классификация бактерий

3.1. Принципы классификации бактерий

Распространение в природе бактерий зависит от ряда факторов окружающей среды. Так, по мнению *Д. И. Никитина* (1966), разнообразие форм бактерий и их численность в почвах зависят от типа почвы, в которой они обитают: в парниковой почве их больше, чем в низинном торфе, черноземе, подзоле, сероземе, красноземе.

Огромное разнообразие бактерий определяет необходимость их классификации (лат. *classis* — класс, ранг; *facio* — делаю, распределяю), т. е. систематизации и упорядочения бактерий по таксонам (гр. *taxon* — соподчиненный ранг). Классификация и номенклатура (лат. *nomenclatura* — перечень, наименование) особенно важны для хранения соответствующей информации и ее повторного использования, т. е. для идентификации (лат. *identifico* — отождествление) — опознания ранее известных (описанных) бактерий.

Основные морфологические и физиологические признаки бактерий практически не коррелируют между собой. Эти признаки для классификации бактерий имеют намного большее значение, чем при классификации любых других биологических групп, так как идентифицировать бактерии можно только зная процессы, которые они осуществляют.

Иерархическая схема распределения бактерий по таксонам в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры, где самой мелкой единицей является вид, а далее следуют род, семейство, класс, отдел, царство, постоянно подвергалась ревизии и перестраивалась.

Так же как для растений и животных, для бактерий применяют *бинарную*, или *биномиальную* (лат. *binarius* — двойной), *номенклатуру*, состоящую из родового и видового названий, например *Micrococcus* (род) *agilis* (вид); если вид неизвестен — *Micrococcus* sp. {*species*}. Родовое наименование пишется с заглавной буквы, видовое — со строчной; полное наименование (род и вид) выделяют курсивом.

Различают филогенетическую (естественную) и фенотипическую (искусственную) классификации.

Естественная филогенетическая (гр. *phyle* — род, племя) *классификация* должна отражать эволюцию, родство и общность происхождения микроорганизмов, объединяемых в таксон.

У бактерий трудно определить родственные связи, поэтому разработка естественной классификации — объединение бактерий родственных форм общего происхождения и построение родословного древа — не завершена до сих пор.

В связи с этим основное внимание уделялось развитию и совершенствованию *фенотипической* (гр. *phaino* — являю) *классификации*, основанной на признаках, сформировавшихся в процессе индивидуального развития в результате взаимодействия генетических свойств организма и условий окружающей среды. Ее даже стали называть *классической* (образцовой).

Определить род и особенно вид у бактерий значительно труднее, чем у растений и животных. С этой целью используют *признаки*: *морфологические* (признаки клетки: форма и характер расположения, наличие и местонахождение жгутиков, способность к образованию эндоспор, окраска по Граму), *культуральные* (признаки колоний), *физиологические* (отношение к кислороду, тип питания, способ получения энергии, состав образуемых продуктов).

Искусственные системы классификации, по-существу, являются каталогами бактерий, например «Определитель бактерий и актиномицетов» *Н. А. Красильникова*, «Определитель родов бактерий» *В. Б. Скермана*, «Определитель бактерий Берджи» («*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*»), и играют роль диагностических ключей или определителей для идентификации бактерий.

Примером искусственной классификации служит нумерическая (числовая) таксономия, принципы которой были разработаны французским ботаником *М. Адансоном* (1727—1806). *Нумерическая таксономия* использует не менее 100 признаков организмов. Признаки должны быть альтернативными, чтобы при рассмотрении каждой пары ответы можно было бы обозначить знаками «+» или «-». Сходство между сравниваемыми организмами, в частности бактериями, тем больше, чем больше отношение числа совпадающих признаков к числу всех учитываемых. Таксономия Адансона позволяет лишь количественно оценить таксономическую дистанцию между сопоставляемыми бактериями, но не более того. Поэтому широкого распространения она не получила.

В последние годы стало возможным, помимо морфологических, культуральных и физиологических признаков клетки, использовать *химические* признаки (анализ белка, нуклеиновых кислот, нук-

леотидов, оснований ДНК, гибридизация ДНК разных клеток). Используя их, молекулярная биология успешно создает *геносистематику* на основе сходства строения ДНК, РНК, белков.

Когда степень сходства бактериальных геномов стали определять по ПЦ-молярному проценту в ДНК, ДНК-ДНК-гибридизацией для выявления гомологии ДНК сравниваемых бактерий, казалось, что создание филогенетической классификации реально приблизилось. Однако у метода гибридизации сразу выявился существенный недостаток. При оценке суммарной генетической информации клетки не учитываются незначительные информационные изменения (метод просто недостаточно чувствителен), а эти изменения могут определяться важнейшими свойствами клетки.

Наиболее удобной и информативной для целей систематики оказалась рибосома (с. 41). Действительно, рибосома универсальна: она имеется у всех клеточных форм жизни, и это указывает на ее древнейшее происхождение. Рибосома консервативна: у нее одна функция — синтез белка. Молекулярные биологи обратили особое внимание на нуклеотидную последовательность ее субчастицы — 16S-рибосомальной РНК бактерий, — содержащую 10^6 пар оснований.

По результатам сравнительного анализа последовательностей нуклеотидов 16S-рРНК американский ученый *К. Вёзе*, его коллеги и последователи в 1987—1990 гг. построили филогенетическое древо бактерий, состоящее из трех основных стволов эволюции, соответствующих в биосистематике доменам.

Домен первый — *Eucarya* (*эукарии*, бывшие эукариоты); два других домена — *Bacteria* (бактерии, ранее относившиеся к эубактериям, и цианобактерии) и *Archaea* (археи, ранее относившиеся к экстремофильным бактериям, затем — к архебактериям). Оба домена — *прокариоты*.

Э.Штакебрандт (1988) предложил грамотрицательные бактерии в домене *Bacteria* выделить в ветвь *Proteobacteria* (протеобактерии); они названы так по имени меняющего облик мифического бога Протея, поскольку чрезвычайно разнообразны морфологически и физиологически.

В 2002 г. среди протеобактерий насчитывалось 460 родов и более 1600 видов; сейчас они распределены по пяти большим филогенетическим линиям: альфа-протеобактерии, бета-протеобактерии, гамма-протеобактерии, дельта-протеобактерии и эпсилон-протеобактерии.

Итак, к концу XX в. сформировались главные черты новой филогенетической классификации, основанной на анализе нуклеотидных последовательностей 16S-рРНК бактерий.

На основе 16S-рРНК в филогенетической классификации подтвердилась всего одна реальная систематическая единица — род. Все остальные надродовые категории оказались лишь данью категориям эквивалентности — таксонам высших организмов.

Бесспорное достоинство новой систематики заключается в том, что в лабораториях разных стран этим методом получают тождественные результаты; основной недостаток при идентификации чистых культур — то, что филогенетическая систематика строится на одном рибосомальном гене, не давая представления о функциях бактерий, и этот один признак противостоит морфофизиологической «классической» системе классификации.

Сначала казалось, что с помощью 16S-рРНК можно не только исследовать чистые культуры бактерий, но даже проводить полный анализ пробы почвы и определять, какие в ней обитают прокариоты, не прибегая к громоздким микробиологическим методам посева, длительной лабораторной процедуре идентификации выделенных культур. При этом можно учитывать и так называемые некультивируемые формы бактерий (с. 53) и выявлять реальную картину биоразнообразия прокариот в природе.

Однако вскоре возникли серьезные методические трудности: во-первых, при экстрагировании нуклеиновых кислот из почвы оказалось, что их невероятно сложно очистить от гумусовых соединений, во-вторых, не всегда обеспечивается полная последовательность фрагментов генов 16S-рРНК и, в-третьих, утрачивается связь биологических и эколого-трофических особенностей прокариот.

Д. Г. Звягинцев считает, что, несмотря на появление и совершенствование новых молекулярно-биологических методов исследования, классическая (фенотипическая) систематика должна по-прежнему и далее развиваться скорее всего на уровне достаточно крупных таксономических групп, распознаваемых визуально или с помощью простых тестов. В качестве таксономической единицы бактерий следует использовать род, а в ряде случаев — таксоны более высокого порядка, если идентификация до рода по фенотипическим признакам затруднена. В случае необходимости не исключается привлечение хемотаксономических и молекулярно-биологических методов.

Сопоставить новую филогенетическую (на основе 16S-рРНК) и фенотипическую систематику оказалось очень трудно: в одни и те же ветви филогенетического древа попадают разные по физиологии бактерии, особенно на низших иерархических уровнях. По мнению *Г. А. Заварзина* (2003), особенно трудно сравнивать группы цианобактерий (главные первичные продуценты), протеобактерий и грамположительных бактерий.

3.2. Основные группы бактерий, выполняющих важные функции в природе¹

Протеобактерии. Объединяющий эти микроорганизмы признак — строение клеточной стенки грамотрицательного типа (*дидермы*): наружная мембрана как бы наклеена на муреиновый мешок (см. с. 37). Форма клеток различна: округлая (сферическая, эллипсоидная, яйцевидная, в виде одиночных клеток или соединенных после деления между собой), палочковидная (рис. 1.3, а) (отношение длины клетки к поперечнику сильно варьирует, палочки могут быть изогнуты), спиралевидная с одним или несколькими шагами спирали (спириллы, спирохеты — рис. 1.3, б, в), звездообразная (рис. 1.4 — род *Seliberia*). Размножаются бинарным делением, есть почкующиеся. Подвижные: плавающие и скользящие. Спор не образу-

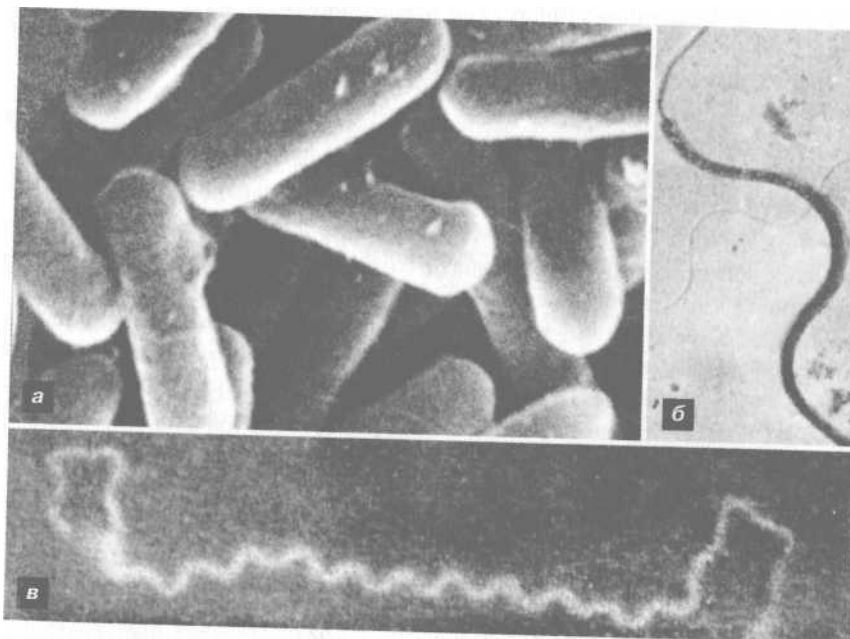


Рис. 1.3. Палочковидные и извитые формы бактерий: а — *Bacillus brevis*, сканирующая микроскопия, $\times 5\,500$ [по: Фафф, 1984]; б — спирохета, $\times 14\,000$ [по: Никитин и др., 1966]

Характеристика групп бактерий, которые будут рассматриваться в последующих главах при обсуждении вызываемых ими процессов и их роли в природе, в этой главе дана не будет.

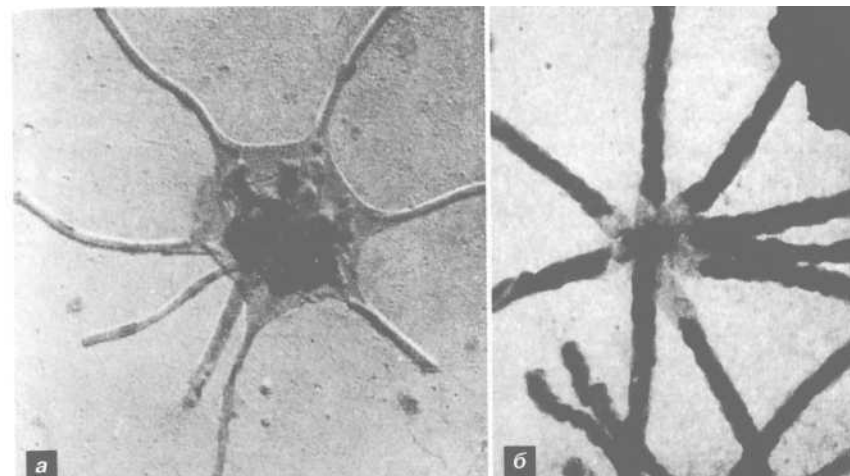


Рис. 1.4. Звездообразные клетки микроорганизмов: а — $\times 24\,000$ [по: Никитин и др., 1966]; б — $\times 6\,000$ [по: Аристовская, 1965]

ют, исключение — род *Sporomusa* и миксобактерии, формирующие на стадии плодовых тел покоящиеся микроспоры, или микроцисты.

Протеобактерии включают более 40% всех известных ранее прокариот и большую часть традиционных грамотрицательных бактерий. Многие из них играют ключевую роль в циклах углерода, серы, азота, имеют важное значение в медицине, ветеринарии, промышленности и сельском хозяйстве.

Среди протеобактерий есть аэробы, анаэробы, микроаэрофилы. Большинство относятся к гетеротрофам, имеются автотрофы (окислительные и аноксигенные, фотосинтезирующие и хемосинтезирующие бактерии).

Распространены в почвах, водоемах, на растениях, как свободноживущие, так и в ассоциациях с животными, человеком, членистоногими и другими организмами. Среди них — обитатели ротовой полости и желудочно-кишечного тракта и возбудители внутрибольничных инфекций (роды *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*). Многие вызывают болезни растений и заболевания человека и животных (бруцеллез, туляремия, менингит, холера и др.). Некоторые протеобактерии фиксируют молекулярный азот. Есть бактерии-хищники по отношению к другим бактериям (род *Bdellovibrio*).

Цианобактерии (синезеленые водоросли). Они составляют отдельную ветвь 16S-рРНК-древа. Широко распространены в природе.

В почвах цианобактерии предпочитают развиваться в период увлажнения; для многих водных (пресноводных, морских) форм особенно благоприятны прибрежные воды; планктонные формы живут в толще воды, встречаются и донные.

Цианобактерии — прокариоты, но, как и растения, осуществляют кислородный фотосинтез (т. е. выделяют кислород) и содержат хлорофилл *a* и другие общие с растениями пигменты; хлорофилл *b* у них отсутствует. У многих есть дополнительные пигменты фикобилины, расположенные в фикобилисомах — округлых тельцах на фотосинтезирующих тилакоидах, образованных тесно сближенными ламеллярными (пластинчатыми) мембранами (см. с. 39).

Морфология цианобактерий разнообразна: среди них есть одноклеточные, колониальные (образуют агрегаты микроколоний, объединяемые слизистыми чехлами), нитчатые — *трихомные*, напоминающие многоклеточный организм (см. с. 9). Клетки внутри трихома имеют разную форму и размеры; при размножении образуют *гормогонии* — короткие, состоящие из 2–3 клеток нити, выскальзывающие из общего трихома и дающие начало новым особям. У некоторых родов образуются специализированные клетки — *акинеты*, служащие одновременно и органами размножения, и устойчивыми покоящимися структурами, а также крупные, покрытые многослойными оболочками *гетероцисты* (см. рис. 1.16 на с. 53), являющиеся центрами азотфиксации.

Окраска цианобактерий варьирует от пурпурно-оранжевой до зелено-синей. Среди прокариот цианобактерии — наиболее высокоорганизованные существа; они представляют узловую группу при переходе от одноклеточных к многоклеточным формам жизни. Встречаются цианобактерии в начинающих свое развитие биогеоценозах, живут в изверженных массах вулканических пород, на рекультивируемых землях, и их можно считать биоиндикаторами начала почвообразовательного процесса.

Грамположительные бактерии. По гену 16S-рРНК они разделились на ветви с «низким Г + Ц» и «высоким Г + Ц». Грамположительные актиномицеты примыкают к ветви «с высоким Г + Ц».

Форма клеток грамположительных бактерий округлая (у многих представителей клетки располагаются парами, образуют цепочки, тетрады, пакеты или иные скопления), палочковидная (многие палочки ветвятся), нитчатая. Размножаются бинарным способом. Палочки родов *Bacillus*, *Clostridium* образуют эндоспоры. В эту группу входят молочнокислые бактерии (шаровидные лактококки, палочковидные лактобациллы, бифидобактерии). Преимущественно хемоорганотрофы. Есть аэробы, анаэробы, факультативные аэробы, микроаэрофилы. Широко распространены в природе.

Актиномицеты. Эти организмы (рис. 1.5, *a*, *б*) составляют примерно четвертую часть общего числа КОЕ бактерий, вырастающих на питательных средах¹. Актиномицеты — обязательные компоненты микробного населения почв.

Особенно распространены в почвах представители рода *Streptomyces*. Актиномицеты (гр. *aktis* — луч, *mykes* — гриб, т. е. лучистые грибы) включают более 100 родов, свыше 50 из которых, подобно грибам, об-

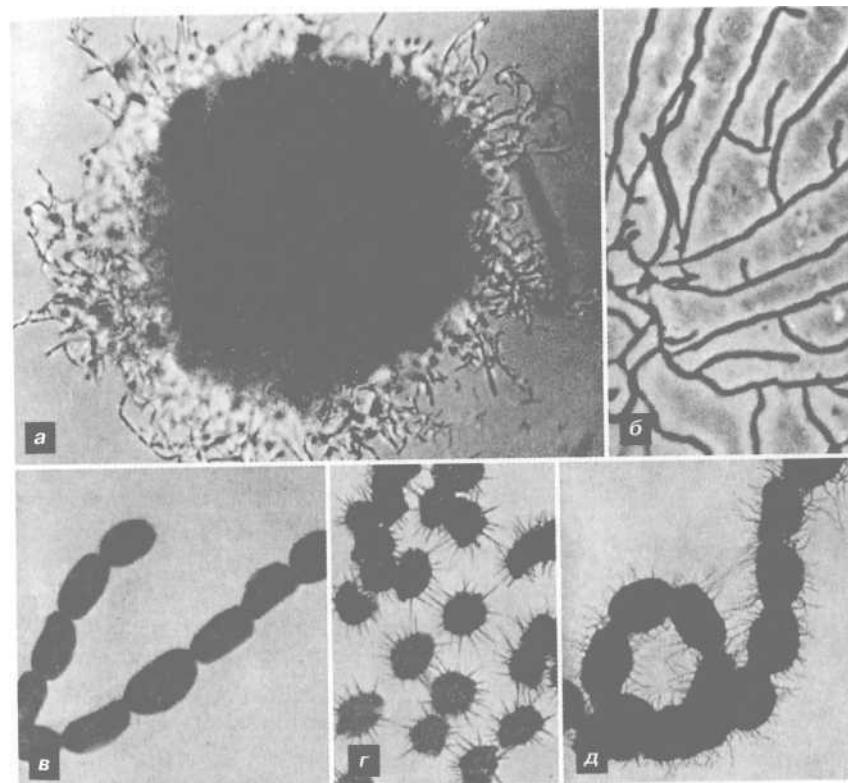


Рис. 1.5. Колония актиномицета на питательной среде (*я*); мицелий *Streptomyces coelicolor* (*б*); поверхность спор разных видов *Streptomyces*; споры гладкие (*с*), с острыми шипами (*г*), с волосками (*д*) [по: Берджи, 1997]

На поверхности питательных сред микроорганизмы образуют *колонии* — потомство одной или нескольких клеток. Уже через 7–12 ч роста колонии некоторых бактерий видны невооруженным глазом, а через 2–3 суток обычно колонии подсчитывают на питательных средах, определяя, сколько колониальных единиц (КОЕ в 1 г или 1 мл) содержится в том или ином субстрате.

разуют *ветвящийся мицелий* (рис. 1.5, б). Как и грибы, они размножаются спорами (рис. 1.5, в—д). Однако в отличие от грибов диаметр миецелиальных нитей (гиф) у них в 5—7 раз меньше.

На питательных средах актиномицеты образуют колонии с характерным *воздушным* и *субстратным* (погруженным в среду) *мицелием*. Они различаются строением и ветвлением мицелия (длина 10—50 мкм, диаметр 0,5—2,0 мкм); строением и расположением спороносов (короткие и длинные, прямые и разветвленные, правильно и неправильно спиралевидные, крючкообразные, мутовчатые); наличие или отсутствием спорангиев; количеством спор на субстратном или воздушном мицелии.

Колонии часто окрашены в различные цвета: от белого (мелового), серого, кремового, желтого, розового, оранжевого, фиолетового, синего, коричневого до почти черного. Обычно сначала поверхность колонии бесцветна, но снизу, со стороны субстратного мицелия, колония окрашена выделяющимся в среду растворимым пигментом, который в последующем нередко и определяет общую ее окраску. Наличие субстратного мицелия обуславливает внешний вид колонии — она, как кнопка, вдавлена в среду.

Актиномицеты имеют мощную гидролитическую ферментную систему, способную разлагать труднодоступные для других микроорганизмов органические субстраты. В природе эти организмы завершают процесс минерализации сложных полимеров на поздних стадиях сукцессии (лат. *successio* — смена, последовательность) микроорганизмов. Они «доедают» остатки некромы (гр. *nekros* — мертвый) растений, животных и т. п., участвуют в трансформации гумуса, хитина. Запах свежеспаханной почвы весной свидетельствует о том, что почва «готова к посеву»; обусловлен этот запах *геосмином* — соединением, продуцируемым актиномицетами.

Актиномицеты — активные продуценты антибиотиков, стероидных гормонов (кортизона, гидрокортизона), различных ферментов (кератиназы, хитиназы); некоторые являются возбудителями кожных заболеваний у лошадей, овец (дерматозов), опухолеподобных разрастаний (гранулем) в тканях и костях (особенно челюстных) человека и животных (актиномикозов); споры некоторых актиномицетов могут быть причиной аллергических респираторных заболеваний; отдельные виды фитопатогенны.

Микоплазмы. Это бактерии, не имеющие клеточной стенки. Они чрезвычайно варьируют по форме: от сферических или грушевидных (0,3—0,8 мкм в диаметре) до разветвленных или спиралевидных тонких

нитей, достигающих в длину 150 мкм. Размеры очень мелких фильтрующих микоплазм в диаметре не превышают 0,2 мкм. Величина генома у этих организмов от $5 \cdot 10^8$ до $1 \cdot 10^9$ Да, т. е. наименьшая из известных у прокариот. Эта особенность исключительно интересна биологически, поскольку такое количество генетического материала находится на грани возможности существования клетки.

При соответствующих условиях развития микоплазмы образуют типичные колонии (диаметром 1 мм) в виде яичницы-глазуньи: центр колонии в отличие от периферии непрозрачен и частично погружен в агаризованную среду (рис. 1.6).

В основном микоплазмы — паразиты или возбудители заболеваний млекопитающих, птиц, насекомых, растений, но есть среди них и сапротрофы. По филогенетической классификации они отнесены к ветви клостридий, хотя ранее их считали наиболее примитивными формами жизни.

Археи (Archaea). Морфологически и цитологически они незначительно отличаются от бактерий. Наиболее существенные различия касаются мембранного 5-слоя (англ. *surface* — поверхность) клеточной стенки. У *монодерм* этого слоя нет, у *дидерм* (в частности, протеобактерий) состав наружной мембраны иной (см. с. 37). 5-слой архей состоит из белковых глобул и уникальных липидов, вместо муреина в «клеточной стенке» находится псевдомуреин.

Форма архей разнообразна — от банальных округлых, спиралевидных и палочковидных до необычных пластинчатых и даже многоклеточных нитей и агрегатов. Диаметр отдельной клетки варьирует от 0,1 до 15 мкм, длина достигает 200 мкм. Многие окрашены в красные, пурпурные, оранжево-коричневые, зеленые, серые тона.

Физиологически археи — это экстремофилы. К ним относятся экстремальные гипертермофилы, метаболизирующие серу; экстремальные галофилы и метаногены, ведущие уникальный процесс синтеза метана.

Гипертермофилы связаны с экзогенными процессами в геосфере. Они развиваются на глубине до 3 км, где температура достигает 100—110 °С. Большинство из них участвуют в обмене серы.

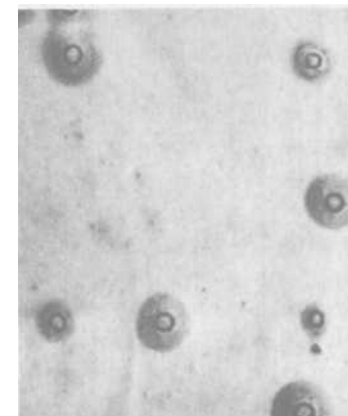
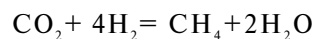


Рис. 1.6. Колонии микоплазм в виде яичницы-глазуньи на питательной среде [по: Стейннер, 1979]

Экстремальные галофилы — галобактерии — живут при концентрации NaCl от 10 до 25% (см. с. 16).

Метаногены (см. с. 75) — строгие анаэробы. Они являются конечным звеном трофических цепей, поскольку, используя продукты брожения других микроорганизмов, образуют метан. Эти археи считаются главным источником метана на Земле. Метан поступает в атмосферу, но частично его перехватывают метанооксиляющие бактерии, или метилотрофы.

Обычным местообитанием метаногенов являются донные отложения водоемов, пищеварительный тракт растительноядных животных, особенно рубец жвачных, гидротермы с H₂. Развиваясь на конечных продуктах других микробных сообществ, они удаляют метаболиты предшествующих групп микроорганизмов. Так, в рубце никогда не накапливается водород, даже в низких концентрациях, так как метаногены тут же его потребляют:



4. Строение клетки бактерий

Клетка прокариот — автономная, саморегулируемая сложная целостная живая система, осуществляющая непрерывный обмен веществами и энергией с окружающей средой. Это отдельный микрокосм, имеющий четкие границы, внутри которых идут химические процессы и циркулирует поток энергии.

В клетке имеется огромный набор высокоспециализированных субклеточных структур, работающих в строгой координации, обуславливая наилучшее приспособление клетки к окружающей среде, ее развитие и воспроизводство.

Г. А. Заварзин (2001) рассматривает прокариотную клетку как систему, состоящую из четырех подсистем: генома — хромосомы с аппаратом репликации; рибосомы — аппарата синтеза белка; цитозоля, включающего сеть метаболических путей с ферментами; мембраны с энергообеспечивающим аппаратом синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и транспортными системами, осуществляющими обмен клетки с внешней средой.

4.1. Капсула

Снаружи клетка покрыта желеобразной слизистой **капсулой** (при толщине до 10 мкм — это *макрокапсула*, менее 0,2 мкм — *микрокапсула*, еще тоньше — *слизистый слой* и *растворимая слизь*). Вещество капсулы заряжено отрицательно: катионы из окружающей среды поглоща-

ются и аккумулируются клеткой и в капсуле создается пул катионов, которые потом используются клеткой. Вещество капсул высокогидрофильно и способствует поглощению влаги бактериями, развивающимися в условиях ограниченной влажности. Капсула на 98% состоит из воды и поэтому служит осмотическим барьером, защищающим клетку от высыхания и переувлажнения. Остальную часть в капсуле составляют высокомолекулярные (молекулярная масса до 1 млн) вещества: полисахариды (например, *гликокаликс* — длинные гликополисахаридные фибриллы, обеспечивающие у типичного обитателя ротовой полости *Streptococcus mutans* прикрепление клетки к зубной эмали); полипептиды у бацилл, в частности у тех, которые вызывают процесс аммонификации белковых соединений, липиды у туберкулезных микобактерий (у них и у некоторых других патогенных бактерий капсула образуется при их проникновении в макроорганизм в ответ на действие его механизмов защиты, или на средах с кровью). Только уксуснокислые бактерии *Acetobacter xylinum* имеют целлюлозную капсулу — своеобразные пленки-плотики, всплывающие к поверхности среды и обеспечивающие клеткам лучшую аэрацию (как правило, у прокариот целлюлозы нет). В условиях недостатка питательных веществ капсула может использоваться клеткой в качестве резервного источника питания. Иногда капсула предохраняет клетку от действия токсических веществ.

Капсулы бактерий могут быть причиной порчи продуктов. Так, если молочнокислая бактерия *Leuconostoc mesenteroides* — вредитель свеклосахарного производства — попадает в патоку, она, образуя огромные гликополисахаридные капсулы, может за несколько дней превратить патоку в похожую на лягушачью икру слизистую массу и нанести этим большой ущерб производству. Вместе с тем гликополисахариды капсул этой бактерии используют как основу полиглюкана — препарата, заменяющего плазму крови.

Палочковидная бактерия *Zoogloea ramigera* (рис. 1.7) играет ведущую роль в формировании *активного ила* (микробного сообщества и продуктов его жизнедеятельности). Активный ил обладает высокой адсорбционной способностью и используется при очистке бытовых сточных вод. Аморфную основу ила образуют капсулы клеток, которые по мере старения последних отслаиваются и превращаются в *зооглеи* — гелеобразный матрикс.

4.2. Клеточная стенка

Клеточная стенка — тонкая, отчетливо очерченная, ригидная (лат. *rigidus* — твердость), т. е. относительно плотная, достаточно жесткая, уп-

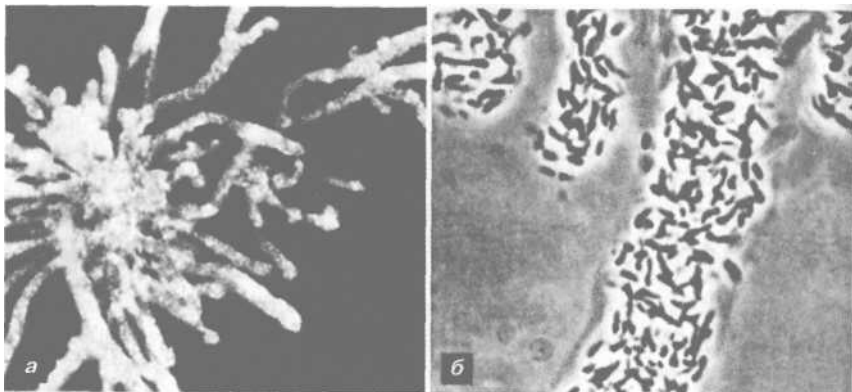


Рис. 1.7. *Zoogloea ramigera*: колония (а) и клетки в слизистом веществе (б) [по: Шлегель, 1987]

ругая и одновременно эластичная структура, которая противостоит внутреннему (0,5—2,0 МПа) и внешнему (0,1 МПа) давлению.

В 1884 г. датский цитолог Х. Грам обнаружил способность микроорганизмов по-разному окрашиваться анилиновыми красителями. Если последовательно обработать клетки кристаллическим фиолетовым и раствором иода, образуется окрашенный в сине-фиолетовый цвет комплекс. В зависимости от химического состава клеточной стенки у одних бактерий (*грамположительных*) окрашенный комплекс сохраняется при дополнительной обработке спиртом, у других (*грамотрицательных*) он обесцвечивается. **Окрашивание по Граму** служит тестом для быстрой диагностики и идентификации бактерий.

Окраска по Граму определяется присутствующим в клеточной стенке муреином. *Муреин* (лат. *mirus* — стенка) — уникальный гетерополимер с характерными субъединицами, входящими в гликановые и пептидные цепи. Первые состоят из чередующихся аминокислот: N-ацетилмурамовой кислоты и N-ацетилглюкозамина, вторые — из 4,5-D-аминокислот и необычных диаминокислот, в частности диаминопимелиновой кислоты.

Муреин придает клетке механическую прочность, содержит положительно и отрицательно заряженные группы и влияет на поверхностный заряд клетки. У грамположительных бактерий муреин многослойный (до 40 слоев), он составляет 40—90% всей массы клеточной стенки. В состав клеточной стенки грамположительных бактерий входят также *тейхоевые кислоты* (гр. *teichos* — стенка) и полисахариды.

Клеточная стенка грамположительных бактерий — *монодерма* (имеет один слой) — выглядит под электронным микроскопом как гомогенный электроплотный слой толщиной 50—80 нм.

У грамотрицательных бактерий (протеобактерий) клеточная стенка — *дидерма* (имеет два слоя), ее общая толщина 10—20 нм.

В наружный слой мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий входят фосфолипиды, липополисахариды, липопротеиды, белки. Доля липидного компонента у грамотрицательных бактерий достигает 10—45% (у грамположительных — 1—4%). Наружная мембрана плотно примыкает к *муреиновому сакулосу* (англ. *saculus* — мешок), состоящему из одного или двух слоев муреина (2—3 нм).

Муреин грамотрицательных бактерий составляет всего лишь 1—10% всей массы клеточной стенки, но он также определяет ее прочность и ригидность.

Промежуток между муреином и цитоплазматической мембраной называют *периплазматическим пространством*.

В периплазматическом пространстве находятся транспортные ферменты (пермеазы, или транслоказы), играющие важную роль в питании клетки, и гидролазы, расщепляющие сложные молекулы в присутствии воды. У грамположительных бактерий эти ферменты выделяются во внешнюю среду.

Наличие муреина не является особенностью всех прокариот, его нет и у лишенных клеточных стенок микоплазм, а также у архей, имеющих иной состав клеточных стенок.

Механизм действия ряда лекарственных препаратов, в частности антибиотиков, на бактерии — возбудители заболеваний, основан на способности этих препаратов разрушать связи в муреине клеточных стенок прокариот. Так как у клеток человека и животных нет клеточных стенок, для них такие препараты безвредны.

Разрушить клеточную стенку прокариот можно ультразвуком, *лизоцимом* (литическим ферментом, фактором неспецифического иммунитета человека и животных, содержащимся в слюне, слезах, крови, молоке, яичном белке и т. п.).

При разрушении клеточной стенки клетка приобретает шаровидную форму, так как растекание цитоплазмы сдерживает цитоплазматическая мембрана. У грамположительных бактерий клеточная стенка разрушается полностью и образуется *протопласт*, окруженный только цитоплазматической мембраной. У грамотрицательных бактерий обычно остаются участки неразрушенной клеточной стенки; такая шаровидная структура называется *сферопластом*.

4.3. Цитоплазматическая мембрана и мезосомы

В момент тургора **цитоплазматическая мембрана** (ЦМ) плотно примыкает к клеточной стенке. Она универсальна — имеется у всех живых существ, элементарна — проста по структуре и одинакова у всех организмов. Ее называют *унитарной* мембраной: *уни* — от «универсальная», *-тарная* — от «элементарная» (unit membrane, или мембрана Робертсона—Даниелли, по имени ученых, установивших ее свойства).

ЦМ состоит из трех слоев: белковые слои по краям (от 50 до 75% состава), бимолекулярный слой липидов в центре (15—45%). Роль барьера для молекул и ионов, поступающих из среды в клетку, выполняет в основном центральный слой. Каждый слой имеет толщину примерно по 25 А. В состав крайних слоев входят разнообразные белки.

Строение ЦМ соответствует жидкостно-мозаичной модели, разработанной для мембраны эукариот. Степень текучести мембраны определяется липидным бислоем и температурой окружающей среды. Жидкостное состояние ЦМ обуславливает способность фосфолипидных молекул липидного бислоя к вращению и латеральному (лат. *latus* — бок) перемещению в соответствующем участке мембраны.

Липиды со встроенными в них белками образуют подвижную мозаику.

В зависимости от ориентации в мембране и характера связи с липидным бислоем белки ЦМ делят на периферические и интегральные. Периферические белки, в свою очередь, разделяют на *собственно периферические*, связанные с липидами в основном электростатически (связи могут также осуществляться с помощью липидного «якоря» или ассоциацией с интегральными белками), часто погруженные в гидрофобную (гр. *phobos* — боязнь, отталкивание) область липидного бислоя, и *поверхностные*, находящиеся вне бислоя и связанные с ним исключительно электростатически. *Интегральные* (лат. *integer* — целый) белки плавают в липидном бислое и пронизывают его целиком, насквозь. С липидами они связаны с помощью входящих в состав белка гидрофобных аминокислот прочными взаимодействиями (рис. 1.8, 1.9).

ЦМ выполняет ряд функций: защищает протопласт, обеспечивая сохранение разности концентраций метаболитов и неорганических ионов между внутриклеточной и внешней средой; синтезирует клеточную стенку, капсулу; участвует в делении, спорообразовании клетки; обладает избирательностью при проникновении питательных веществ в клетку; контролирует связи с аппаратом генерации АТФ и регуляции движения жгутиков.

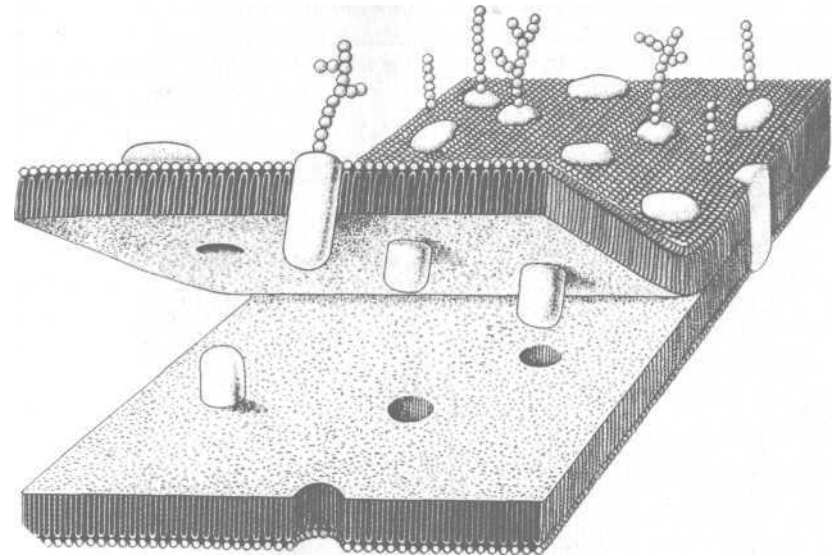


Рис. 1.8. Модель цитоплазматической мембраны на основе метода криоскальвания

Производными ЦМ являются **мезосомы** — инвагинации (впячивания) мембраны, растущей внутрь клетки. Мезосомы бывают *тубулярные* (трубчатые), *везикулярные* (оканчивающиеся везикулой, лат. *vesicula* — пузырек) и *ламеллярные* (пластинчатые — *тилакоиды*). У большинства прокариот мезосомы всегда связаны с ЦМ. Исключением служат цианобактерии, у которых тилакоиды большей частью отделены от ЦМ и автономны. В мезосомах ЦМ (аналогах митохондрий эукариот) локализованы окислительно-восстановительные ферменты и происходят наиболее важные реакции энергетического обмена, например окислительное фосфорилирование (см. с. 69).

Если при разрушении клеточной стенки клетка только меняет форму, превращаясь в протопласт или сферопласт (см. с. 38), то разрушение ЦМ приводит к гибели клетки, поскольку ЦМ — главный барьер между цитоплазмой и внешней средой.

4.4. Цитоплазма

ЦМ окружает цитоплазму, химической основой которой являются белки, аминокислоты, углеводы, жиры, минеральные соли и их конъюгаты; в зависимости от возраста клетки и условий среды 70—80% цитоплазмы занимает вода. Свободная вода в цитоплазме удер-

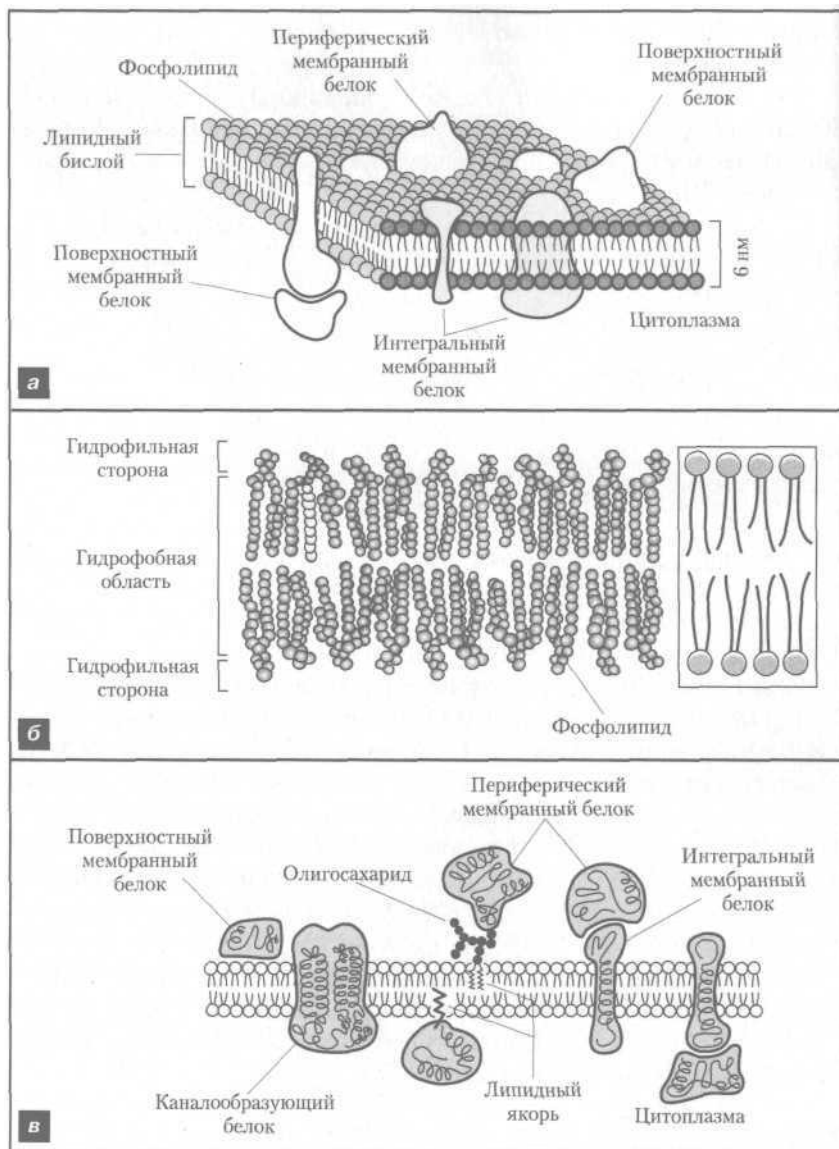


Рис. 1.9. Цитоплазматическая мембрана: а — структура; б — мембранные липиды; в — мембранные белки [по: Кольмен, Рём, 2000]

живается капиллярными силами, связанная - за счет Н-связей. фракция цитоплазмы, имеющая гомогенную консистенцию (растворенные РНК, белки, субстраты метаболических реакций), представляет собой **цитозоль**.

Структурная основа цитоплазмы - **рибосомы**. Диаметр рибосом - 20-40 или 10-20 нм. Они состоят на 60% из РНК и на 40% из белка. Общая масса их составляет 1/4 клеточной массы, а количество рибосомальной РНК - до 80-85% всей РНК клетки.

От 5 до 90 тыс. рибосом рассеяны в цитоплазме клетки. Иногда в клетке образуются целые ансамбли рибосом, включающие также молекулы информационных и транспортных РНК, их называют **полирибосомами** или **полисомами**. Полисомы могут быть связаны с мембранными структурами клетки, что отличает рибосомы прокариот от рибосом эукариот. Функция рибосом — синтез белка.

Рибосомы имеют константу седиментации (лат. *sedimentum* - оседание) 70S (по Сведбергу), характеризующую скорость, с которой эти частицы осаждаются в центрифуге при обычных условиях: их называют рибосомы прокариот 70S типа. Они состоят из двух субъединиц: 50S и 30S, каждая из которых содержит еще две. Так, 50S субъединица состоит из 23S и 5S более мелких субъединиц, а 30S - из 16S и 21S.

У эукариотной клетки рибосомы имеют константу седиментации 80S и состоят из субъединиц 60S и 40S.

В цитоплазме прокариот имеются включения без мембранной оболочки, выполняющие роль **запасных веществ**. Это полисахариды: **гликоген** (животный крахмал), **гранулеза** (вещество, близкое крахмалу); гранулезу накапливают перед началом спорообразования маслянокислые бактерии рода *Clostridium*, что служит для них диагностическим признаком. К резервным включениям относятся полифосфаты: **волютин** (азот- и фосфорсодержащее вещество, характеризующееся **метахромазией**, т. е. изменением цвета красителя при окраске; так, при **окрашивании** клеток метиленовым синим волютин окрашивается в красный цвет). При старении клеток и при избыточном питании накапливаются **липиды**. У серных бактерий, окисляющих сероводород, в цитоплазме могут откладываться капельки **серы** (с. 127). Сера как резервный источник энергии тратится по мере расходования сероводорода.

4.5. Геном клетки

Геном клетки - организатор всех согласованных процессов в клетке, носитель текущей и исторической информации.

Взаимозаменяемыми терминами генома являются **нуклеоид**, **эквивалент ядра**, **бактериальная хромосома**. У прокариот не происхо-

дит митоз, мейоз, у них образуется зигота, но имеет место перенос и рекомбинация генов. Нити ДНК не соединены каким-либо регулярным способом с белком в отличие от ядра эукариот, у которых ДНК соединена с гистонами. Возможно, роль белка у прокариот выполняют протамины с неполным набором аминокислот и низкой молекулярной массой (не более 10 тыс.).

У кишечной палочки *Escherichia coli* длина ДНК в 500—1000 раз превышает длину клетки, в ней содержится $4 \cdot 10^6$ нуклеотидных пар, она плотно замкнута в кольцо. В клетке может быть несколько копий ДНК. У генома прокариот нет мембраны, ядрышка, состоящего из РНК, но сосредоточенные вокруг него плотным кольцом полисомы создают впечатление ядерной мембраны. Считается, что они выполняют роль ядрышек.

У некоторых бактерий (роды *Pseudomonas*, *Proteus*) обнаружены так называемые *rapidосомы*, ИЛИ *микротрубочки* {микротубули), — полые и неполые цилиндры, служащие, как предполагают, якорными структурами нуклеоида.

Кроме нуклеоида, в клетке могут находиться *плазмиды*, более короткие наследственные детерминанты (рис. 1.10), нити нехромосомной ДНК, замкнутые в кольцо. Они автономны, самореплицируются и передаются от клетки к клетке. Все плазмиды могут существовать в клетке и в интегрированном с бактериальной хромосомой состоянии, сохраняя при этом способность переходить к автономии. Наиболее крупные плазмиды содержат сотни генов. Плазмиды, несущие *фертильный* (лат. *fertilitas* — оплодотворяющий, половой) F-фактор, определяют способность клетки к конъюгации.

F-фактор представляет собой фрагмент ДНК, составляющий всего 1% от ДНК бактериальной хромосомы. Он отвечает за перенос части ДНК клетки-донора в реципиентную клетку, которая превращается в *мерозиготу* (гр. *meros* — часть, *zygos* — слияние, спаривание), т. е. неполную зиготу, содержащую часть генома донора и полный геном клетки-реципиента. F-фактор отвечает также за образование *F-пилей* (*секс-пилей*) (см. с. 45).

K-плазмиды (лат. *resisto* — сопротивляюсь) придают бактериям устойчивость к лекарственным веществам, в частности к антибиотикам, а также тяжелым металлам (ртути, кадмию и др.). R-плазмиды переносят также способность бактерий разрушать такие соединения, как нафталин, октан, салицилат. У водородной бактерии *Variovorax paradoxus* обнаружена плаزمида, разрушающая гербицид 2,4-Д (дихлорфеноксисукусную кислоту), и эта широко распространенная в природе плазмида легко перехо-

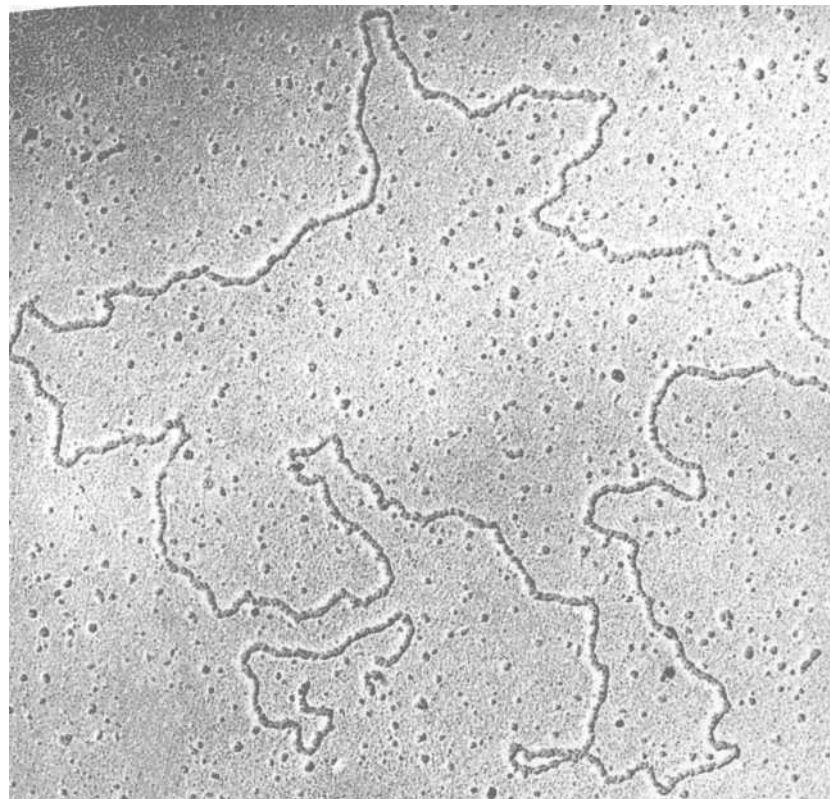


Рис. 1.10. Плазмида, выделенная из *Streptomyces coelicolor*, длиной 10 мкм; напыление платиной увеличивает ее толщину, $\times 84\,000$ [по: Фафф, 1984]

дит из клетки в клетку. Передающиеся R-плазмиды нередко отвечают за множественную устойчивость к нескольким препаратам: лекарственным веществам, антибиотикам, солям тяжелых металлов.

Кроме того, в клетке бактерий имеются мигрирующие генетические элементы (МГЭ), являющиеся сегментами ДНК, — это *транспозоны*, роль которых заключается в транспозиции (перемещении) из одного места генома в другое, без перехода в автономное состояние. Транспозоны могут перемещаться не только в хромосоме, но и переходить на плазмиду или с плазмид в хромосому. Комбинации плазмид с транспозонами особенно благоприятны для распространения множественной лекарственной устойчивости. Благодаря подвижности сложной генетической структуры бактериальных клеток реализуются изменчивость и эволюция прокариот.

5. Движение, размножение и спорообразование бактерий

5.1. Движение бактерий

Существуют бактерии, плавающие в жидкой среде и скользящие по плотной. Впервые движение бактерий наблюдал А. Левенгук и именно на основе движения отнес их к «анималькулям» (зверюшкам), считая, что подвижность присуща лишь животным.

Локомоторным органом плавающих бактерий (а это, как правило, палочковидные формы) является **жгутик**. Жгутик представляет собой относительно жесткую спираль, обычно закрученную против часовой стрелки. Длина его до 20 мкм, диаметр 10–20 нм; в течение 1 с

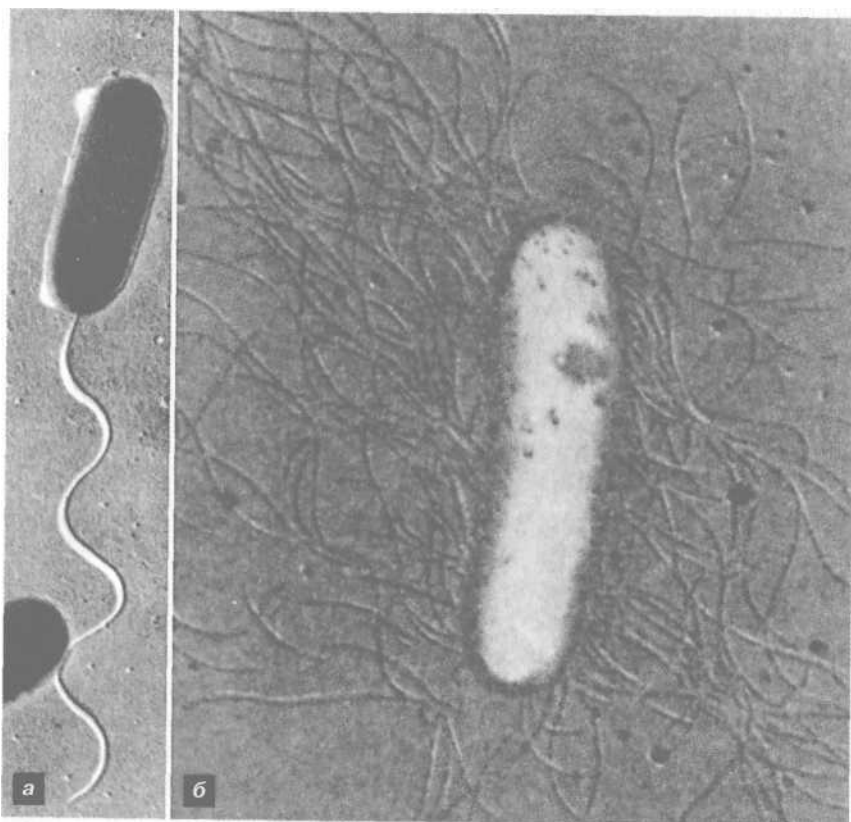


Рис. 1.11. Бактерии рода *Pseudomonas* — монотрих (а) и рода *Bacillus* — перитрих (б)

клетка со жгутиками преодолевает расстояние, равное длине клетки, иногда — в 50–100 раз большее. Жгутик состоит из *флагеллина* — белка с молекулярной массой 20–40 тыс. (подобен миоглобину), в составе которого отсутствуют некоторые аминокислоты. Бактерии, имеющие один жгутик на полюсе клетки, называют *монотрихами* (рис. 1.11, а), с пучком жгутиков на конце клетки — *лофотрихами*, с пучками на обоих полюсах — *амфитрихами*, со жгутиками по всей поверхности — *перитрихами* (рис. 1.11, б). Спиральные грамотрицательные бактерии родов *Spirochaeta* и *Leptospira* имеют внутриклеточные, закрепленные на концах жгутики и плавают за счет ритмических сокращений клетки. В вязких средах эти бактерии ввинчиваются в среду, подобно штопору.

У водных плавающих не образующих жгутиков бактерий *Nitrosomonas cryotolerans* имеются *аэросомы* — газовые вакуоли, окруженные однослойной белковой мембраной. Белок в мембране уложен так, что гидрофильные аминокислоты белка обращены наружу, гидрофобные — во внутрь, что препятствует проникновению воды в клетку. Аэросомы служат для снижения удельной массы клеток и пассивного перемещения бактерий в толще воды.

Скольжение по плотной среде свойственно некоторым цианобактериям и миксобактериям.

Предполагалось, что миксобактерии, выделяя слизь с одного конца клетки, передвигаются за счет реактивных сил в противоположном направлении. Однако на модели было доказано, что для этого потребовалось бы за 1 с выделить столько слизи, что она бы превысила массу цитоплазмы. Более вероятно перемещение миксобактерий по субстрату путем роения — *шварма* (нем. *schwarm* — толпа). Стадия роения предшествует образованию плодовых тел. Роение координированно перемещающихся по субстрату клеток становится возможным из-за разницы в притоке питательных веществ к клеткам, находящимся на краю колонии миксобактерии и в ее глубине. Образование шварма может наблюдаться и у бактерий рода *Proteus*, имеющих жгутики.

В ротовой полости млекопитающих (собак, кошек, овец, человека) обитает скользящая трихомная бактерия *Simonsiella*. У нее различают брюшную с короткими ресничками (волоконками) и спинную стороны. Ползти она может только при контакте брюшной стороны с субстратом (рис. 1.12).

Помимо жгутиков, на поверхности подвижных и неподвижных бактерий могут быть *фимбрии* (лат. *fimbriatus* — бахрома), или *пилы* (лат. *pilus* — волос), — жгутикоподобные образования, расположенные

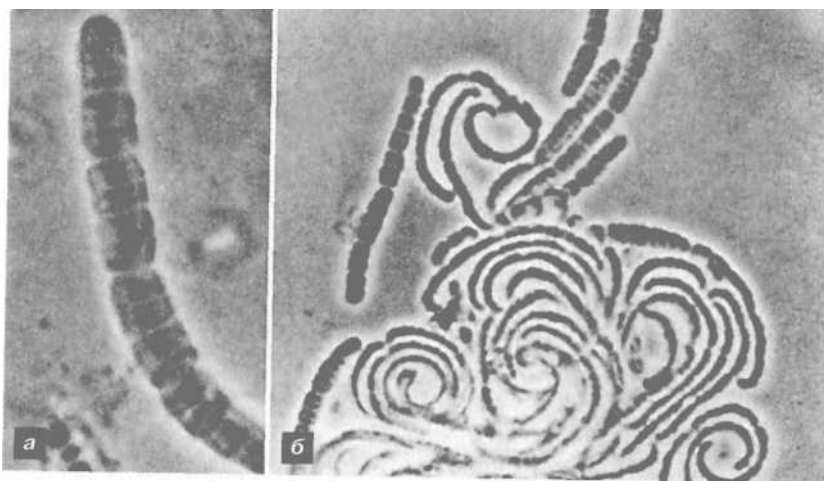


Рис. 1.12. *Simonsiella crassa*: а - ползущая короткая нить; б - микроколония [по: Берджи, 1997]

на полюсах латерально или перитрихально (рис. 1.13). В отличие от жгутиков они имеют цилиндрическую, слабоизогнутую, нитчатую, лопастную или другую, но не спиралевидную форму. Длина их достигает 1,5 мкм, диаметр составляет примерно 7 нм, внутренняя полость (если

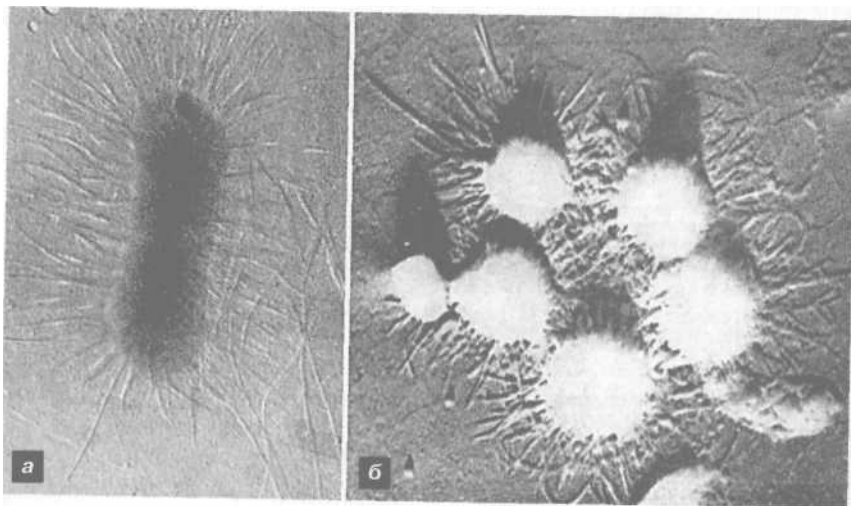


Рис 1.13 Фимбрии у палочковидных бактерий (а), шаровидных бактерий (б), х 27 000 [по: Никитин и др., 1966]

имеется) — 2,0—2,5 нм. Функции фимбрий могут быть различными, но они не связаны с движением. Состоят фимбрий из гидрофобного белка пилина с молекулярной массой от 1450 до 26 200. Известны И видов фимбрий, отвечающих за разные функции клетки. Так, пили у многих грамотрицательных бактерий, по-видимому, способствуют слипанию клеток между собой и прилипанию к субстрату. За передачу генетического материала отвечают sex-пили (половые F-пили), служащие конъюгационным тоннелем, по которому происходит передача генов. Обычно при этом передается не более двух признаков, образующаяся зигота является неполной — *мерозиготой*. У одной клетки может быть от 50 до 400 фимбрий.

Формирующиеся на стадии роения у миксобактерий пили способствуют межклеточным контактам шварма,двигающегося по субстрату.

Движение бактерий, ориентированное по отношению к какому-либо стимулу, называется **таксисом**.

Хемотаксис — направленное движение бактерий в сторону увеличения или уменьшения концентрации химического соединения — эфффектора. Среди эфффекторов есть вещества, привлекающие бактерий, — *аттрактанты*, и вещества, отпугивающие их, — *репелленты*.

Фототаксис — это движение к свету у фотосинтезирующих бактерий, *магнитотаксис* (см. также с. 132) — способность ориентированно двигаться в соответствии с направлением силовых линий магнитного поля Земли. Обитают магнитобактерии в водоемах с малоподвижной водой (заболоченные пресноводные водоемы, пруды для очистки сточных вод). Содержание железа в форме ферромагнитного оксида (выполняющего функцию магнитной стрелки) в минеральных кристаллических *магнетосомах* у магнитобактерии достигает 3,8% на клетку, у обычных бактерий оно не выше 0,025%. Если поднести к такой воде или илу магнит, то в 1 мл можно собрать до 10^9 клеток магнитобактерий. Поскольку магнитные линии Земли располагаются вертикально, магнитобактерии перемещаются не к полюсам, а ко дну водоема, илу, где сосредоточена их пища. Еще более широко в микромире распространены магнитобактерии с внутриклеточными органически магниточувствительными структурами.

Таксисы рассматривают как элементарную поведенческую реакцию в ходе эволюции жизни на Земле.

5.2. Рост, развитие и размножение бактерий

Рост бактерий — это физиологический процесс координированного увеличения размеров и массы клетки, независимо от того, происходит ли при этом увеличение численности клеток. Если бактерии не имеют

определенных циклов развития, как, например, миксобактерии, то проследить за качественными или функциональными особенностями **развития** клетки в период от размножения до размножения, т. е. за время генерации, практически невозможно, поскольку у клеток бактерий при оптимальных условиях существования время генерации составляет в среднем 30—40 мин. Понятие «развитие» больше применимо к *популяции* бактерий (лат. *populas* — народ, население; в микробиологии — совокупность клеток одного вида, имеющих общий генофонд и занимающих определенную территорию), а не к индивидуальной клетке. **Размножение** бактерий происходит путем удвоения клетки и приводит к увеличению числа клеток в популяции. Понятия «рост» и «размножение» приблизительно совпадают, означая увеличение численности. Бактерии размножаются *бинарным* делением: из одной клетки образуются две. Это не относится к почкующимся бактериям, цианобактериям и актиномицетам.

Поскольку в геноме клетки до 300 тыс. витков ДНК, нить должна раскручиваться со скоростью 10 тыс. оборотов в минуту. Это явно превышает реальную скорость репликации. Считается, что репликация ДНК происходит полуконсервативным способом, при котором дочерние клетки получают по одной нити материнской клетки и одну новую синтезируют. В синтезе недостающих нитей принимают участие ферменты особого комплекса — *реплисомы*, которые также снижают и число витков суперспирализованной нити, деля ее на организованные единицы — *репликоны*.

Для большинства прокариот характерно *изоморфное* (равновеликое) поперечное деление на две дочерние клетки. В период подготовки к делению клетка растёт в обе стороны.

Грамотрицательные бактерии, как правило, делятся перетяжкой, грамположительные — за счет образования перегородки. В месте деления клетки клеточная стенка инвагинирует (врастает) внутрь клетки под прямым углом до тех пор, пока перегородка не сформируется полностью. Сформировавшаяся перегородка состоит из плотно примыкающих друг к другу двух клеточных стенок, которые после завершения деления разъединяются и каждая становится полюсом новой клетки.

При *гетероморфном* (разновеликом) бинарном делении клетка растёт только в одну сторону и образуются две неравные клетки. Вариантом данного способа деления является *почкование*.

5.3. Спорообразование у бактерий

Спорообразование у бактерий — это сложный процесс дифференциации клеток, который происходит во всей популяции: внутри вегета-

тивных клеток образуются новые клетки — *споры*, отличающиеся от вегетативных клеток структурой, химическим составом и функциональными свойствами.

Спорообразование бактерий — это не способ размножения, это способ перенесения неблагоприятных условий внешней среды. Из одной клетки возникает только одна спора. Сейчас описаны клетки, в которых обнаружены 2—3 споры, но они являются исключением.

Казалось бы, для бактерий способность к образованию спор — очень полезное свойство: отсутствует источник питания, неблагоприятны для развития температура, рН среды, а клетка тем не менее не гибнет, так как превращается в спору. И логично предположить, что эволюция должна была бы идти по пути формирования у бактерий такой способности. Однако это не так. У бактерий более 600 родов, а к спорообразованию способны лишь 15—16 из них.

Все спорообразующие бактерии относятся преимущественно к грамположительным бактериям. Во всяком случае, если они и не окрашиваются по Граму, у них нет наружной липопротеидной мембраны. В последние годы способность к спорообразованию выявлена у грамотрицательной (с атипичной клеточной стенкой) бактерии рода *Sporomusa*, обитающей в кишечнике термитов, в промышленных отходах, иле.

Среди родов бактерий, образующих споры, треть относится к палочковидным, остальные имеют разнообразную форму клеток: округлую, спиралевидную, нитчатую.

Не так давно появилась версия о том, что спорообразование — это тоже деление клетки, при котором одна клетка (материнская) — это отмирающий спорангий, а вторая (дочерняя) — выживающая резистентная эндоспора.

Начало спорообразования наступает, когда завершается процесс репликации хромосомы клетки, причем сигнал к спорообразованию должен быть принят еще в период репликации, иначе процесс размножения будет продолжаться.

В развитии споры участвуют геном материнской клетки и геном споры. Геном материнской клетки определяет синтез дипиколиновой кислоты, белков, ферментов (в том числе литических), антибиотиков, токсических веществ, покровов споры, выростов. Оба генома участвуют в формировании кортекса (коры) споры. *Кортекс* — это видоизмененный муреин, в котором отсутствуют теихоевые кислоты, пептиды.

В начальный период образования споры происходит накопление белков, поэтому показатель преломления в месте формирующейся споры возрастает.

Процесс развития споры проходит ряд стадий.

Первая стадия — формирование протопласта в материнской клетке. Геном материнской клетки (иногда часть генома) обособляется с окружающей его уплотненной цитоплазмой от содержимого клетки с помощью перегородки, растущей от периферии к центру. Образование перегородки напоминает деление (размножение) клетки, но здесь, как при размножении, не участвует клеточная стенка, а только ЦМ материнской клетки, которая отсекает уплотненное содержимое клетки и формирует протопласт, окруженный одной ЦМ.

Вторая стадия — формирование проспоры. Вокруг протопласта ЦМ материнской клетки формирует вторую элементарную ЦМ — возникает проспора, окруженная двумя унитарными мембранами. Фактически проспора — это протопласт, окруженный двумя ЦМ. На этой стадии процесс развития споры становится необратимым.

Третья (видимая) стадия — формирование клеточной стенки и кортекса споры. Между внутренней и наружной ЦМ проспоры начинает синтезироваться кортекс, а поверх наружной ЦМ проспоры — клеточная стенка, состоящая нередко из нескольких слоев. В формировании слоев споровых покровов принимают участие как наружная мембрана проспоры, так и протопласт материнской клетки.

Четвертая стадия — лизис содержимого материнской клетки (спорангия). После лизиса клеточная стенка и ЦМ материнской клетки окружают проспору. Одновременно завершается формирование кортекса, начинается образование дополнительных покровов споры, которое завершается в следующей стадии.

Пятая стадия — формирование зрелой споры с экзоспориумом. Формирование *экзоспориума* — структуры, иногда многослойной и располагающейся поверх покровов споры, присуще многим бактериям.

Оболочка споры (рис. 114, а—в) очень плотная и состоит как минимум из 5—7 слоев: 2 ЦМ проспоры; кортекс между ними; клеточная стенка, синтезированная наружной мембраной проспоры; ЦМ и клеточная стенка материнской клетки. На наружной оболочке споры часто имеются колючки, шипы, трубчатые, лентовидные выросты ит.п.

Спора бактерий — это уникальная структура по степени устойчивости к неблагоприятным условиям среды, поскольку обеспечивает выживаемость клетки в состоянии анабиоза в течение десятков—сотен лет в отсутствие питательных веществ или при неблагоприятных температуре, влажности, рН. Зрелая спора обладает терморезистентностью. Это связано, прежде всего, с отсутствием в споре свободной воды (15—18%), так как свободная вода при формировании споры пере-

ходит в связанное состояние. Вода, которая образуется при дыхании спор аэробных бактерий, поглощается кортексом. Устойчивость споры связана также с образованием дипиколиновой кислоты (пиридин-2,6-дикарбоновой кислоты) из диаминопимелиновой, входящей в состав муреина вегетативной клетки. Дипиколиновая кислота находится в споре в виде дипиколината кальция, ее содержание в зрелых спорах достигает 15%. Помимо кальция, в споре повышено содержание катионов магния, марганца, железа, с которыми также связывают ее термостойкость и механическую прочность. Химическая устойчивость эндоспор обусловлена непроницаемостью их оболочек для мно-

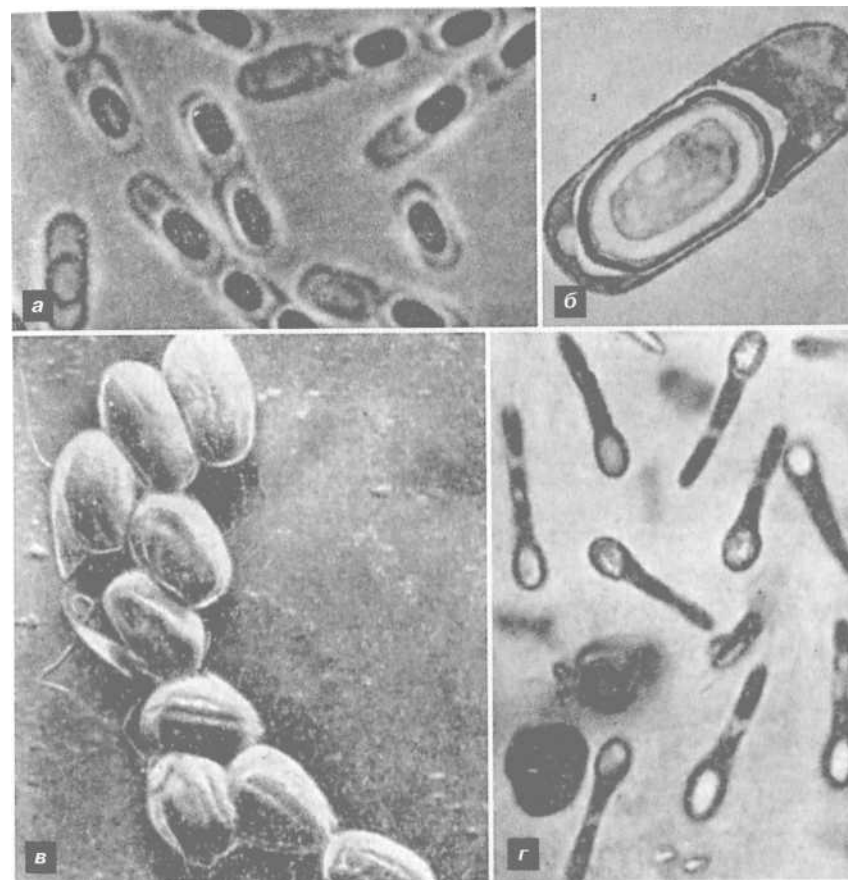


Рис. 1.14. Споры в клетках *Bacillus cereus* (а), *B. subtilis*, ультратонкий срез (б), *B. licheniformis*, зрелые споры (в), *Clostridium pasteurianum* (г) [по: Стейниер, 1979]

гих веществ. В споре повышено содержание липидов, белка, серосодержащих аминокислот, особенно цистеина (наличие последнего связывают с ее устойчивостью к радиации).

По характеру расположения и размеру споры выделяют несколько **видов спорообразования**: **бацилярный** у бактерий рода *Bacillus*, **кlostридиальный** и **плектридиальный** у бактерий рода *Clostridium*. Если спорообразование бацилярное, то формирующаяся в клетке спора (независимо от того, где она располагается — в центре клетки, на одном из ее полюсов) имеет меньший диаметр, чем диаметр материнской клетки, и клетка с развивающейся спорой не меняет своей формы (рис. 1.14, а, б). У бактерий рода *Clostridium* формирующаяся спора всегда большего диаметра, чем материнская клетка. В зависимости от того, где она располагается, спора в процессе развития меняет форму клетки. У маслянокислых бактерий *C. butyricum* спора образуется в центре клетки и клетка приобретает форму веретена (кlostридиальное спорообразование). У целлюлозоразрушающих *C. thermocellum*, маслянокислых *C. pasteurianum* она располагается на конце клетки, и клетка выглядит как барабанная палочка (плектридиальное спорообразование) (рис. 1.14, в).

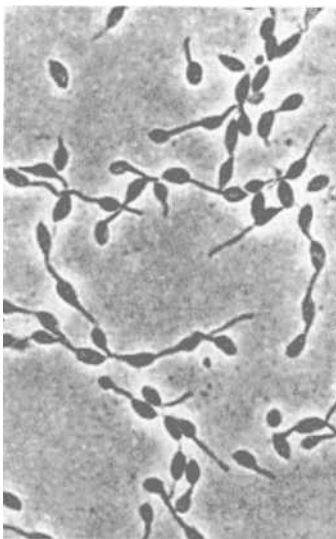


Рис. 1.15. Экзоспоры у почкующих фотосинтезирующих аноксигенных бактерий *Rhodomicrobium vannielii*, х 1 200 [по: Шлегель, 1987]

Чтобы разделить спорообразующие и неспорообразующие бактерии, надо нагреть культуру до 80 °С: споры при такой температуре сохраняются, а неспорообразующие бактерии погибают. Большинство спор хорошо переносит высушивание, даже длительное (5—6-часовое) кипячение, поэтому чтобы убить споры следует провести жесткую стерилизацию (лат. *sterilis* — бесплодный) в автоклаве, создавая температуру выше 100 °С (120 °С) и, главное, — давление выше атмосферного.

Кроме спор, у бактерий могут быть другие, хотя и менее стойкие **покоящиеся формы**. Это — экзоспоры, цисты, акинеты, миксоспоры.

Пример **экзоспор** — экзоспоры почкующих фотосинтезирующих аноксигенных бактерий. Так, у *Rhodomicrobium vannielii* (рис. 1.15) устойчивые к высушиванию и УФ-лучам экзоспоры образуются на концах гиф — обычно не

более четырех; несущая их материнская клетка при этом неподвижна. В экзоспорах нет дипиколоinata кальция, отсутствуют кортекс, экзоспориум. Материнская клетка после созревания экзоспор гибнет.

У некоторых бактерий при истощении питательных веществ в среде, обычно в старых культурах, клетки покрываются многослойными оболочками, образуя так называемые **цисты** (рис. 1.16, а). В цистах азотобактера в 2 раза по сравнению с вегетативными клетками возрастает содержание липидов. Они устойчивы к высушиванию, механическим воздействиям, лизоциму, но, как и экзоспоры, не выносят высоких температур.

Покоящимися формами являются **миксоспоры** целлюлозолитических скользящих миксобактерий рода *Sporocytophaga*, **акинеты** цианобактерий (рис. 1.16, б) — устойчивые покоящиеся клетки, которые дифференцируются из вегетативных клеток путем образования утолщенных наружных оболочек, увеличения объема и повышения содержания липидов и пигментов (цианофичина и каротиноидов).

В последние годы показано, что в природных условиях микроорганизмов много больше, чем удастся выявить при посеве на питательные среды. Это так называемые **некультивируемые** (или некультурабельные) **формы бактерий (НФБ)**. Особенно много НФБ среди не образующих спор грамотрицательных бактерий. Возможной причиной феномена НФБ в природе называют их качественно иной тип метаболической организации, чем у активно растущих клеток, особый тип **некультурабельного жизнеспособного состояния** (viable but not culturable). Поскольку не удастся выделять их на искусственных средах, это вносит ошибку в оценку истинного биоразнообразия микроорганизмов в природе.

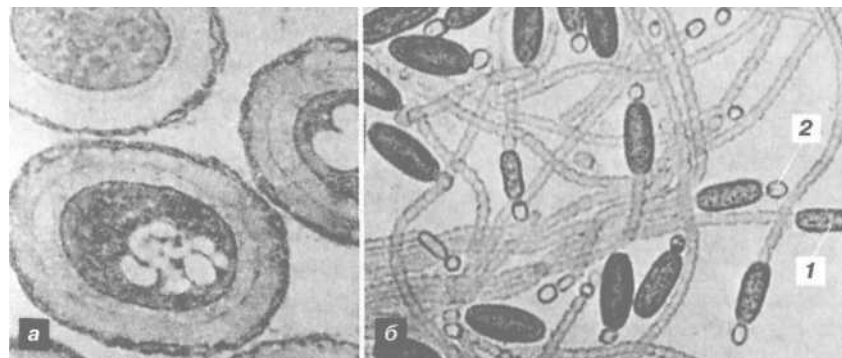


Рис. 1.16. Цисты азотобактера (а); акинеты (1) и гетероцисты (2) нитчатой цианобактерии *Cylandrospermum* (б), х 340 [по: Стейниер, 1979]

6. Поступление питательных веществ в клетку

Через капсулу питательные вещества свободно проникают в клетку. Клеточная стенка бактерий служит барьером только для веществ с молекулярной массой более 10 тыс. Основной барьер, ограничивающий их поступление, — цитоплазматическая мембрана. Цитоплазматическая мембрана в принципе селективна и пропускает лишь некоторые вещества, не допуская их выноса из клетки.

Существует два основных механизма переноса питательных веществ в клетку: первый — пассивный и второй — активный (рис. 1.17). К **пассивному транспорту** относят свободную (пассивную) диффузию и облегченную диффузию.

При свободной (пассивной) диффузии молекулы поступают в клетку по градиенту концентрации за счет собственной кинетической энергии молекул и ионов, т. е. свободная диффузия определяется разностью концентраций молекул внутри и вне клетки. Свободно проходят кислород, вода и другие молекулы (см. рис. 1.17). Поступление веществ путем пассивной диффузии может привести к уравниванию концентраций веществ внутри и вне клетки, однако это предотвращается удалением поглощенных молекул из сферы равновесия. При свободной диффузии не происходит накопления вещества в клетке, метаболическая энергия не затрачивается. При отдельных нарушениях жизнедеятельности клетки свободная диффузия приобретает существенное значение.

Облегченная диффузия происходит, как и в первом случае, по градиенту концентрации и без затраты энергии. Выход метаболитов может идти также этим способом. Данный механизм переноса питательных веществ протекает с помощью двух групп мембранных белков, которые облегчают этот процесс: каналообразующих белков, или поринов, образующих поры, и транспортных белков.

Каналообразующие белки проницаемы для ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- и молекул с молекулярной массой до 600 Да. Ионные каналы образуются интегральными белками (см. с. 38, 39), чаще они бывают закрыты и открываются лишь на короткое время. У высших организмов порины найдены в мембранах митохондрий и хлоропластах.

Транспортные белки, или белки-переносчики, *пермеазы*, или *транслоказы*, похожи на ферменты, но в отличие от них катализируют не ферментативные реакции, а ускоряют транспорт. Эти белки растворимы в билипидном слое мембраны, связывают и удерживают переносимую молекулу субстрата и за счет конформационных изменений переносят субстрат через мембрану.

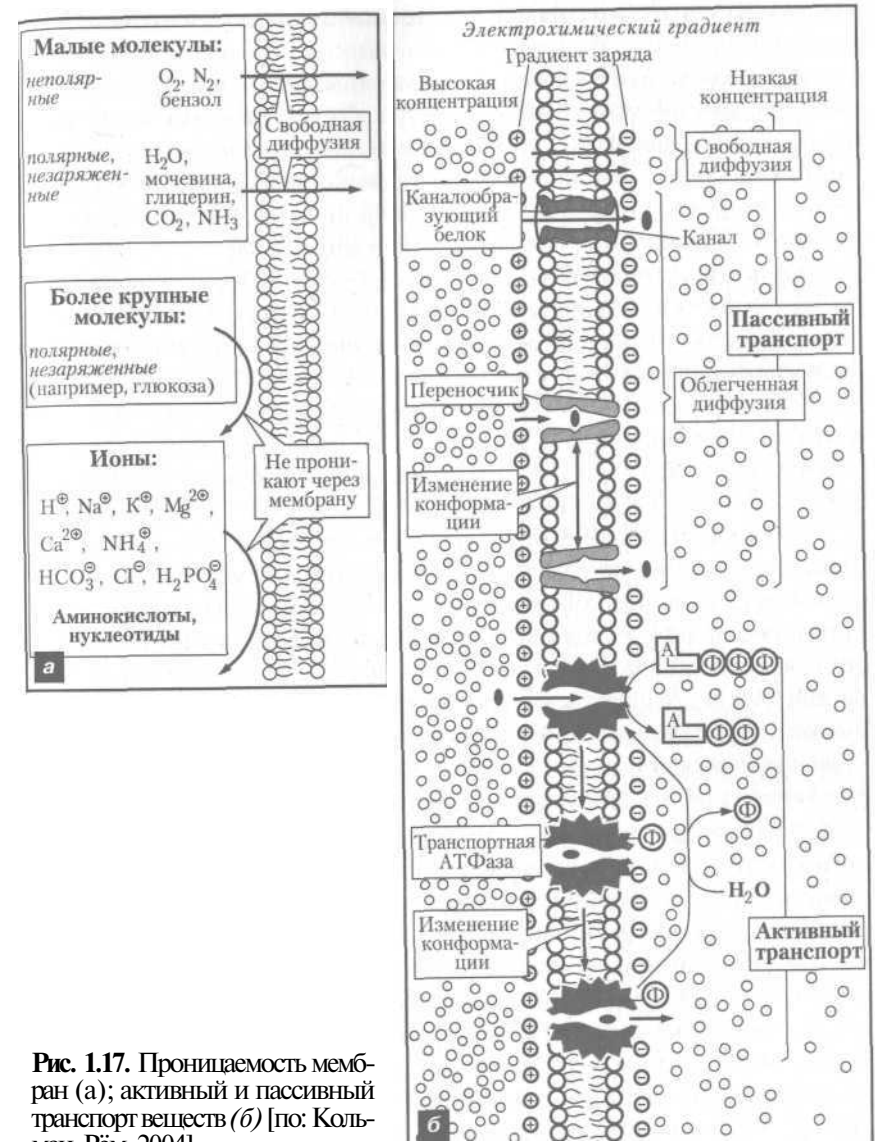


Рис. 1.17. Проницаемость мембран (а); активный и пассивный транспорт веществ (б) [по: Кольман, Рём, 2004]

Пермеазы стереоспецифичны, и поэтому между структурными аналогами веществ, импортируемых клеткой, наблюдается конкуренция: изолимонная кислота конкурирует с цис-аконитовой; калий в клетку поступает предпочтительнее, чем рубидий, цезий, натрий, литий. Некоторые «транспортёры» переносят несколько молекул.

Перенос молекул в клетку с помощью пермеаз осуществляется **следующим** образом. Связывание с транспортируемым субстратом происходит на внешней поверхности мембраны, где пермеазы имеют высокое сродство к субстрату (переносимым веществом). На внутренней стороне мембраны после проникновения в клетку ориентация пермеаз меняется, сродство к субстрату утрачивается, молекулы субстрата высвобождаются и проникают в цитоплазму, при этом конформационная структура пермеаз восстанавливается и они приобретают прежнюю конфигурацию, перемещаясь к внешней поверхности мембраны.

При облегченной диффузии накопления транспортируемого субстрата в клетке практически не происходит, так как энергия на трансформацию поступающих веществ не тратится, а скорость их поступления в клетку ограничивается пределом насыщения пермеаз, которые, достигнув этого предела, перестают выполнять свои функции.

Облегченная диффузия происходит у прокариот относительно редко.

Трансмембранные белки-переносчики осуществляют не только перенос субстрата через мембрану по градиенту концентрации, но и **активный метаболический транспорт**, позволяющий избирательно концентрировать внутри клетки необходимые ей вещества против градиента концентрации. Активный транспорт связан со специальной системой, обеспечивающей перенос субстрата энергией, которая возникает при гидролизе АТФ, или за счет энергии света, или энергии фосфоенолпирувата (метаболита с высоким потенциалом переноса фосфатных групп), или энергии протонного потенциала (см. с. 69).

Активный транспорт обеспечивает накопление в клетке поглощенного субстрата в концентрациях, иногда в несколько тысяч раз превышающих его содержание в окружающей среде. Таким способом переносятся молекулы углеводов, аминокислот, жирных кислот и других соединений. Вещества транспортируются через мембрану в **неизменном** виде. Нарушение снабжения клетки энергией приводит к остановке активного транспорта.

К особенностям этого вида транспорта, как и в случае облегченной диффузии, относится участие «транспортёров», сродство которых к субстрату зависит от того, к какой стороне мембраны они обращены, т. е. обладающих стереохимической избирательностью. Однако в отличие от облегченной диффузии при активном транспорте происходит аккумуляция субстрата в клетке и тратится до 25% и более метаболической энергии на поступление веществ через мембрану.

Модификацией активного транспорта является перенос групп, или перенос радикалов (или транслочация

групп), сопровождающийся химическими изменениями переносимого вещества. Этим путем обычно транспортируются сахара при участии фермента фосфотрансферазы. *Фосфотрансфераза Сахаров* представляет собой сложный мультиферментный комплекс, содержащий два основных компонента: один ответствен за перенос фосфатной группы от фосфоенолпирувата — источника энергии, другой — за фосфорилирование сахара. Эта система используется также при переносе пуринов и некоторых жирных кислот. Образующееся при этом фосфорилированное соединение быстро включается в энергетический обмен клетки. После проникновения в клетку транспортируемое вещество возвращается к исходной форме.

Выделение веществ клеткой происходит при накоплении в ней избыточных количеств метаболитов путем неконтролируемой диффузии, как следствие их неполного окисления и при нарушении регуляции жизненных процессов. С помощью транспортных систем идет накопление в клетке важных для энергетических процессов метаболитов и выделение в окружающую среду токсичных продуктов обмена.

7. Метаболизм бактерий

В основе жизнедеятельности бактериальной клетки лежит *метаболизм* — обмен веществ с окружающей средой. Клетка поглощает извне питательные вещества и перерабатывает их в соединения, необходимые ей для строительства клеточных структур.

Основную часть микробной клетки составляет вода (80—90% всей массы). Содержание химических элементов в клетках (в % от массы сухого вещества) различается: больше всего — углерода (50%), азота (10—14%), меньше — фосфора (3%), еще меньше — серы, калия, кальция, магния, железа, особенно микроэлементов — цинка, марганца, меди, кобальта, молибдена и др.

Особенностью живой клетки является ее способность поддерживать *гомеостаз* — постоянство внутренней среды. В регулировании поглощения и выделения веществ большую роль играет избирательная проницаемость мембран, присущая лишь живым клеткам.

Клетка бактерий нуждается в постоянном поступлении питательных веществ из внешней среды. Как уже отмечалось, особенность питания прокариот — поступление в клетку питательных веществ в молекулярной форме. Некоторые питательные вещества (низкомолекулярные аминокислоты, органические кислоты, фосфорилированные сахара), попав в клетку, сразу становятся строительным материалом

для биосинтеза клеточных соединений (белков, нуклеиновых кислот, липидов и других веществ). Если же питательные вещества имеют большую молекулярную массу (полисахариды, белки и другие полимеры), они должны претерпеть ряд превращений, прежде чем станут строительными блоками. Клетка в этом случае выделяет в среду ферменты (гидролазы), которые осуществляют подготовку субстрата для поступления в клетку — **подготовительный метаболизм**, или «внеклеточное переваривание». Например, чтобы расщепить целлюлозу ($C_6H_{10}O_5)_n$, клетка выделяет целлюлазу и гидролизует ее до целлобиозы ($nC_{12}H_{22}O_{11}$). Далее на целлобиозу воздействует фермент β -глюкозидаза, расщепляя ее до глюкозы, которая затем поступает в клетку. Стадия подготовительного метаболизма может быть связана также с деятельностью специальных транспортных систем, с различными трансформациями поступивших в клетку веществ, происходящих с ними прежде, чем они включатся в основной обмен (например, пентозы должны трансформироваться в гексозы, одноуглеродные соединения — в многоуглеродные).

Не все ингредиенты питательных сред являются для бактерий питательными веществами. Некоторые из них необходимы для обеспечения оптимальных окислительно-восстановительных условий, pH, осмотического давления, равновесия ионов. Например, буферные вещества добавляют для создания определенного pH, NaCl — для улучшения осмотического давления. Под *питательными веществами* подразумевают только те химические соединения, которые необходимы клетке и которые включаются в ее метаболизм — они либо входят в состав клетки, либо окисляются, обеспечивая клетку энергией, либо используются и для того, и для другого.

7.1. Анаболизм (энергопотребляющие процессы)

Процесс ассимиляции питательных веществ и превращения их в сложные химические биосоединения клетки (по существу, питание) называется **анаболизмом**, или **биосинтезом**, или **конструктивным** (строительным) **обменом**. Он сопровождается затратой энергии, т. е. анаболизм — это энергопотребляющий процесс. Энергию для этого процесса клетка получает при **катаболизме** — окислении и распаде поступивших в нее питательных веществ, т. е. катаболизм — это энергодающий процесс, при этом часть конечных продуктов распада — *метаболитов* — клетка выделяет в среду.

Источником энергии для микроорганизмов служат солнечный свет и восстановленные химические соединения. Часть энергии (от 25 до

50%) переходит в тепловую, или энергию поддержания жизнедеятельности, и теряется для клетки. Потребляет клетка только биологически доступную энергию в форме АТФ (см. с. 64). Основные расходы АТФ клеткой идут на синтез белка (примерно 50%) и транспорт питательных веществ в клетку (25% и выше).

Биосинтез и катаболизм тесно взаимосвязаны и обычно происходят одновременно. Реакции катаболизма дают не только энергию для реакций анаболизма, но также служат источником многих промежуточных продуктов — *амфиболитов*, которые используются для синтеза биосоединений, необходимых для построения клеточных структур. Иногда общие реакции биосинтеза и катаболизма называют **амфиболизмом**, или **центральным обменом**. В метаболических процессах участвуют многочисленные ферменты.

Часть поглощенных клеткой питательных веществ ассимилируется и перерабатывается в необходимые компоненты цитоплазмы (нуклеиновые кислоты, белки, фосфолипиды), обеспечивая прирост биомассы и накопление запасных (необязательных) веществ (жир, гликоген, волютин), которые в дальнейшем могут использоваться наравне с вновь поступившими питательными веществами. Часть этих веществ, окисляясь, высвобождает необходимую энергию и метаболиты.

7.2. Типы питания бактерий

Потребности различных микроорганизмов в питательных веществах поразительно разнообразны. По степени сложности используемые субстраты варьируют от таких высокомолекулярных природных соединений, как белки и полисахариды, до их структурных элементов — аминокислот и простых Сахаров. В зависимости от используемого субстрата сильно различаются образующиеся метаболиты; разные виды микроорганизмов даже при разложении одного и того же субстрата могут образовывать совершенно различные продукты.

Органические вещества, из которых построены клетки, представляют собой углеродсодержащие соединения (белки и другие соединения). Поэтому вопрос о питании — это прежде всего вопрос о путях перестройки источника углерода (С) в органические компоненты клетки и источнике энергии, необходимой для ее жизнедеятельности.

Роды и виды бактерий сильно различаются по потребностям в питательных веществах, в частности — в источнике углерода для биосинтеза клеточного вещества. По типу углеродного питания все микроорганизмы делятся на две большие группы: **гетеротрофы** (гр. *heteros* — разнообразный, иной; *trophein* — питать) и **автотрофы** (гр. *auto* — сам) — самостоятельно питающиеся, не зависящие от источника углерода в

среде. Источником углерода для конструктивного метаболизма гетеротрофов служат органические вещества, т. е. все гетеротрофы строят органическое вещество клеток $(\text{CH}_2\text{O})_{n_2}$ из органического вещества источника питания $(\text{CH}_2\text{O})_{n_1}$. При этом они используют углерод, содержащийся в органическом веществе, и химическую энергию, заключенную в этом же соединении, на построение $(\text{CH}_2\text{O})_{n_2}$ клеток.

Гетеротрофы — наиболее обширная группа микроорганизмов. Поскольку они синтезируют углеродсодержащие компоненты цитоплазмы клетки из органических (*-органо-*) источников углерода, которые одновременно являются источником для биосинтеза клеточной массы и источником химической (*хемо-*) энергии, их можно назвать **хемоорганогетеротрофами**.

Перечень соединений углерода, усваиваемых представителями хемоорганогетеротрофов, включает почти все классы органических веществ, известных в органической химии, в частности углеводы $(\text{CH}_2\text{O})_n$, кетокислоты, оксикислоты, аминокислоты, жирные кислоты, а также другие соединения углерода, встречающиеся в природе.

Питательная ценность источников углерода зависит от строения их молекул, особенно степени окисленности и восстановленности атомов углерода. Плохо усваиваются соединения, содержащие карбоксильные группы $-\text{COOH}$ (например, шавелевая кислота), и вещества с большим числом полностью восстановленных радикалов ($-\text{CH}_2$ и $-\text{CH}_3$). Наиболее усвояемы группировки $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CHOH}$ и $-\text{CONH}_2$.

На любых продуктах растительного и животного происхождения: овощах, фруктах, зерне, хлебе, сене, соломе, мясе, мясопродуктах, торфе, в компостах, древесине и т. п. — развиваются хемоорганогетеротрофные микроорганизмы. Они распространены почти повсеместно.

Есть микроорганизмы, окисляющие углеводороды и их смеси — нефть и нефтепродукты (парафины, гудрон, битумы), натуральные и синтетические каучуки, смолы природные (канифоль, янтарь) и синтетические (пластмассы, лаки и т. п.), синтетические полимеры (капрон, нейлон, дедерон и другие полиамиды). На современном этапе развития прогрессивных технологий в промышленности и сельском хозяйстве, сопровождающемся, к сожалению, все возрастающей загрязненностью окружающей среды, особое значение приобретают микроорганизмы-деструкторы и детоксиканты *ксенобиотиков* (гр. *xenos* — чужой, посторонний) — чужеродных соединений (промышленные загрязнители, пестициды, препараты бытовой химии, лекарственные средства и т. п.).

Хотя в почве разные трофические уровни заняты различными микроорганизмами, основной поток преобразований соединений углерода приходится на долю гетеротрофов. Их главная деятельность — минерализация и гумификация продуктов экзосмоса растений и некромассы, или *морптмассы* (англ. *mortel* — смерть, падёж) — органического вещества растений и животных.

Гетеротрофы делят на **сапротрофы** (гр. *sapros* — гнилой), использующие для питания органические соединения отмерших клеток растений, животных и других организмов, и **паразиты**, или **паратрофы** (гр. *para* — возле), использующие органические соединения живых организмов. К паразитам относятся и *патогенные* (гр. *pathos* — страдание, болезнь) — болезнетворные микроорганизмы (см. раздел III).

При автотрофном типе питания для построения клеток используются диоксид углерода (CO_2), угольная кислота (H_2CO_3) или ее соли в качестве единственного или главного источника углерода. Автотрофный тип питания подразделяется на **фотосинтез** (в качестве источника энергии используется солнечный свет, источником углерода для биосинтеза клеточной массы служит CO_2) и **хемосинтез** (в качестве источника энергии используется энергия, получаемая при окислении неорганических соединений, источником углерода для синтеза клеточных структур служит CO_2). Явление хемосинтеза было открыто С. Н. Виноградским (см. с. 7, 62).

Построение клеточного вещества из диоксида углерода возможно лишь при наличии, во-первых, какого-либо источника энергии извне, во-вторых, в присутствии донора водорода для восстановления CO_2 .

Если у бактерий есть акцепторы квантов света ($h\nu$) — хлорофилл-содержащие или подобные им пигменты (у цианобактерий, зеленых серных бактерий, пурпурных серных бактерий), солнечный свет может служить им источником энергии, а донором водорода являются вода (у цианобактерий) и сероводород H_2S (у зеленых и пурпурных серных бактерий). Это **фотосинтезирующие бактерии**.

Фотосинтезирующие бактерии могут быть аэробами и анаэробами в зависимости от того, выделяют они кислород (лат. *oxygenium*) при фотосинтезе или не выделяют. В первом случае их называют **оксигенными бактериями**, во втором — **аноксигенными**.

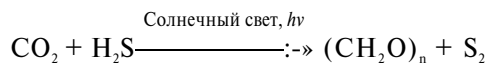
У оксигенных фотосинтезирующих бактерий (цианобактерий) реакция фотосинтеза такая же, как у растений:



Оксигенные фотосинтезирующие цианобактерии — первичные продуценты органического вещества и молекулярного кислорода на Земле. Именно они оказали основное влияние на ход эволюции всего живого.

По мнению Г. А. Заварзина, в автономных сообществах цианобактериальных матов — первичных живых образованиях первобытной Земли, не имевшей кислородной атмосферы, фотосинтезирующие цианобактерии — основные *эдификаторы* (лат. *aedificator* — строитель) всего сообщества разнообразных организмов, и именно они создают «псевдоткань» — прочную структуру со свободными диффузионными каналами, где организмы сообщества развиваются не в водно-солевой среде, а в коллоидной матрице.

Анаэробные, аноксигенные, не выделяющие кислород при фотосинтезе фотосинтезирующие зеленые серные и пурпурные серные бактерии имеют в клетках пигменты каротиноиды и бактериохлорофиллы (подобные хлорофиллу) и ведут фотосинтез, если донором водорода служит сероводород (H_2S):



Места обитания аноксигенных фототрофов — бескислородные зоны увлажненных почв, пресноводные, солоноватые, морские и сильно соленые водоемы. Многие из них, как и большинство цианобактерии, азотфиксаторы.

Автотрофов, не имеющих пигментов для поглощения энергии солнечного света, но способных окислять неорганические вещества, например серу, аммиак, нитриты, оксид железа, С. Н. Виноградский назвал *аноргоксидантами*, а процесс использования получаемой ими энергии для построения органического вещества из диоксида углерода — *хемосинтезом*.

Если источником (донором) водорода в энергетических процессах являются неорганические соединения, в характеристику микроорганизмов добавляют сочетание *litho* (гр. *lythos* — камень, порода) и соответственно фото- и хемоавтотрофов называют *фотолитоавтотрофами* и *хемолитоавтотрофами*.

Для того чтобы охарактеризовать способ питания прокариот, необходимо знать:

1) источник углерода для построения клеточного вещества (*авто, гетеро*);

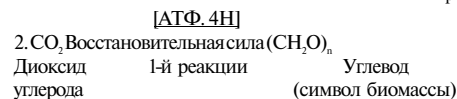
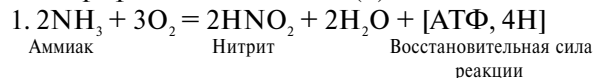
2) источник энергии (*фото, хемо*);

3) природу донора электронов, природу окисляемого вещества (*органо, лито*).

Если у фотолитоавтотрофов усвоение углерода и поглощение энергии солнечного света происходит в одной реакции, то у хемосинтезирующих бактерий это две сопряженные реакции: первая — получение энергии при окислении неорганического вещества и вторая — усвоение CO_2 за счет этой энергии [АТФ] и выделившегося донора водорода (так называемой восстановительной силы реакции [4H]).

К хемолитоавтотрофам относят серные бесцветные бактерии (окисляют H_2S до S^0 и откладывают ее в виде капелек в клетках), тионовые бактерии (окисляют S_2O_3 и другие тиосоединения до S^0 (см. с. 127), железобактерии, окисляющие оксиды железа (II) до оксидов железа (III) (см. с. 131), водородные, окисляющие водород до воды, нитрифицирующие I и II фазы (окисляют аммиак до нитритов - I фаза и нитриты до нитратов — II фаза) (см. с. 105).

На примере нитрификаторов I фазы рассмотрим сопряженность реакций получения энергии (1) и биосинтеза клеточных компонентов при автотрофном типе питания (2):



Существуют также микроорганизмы, названные *миксотрофами* и (англ. *mix* — смесь), способные использовать одновременно разные источники энергии или синтезировать один и тот же компонент клетки за счет различных соединений углерода, например фиксировать по автотрофному пути диоксид углерода и одновременно утилизировать в биосинтетических процессах органические вещества.

7.3. Катаболизм (энергодающие процессы).

Сравнительная характеристика процессов брожения и дыхания

В процессе жизнедеятельности клетка постоянно, как во время роста, так и в состоянии покоя, нуждается в энергии. Эту энергию она получает в процессах катаболизма при окислении органических и неорганических веществ. Если процесс ведут аэробы (в присутствии кислорода), происходит дыхание, если анаэробы (в отсутствие кислорода), — брожение.

Сходство процессов брожения и дыхания. Оба процесса (дыхание и брожение) — окислительно-восстановительные, и это определяет их сходство. И при брожении, и при дыхании образуется биологически доступная энергия в форме аденозинтрифосфата (АТФ) (см. далее 1).

И при брожении, и при дыхании происходит *гликолиз* — анаэробная стадия окисления химических соединений с извлечением энергий за счет идущего в цитоплазме субстратного фосфорилирования (см. далее 2).

И в процессе брожения, и в процессе дыхания участвуют ферменты *оксидоредуктазы*: дегидрогеназы — НАД-дегидрогеназы, или никотинамидадениндинуклеотиддегидрогеназы, отнимающие водород от субстратов при субстратном фосфорилировании (см. далее 3).

1. **АТФ** — основной аккумулятор химической энергии в клетке, занимающий центральное место в биохимических процессах ее трансформации. Это универсальный высокоэффективный переносчик энергии между реакциями, поставляющими энергию, и реакциями, ее потребляющими. Непосредственный перенос энергии в виде макроэргических связей осуществляют *киназы* — ферменты группы трансфераз.

Голландский ученый *А.Клюйвер* назвал АТФ *центроболитом клетки*. Принято также называть АТФ (АДФ) *энергетической валютой клетки*, поскольку для всех живых существ на Земле АТФ, как элементарный квант биологической энергии, един. *М. В. Гусев* (1934—2005) считал, что «валютная единица» — порция свободной энергии, заключенная в макроэргической связи АТФ, выбрана клеткой в процессе эволюции весьма рационально, так как ее использование в биохимических реакциях делает клетку высокоэффективнейшим энергетическим механизмом. От момента образования молекулы АТФ до ее расходования проходит не более 0,33 с, поэтому она непрерывно регенерирует.

АТФ имеет две фосфоангидридные макроэргические связи. Энергия разрыва каждой примерно в 3 раза превосходит энергию, заключенную в обычной связи. При гидролизе фосфоангидридной связи при рН 7,0 выделяется 30—35 кДж/моль энергии, в активно функционирующей клетке — до 50 кДж/моль.

Аденозиндифосфат (АДФ) имеет одну фосфоангидридную макроэргическую связь. Именно молекулы АДФ принимают высвобождающуюся в реакциях катаболизма энергию, превращаясь в АТФ. Расщепление АТФ — это экзоэргическая реакция гидролиза АТФ, которая может использоваться сопряженно с эндоэргическими реакциями

в процессах биосинтеза, движения, транспорта питательных веществ. Гидролиз АТФ без сопряжения с эндоэргическими реакциями ведет лишь к выделению тепла.

Анаэробы синтезируют АТФ только в цитоплазме на субстратном уровне.

Аэробы также обладают способностью к подобному синтезу АТФ. Но кроме него, они наделены и более эффективным механизмом синтеза АТФ за счет энергии транспорта электронов через мембрану к O_2 в дыхательной (электронтранспортной) цепи.

2. **Гликолиз** (гр. *glycos* — сладкий, *lysis* — распад, разложение) — анаэробная стадия окисления химических соединений (глюкозы), приходящая как анаэробам (осуществляется при брожении), так и аэробам (происходит при дыхании), предшествуя аэробному этапу окисления.

Это катаболический путь обмена веществ в цитоплазме клеток, независимо от аэробных или анаэробных условий их существования.

Гликолиз — древнейший способ извлечения энергии за счет идущего в цитоплазме клеток субстратного фосфорилирования. Реакции субстратного фосфорилирования протекают только в цитоплазме клетки и никогда не связаны с ее мембранными структурами.

Субстратное фосфорилирование — способ синтеза АТФ в анаэробных условиях, основанный на переносе на АДФ фосфатных групп, обладающих большим запасом свободной энергии (например, образовавшегося фосфоенолпирувата), от нестабильных молекул, образующихся при преобразовании субстрата в некоторых реакциях гликолиза. Это часть метаболического пути — субстратной цепи.

Из органического субстрата при гликолизе извлекается лишь 1/20 часть всей заключенной в нем энергии. В процессах субстратного фосфорилирования извлеченная энергия запасается в форме АТФ и может затем использоваться в реакциях, требующих затрат энергии.

Гликолиз иначе называют *фруктозо-1,6-бисфосфатный путь*, или *путь Эмбдена—Мейергофа—Парнаса* (путь ЭМП) (по имени исследователей *Н. Embden, О. Meyerhof, Я. Парнаса*, раскрывших химизм последовательных реакций гликолиза). Завершается он образованием пировиноградной кислоты (рис. 1.18).

Кроме пути ЭМП, у многих анаэробных бактерий имеются и другие анаэробные механизмы окисления глюкозы: *путь Энтнера—Дудорова*, или 2-кето-3-дезоксиглюконоатный (по промежуточному продукту), *пентозофосфатный*, или *путь Варбурга—Диккенса—Хорекера*.

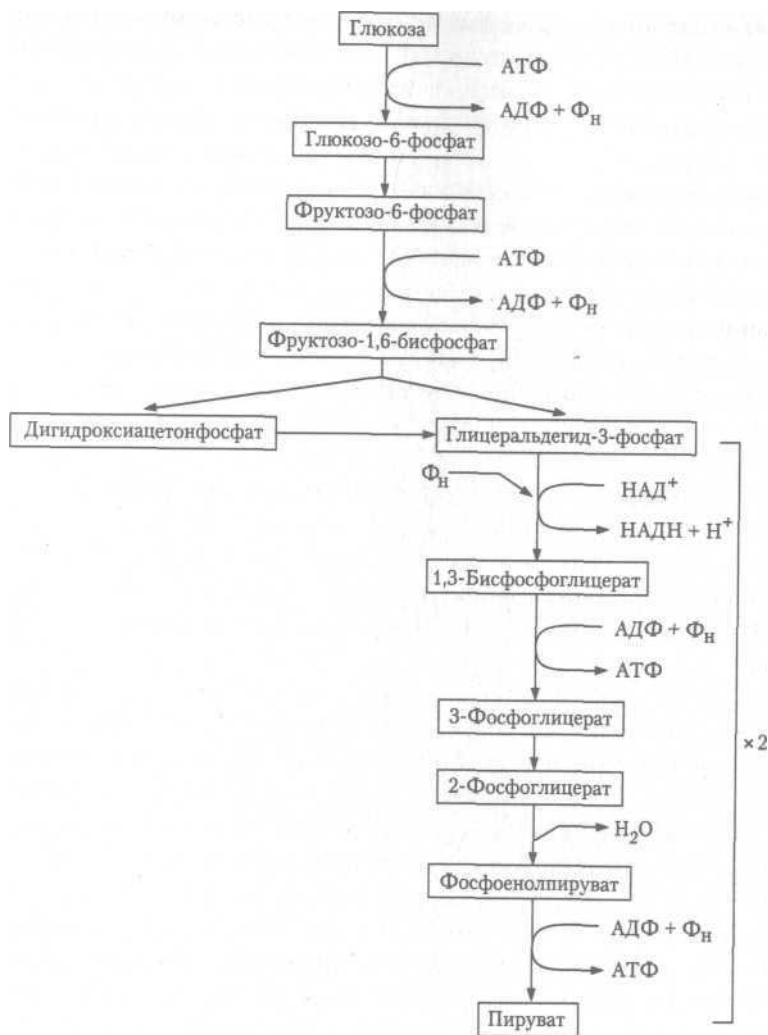


Рис. 1.18. Схема пути Эмбдена—Мейергофа—Парнаса [по: Шлегель, 1987]

3. В процессе брожения из **оксидоредуктаз** принимают участие только никотинамидадениндинуклеотиддегидрогеназы (НАД-дегидрогеназы), отнимающие водород у субстратов при субстратном фосфорилировании. У аэробов при субстратном и окислительном фосфорилировании это также НАД-дегидрогеназы и флавинадениндинуклеотиддегидрогеназа (ФАД-дегидрогеназа), участвующие в реакциях окисления в цикле трикарбоновых кислот.

Различия между процессами брожения и дыхания. Этих различий достаточно много.

1. При *брожении* конечным акцептором H_2 служат только органические соединения, образующиеся после прохождения гликолиза. При *дыхании* конечным акцептором электронов водорода является молекулярный кислород. Некоторые аэробы, например денитрифицирующие и десульфотирующие бактерии, в анаэробных условиях могут использовать кислород нитратов (сульфатов) и осуществляют так называемое нитратное или сульфатное дыхание. Конечные продукты при этом почти такие же, как при аэробном дыхании, дополнительно образуется молекулярный азот или сероводород. Энергетически этот процесс менее выгоден, так как часть энергии тратится на высвобождение кислорода из связанного состояния.

2. Для *брожения* характерно только субстратное фосфорилирование — гликолиз в цитоплазме.

При *дыхании* аэробы получают энергию в результате функционирования двух механизмов синтеза АТФ: первого — субстратного фосфорилирования — субстратной цепи через метаболиты с высоким потенциалом переноса фосфатных групп в гликолитическом пути и второго — мембранного окислительного фосфорилирования — системы переноса электронов от окисляемого вещества (донора электронов) к окислителю (акцептору) по градиенту редокс-потенциала через последовательно расположенные ферменты-переносчики, часть которых находится в мембранах, а другая часть — в цитоплазме. Те и другие сопряжены между собой механизмом фосфорилирования.

3. При *брожении* функционирует система извлечения энергии из окисляемого органического соединения (глюкозы) по пути ЭМП.

При *дыхании* органическое вещество проходит сначала путь ЭМП, затем цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) и электронтранспортную цепь (ЭТЦ).

ЦТК, или *цикл лимонной кислоты*, или *цикл Кребса* (по имени английского биохимика Г. А. Кребса, получившего Нобелевскую премию за химическую расшифровку ЦТК), — это выработанный в процессе эволюции клетки механизм, основное назначение которого заключается в полном окислении до CO_2 вовлекаемого органического субстрата, отщеплении от него водорода дегидрогеназами НАД и ФАД, а также в снабжении клетки метаболитами для биосинтетических процессов, поскольку и катаболизм, и биосинтез протекают одновремен-

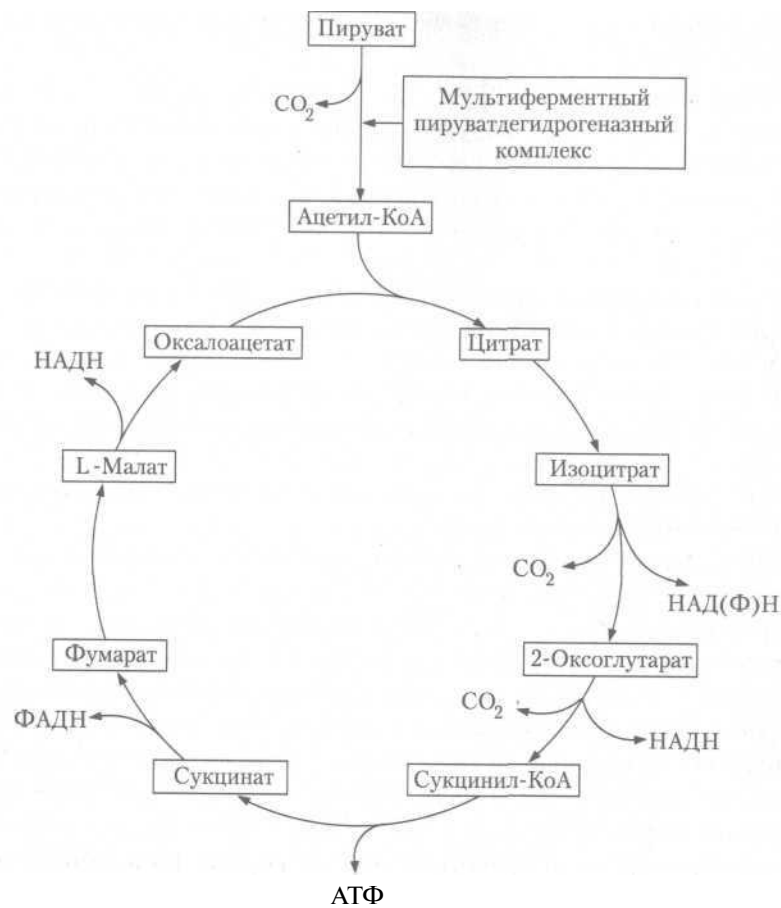


Рис. 1.19. Цикл трикарбоновых кислот

но и промежуточные продукты у них нередко общие. Для реакций биосинтеза водород передает преимущественно НАДФ-дегидрогеназа системы катаболизма.

Исходным субстратом для ЦТК служит ацетил-кофермент А (ацетил-КоА) (активированная уксусная кислота), образующийся у аэробов из пировиноградной кислоты — конечного продукта ЭМП (рис. 1.19).

Трикарбоновые кислоты в цикле Кребса играют важную роль:

1) окислительно-восстановительные ферменты бактериальной клетки обычно локализованы в мезосомах клетки и пространственно разоб-

щены, кислоты же, свободно передвигаясь в цитозоле, выполняют транспортную функцию, перенося водород;

2) передача водорода непосредственно молекулярному кислороду могла бы вызвать выделение огромного количества энергии (более 200 кДж/моль) и перегрев клетки, поэтому в процессе эволюции выработался механизм передачи энергии порциями с помощью цепочки переносчиков — трикарбоновых кислот — с закреплением ее в АТФ;

3) кислоты, кроме того, постепенно сближают окислительно-восстановительный потенциал реагирующих веществ — водорода и кислорода.

Окислительное фосфорилирование происходит только на отдельных участках дыхательной цепи, а именно между НАД- и ФАД-дегидрогеназами и в ЭТЦ — между цитохромами *b* и *c* и между цитохром *a*-оксидазой и O_2 . Другими словами, энергия возникает трижды: в форме трансмембранного, электрохимического, протонного (H^+) градиентов, и с помощью протонной АТФ-синтазы трансформируется в молекулы АТФ.

Дыхательная цепь — это система, транспортирующая водород, протоны и электроны. По существу, она включает и электронтранспортную цепь. Дыхательную цепь называют также *протонным насосом*, *протонным потенциалом*, *протондвижущей силой*, так как ее главная функция — перекачивание протонов (H^+). Дыхательная цепь состоит из чередующихся переносчиков H^+ и переносчиков электронов, расположенных в мембране так, что окисление субстрата ведет к потреблению протонов на внутренней стороне мембраны и высвобождению их на наружной. Перенос протонов за счет энергии дыхания ведет к созданию *электрохимического градиента* — перепада зарядов между наружной и внутренней сторонами мембраны. Протонный потенциал — это и есть та сила, которая обеспечивает окислительное мембранное фосфорилирование, т. е. синтез АТФ. Протонный градиент дает приблизительно 24 кДж/моль при переносе ионов H^+ .

Из-за большой разности окислительно-восстановительных потенциалов донора водорода — $НАДН_2$, «отнявшего» водород от субстрата, и акцептора водорода — молекулярного кислорода — происходящие реакции являются экзергоническими. Поэтому электроны от $ФАДН^+$ переносятся на O_2 , не непосредственно, а через цитохромы электронтранспортной цепи.

Для образования одной молекулы АТФ необходим перенос двух электронов по электрохимическому градиенту ионов водорода, соот-

ветствующему перепаду окислительно-восстановительного потенциала не менее 0,2 В.

Передача водорода в дыхательной цепи и электронов по ЭТЦ (рис. 1.20) происходит следующим способом: восстановленная НАДН₂-дегидрогеназа передает H₂ ФАД-дегидрогеназе. Принявшая его ФАДН₂-дегидрогеназа далее передает электрон от водорода в систему цитохромов ЭТЦ и остается с водородом в ионной (протонной) форме (ФАДН⁺-дегидрогеназа):



Далее электроны переносятся цитохромами, которые попеременно переходят из окисленного в восстановленное состояние.

Цитохром *b* передает электрон цитохрому *c*, который, в свою очередь, — терминальной (конечной) цитохром *a*-оксидазе, состоящей из цитохромов *a* и *a*₃. В состав цитохромов входят белок и железопорфирин (гем). Именно геминное железо определяет способность цитохромов к переносу электронов. При присоединении к железу электронов оно меняет валентность:

Терминальная цитохромоксидаза *aa*₃ непосредственно реагирует с молекулярным кислородом — экзогенным окислителем с высоким окис-

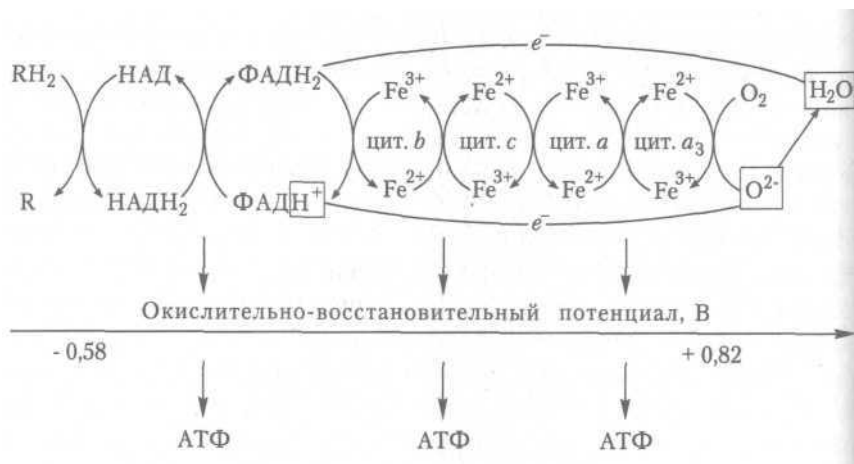
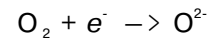
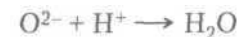


Рис. 1.20. Схема окислительно-восстановительной цепи у микроорганизмов RH₂ — субстрат; R — окисленный субстрат; цит. — цитохром [по: Мусил, Нс вакова, Кунц, 1994]

лительно-восстановительным потенциалом, кислород при этом ионизируется:



Ионизированный кислород O²⁻ становится способным взаимодействовать с протоном H⁺, образовавшимся у ФАД после отщепления электрона от атома водорода:



Взаимодействие сильного аниона и протона завершается образованием воды, причем вода образуется только при переносе на молекулу ионизированного кислорода 4 электронов. Если цитохромоксидаза *aa*₃ переносит 2 электрона на ионизированный кислород, образуется токсичный для клеток пероксид водорода (H₂O₂). Однако при наличии в клетке каталазы, пероксидазы или супероксиддисмутазы происходит разложение пероксида водорода:



Передвижение электронов ЭТЦ осуществляется в сторону уменьшения восстановленности потенциала в цепи переносчиков. Переносчики, находящиеся ближе к НАД-, ФАД-дегидрогеназам, — более восстановлены, расположенные ближе к молекулярному кислороду (цитохромы, особенно цитохромоксидаза *aa*₃), — более окислены.

4. При брожении — наиболее примитивном способе получения энергии — ее образуется мало — всего 2 молекулы АТФ, так как почти вся энергия остается в конечных недоокисленных продуктах брожения. При дыхании — полном окислении субстрата — выделяется 38 молекул АТФ.

При дыхании окисляемое органическое вещество совершает путь через схемы ЭМП, ЦТК и ЭТЦ с образованием диоксида углерода (CO₂) в ЭМП и ЦТК и воды в ЭТЦ.

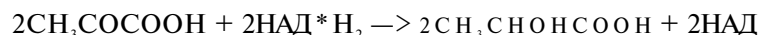
При брожении анаэробы проходят только путь ЭМП (субстратное фосфорилирование). Баланс прохождения молекулы глюкозы в схеме ЭМП можно представить следующим образом:



Слева — вещества, вступившие в схему ЭМП: одна молекула глюкозы; 2 молекулы АТФ, присоединяющиеся к субстрату при его

фосфорилировании — переводе на более высокий энергетический уровень; 2 молекулы фермента НАД-дегидрогеназы, переносящего H_2 от видоизмененного фосфорилированного субстрата к акцептору. Справа — продукты, образовавшиеся в результате прохождения схемы ЭМП: 2 молекулы пирувата; 4 молекулы АТФ (из них две компенсируют две затраченные и не учитываются, следовательно, чистый энергетический выигрыш у анаэробов составляет всего 2 молекулы АТФ); 2 молекулы $НАД \cdot H_2$ с водородом от окисленного субстрата. Фермент должен вернуться в исходное состояние, отдав водород акцептору. Обычно у анаэробов акцептором служат органические соединения и в результате их восстановления образуются летучие жирные кислоты, спирты.

Например, у молочнокислых бактерий, не имеющих других ферментов, кроме участвующих в схеме ЭМП, акцептором становится пируват, а НАД-дегидрогеназа возвращается в исходное состояние:

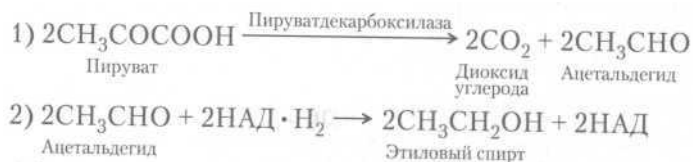


Следовательно, уравнение молочнокислого брожения можно записать так:



После прохождения пути ЭМП при спиртовом брожении у дрожжей, имеющих фермент пируватдекарбоксилазу, он отнимает 2 молекулы CO_2 у двух молекул пирувата и поэтому акцептором водорода от двух $НАД \cdot H_2$ в этом брожении служит уксусный альдегид ($2CH_3CHO$).

Иными словами, после прохождения гликолиза (схемы ЭМП) происходят еще две реакции:



Общее уравнение спиртового брожения:



При дыхании у аэробов первым этапом также является путь ЭМП, завершающийся образованием 2 молекул АТФ и 2 $НАДН_2$. Но в отличие от анаэробов у аэробных организмов 2 молекулы $НАДН_2$ вступают в процесс окислительного фосфорилирования, и каждая, проходя

ЦТК и ЭТЦ, трижды образует молекулу АТФ; поскольку молекул $НАДН_2$ — две, то образуется 6 молекул АТФ. Прибавив 2 молекулы АТФ — чистый выход энергии в ЭМП, получим 8 молекул АТФ, т. е. тот выигрыш энергии, который вносит схема ЭМП в энергетику аэробов.

Далее у аэробов пируват после небольших видоизменений (см. с. 68) вступает в ЦТК, в результате прохождения которого образуется одна молекула АТФ, 4 молекулы $НАДН_2$ и одна молекула $ФАДН_2$. Каждая молекула $НАДН_2$ в ЭТЦ дает 3 молекулы АТФ, а $ФАДН_2$ — 2 молекулы АТФ.

Следовательно, $(4 \times 3) + (1 \times 2) = 14$ молекул АТФ в ЭТЦ, плюс 1 молекула АТФ в ЦТК, т. е. всего 15 молекул. Но это результат прохождения одной молекулы пирувата в ЦТК и ЭТЦ, а так как таких молекул 2, то $15 \times 2 = 30$ (молекул АТФ).

Суммарно при использовании одной молекулы глюкозы в процессе дыхания это составит: 8 АТФ в ЭМП (включая АТФ от 2 молекул $НАДН_2$) плюс 30 АТФ в дыхательной цепи (ЦТК и ЭТЦ), итого 38 АТФ.

5. В конечных продуктах брожений, например в органических кислотах, спиртах, заключено еще много энергии. Конечные продукты процесса дыхания (CO_2 и H_2O) не содержат энергии. В присутствии кислорода аэробные микроорганизмы полностью окисляют органическое вещество до конечных продуктов:



Получая большое количество метаболической энергии, они и теряют ее в больших количествах в виде тепловой энергии. Этим объясняется явление *термогенеза* — самосогревания рыхлых, хорошо аэрируемых скоплений растительных масс (сена, зерна, силоса, навоза, торфа и т. п.).

8. Роль микроорганизмов в превращениях соединений углерода

8.1. Цикл углерода в биосфере

Углерод — основной элемент биологически важных соединений. Он обладает поистине безграничной возможностью создавать разнообразные соединения благодаря химически прочным связям углерод — углерод. Без данного элемента невозможно образование даже самого простейшего органического вещества. В клетке углерод — основа всех

ее структур. Наличие большого числа соединений углерода в природе объясняется также его способностью взаимодействовать с другими элементами — водородом, кислородом, азотом.

Основной путь круговорота углерода в биосфере, согласно В. И. Вернадскому: из диоксида углерода в «живое вещество» и обратно в диоксид углерода.

Органические С-соединения почвы в основном растительного происхождения, в меньшей степени (в количественном отношении) — животного. Это — клетчатка, сахара, пектины, жиры, воска, белки, смолы, лигнин, гемицеллюлозы. Простые и малополимеризованные соединения типа Сахаров разрушаются быстро, распад сложных высокополимеризованных соединений зависит от аэрации, влажности, рН, температуры, степени плодородия почвы — факторов, которые определяют общую биологическую активность почвы, и от того, какие микроорганизмы преобладают в процессе разложения.

Цикл углерода — ведущий на планете, все другие с ним сопряжены. Это основной геохимический цикл, обеспечивающий стабильность CO_2 и O_2 в системе Земли. Цикл углерода — самый сложный и самый беспорядочный из циклов элементов в биосфере, его невозможно разделить на звенья, как, например, цикл азота, поскольку существует огромное количество форм углеродсодержащих соединений, тесно связанных в различных пропорциях друг с другом (белок с лигнином, целлюлозой, жирами, восками, смолами, танином и др.). К тому же реакции цикла углерода не идут последовательно одна за другой: гидролиз и расщепление крупных молекул на более мелкие сменяются расщеплением на еще более мелкие и тесно переплетаются с реакциями синтеза, в частности компонентов гумуса, с реакциями, идущими в круговороте азота (например, для углеродного питания гетеротрофа азотобактера, входящего в цикл азота источником С часто служат метаболиты целлюлозоразрушающих бактерий из цикла углерода). Полная минерализация углеродсодержащих соединений до CO_2 , CO , CH_4 , CaCO_3 , Na_2CO_3 и других веществ требует обычно значительного времени.

Совокупность реакций циклов углерода и азота в почве следует также рассматривать, учитывая потребности растений в питательных веществах и их вторичное воздействие на почву.

В цикле углерода наиболее четко прослеживается взаимосвязь всех живых существ. Микроорганизмы выступают в роли деструкторов в деструктивных звеньях цикла. Важно правильно оценить эту их роль в цикле, так как значимость других организмов в деструктивной ветви цикла чрезвычайно мала.

Учитывая приоритетную роль динамики органического вещества в круговороте элементов в биосфере, следует неоспоримо признать за гетеротрофными микроорганизмами ведущую роль в минерализации углеродсодержащих соединений в природе, а возможно, и в трансформации металлов на отдельных этапах круговоротов.

Из одноуглеродных соединений в цикле углерода в первую очередь назовем CO_2 (диоксид углерода), CO (оксид, монооксид углерода) и CH_4 (метан).

Содержание **диоксида углерода** в атмосфере не превышает 0,03%.

Диоксид углерода используют фотосинтезирующие автотрофные эукарии (растения) и фото-, хемосинтезирующие прокариоты.

Гетеротрофы также могут ассимилировать CO_2 , присоединяя его к готовым С-цепям (эту реакцию открыли *Вуд* и *Веркман* у пропионовокислых бактерий).

Монооксид углерода образуется техногенным путем при сгорании разных видов топлива, а также в природе, например при извержении вулканов. Окисление CO в CO_2 осуществляют автотрофные *карбонсидобактерии*.

В образовании **метана** (CH_4) из CO_2 в болотах, торфяниках, иловых отложениях, в метантенках и рубце жвачных основную роль играют вторичные анаэробы — *метаногенные* бактерии (см. с. 34).

В окислении CH_4 до CO_2 принимают участие метанооксиляющие бактерии (*метилотрофы*), которые обычно «перехватывают» метан при входе в аэробную зону из анаэробной зоны и окисляют его до CO_2 . Метилотрофы распространены в районах метаногенеза: в местах газовых и нефтяных месторождений, в поверхностных пленках болот. Формально можно считать метилотрофов гетеротрофами, поскольку CH_4 — органическое соединение, но физиологически они близки литоавтотрофам, таким как нитрификаторы. Метилотрофы могут быть использованы на практике для устранения метана в угольных шахтах, в качестве продуцентов белка из дешевого сырья.

Часть углерода на Земле захоронена (залежи торфа, нефть, горючие сланцы, каменный уголь и др.) и участвует в круговороте углерода только при вовлечении человеком в хозяйственную сферу.

8.2. Спиртовое брожение

Получение напитков с помощью спиртового брожения относится к древнейшим бродильным производствам. Основные возбудители спиртового брожения — эукариотные организмы — **дрожжи** рода *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*; *S. uvarum*, ранее — *S. carlsbergensis*). Они ши-

роко распространены в любых природно-географических зонах от тундры до тропических пустынь, особенно многочисленны в местобитаниях с повышенным содержанием легкодоступных Сахаров: на плодах растений, в нектаре цветков, на листьях; вместе с ними попадают в почву. В почвах под виноградниками или ягодными кустарниками их численность значительна, но по сравнению с другими микроорганизмами количество дрожжей в почвах невелико. Основные распространители (переносчики) дрожжей — насекомые: пчелы, шмели, мушки-дрозофилы.

Дрожжи — одноклеточные микроорганизмы, размножающиеся преимущественно почкованием (рис. 1.21). С одноклеточной организацией дрожжей — эукарий связывают такие их особенности, как относительно узкий спектр усваиваемых соединений, отсутствие мощных гидролитических систем, неэффективный метаболизм за счет спиртового брожения.

Разные штаммы (культуры одного вида разных природных обитаний) различаются морфологически, размерами, скоростью роста и размножения, отношением к кислороду, потребностью в питательных веществах, характером и количеством образуемых конечных продуктов.

Дрожжи — факультативные анаэробы. В анаэробных условиях они ведут спиртовое брожение:



т. е. из 1 г сахара образуют примерно по 0,5 г этилового спирта и диоксида углерода. При оптимальной концентрации сахара в среде дрожжи

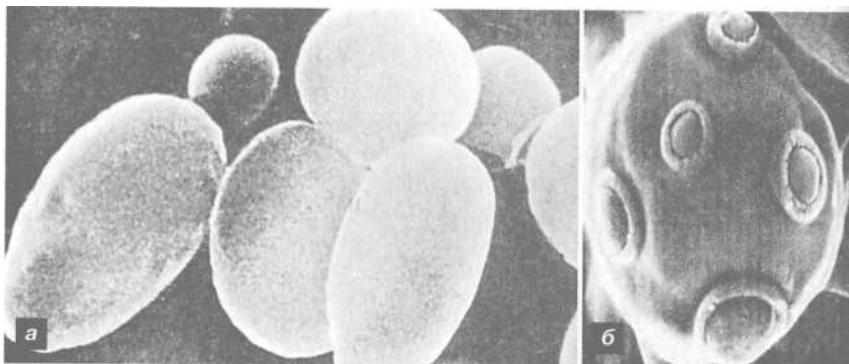


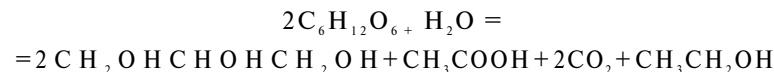
Рис. 1.21. Клетки *Saccharomyces cerevisiae*, сканирующая электронная микроскопия: а — почкующиеся клетки, $\times 7\,800$ [по: Бекер, 1981]; б — клетка со шрамами на поверхности после отделения почек, $\times 12\,500$ [по: Роуз, 1977]

могут накапливать до 16—17% (объемных) спирта, но некоторые наиболее активные разновидности повышают его содержание до 20—25%. При спиртовом брожении образуются также сивушные масла в количестве 0,1—0,6%. Это — высшие гомологи спирта (амиловый, изоамиловый, изопропиловый, пропиловый, изобутиловый спирты и другие структурные изомеры). Их происхождение связывают с содержанием в среде аминокислот, но, возможно, причина в другом.

В аэробных условиях спиртовое брожение подавляется и дрожжи переключаются на аэробное дыхание с образованием конечных продуктов CO_2 и H_2O , при этом почти в 20 раз возрастает выход биомассы. Ингибирование кислородом спиртового брожения было открыто Луи Пастером. Это явление получило название **эффекта Пастера**. По мнению немецкого ученого Г. Шлегеля, оно служит классическим примером регуляции обмена веществ. В аэробных условиях дрожжи используют при приготовлении теста в хлебопекарном производстве, при получении прессованных дрожжей для пищевых и кормовых целей.

Выпечка хлеба с помощью дрожжей осуществляется уже много столетий. Достаточно сказать, что приготовление хлеба из кислого теста описано в Библии. При получении пекарских дрожжей их выращивают на средах с низкой концентрацией сахара (0,5—1,5%) и при равномерной аэрации; сахар в этом случае используется преимущественно для синтеза биомассы дрожжей, а равномерная подача пузырьков воздуха обеспечивает лучший контакт дрожжей со средой. Пекарские дрожжи из одного килограмма углеводов в тесте образуют до 250 л CO_2 . *Подъемная сила теста* — это один из критериев при подборе культур дрожжей для хлебопечения.

Дрожжи ведут спиртовое брожение в широком диапазоне pH (от 3,0 до 7,0), наиболее активно оно протекает при кислой реакции среды — pH 4,5. При повышении pH (подщелачивании среды) (pH 8,0 и выше) дрожжи переключаются на спиртовое брожение с преобладанием в продуктах брожения глицерина (так называемое *глицериновое брожение*):



Глицериновое брожение было открыто в начале XX в. немецким ученым К. Нэйбергом. Эту модификацию спиртового брожения также можно рассматривать как еще один пример управления метаболизмом сахаромисетов.

Дрожжи сбраживают моносахара и дисахариды — сахарозу, мальтозу — при их концентрации в среде 10—15%. При концентрации 30—35% брожение почти не идет. В то же время есть осмофильные дрожжи, которые способны к медленно идущему спиртовому брожению — *пенному брожению меда* при концентрации сахара в меде 70—80%. Возбудители порчи меда попадают в него обычно с цветочным нектаром.

Дрожжи бывают верховые (*верховое брожение*) и низовые (*глубинное брожение*). При повышенных температурах (15—20°C — 25—30°C) бурное и быстрое брожение ведут верховые дрожжи: они выделяют CO₂ и за счет этого всплывают в верхние слои, образуя пену; среда становится мутной, дрожжи до конца брожения находятся во взвешенном состоянии, затем оседают на дно рыхлой массой. Верховые дрожжи обычно накапливают не менее 15% этанола. Их применяют в анаэробных условиях для производства спирта и светлых сортов пива, а при аэрации — для получения прессованных (пекарских или кормовых) дрожжей. Низовые дрожжи развиваются при 5—10°C, газ выделяется постепенно, пены образуется мало, осадок на дне плотный, спирта накапливается примерно 3—5%. Низовые дрожжи используют при производстве пива и вина, поскольку важно, чтобы продукт по окончании брожения легко отделялся от осадка и был прозрачным.

Дрожжи бывают культурные (селекционные, коллекционные) и дикие (местные). На ягодах, фруктах соотношение культурных и диких дрожжей варьирует. К культурным дрожжам относят в основном виды и разновидности рода *Saccharomyces*, к диким — представителей родов *Zygosaccharomyces* и *Schizosaccharomyces*, нередко портящих вкус готового продукта.

Исходным сырьем для брожения в спиртовой промышленности служат картофель, злаки, особенно хлебные, отходы свеклосахарного производства (меласса). Для получения технического спирта используют гидролизаты древесины, отходы целлюлозно-бумажной промышленности. Сырье, содержащее полисахариды (крахмал, целлюлозу), предварительно осахаривают (гидролизуют). В качестве крахмалсодержащего сырья используют *солод* — пророщенное и высушенное зерно ячменя как источник фермента амилазы. Процесс брожения ведут 2—3 суток, по окончании брожения дрожжи отделяют от *сброженного сусла* (*браги*), а спирт отгоняют на специальных перегонных аппаратах. Полученный спирт-сырец подвергают *ректификации* (очистке). После окончания брожения дрожжи промывают, прессуют и

используют в качестве пекарских. *Барду* (остаток после отгонки спирта) применяют в качестве корма для сельскохозяйственных животных или среды для выращивания кормовых дрожжей.

Спиртовое брожение часто протекает совместно с молочнокислым брожением — при изготовлении кваса, кумыса, кефира. Дрожжи развиваются также при силосовании кормов, квашении овощей.

Хотя традиционно дрожжи и используются для конверсии углеводов в этиловый спирт, в последние годы интенсивно изучают представителей прокариот — мезофильные и особенно термофильные бактерии *Zymomonasmobilis* (прежние названия *Thermobacterium mobile*, *Pseudomonas lindneri*), которые по ряду свойств превосходят дрожжи и могут быть перспективными продуцентами спирта, способными трансформировать целлюлозу и крахмал в этанол без предварительного гидролиза, что устраняет необходимость стерилизации среды.

Стимулом к использованию этих бактерий вместо дрожжей служит и то, что они могут превращать сахар в спирт с выходом до 95% от теоретически возможного. Поскольку к тому же бактерии выдерживают высокие концентрации сахара и спирта, их можно выращивать в реакторах меньшего размера, что существенно снижает стоимость производства.

Z. mobilis (рис. 1.22) — грамтрицательные палочки, часто располагающиеся парами, облигатные анаэробы; эффект Пастера у них отсутствует. Сбраживают 1 моль сахара с образованием 2 моль спирта, 2 моль диоксида углерода и небольшого количества лактата. Обнаруживаются в пальмовом соке, соке сахарного тростника, в сидре, соке агавы.

В Мексике эти бактерии используют для получения национального алкогольного напитка «пульке», содержащего 6% спирта; напиток готов через сутки сбраживания сока агавы.

Кроме *Z. mobilis*, образование спирта при сбраживании сахарозы обнаружено у *Sarcina ventriculi*, но оно сопровождается накоплением уксусной, молочной кислот и H₂. Образование спирта наряду с другими продуктами брожения выявлено у ряда представителей бактерий рода *Clostridium* и гетероферментативных молочнокислых бактерий. Предпринимаются попытки создания рентабельной технологии трансформации растительного сырья в этанол с помощью искусственной ассоциации — смешанной культуры разных видов клостридий (например, *C. thermocellum* и *C. ethanolicum*) для осуществления спиртового брожения на целлюлозосодержащих субстратах путем включе-

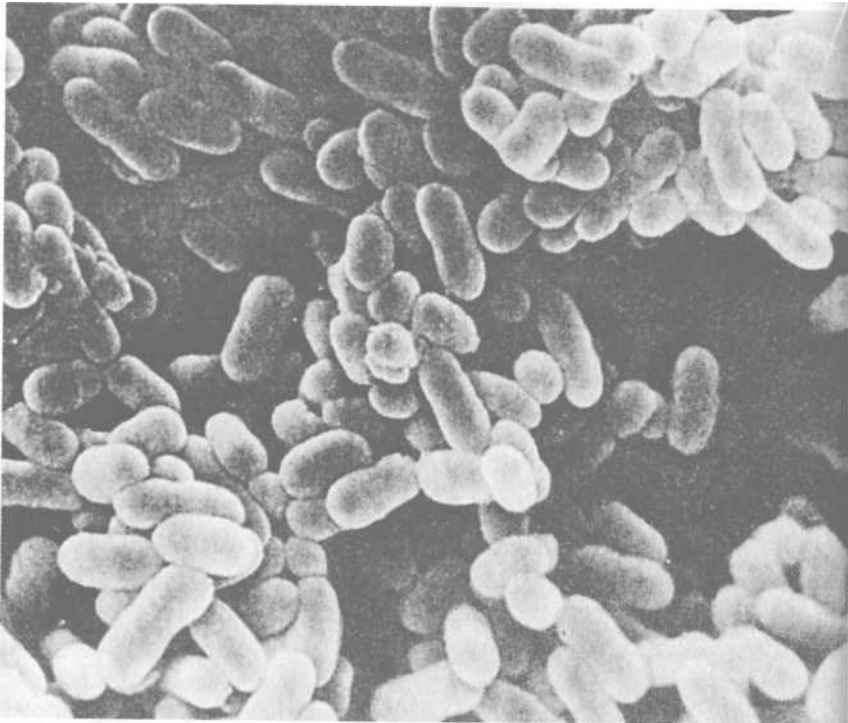


Рис. 1.22. Клетки *Zymomonas mobilis* [по: Роуз, 1977]

ния в состав ассоциаций не только бактерий, гидролизующих целлюлозу, но и агентов, использующих побочные продукты их метаболизма: ацетат, лактат и водород.

8.3. Молочнокислое брожение

Молочнокислые бактерии — одна из широко распространенных в природе групп бактерий, сопровождающих человека, растения, животных. Их много в молоке, кисломолочных продуктах, на листьях, цветах, плодах, стеблях, встречаются они и в ризосфере корнеплодов в почве. Особенно велика численность молочнокислых бактерий на капусте, огурцах, укропе. Молочнокислые бактерии — обитатели слизистых оболочек и кишечного тракта всех млекопитающих и насекомых. Их достаточно много на разлагающихся остатках растительного и животного происхождения, на бытовых и промышленных отходах, в навозе и сточных водах, что определяется наличием необходимых для их жизнедеятельности углеводов.

Теоретически молочнокислые бактерии сбраживают 1 моль глюкозы с образованием 2 моль молочной кислоты, практически же обычно образуется 1,8 моль. По характеру конечных продуктов брожения молочнокислые бактерии делят на 2 типа: гомоферментативные и гетероферментативные молочнокислые бактерии. При гомоферментативном брожении образуется только молочная кислота и лишь 3% субстрата (лактозы в молоке или мальтозы в растительных продуктах) превращается в биополимеры клетки; остальная часть конвертируется в молочную кислоту. При гетероферментативном молочнокислом брожении (к которому относится и бифидоброжение) образуются разнообразные продукты.

Молоко — прекрасный естественный субстрат для роста не только молочнокислых, но и гнилостных, маслянокислых и других бактерий, дрожжей и грибов. В нем содержится источник углерода — лактоза, источник азота — белки, казеин в виде казеината кальция, жиры, витамины, минеральные соли. Поэтому численность микроорганизмов в молоке очень велика, но молочнокислые бактерии в нем доминируют.

Гомоферментативное молочнокислое брожение протекает по следующей схеме:



При гетероферментативном молочнокислом брожении кроме молочной кислоты образуются диоксид углерода и этиловый спирт:



При бифидоброжении образуются уксусная и молочная кислоты в соотношении 3 : 2:



Молочнокислые бактерии неподвижны, не образуют спор (исключение — *Sporolactobacillus inulinus*), сбраживают моносахара и дисахариды, не сбраживают полисахариды; некоторые накапливают ацетоин $CH_3COCH(OH)CH_3$ и диацетил $CH_3COCOCH_3$, придающие кисломолочным продуктам своеобразный приятный аромат и вкус, особенно если в субстрате есть лимонная кислота (в молоке содержание цитрата кальция может достигать 1 г/л).

Молочнокислые бактерии кислотоустойчивы, выдерживают 1,5–3,5% молочной кислоты (рН 3,5 и менее), спиртоустойчивы (до 16% этанола). У них отсутствует цикл трикарбоновых кислот, к кислороду они индифферентны, почти не нуждаются в железе, но содержат большое количество двухвалентного марганца (у типового штамма *Lactobacillus plantarum* полностью отсутствует потребность в железе).

К гомоферментативным молочнокислым бактериям относятся: род *Lactococcus* (рис. 1.23, а) — шаровидные бактерии, располагающиеся парами, короткими и длинными цепочками; род *Pediococcus* (рис. 1.23, б) — форма клеток каплевидная, располагаются кучками, тетрадами, парами и единично; палочковидные представители рода *Lactobacillus* (рис. 1.23, в) (*Lb.lactis* — молочная палочка, *Lb.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* — болгарская палочка, *Lb.acidophilus* — ацидофильная палочка, *Lb.plantarum* — растительная палочка).

Обитающий в северных широтах *Lactococcus lactis* (молочный кокк) накапливает всего 1% молочной кислоты, поэтому простокваша, которую он образует, по вкусу пресная; болгарская палочка накапливает 3,5% молочной кислоты; ацидофильная — 2,5% (это обитатели южных широт, продукты жизнедеятельности которых характеризуются высокой кислотностью).

Гетероферментативные молочнокислые бактерии включают род *Leuconostoc* — крупные, округлой формы бактерии, располагающиеся цепочками, окруженные большими декстрановыми капсулами (см. с. 35), род *Lactobacillus* (представлен видами *Lb.brevis* и *Lb.fermenti*) — небольшие короткие палочки, развивающиеся при температурах 40—45°С, и род *Bifidobacterium* (вид *B.bifidum*, от лат. *bifidus* — раздвоенный) — прямые или разветвленные палочки V-образной формы или булавовидные, иногда располагающиеся цепочками или палисадом.

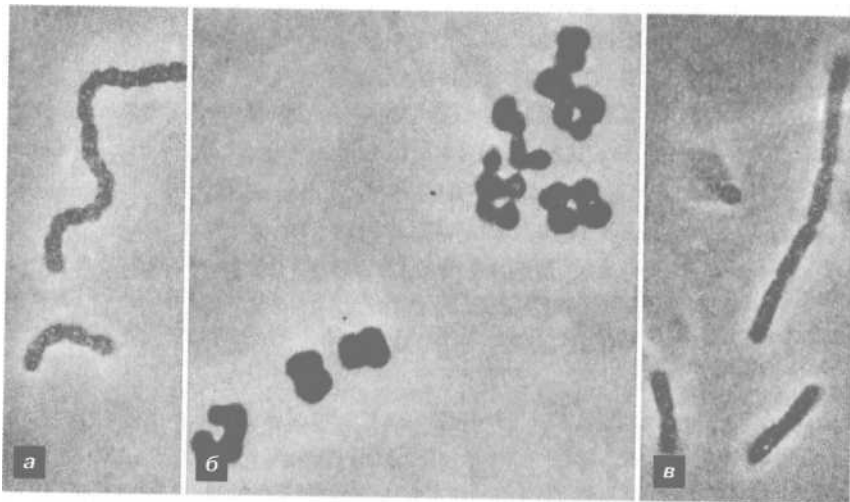


Рис. 1.23. Молочнокислые бактерии, фазовый контраст, $\times 2\ 200$: а — *Lactococcus*; б — *Pediococcus*; в — *Lactobacillus*

Молочнокислые бактерии называют «живыми реактивами», поскольку многие из них образуют безопасные для человека и быстро разлагающиеся антибиотики, например низин (продуцент *Lb.lactis*), лактолин (*Lb.plantarum*), лактобревин (*Lb.brevis*), диплококцин (*Leuconostoc sp.*). Низин используют при консервировании продуктов детского питания. Молочнокислые бактерии являются продуцентами многих биологически активных веществ.

Молочнокислые бактерии называют также «бактерии-френд» (bacteria-friend), «питательные лекарства», так как они занимают все большее место в питании человека, составляя основу «функционального питания» (термин предложен японскими исследователями в 1989 г.). В кисломолочных продуктах благодаря деятельности молочнокислых бактерий лактоза молока переходит в молочную кислоту; это важно, так как многие люди с возрастом страдают непереносимостью лактозы из-за дефицита фермента β -галактозидазы; при этом кисломолочные продукты усваиваются ими хорошо. Употребление кисломолочных продуктов улучшает состав микроорганизмов пищеварительного тракта за счет снижения доли гнилостных бактерий. В 1 г. содержимого толстого кишечника человека содержится 10^{12-13} КОЕ, преимущественно гнилостных. Всего в кишечнике взрослого человека находится более 1 кг клеток микроорганизмов (при превышении этого уровня может наблюдаться токсикоз).

Идея использования живых молочнокислых бактерий для улучшения функционирования пищеварительного тракта человека принадлежит нашему соотечественнику *Илье Ильичу Мечникову* (1845—1916), рекомендовавшему заквашивать молоко молочнокислыми бактериями *Lb.bulgaricus*, выделенными им из болгарского йогурта, которые должны были ограничивать до определенных пределов деятельность гнилостных бактерий в кишечнике, обогащать кишечник витаминами, бактерицидными веществами, повышая иммунный статус организма. Идея была реализована много позднее, когда стали использовать кисломолочные продукты — *пробиотики*, содержащие живые клетки молочнокислых бактерий, специально подобранные преимущественно из представителей нормальной микрофлоры человека. Это *Lb.acidophilus* и *B.bifidum*, оптимальная температура для их развития составляет примерно 40°С (температура кишечника), они привычны к метаболитам гнилостных бактерий (индолу, скатолу, меркаптанам и др.) в желудочно-кишечном тракте человека и хорошо приживаются в микробной экосистеме кишечника. К пробиотикам относятся *биоюгурты*, *бифидобактерины*, *бифидоки*, *ацидофилин* и т. п. Благодаря антибиотической активности живых молочнокислых бактерий (10^{10-11} КОЕ/г)

в пробиотиках они устраняют дисбаланс между молочнокислыми и гнилостными бактериями, ингибируя развитие гнилостных и других, возможно, условно-патогенных бактерий, превышение численности которых может вызвать отравление организма человека продуктами их жизнедеятельности.

Молочнокислые бактерии используются в домашнем и сельском хозяйстве, в пищевой промышленности при приготовлении разнообразных кисломолочных продуктов (сметана, творог, масло, простокваша, ряженка, варенец, пробиотики и др.), они — основные агенты при квашении капусты, солении огурцов, помидоров, мочении яблок, консервировании маслин (оливок), силосовании кормов.

Процесс мочения яблок идет иначе, чем квашение. Поскольку в яблоках много сахара, хорошо развиваются дрожжи (2% этанола) и уксуснокислые бактерии, в то время как молочнокислые бактерии (ацетат и лактат по 1,5%) — в меньшей степени.

Основные факторы, определяющие получение качественного силоса, — создание анаэробных условий для молочнокислых бактерий и обеспечение их углеводами — «сахарным минимумом» (они используют преимущественно мальтозу растений). Если сахара в силосовых растениях мало, в силосные башни добавляют мелассу как дополнительный источник Сахаров. Поскольку молочнокислые бактерии — *эпифиты* (гр. *epi* — над, *phyton* — растение), они доминируют среди микроорганизмов силоса уже при его закладке. Аэробные микроорганизмы в условиях анаэробноза не развиваются, а анаэробные бактерии рода *Clostridium* (маслянокислые, которые могут испортить вкус и запах силоса) попадают в силос в основном с почвой, их существенно меньше, и достичь большой численности они могут лишь через 2—3 суток, а к этому времени молочнокислые бактерии уже снижают рН силоса и развитие маслянокислых клостридиев становится невозможным.

Во всех перечисленных выше продуктах развиваются молочнокислые бактерии и происходит только молочнокислое брожение. К кисломолочным продуктам, где кроме молочнокислых бактерий, ведущих молочнокислое брожение, идут и другие типы брожения, относятся *кефир* (спиртовое брожение ведут дрожжи, содержание спирта — от 0,2 до 0,6%), *кумыс* (содержание спирта 2,0—2,5%) и другие кисломолочные продукты разных народов (например, *мацони*, *айран*), для которых используют кобылье, верблюжье, буйволиное, козье, овечье, ослиное молоко.

Кефир получают при заквашивании молока кефирными зернами, которые представляют собой пространственно выраженный сим-

биоз, сформировавшийся естественным образом в процессе эволюции на северных склонах Кавказского хребта, где с древних времен горцы занимались скотоводством. Зерна имеют форму головок цветной капусты размером от булавочной головки до грецкого ореха; сформировались они на основе казеината кальция как переплетение мицелия дрожжей с палочковидными и кокковидными (в виде одиночно расположенных или цепочками) клетками бактерий. Этот симбиоз состоит из сбраживающих лактозу *Saccharomyces kefir*, *Torula kefir*, *Lactococcus lactis*, *L. diacetylactis*, *Lactobacillus casei*, *Lb. caucasicus*, *Lb. delbrueckii*, *Leuconostoc*, уксуснокислых бактерий рода *Acetobacter*, использующих этанол, и др. В кумысе преобладают сбраживающие лактозу дрожжи рода *Torula* и термофильные лактобациллы.

Деятельность молочнокислых бактерий лежит в основе изготовления сыров. Процесс сыроделия начинается со свертывания молока — коагуляции казеина молока молочнокислыми бактериями (*кисломолочные сыры*) и при дополнительном введении сычужных ферментов из желудка жвачных (*сычужные сыры*). Сгустки отделяют от сыворотки, прессуют, выдерживают в соли и оставляют созревать. По степени разложения казеина (на 1/3 или почти полностью) сычужные сыры делят соответственно на *твердые* и *мягкие*. В твердых сырах образовавшаяся молочную кислоту сбраживают в пропионовую и уксусную кислоты, а также в диоксид углерода пропионовокислые бактерии; CO₂ накапливается постепенно и так же постепенно выделяется из сырной головки, образуя в сыре равномерные крупные глазки, иногда со «слезой» (ацетатом и пропионатом).

При изготовлении сычужных твердых крупных сыров протекает сначала молочнокислое брожение (*Lb. casei*, *Lb. lactis*), на второй стадии созревания сыра — пропионовокислое брожение (*Propionibacterium freudenreichii*).

Термофильные молочнокислые бактерии используют при изготовлении сырокопченых колбас (салями, сервелат). Образуя молочную кислоту и снижая рН среды, они предохраняют от порчи колбасы, не подвергаемые варке.

8.4. Брожения, вызываемые бактериями рода *Clostridium*

Большинство анаэробов в почве относится к спорообразующим бактериям рода *Clostridium*. Виды этого рода играют большую роль в цепи превращений углерод- и азотсодержащих соединений. Они распространены в природе повсеместно: во всех почвах, навозе, компостах,

сточной жидкости, иловых отложениях, водоемах, на дне озер, прудов, в загрязненных реках, пищеварительном тракте позвоночных, насекомых, в отбросах, разлагающихся растительных остатках и остатках животного происхождения (мортмассе).

По отношению к кислороду эти организмы — облигатные (строгие) анаэробы, т. е. физиологически род *Clostridium* характеризуется четко выраженным бродильным типом метаболизма. При доступе кислорода бактерии рода *Clostridium* могут развиваться только, если рядом находятся аэробы, поглощающие O₂ и создающие для них анаэробные микрозоны. При неблагоприятных условиях, если все же кислород к ним поступает, или реакция среды кислая, или отсутствует источник энергии и питания, эти бактерии не погибают, так как переходят в состояние споры. Клостридии относятся к группе *первичных анаэробов* (см. с. 23), способных разлагать практически все полимерные соединения, попадающие в почву, вызывая их гидролиз и создавая резервуары мономеров, которые в первую очередь служат субстратом для них самих. Конечными продуктами метаболизма первичных анаэробов являются H₂, CO₂, летучие жирные кислоты и спирты. Продукты обмена веществ популяции бактерий в почве должны быть удалены из зоны ее локализации, иначе популяция не сможет длительно существовать: они или улетучиваются, или адсорбируются почвой; возможны миграция в анаэробной зоне, использование аэробными микроорганизмами или группировкой *вторичных анаэробов*. В природных условиях часто функцию вторичных анаэробов выполняют сульфидогены (см. с. 126) и метаногены (см. с. 75).

Тип питания *Clostridium* — гетеротрофный, они сапротрофы или паразиты (*патогены* — возбудители раневых инфекций, пищевых отравлений).

В зависимости от вида сбраживаемого субстрата и ферментов, которые они продуцируют, гидролизуя субстрат, выделяют несколько физиологических групп клостридиев: сахаролитические, протеолитические, пуринолитические, липолитические и др. Сахаролитические гидролизуют дисахариды, полисахариды: крахмал, гликоген, пектины, агар, клетчатку; протеолитические гидролизуют белки, пептоны, полипептиды, дипептиды до аминокислот, которые затем подвергают брожению; пуринолитические сбраживают пурины и пиримидины; липолитические гидролизуют жиры. Все они минерализуют органические соединения в анаэробных условиях. Есть группа ацетогенных клостридиев (см. с. 96).

Среди процессов, которые клостридии вызывают в природе, особо важны процессы деструкции трудно разлагаемых биополимеров рас-

тительного и животного происхождения. Метаболиты клостридий (кислоты, спирты и их производные) находят достаточно широкое применение.

Маслянокислое и ацетонобутиловое брожение (сахаролитические клостридии). Типичные представители бактерий, ведущих маслянокислое брожение, — *Clostridium butyricum*, *C. pasteurianum*. Это истинные маслянокислые бактерии. Именно на примере маслянокислых бактерий Л. Пастер установил явление *анаэробноза* — возможности жизни без кислорода. Они сбраживают углеводы: полисахариды (декстрин, агар, крахмал), моносахара, дисахариды, молочную, пировиноградную и другие кислоты, маннит и еще многие разнообразные соединения. В качестве источника азота используют органические, минеральные вещества и молекулярный азот.

Суммарно маслянокислое брожение протекает следующим образом:



Маслянокислые бактерии крупные (1—2 × 10 мкм) перитрихальные палочки, образуют споры (по клостридиальному типу, когда клетка со спорой приобретает вид веретена). Перед началом спорообразования в клетках накапливается *гранулеза* (запасное вещество, подобное крахмалу), наличие которой для этих бактерий служит диагностическим признаком.

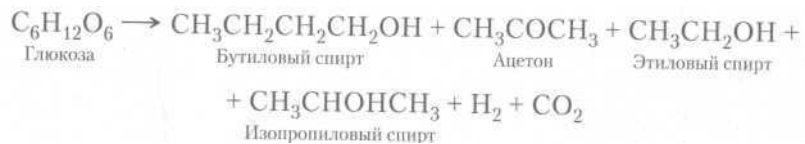
Приуроченность маслянокислых бактерий к верхним горизонтам почвы определяется достаточными запасами пищи и большим содержанием молекулярного азота. Защиту от O₂ они находят, либо сосуществуя с аэробами, либо находясь внутри агрегатов почвы, поскольку в любом, даже самом мелком, агрегате на поверхности могут быть одни условия аэрации, влажности, рН, наличия доступных элементов питания, а внутри — совершенно иные. К тому же при неблагоприятных условиях маслянокислые бактерии образуют споры.

Среди маслянокислых бактерий преобладают мезофилы, встречаются также термофилы и психрофилы. Важное значение для клостридий имеет реакция среды. В нейтральной и щелочной среде маслянокислые бактерии образуют до 92% масляной и 7—8% уксусной кислот, к концу брожения концентрация этих кислот не уменьшается, но процесс брожения затухает. Если бактерии продолжать выращивать, добавляя к среде источники С и N, процесс продолжится, но будут образовываться восстановленные продукты по типу «условно спиртового брожения» (Шапошников, 1947). Явление двухфазности брожения

было открыто *Владимиром Николаевичем Шапошниковым* (1884—1968) у маслянокислых и ацетонобутиловых бактерий.

При ацетонобутиловом брожении в начальный период брожения также происходит образование масляной и уксусной кислот примерно в равных количествах, однако по мере подкисления среды индуцируется синтез ферментов, приводящих к накоплению нейтральных продуктов и в первую очередь — бутанола и ацетона; механизм образования масляной и уксусной кислот прерывается, и они сохраняются к концу брожения лишь в незначительных количествах.

Процесс ацетонобутилового брожения (вариант маслянокислого брожения) ведут бактерии *C. acetobutylicum* и *C. butylicum* по следующей схеме:

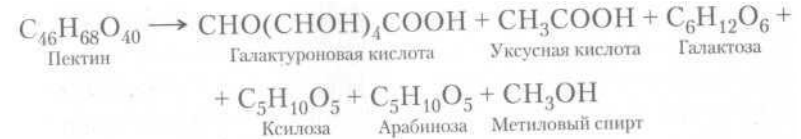


В производственных условиях ацетонобутиловые бактерии выращивают на крахмал- и сахарсодержащем сырье: кукурузной муке, зерне или мелассе.

Разложение пектиновых веществ и роль сахаролитических клостридий в этом процессе. Разложение пектиновых веществ $\text{C}_46\text{H}_{68}\text{O}_{40}$ (гр. *pectys* — студень; в воде набухает, но не растворяется) имеет в природе очень большое значение. Содержание пектина в растительных тканях варьирует от 10 до 30% в зависимости от вида, органа и возраста растения. Обычно именно с гидролиза пектиновых веществ (срединных пластинок — межклеточных веществ, связывающих стенки соседних растительных клеток и придающих растительным тканям дополнительную прочность) и гидролиза крахмала начинается процесс разложения растительных остатков. В результате межклеточные вещества разрушаются, происходит распад растительной ткани на отдельные фрагменты, увеличивается поверхность разлагающихся органических остатков, что важно для последующего процесса разрушения клетчатки, особенно в почве.

Способность разлагать пектины присуща многим аэробным бактериям и грибам. К анаэробным бактериям, ведущим брожение пектиновых веществ, относятся маслянокислые бактерии *Clostridium felsineum* и *C. pectinovorum*. В почве общая численность разрушителей пектинов достигает 10^5 клеток в 1 г. Сначала пектинолитические микроорганизмы выделяют гидролитические ферменты, разрушающие пектины до

легкоразлагаемых продуктов гидролиза. Энергия при гидролизе не выделяется. Схема процесса гидролиза:



Продукты гидролиза могут служить источниками питания и энергии как для аэробов, так и для анаэробов. При сбраживании этих веществ маслянокислыми бактериями *C. pectinovorum* выделяются масляная и уксусная кислоты, диоксид углерода и водород, при сбраживании *C. felsineum* — еще и небольшие количества бутилового спирта и ацетона. Брожение заканчивается, когда пектиновые вещества разрушаются. Практически все фитопатогенные микроорганизмы обладают пектинолитической активностью.

На практике брожение пектиновых веществ используется при промышленной регулируемой водяной мочке льна, конопли для мацерации (нарушения связей между клетками) и выделения целлюлозных волокон, идущих на изготовление хлопчатобумажных тканей. Водяная мочка обеспечивает получение высококачественной целлюлозы, что обычно не достигается при росной мочке растительного материала, поскольку в последнем случае действуют в основном аэробные пектинолитические грибы родов *Cladosporium*, *Aspergillus* и др., которые наряду с разрушением пектиновых веществ могут повредить и целлюлозу.

8.5. Разложение целлюлозы в анаэробных (брожение) и аэробных (окисление) условиях

Целлюлоза (клетчатка) $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ — основная составная часть растений (40—70% массы), и ее биосинтез по масштабам превосходит синтез всех прочих соединений. В количественном отношении целлюлоза — преобладающий компонент растительных тканей и в сочетании с крахмалом (тоже гомополисахаридом, состоящим, как и целлюлоза, из молекул глюкозы, и доля которого в растениях также довольно значительна) является основным источником углерода в почве. Целлюлоза служит исходным материалом для навоза, компостов, гумуса (перегноя), торфа, лигнина, каменного угля.

Разложение целлюлозы — один из важнейших процессов для сельского хозяйства и жизни почвы. Способностью разлагать клетчатку обладает большое количество микроорганизмов, различающихся конечными продуктами метаболизма, условиями проявления целлюло-

эолитической активности, приспособленностью к месту обитания. Расщепление клетчатки с разной скоростью происходит в природе почти повсеместно, если микроорганизмы имеют в своем распоряжении азот и минеральные соединения.

Разложение целлюлозы как главного структурного биополимера растительных клеток имеет большое общебиологическое значение. CO₂ воздуха поглощают фотосинтезирующие растения и фото- и хемосинтезирующие бактерии. Целлюлозу разлагают аэробные и анаэробные микроорганизмы. Существует почти полное равновесие между CO₂, поглощенным в процессе фото(хемо)синтеза, и возвращаемым в атмосферу при деградации органического вещества (на 90% — микроорганизмами и только на 10% — за счет дыхания человека, животных, растений). При этом в аэробных условиях 2/3 CO₂ образуют грибы, 1/3 — бактерии. И роль целлюлозоразрушающих микроорганизмов в сохранении этого равновесия наиболее существенна.

Целлюлоза состоит из цепочек β-D-глюкозы (1,4-связи). Отдельные молекулы глюкозы соединены в пучки — мицеллы и имеют вид кристаллической решетки, чередующейся с некристаллическими участками (аморфной фракцией). Пучки мицелл покрыты общей оболочкой, инкрустированной пектином, воском, лигнином. Разнообразие этих соединений определяет скорость разложения целлюлозосодержащих субстратов: бумаги, картона, хлопчатобумажных тканей и др. В природе чистая клетчатка — редкость, даже волокна ваты (хлопка) содержат разнообразные примеси.

Целлюлозоразрушающие микроорганизмы изобилуют в почвах. Способность расщеплять целлюлозу не является характерной особенностью какой-либо одной группы микроорганизмов. Напротив, это очень разнородные группы. К ним относятся анаэробы и аэробы, мезофилы и термофилы, бактерии и грибы. Для большинства из них целлюлоза — один из источников углерода. Но есть монофаги, которые развиваются только при ее наличии, а также такие микроорганизмы, которые предпочитают целлюлозу всем другим субстратам.

Учитывая огромную массу целлюлозы в природе, целлюлозоразрушающие анаэробные организмы следует рассматривать как важнейших поставщиков источников питания и энергии для других гетеротрофных микроорганизмов, которым клетчатка недоступна, а аэробные целлюлозоразрушающие бактерии — как поставщиков CO₂ для автотрофных организмов. Кроме того, промежуточные метаболиты аэробов (в основном это органические кислоты) также служат благоприятным субстратом для многих микроорганизмов. Так, обычно, когда запахивают в почву солому, сначала начинается развитие аэробных

и анаэробных целлюлозолитиков, а вслед за ними — бурное развитие свободноживущих азотфиксаторов.

Брожение целлюлозы (сахаролитические клостридии). Целлюлозоразрушающие бактерии рода *Clostridium* широко распространены в почвах (особенно в плохо аэрируемых), навозе, компостах, илах, болотах, в сточных водах, на дне водоемов. Это облигатные анаэробные, перитрихальные, длинные, тонкие палочки, образующие споры по плектридиальному типу (клетки приобретают или форму барабанной палочки, или теннисной ракетки). Гранулезы в клетках нет. Используют предпочтительнее целлюлозу.

Многие виды клостридий ведут процесс разложения целлюлозы, расщепляя ее сначала с помощью целлюлазы, затем — целлобиазы (β-глюкозидазы) до молекул глюкозы:



Процесс разложения целлюлозы экзоферментами происходит при их выделении на поверхность клетки и контактировании с субстратом. Возбудитель брожения клетчатки *C. omelianskii* — мезофил (температура развития 30—40°С), продукты брожения — этанол, уксусная, молочная, муравьиная кислоты, CO₂, H₂.

В навозе, компостах обычно ведут процесс термофилы *C. thermocellum*, *C. dissolvens* (оптимальная температура развития — 60, максимальная — 70°С). *C. thermocellum* — длинная крупная палочка с грушевидной спорой на конце. Конечные метаболиты осуществляемого ею брожения: уксусная кислота (основной продукт метаболизма, 55—95%), муравьиная, молочная кислоты (до 5%), этанол, CO₂, H₂ и другие соединения.

В рубце жвачных животных развиваются специфические анаэробные термофилы — руминобактерии (оптимальная температура развития 40—50°С). Среди продуктов разрушения клетчатки в рубце — уксусная, молочная, пропионовая, янтарная, муравьиная, масляная кислоты, спирты, CO₂ и H₂. Руминобактерии играют большую роль в питании жвачных. Целлюлозоразрушающие клостридии обнаруживаются в кишечнике термитов, тараканов.

Встречаются в природе и психрофильные целлюлозолитики. Анаэробные разрушители клетчатки не всегда осуществляют полезную работу, иногда они причиняют большой вред: разрушают обмотку кабелей, рыболовные сети, корабельные снасти.

Окисление целлюлозы. Выдающийся русский ученый С. Н. Виноградский (1952) писал: «Процесс анаэробного разложения целлюлозы играет лишь второстепенную роль в возделываемой почве, а активными в основном являются аэробные организмы». Действительно, роль аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов в природе велика: процесс разложения клетчатки, составляющей основную массу всех синтезируемых природных соединений, при участии аэробных целлюлозоразлагающих микроорганизмов идет с несравнимо большей скоростью и эффективностью, чем в анаэробных условиях. За гидролиз целлюлозы, как и у анаэробов, у аэробных целлюлозоразлагающих микроорганизмов отвечают связанные с мембранами мощные эндо- и экзоферменты гидролазы. Работа этих ферментов осуществляется только при непосредственном контакте клетки с волокнами полимера..

Распространение разрушителей целлюлозы в природе определяется в основном тем огромным количеством органического вещества, которое ежегодно поступает в почву. В почве, особенно оструктуренной, аэробные и анаэробные целлюлозолитики существуют одновременно, и их нередко трудно разграничить.

В разложении клетчатки в аэробных условиях принимает участие целый комплекс разнообразных микроорганизмов: это и обычно вызывающие быстрый, но неглубокий распад целлюлозы микроскопические грибы родов *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Aspergillus* и др.; медленно, но продуктивно разрушающие клетчатку актиномицеты родов *Streptomyces*, *Micromonospora* и бактерии, особое место среди которых занимают миксобактерии, в частности скользящие, не образующие плодовых тел *Cytophaga hutchinsonii* (имеют метаболизм дыхательного и бродильного типа). На среде с фильтровальной бумагой (целлюлозой) как единственном источнике углерода цитофаги образуют желеобразные от яично-желтых до кирпично-красных колонии. Окраска определяется каротиноидами. У некоторых представителей рода *Cytophaga* пигментов нет и колонии на фильтровальной бумаге прозрачно слизистые — «цитофаговое желе». Цитофаги — одни из самых активных разрушителей целлюлозы. Кроме нее, они используют пектин, крахмал, агар (рис. 1.24), хитин, белки. *Herpetosiphon aurantiacus* также относится к скользящим, не образующим плодовые тела миксобактериям. Этот микроорганизм — облигатный аэроб, образующий желтые, оранжевые или красные колонии. Он активно разрушает целлюлозу, хитин, крахмал, агар, лизирует клетки бактерий и дрожжей; встречается в почве, навозе, гниющем растительном материале.

К активным целлюлозоразрушающим бактериям относятся также скользящие, образующие плодовые тела с микроспорами, миксобактерии родов *Sorangium* и *Polyangium* (рис. 1.25, а). Крупные (300–700 мкм высотой) плодовые тела *Chondromyces* (рис. 1.25, б) нередко можно увидеть на гниющей древесине.

Довольно активно разлагают целлюлозу слегка изогнутые грамтрицательные палочки *Cellvibrio mixtus* и грамположительные неспорообразующие палочки рода *Cellulomonas*, обладающие как аэробным, так и анаэробным типами метаболизма.

Если провести анализ распространения целлюлозоразрушающих микроорганизмов в различных почвах, то можно выявить следующие закономерности: в унавоженных окультуренных почвах, в хорошо аэрируемых нейтральных или слабокислых доминируют представители миксобактерий, в частности рода *Cytophaga* и рода *Cellvibrio*; в целинных — *Sporocytophaga* и *Sorangium*; в лесных почвах с кислой реакцией среды распространены преимущественно грибы; в тяжелых болотистых почвах, особенно в жарком климате, преобладают бактерии рода *Clostridium*. В такыровидных почвах в изо-

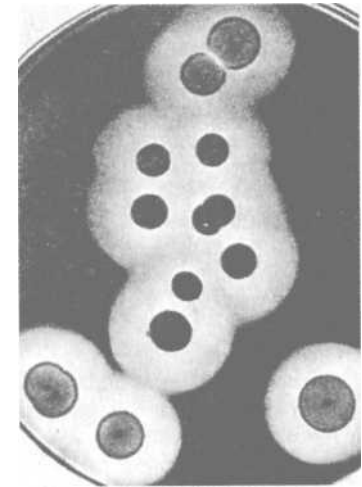


Рис. 1.24. Зоны гидролиза агара вокруг колоний *Cytophaga fermentans* var. *agarovorans* на агаризованной среде [по: Шлегель, 1987]

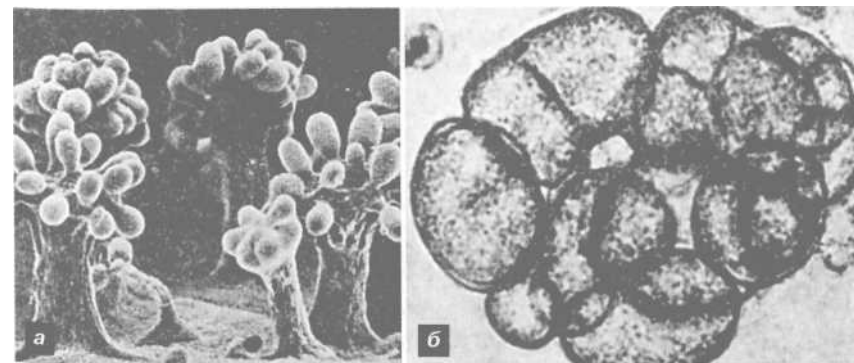


Рис. 1.25. Плодовые тела: а — *Polyangium*, $\times 570$; б — *Chondromyces crocatus*, сканирующая микроскопия, $\times 820$ [по: Стейниер, 1979]

били развивается *Cellvibrio*, особенно на поздних этапах разложения соломы; считается, что *Cellvibrio* приурочен к водорослям и лишайникам. Гидролитический блок почвенных бактерий, способных разрушать сложные полимеры (целлюлозу, крахмал, пектин, хитин), включает миксобактерии, *Cytophaga*, *Cellvibrio*, актиномицеты, *Cellulomonas*, а также бациллы и клостридии. Все они имеют набор ферментов, в частности целлюлазу, глюкозидазу, пектиназу, липазу, хитиназу.

В почвах под посевами кормовых трав весной доминируют бактерии рода *Cellvibrio* (они хорошо приспособлены к низким температурам и всегда находят в почве необходимый им минеральный азот). В первой половине лета преобладают грибы рода *Chaetomium* и другие, усваивающие минеральный и органический азот. Во второй половине лета при обилии остатков растительных трав и повышении содержания в почве нитратного азота развивается *Cytophaga hutchinsonii*, к зиме численность целлюлозолитиков снижается.

Целлюлозоразрушающие аэробные микроорганизмы наносят вред библиотекам, книгохранилищам, архивам, они также вызывают порчу деревянных построек.

8.6. Окисление этилового спирта в уксусную кислоту

Большинство аэробных микроорганизмов в процессе дыхания окисляет органические вещества до полностью окисленных диоксида углерода и воды. В этом случае говорят о полном окислении субстрата, и данный тип дыхания отличается от неполного окисления, при котором в качестве продуктов обмена выделяются частично окисленные органические соединения. К неполному окислению относится и окисление этилового спирта в уксусную кислоту:



Процесс был известен уже много веков назад. Использовали его для получения уксуса (гр. *oxus* — уксус). Если оставить в открытом сосуде вино или пиво (с концентрацией спирта не более 12%), то через несколько дней жидкость станет мутной, на поверхности появится пленка и этиловый спирт превратится в уксус.

Возбудители уксуснокислого брожения относятся к родам *Gluconobacter* и *Acetobacter*. Это — короткие граммотрицательные палочки, эндоспор не образуют, облигатные аэробы. Высокая чувствительность к недостатку кислорода в среде объясняется активностью обнаруженного у них необычного фермента — *апиразы*, который в отсутствие O_2

нарушает пул АТФ, ответственный за поступление метаболитов в клетку, и в нее беспрепятственно начинают поступать ацетат и этанол. Эти микроорганизмы кислотоустойчивы, развиваются при рН около 3,0 (оптимум 5,4—6,3).

Глюконобактер (лофотрих) ведет процесс окисления только до уксусной кислоты, ацетобактер (перитрих), в частности *A. peroxydans*, может окислять этанол сначала до ацетата, а затем до CO_2 и воды. Такой вариант процесса представляет большую опасность для производства уксусной кислоты, и, чтобы ее избежать, обычно используют вид *A. suboxydans*, не обладающий этой способностью.

В природных условиях уксуснокислые бактерии встречаются вместе с дрожжами, так как они используют образующийся в процессе жизнедеятельности дрожжей спирт. Эти микроорганизмы можно обнаружить на цветах, плодах, в ульях, садовой почве, в прокисших фруктовых соках, пиве, вине, квашеных овощах. Переносчиками служат насекомые, особенно плодовая или уксусная мушка *Musca cellaris* из рода *Drosophila*.

Помимо этилового спирта, уксуснокислые бактерии способны окислять пропиловый спирт в пропионовую кислоту, глюкозу в кетоглюконовую кислоту, сорбит в сорбозу, служащую сырьем для синтеза витамина С. На поверхности сред они образуют пленки, тонкие, хрупкие или толстые хрящевидные (у *A. xylinum*, см. с. 35); накапливают от 4,5 до 11—12% уксусной кислоты.

С помощью уксуснокислых бактерий получают пищевой уксус (спиртовой, винный, столовый) с содержанием 6—9% уксусной кислоты. Пищевой натуральный уксус в отличие от уксусной эссенции (70—80%-ная уксусная кислота) и ледяной уксусной кислоты (98,0—99,8%-ной) содержит много различных компонентов. Так, в состав спиртового уксуса входит 8 аминокислот (до 0,4 мг/л), витамины группы В, минеральные соли, много летучих веществ (всего 27 компонентов); в состав винного уксуса — до 17 летучих соединений.

В промышленных условиях уксус получают из вина, пива, сидра. Сырьем служат также сусло, сиропы, цитрусовые, бананы и другие плоды, однако в этих случаях для сбраживания в них сахара сначала добавляют дрожжи.

Получают уксус двумя разными способами — поверхностным и глубинным; оба способа базируются на общем главном условии — хорошей аэрации. Поверхностное культивирование осуществляют в циклических генераторах Фрингса, наполненных бумажными (березовыми) стружками или такими инертными субстратами, как полые полипропиленовые волокна, керамика, или другими,

имеющими большую поверхность, на которой уксуснокислые бактерии могут быть иммобилизованы. Наиболее прогрессивный метод - глубинное культивирование в ацетаторах Фрингса с аэрационными аппаратами и теплообменниками.

В домашних условиях уксус используют в качестве приправы, в промышленном масштабе он идет на приготовление майонезов, соусов, маринадов, применяется как антисептик и вкусовая добавка. Уксус предохраняет пищевые продукты от быстрой порчи. В жарких странах, например для предупреждения желудочно-кишечных заболеваний, им подкисляют питьевую воду.

В быту большое распространение получил чайный, или японский, гриб *Medusomyces*, растущий в виде слизистой кожистой пленки на сладком чае и образующий напиток, напоминающий слабокислый квас. Это симбиотическое сожительство *Acetobacter xylinum* и дрожжей рода *Saccharomyces*, в результате жизнедеятельности которых в напитке образуются уксусная, глюконовая, щавелевая, лимонная и другие кислоты, этиловый спирт, ферменты, витамины, а также обладающее антибиотическими свойствами соединение бактериоцидин.

Уксуснокислые бактерии могут являться вредителями спиртового, пивоваренного, дрожжевого, консервного производств, играть отрицательную роль в виноделии, производстве безалкогольных напитков.

Продуцентами уксусной кислоты могут быть также представители трофического анаэробного сообщества микроорганизмов в природе, такие как гомоацетогенные бактерии родов *Sporomusa*, *Acetoanaerobium*, *Eubacterium*, а также *Clostridium aceticum*, *C. thermoaceticum* и группа сульфатредукторов с неполным окислением. Всем им присуща автотрофная реакция, где CO_2 выступает акцептором водорода:



Роль этих микроорганизмов особенно велика в природных ацето- и метаногенных анаэробных сообществах.

9. Роль микроорганизмов в превращениях соединений азота в почве

9.1. Круговорот азота в биосфере

Важнейшим, необходимым для жизни, биогенным элементом является азот. Он содержится во всех основных соединениях живых клеток — белках, аминокислотах, нуклеиновых кислотах, АТФ, т. е. в тех биополимерах, благодаря которым функционирует живой организм.

Круговорот азота занимает особое место в системе круговоротов веществ на Земле. Это определяется большим количеством N_2 в атмосфере (78,09% по объему) и лимитом связанного азота в биосфере.

Большинство природных процессов характеризуется внутренней сбалансированностью, и азотный цикл не является исключением. Одни микроорганизмы в цикле превращают газообразный азот в органические вещества (азотфиксация), другие разлагают органический азот до аммиака (минерализация), третьи окисляют его в нитраты (нитрификация), четвертые превращают нитраты в газообразный азот (денитрификация), и все вместе поддерживают стабильное динамическое равновесие в природе.

Ежегодно в биологический круговорот вовлекается 10^8 — 10^9 т азота.

Распределение азота в природе, т [по: Г. Шлегель, 1987]:

воздух (газообразный)	$3,2 * 10^{15}$
осадочные породы (нефть)	$4,1 * 10^{14}$
моря, океаны (в растворенном состоянии)	$2,02 * 10^{13}$
иммобилизовано (гумус + микроорганизмы)	$9,0 * 10^{11}$
растения	$3,1 * 10^{11}$
животные	$6,0 * 10^{11}$

В круговороте азота прокариоты играют исключительную роль, полностью контролируя процесс азотфиксации. Считалось, что и молекулярный азот в атмосферу поступает преимущественно в результате денитрифицирующей деятельности прокариот. Эукариоты влияют на цикл азота, ассимилируя соединения азота в своих клетках. Однако оказалось, что грибы (эукариоты) в круговороте азота осуществляют не только аммонификацию и гетеротрофную нитрификацию, но могут выполнять и функцию денитрификации.

В результате биологических процессов, связанных с круговоротом азота, образуется основное количество почвенного азота. Считается, что и азот почвы в конечном счете происходит из N_2 атмосферы. В почве почти 99% азота находится в недоступных растениям органических соединениях, которые минерализуются с разной скоростью, многие — очень медленно (например, гумус). Растения поглощают азот в минеральной форме в виде аммиака и нитратов. Аммиак образуется при минерализации азотсодержащих органических соединений, нитраты — при окислении аммиака — нитрификации. Процессы образования минеральных форм азота происходят при участии почвенных микроорганизмов. Аммонийный азот в почве может быть частично не обратимо фиксирован (закреплен) почвенными мине-

ралами и частично обменно фиксирован, входя в кристаллическую решетку глинистых минералов. Это естественный запас почвы. Необратимо фиксированного азота в 2–4 раза больше, чем обменно фиксированного и водорастворимого.

Метаболизмы углерода и азота в почве тесно связаны между собой; направление и степень превращения азота зависят от содержания этих элементов в почве и их соотношения. Устойчивое состояние почвенной микробной системы, работающей как единое интегрированное целое, весьма важно для стабилизации равновесия на Земле, разбалансированного в последнее время техногенной деятельностью человека.

Процессы, составляющие микробный азотный цикл, — аммонификация, нитрификация, денитрификация, азотфиксация — в природе протекают не так слаженно, взаимообусловленно, целенаправленно и

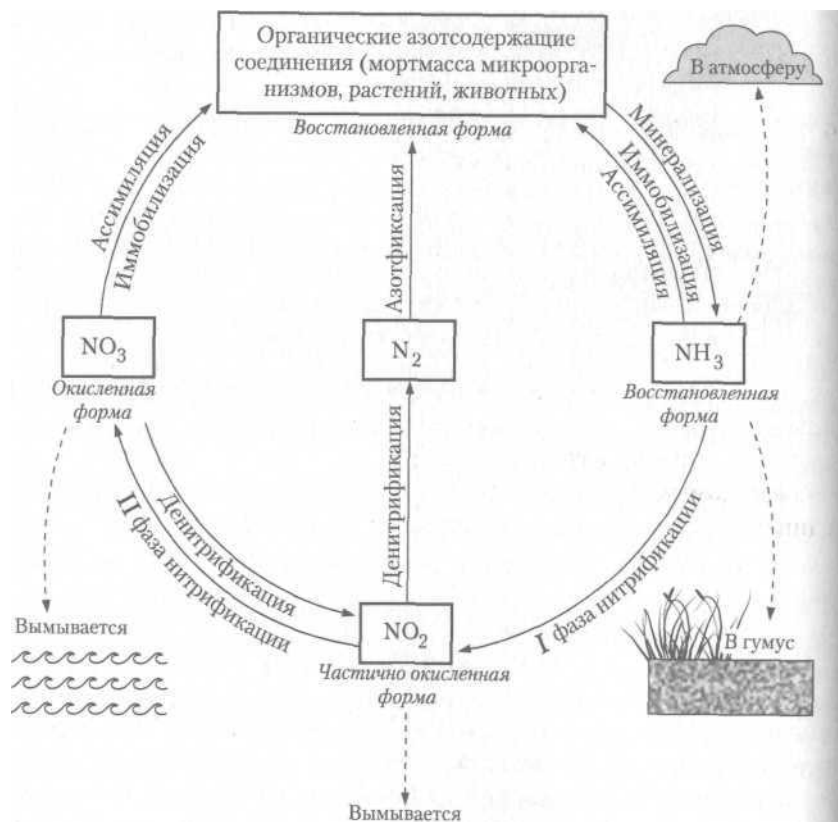


Рис. 1.26. Круговорот азота

совершенно, как это может показаться при рассмотрении звеньев круговорота азота.

Возможно, правильное азотный цикл рассматривать исходя из гипотезы А. Колемана (1983). По А. Колеману, азотный цикл состоит из сети маленьких и крупных, быстрых и медленных циклов, малых и больших пулов питательных элементов, в которых участвуют не только бактерии, грибы, водоросли, но и почвенные простейшие и другие животные. В малых пулах питательных элементов содержатся легкоминерализующиеся органические вещества, в больших — трудноминерализуемые, например гумус. Минерализация органических веществ и рециклирование питательных элементов в малых пулах совершаются по пищевым цепям со скоростью не менее 8–10 оборотов в год, в то время как один оборот в больших пулах, но в медленных циклах может происходить в течение 10–100 лет. Именно малые быстрые циклы служат основными концентраторами и поставщиками питательных элементов растениям и микроорганизмам.

9.2. Минерализация азотсодержащих органических соединений (аммонификация, гниение)

Разложение азотсодержащих органических соединений (минерализация, аммонификация, гниение) — это процесс, сопровождающийся выделением NH₃.

Термин «минерализация» применим к любому органическому азотсодержащему субстрату: белку, нуклеиновым кислотам, мочеvine и мочевой кислоте (конечным продуктам белкового обмена человека, животных и некоторых растений), хитину (ацетилглюкозамину, входящему в состав панцирей ракообразных, крыльев и покровов насекомых, клеточных стенок многих грибов), гумусу и другим соединениям, подобным цианамиду кальция (CaCN₂).

Термин «аммонификация» не следует применять по отношению к гумусу, хитину, цианамиду кальция; во всех остальных случаях его использование обосновано.

Термин «гниение», так же, как и аммонификация, отражающий минерализацию, означает лишь порчу белковых продуктов. Гниение не следует отождествлять с гнилями овощей, фруктов. Например, гнили томатов, яблок — это результат деструкции углеводов.

Разлагая азотсодержащие органические соединения на простейшие минеральные составляющие, бактерии частично усваивают азот этих соединений, используя его для построения клеточных структур.

Минерализация азотсодержащих органических соединений имеет прежде всего общебиологическое значение в масштабах Земли, поскольку почти весь органический азот, попадающий в почву, — азот растительных и животных тканей (некромассы) — минерализуют микроорганизмы. В этой минерализационной деятельности и заключена важнейшая роль аммонификаторов в природе; без нее жизнь на Земле была бы невозможна.

Минерализация имеет большое сельскохозяйственное значение, так как органический азот не усваивается растениями. Первым продуктом минерализации является аммиак. Содержание NH_4 в почве обычно очень незначительно — 2–5 мг/кг (исключение — кислые торфяники, луговые почвы и почвы с внесенными аммонийными удобрениями). Именно аммиак *Дмитрий Николаевич Прянишников* (1865—1948) называл «альфой и омегой жизни растений», так как эта форма азота наиболее хорошо усваивается растениями, не вымывается и обменно закрепляется в почвенных коллоидах.

Но в быту аммонификация (гниение) играет отрицательную роль, вызывая порчу белковых продуктов. Чтобы ее предупредить, применяют кипячение, сушку, копчение, соление, квашение, маринование и т. п.

Процесс минерализации азотсодержащих органических соединений рассмотрим на примере аммонификации белковых веществ, поскольку это наиболее динамичная стадия в круговороте азота. Белки составляют не менее 50% сухой массы клеток. Они бывают простые (аминокислоты соединены монотонно повторяющейся пептидной связью) и сложные (гликопротеиды, нуклеопротеиды, липопротеиды, металлопротеиды). В почву белки попадают в больших количествах. Скорость их разложения различна и определяется природой субстрата, видом микроорганизмов. Например, яичный белок разрушается быстрее, чем гемоглобин крови, истинные белки — интенсивнее, чем белки клея, рогов и т. п. Скорость минерализации определяется в значительной степени широтой распространения данной функции среди микроорганизмов. Этот процесс иногда даже рассматривают как универсальный, лишенный специфичности, так как наряду со специалистами-аммонификаторами в каждой почве есть пул микроорганизмов, обладающих способностью выполнять ту или иную реакцию в процессе аммонификации.

Подобно другим высокомолекулярным соединениям, белки последовательно расщепляются внеклеточными протеолитическими ферментами на полипептиды, затем пептидазы расщепляют их до олигопептидов и аминокислот, которые способны проникнуть в клетку

(рис. 1.27). Не все аминокислоты диффундируют в клетку, частично они адсорбируются почвенными частицами или вовлекаются в химические реакции в почве. Проникшие в клетку аминокислоты либо используются в конструктивном обмене — синтезе клеточного белка, либо подвергаются дезаминированию, сопровождающемуся выделением NH_3 , декарбоксилированию с образованием диаминов, переаминированию с образованием новых аминокислот.

Аммонификация белка может происходить как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Конечные продукты аммонификации в аэробных условиях: NH_3 (в аммиаке азот находится в наиболее восстановленной форме), CO_2 , H_2O и оксиды серы (из серосодержащих аминокислот, входящих в состав белка). Конечных продуктов аммонификации в анаэробных условиях намного больше: NH_3 , CO_2 , H_2S , плохо пахнущие продукты (меркаптаны, в частности метилмеркаптан CH_3SH , индол, скатол), органические кислоты (бензойная и др.), спирты, амины и диамины (кадаверин, путресцин; ранее их относили к трупным ядам) и другие соединения.



Рис. 1.27. Аммонификация (минерализация) белковых соединений микробной клеткой [по: Бабьева, Зенова, 1989]

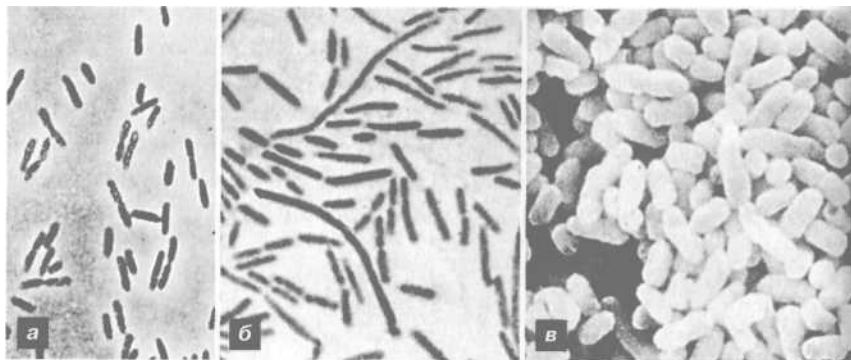


Рис. 1.28. Клетки микроорганизмов: *Pseudomonas fluorescens* (а), *Proteus vulgaris* (б), $\times 2000$ [по: Стейниер, 1979]; *Escherichia coli*, сканирующий микроскоп (в) [по: Фафф, 1984]

Вызывают процесс аммонификации аэробные, факультативно-анаэробные и анаэробные микроорганизмы. К аэробным бактериям относятся активные аммонификаторы, использующие кроме белка разнообразные соединения, — *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* (рис. 1.28, а), а также актиномицеты и грибы. Факультативные анаэробы — это предпочитающий белки *Proteus vulgaris* (рис. 1.28, б), палочка чудесной крови *Serratia marcescens*, кишечная палочка *Escherichia coli* (рис. 1.28, в), с дыхательным или бродильным типами метаболизма спорообразующие бактерии рода *Bacillus* (*B. cereus*, *B. subtilis*) (см. рис. 1.14, а, б на с. 51). Анаэробы — это протеолитические клостридии *C. sporogenes*, *C. putrificus* и др. Высокой протеолитической активностью обладают бактерии рода *Lysobacter enzymogenes*, обнаруживаемые в почвах и пресных водах, лизирующие грамотрицательные и грамположительные бактерии, актиномицеты, цианобактерии, дрожжи, грибы, а также использующие хитин и другие полисахариды (но не целлюлозу).

Аммонификация активно идет в легких сероземах Средней Азии (высокая температура, влажная весна). Обильные осадки и умеренная температура дерново-подзолистой зоны также способствуют процессу аммонификации. В зоне неустойчивого увлажнения, даже в черноземах и каштановых почвах, аммонификация идет слабее.

Обычно образовавшийся аммиак подвергается в почве дальнейшим превращениям. Его судьба зависит от таких факторов, как тип почвы, содержание в ней легкодоступных соединений углерода, рН и т. п. Лишь небольшое количество аммиака находится в почве в газо-

образном состоянии. Чаще всего он превращается в соли аммония, вступая в реакции с почвенными минеральными кислотами. Кроме того, аммиак ассимилируется растениями, гетеротрофными микроорганизмами (иммобилизация азота); фиксируется почвой, особенно кислой; улетучивается: при созревании навоза (допустимы потери до 17%), при неглубокой заделке аммонийных удобрений, при поверхностном внесении навоза; подвергается нитрификации.

9.3. Нитрификация

Современная атмосфера, богатая кислородом, должна была бы способствовать преобразованию N_2 (термодинамически неустойчивого основного компонента атмосферы) в наиболее стабильную форму азотных соединений — нитраты. В этом случае весь азот планеты перешел бы в нитраты океана. Однако этого не происходит, так как в атмосфере Земли не существует химического равновесия из-за возникновения на ней жизни. Отдельные физико-химические атмосферные процессы, способствующие окислению N_2 в нитраты, не очень интенсивны. Биологический процесс нитрификации, действующий в этом же направлении, несравнимо более результативен.

Нитрификация — это окисление аммиака автотрофными нитрифицирующими бактериями. Обменно фиксированный аммонийный азот нитрификаторы переводят с довольно большой скоростью в нитраты.

Содержание нитратов в почве незначительно и изменчиво не только по сезонам, но даже по часам; оно колеблется в интервале от 2 до 20 мг/кг. В садовых почвах нитратов примерно 60 мг/кг, до 100 мг/кг — в тропических почвах в засушливый период. Наибольшее содержание нитратов отмечается в почвах под паром (без сорняков) в летний период — до 10 кг/га за сезон; весной и осенью их мало, так как нитраты поглощаются психрофильными микроорганизмами. Следовательно, подкормки растениям лучше давать весной.

Процесс нитрификации оценивается как положительно, так и отрицательно.

Остановимся на положительной роли этого процесса.

Нитрификация — *показатель плодородной почвы*. Об этом свидетельствуют реакции обеих ее фаз, идущие только в аэробных условиях. Следовательно, почва хорошо аэрирована, окультурена. Если осуществляется процесс нитрификации, значит, в ней есть аммиак. И наконец, в результате нитрификации образуются нитраты, усваиваемые растением. По Янсону, нитраты — пассивная фракция минерального азота, поскольку они в меньшей степени подвергаются им-

мобилизации почвенными микроорганизмами, предпочитающими аммонийный азот. Раньше даже считали, что растения усваивают нитраты лучше, чем аммонийный азот, однако оказалось, что они при этом расходуют энергию, так как поглощенный азот сначала восстанавливают в аммонийный.

Азотистая и азотная кислоты, образующиеся в процессе нитрификации, улучшают фосфорное питание растений, растворяя в почве труднодоступные соединения фосфора.

О геологической роли нитрификации в природе можно судить по залежам селитры в местах, где дожди — редчайшее событие (Узбекистан, Индия, Египет, Чили). Правда, в отношении чилийской селитры высказывается гипотеза, что она образовалась в результате деятельности не хемолитоавтотрофов, а хемоорганогетеротрофов, окисляющих аммиак до нитратов в реакциях, не сопровождающихся получением энергии.

Геохимическая деятельность нитрификаторов особенно значима в зонах выветривания, где минералы подвергаются действию выделяемых ими кислот.

Задолго до выяснения природы процесса — с XIV в. — человек использовал нитрификацию для получения буртовой селитры — составной части пороха, связывая ее в навозных кучах кальцием.

Тем не менее процесс нитрификации в последнее время пытаются предотвращать, и это обусловлено рядом причин.

В отличие от аммиака нитраты не поглощаются почвенными коллоидами и легко мигрируют с почвенными водами. В легких почвах, почвах орошаемых и почвах зон, богатых осадками, нитраты уходят в глубь почвы до 2,5 м (ниже корнеобитаемого слоя), загрязняя грунтовые воды и водоемы.

До 4—18% окисляемого аммония в процессе нитрификации превращается в оксид азота (N_2O), который улетучивается. Из почв интенсивного сельскохозяйственного использования при этом теряется более 1,0 кг/га в год, из непахотных — в пределах 0,2 кг. Вступая в реакцию с озоном, N_2O его разрушает. Нитриты — токсичные вещества, особенно продукты их реакций — нитрозамины, образующиеся в кислой среде в присутствии вторичных аминов; в частности, диэтилнитрозамин обладает сильным канцерогенным действием. Однако поскольку в растениях концентрация вторичных аминов ничтожна, нитрозамины в них не образуются и можно считать, что цепь *азотные удобрения* → *нитриты* → *нитрозамины* не представляет опасности для человека и животных.

Нитраты, и особенно нитриты, способны вызывать заболевание человека — *метгемоглобинемию* (у детей основной симптом — синюш-

ность), при которой гемоглобин крови в результате окисления нитратами переходит в более окисленное состояние и утрачивает способность переносить кислород. Заболеть можно после употребления в пищу растительных продуктов и воды с высоким содержанием нитратов. Предельно допустимая концентрация (ПДК) нитратов в питьевой воде в нашей стране установлена на уровне 43 мг/л (Ворожейков, 1992).

Нитрификация протекает в 2 фазы (стадии).

I фаза: $NH_3 + O_2 \rightarrow \cdot HNO_2 + H_2O + 2,8 \cdot 10^5$ Дж

II фаза: $HNO_2 + O_2 \rightarrow \cdot HNO_3 + 0,7 \cdot 10^5$ Дж

I фазу вызывают высокоспецифичные «нитрозные» бактерии родов *Nitrosomonas* (рис. 1.29, а) (обитают в нейтральных и слабощелочных плодородных удобренных почвах), *Nitrosospira* (рис. 1.29, б) (также доминанты I фазы, но распространены в непахотных и неудобренных почвах), *Nitrosococcus* (рис. 1.29, в) (океанический кокк), *Nitrosolobus* (рис. 1.29, г).

У всех нитрозных бактерий и у некоторых представителей II фазы сильно развита система внутрицитоплазматических мембран, где происходит процесс окисления субстрата. Все они служат примером морфологического разнообразия при физиологической идентичности.

II фазу окисления нестойкого реакционноспособного нитрита в устойчивый нитрат осуществляют «нитритные» бактерии: *Nitrobacter* (похож под микроскопом на виноградную косточку, рис. 1.29, д), *Nitrospina* (рис. 1.29, е) и *Nitrococcus* (выделены из морской воды, рис. 1.29, ж).

Численность нитрификаторов в почве составляет в среднем несколько десятков тысяч клеток в 1 г. Присутствуют они почти повсюду, исключение — лесной кислый, медленно минерализующийся перегной, кислый торф.

Нитрификаторы обеих фаз — хемолитоавтотрофы, использующие энергию окисления аммиака или азотистой кислоты для синтеза органических соединений из CO_2 воздуха; облигатные аэробы; оптимум температуры — 25—30 °С; оптимум pH — 7,5—8,0, границы pH — 6,0—8,6.

Нитрификация в почве происходит очень быстро. Если внести аммонийные удобрения в окультуренную почву, процесс завершится через несколько суток. Следом за нитрификацией за 10—20 суток (от момента внесения азотного удобрения) пройдет денитрификация. Именно этот факт, а также отрицательные последствия нитрификации (загрязнение нитратами грунтовых вод, водоемов и разрушение

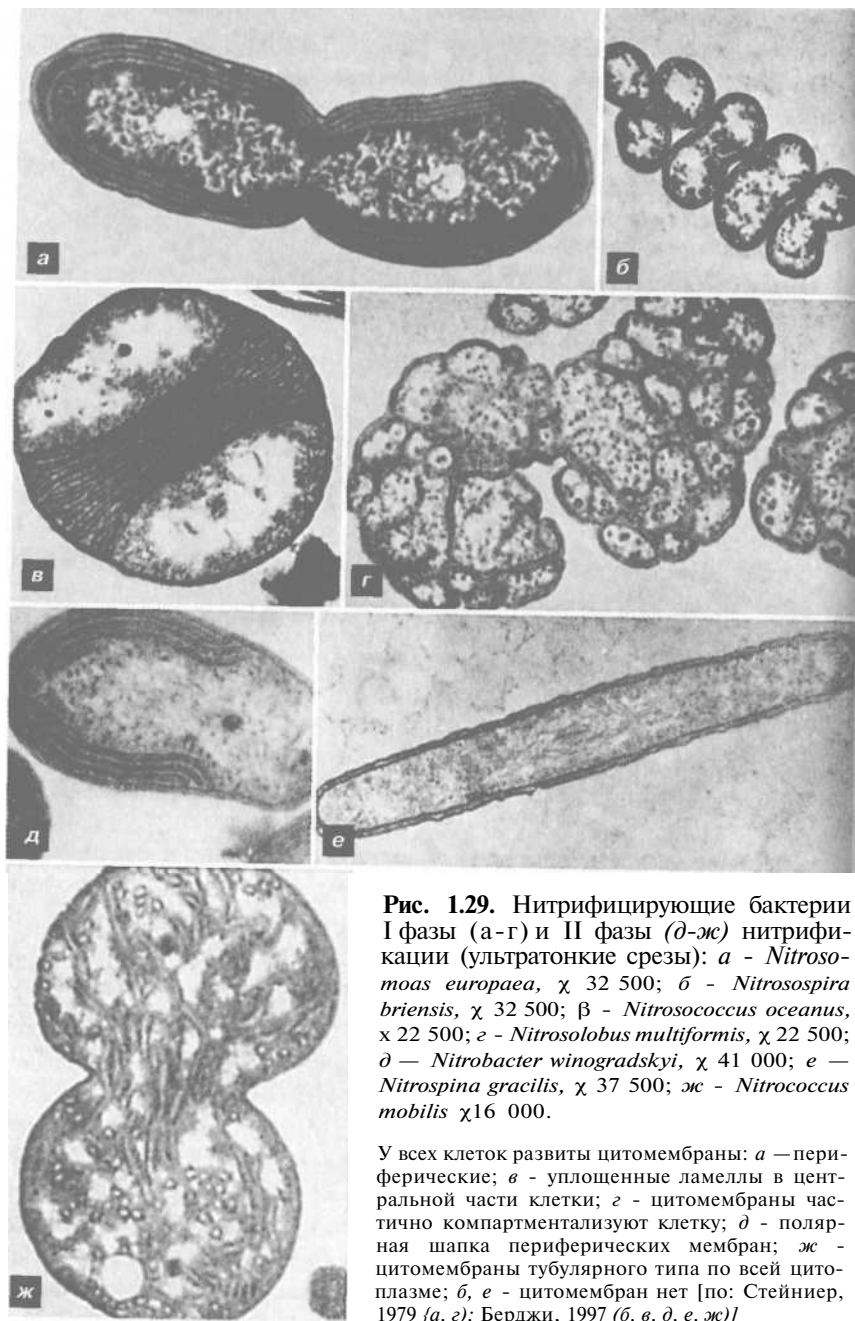


Рис. 1.29. Нитрифицирующие бактерии I фазы (а-г) и II фазы (д-ж) нитрификации (ультратонкие срезы): а - *Nitroso- moas europaea*, $\times 32\ 500$; б - *Nitrospira briensis*, $\times 32\ 500$; в - *Nitrosococcus oceanus*, $\times 22\ 500$; г - *Nitrosolobus multififormis*, $\times 22\ 500$; д - *Nitrobacter winogradskyi*, $\times 41\ 000$; е - *Nitrospina gracilis*, $\times 37\ 500$; ж - *Nitrococcus mobilis* $\times 16\ 000$.

У всех клеток развиты цитомембраны: а — периферические; в - уплощенные ламеллы в центральной части клетки; г - цитомембраны частично компартментализуют клетку; д - полярная шапка периферических мембран; ж - цитомембраны тубулярного типа по всей цитоплазме; б, е - цитомембран нет [по: Стейниер, 1979 (а, г); Берджи, 1997 (б, в, д, е, ж)]

озонового слоя Земли) привели к идее создания медленнодействующих удобрений с контролем скорости высвобождения азота. Этим целям отвечают *ингибиторы нитрификации* — химические препараты, вносимые в небольших концентрациях (0,5—2,0% от азота удобрений), подавляющие жизнедеятельность бактерий-нитрификаторов и обеспечивающие консервацию азота аммиачных и мочевиновых удобрений на протяжении 1,5—2,0 месяцев. Данная мера предупреждает вымывание нитратов и повышает коэффициент использования азота растениями, снижает пик напряженности работы весной, дает возможность вносить аммонийные удобрения осенью и отказаться от их дробного внесения.

Основные принципы подбора ингибиторов: избирательность действия, эффективность в небольших концентрациях, отсутствие последствия и полное разложение в почве.

9.4. Иммобилизация азота

Аммонийный и нитратный азот могут подвергаться *иммобилизации* — закреплению, т. е. использоваться не растениями, а микроорганизмами. Смысл иммобилизации связан с метаболизмом микробной клетки. В клетке прокариот содержится 50% С, 10—14% (берем 10%) N. Следовательно, на конструктивные процессы клетка затрачивает количество углерода и азота в соотношении 5 : 1. Но любая клетка использует углерод и в энергетических процессах, причем доля этих затрат в 4 раза превышает затраты на построение клеточных компонентов. Таким образом, в целом на процессы жизнедеятельности клетка тратит количество углерода и азота в соотношении 25 : 1, т.е. С : N = 25 : 1.

Отсюда следует, что, если в почву внести какой-либо *сидерат* (зеленое удобрение) с отношением С : N = 25 : 1, будут «подкормлены» только микроорганизмы почвы, а растение от внесенных сидератов не получит ничего. Если в почву запахивают солому (содержание N в ней составляет 0,2—0,3%, соотношение С : N обычно 100 : 1), активизируется деятельность целлюлозоразрушающих микроорганизмов. Но так как азота в почве и соломе недостаточно, эти микроорганизмы начинают использовать доступный для растений минеральный азот почвы и в результате растения страдают от недостатка азота. Следовательно, необходимо вносить в почву удобрения с соотношением С : N < 25 : 1; в зрелом навозе это соотношение обычно 18 : 1.

Вместе с тем внесение соломы под бобовые растения имеет смысл, так как эти растения питаются фиксированным клубеньковыми бак-

териями молекулярным азотом. Осенью внесение соломы в почву также целесообразно, поскольку оно хоть и вызывает иммобилизацию азота почвы, но на небольшой период времени. Иммобилизованный азот — наиболее лабильная часть органического азота. Он минерализуется в первую очередь и служит резервом для растений, так как весной N отмершей микробной биомассы реутилизируется.

9.5. Денитрификация

Денитрификация — восстановление нитратов (не только до конечного продукта — N_2 , но и до промежуточных продуктов — NO_2 , NO , N_2O).

В очень ограниченном масштабе в природе в кислых почвах происходит *химическая (косвенная) денитрификация*. Обычно же денитрификация бывает *биологической (прямой)*, и вызывают ее микроорганизмы-денитрификаторы.

Биологическая денитрификация может быть ассимиляционной и диссимиляционной. При ассимиляционной денитрификации микроорганизмы восстанавливают нитраты до аммиака, т. е. используют их в качестве источника азота для конструктивного процесса жизнедеятельности. В процессе диссимиляционной денитрификации кислород нитратов используется микроорганизмами как окислитель органического вещества и источник энергии в реакциях катаболизма, если свободный кислород им недоступен; этот процесс также служит для данных микроорганизмов источником энергии. Поскольку денитрификаторы при этом используют связанный кислород нитратов, они тратят часть энергии на его активизацию (высвобождение из нитратов) и поэтому чистый выход энергии составляет лишь 70% от аэробного дыхания. Анаэробное нитратное дыхание по сути также можно отнести к процессу аэробного дыхания, в котором используется кислород нитратов, высвобождаемый денитрификаторами из связанного состояния.

Таблица 1.1. Потери азота из почвы [по: Айанаба, 1983]

Азотное соединение или вид процесса	Объем потерь в общемировом масштабе, % в год
Денитрификация	50-79
Аммиак	10-31
Смыв речным стоком	5-15
Сгорание (газы NO_x)	3-15

Долгое время диссимиляционная денитрификация рассматривалась как жупел азотного цикла, так как она связана с потерями азота из почвы и неполным использованием растениями вносимых в почву азотных удобрений. Конечно, исходя из задач сельского хозяйства по-прежнему можно рассматривать денитрификацию как отрицательное явление. К тому же образование в ходе ее течения таких газообразных продуктов, как NO и особенно N_2O , которые присущи и процессу нитрификации как промежуточные метаболиты и с которыми связывается разрушение озонового щита планеты, также относится к нежелательным последствиям этого процесса.

Оксид азота (N_2O) — один из важнейших микрогазов атмосферы Земли. Достигая стратосферы, он взаимодействует с озоном, в результате чего содержание озона уменьшается. Если содержание стратосферного озона будет снижено даже на 0,1—0,2%, нарушится защита живых организмов от ультрафиолетового облучения, что приведет к тяжелым экологическим последствиям для человечества.

Повышенная эмиссия оксида азота (I) характерна для засоленных почв, так как на стадии образования этого микрогаза процесс дальнейшего его восстановления здесь тормозится. Оксиды образуются нитрифицирующими и денитрифицирующими бактериями в довольно больших количествах, причем именно эти бактерии — единственные природные поставщики N_2O на Земле. N_2O , диоксид углерода (CO_2) и метан (CH_4), являясь «парниковыми» газами, ответственны также и за глобальное изменение климата Земли.

Тем не менее денитрификация поддерживает равновесие в атмосфере и биосфере, а в круговороте азота в природе рассматривается как один из важнейших механизмов. Ее масштабы в природе впечатляют: ежегодно в атмосферу поступает в результате денитрификации 270—330 млн т N_2 , причем большая часть — потери азота из переувлажненных почв и при внесении нитратов с навозом или другими органическими удобрениями.

Без денитрификаторов, возвращающих N_2 в атмосферу, большая часть атмосферного азота находилась бы в связанной форме в океане и в осадочных породах. Конечно, в настоящее время кислорода в атмосфере недостаточно для окисления всего молекулярного азота до NO_3 . Но вполне вероятно, что в отсутствие денитрификации односторонний процесс привел бы к подкислению воды в океане нитратами. Это могло произойти небиологическим путем — «методом гроз»: ежегодно в атмосфере Земли вспыхивает более 3 млрд молний, приводя в местах вспышек к разогреву воздуха до 20 000 °С. При такой температуре

молекулы кислорода и азота распадаются на атомы, которые, реагируя между собой, сначала образуют непрочную связь в NO. Затем после колоссального разогрева и мгновенного охлаждения воздуха NO окисляется кислородом воздуха до более стабильного N₂O, который в присутствии атмосферной влаги превращается в азотную кислоту (грозовой дождь — это слабый раствор азотной кислоты). Началось бы выделение диоксида углерода из карбонатных горных пород. Растения бы использовали CO₂ воздуха, и он с течением времени откладывался бы, в форме каменного угля и других соединений углерода. Из-за многообразия и сложности всех этих процессов трудно представить, как бы выглядел мир без реакции денитрификации. По мнению известного американского геохимика К. Делвича (1972), «...наверняка это был бы непривычный для нас мир».

Способностью восстанавливать нитраты до нитритов обладают различные микроорганизмы, в том числе эукарии, — водоросли, грибы, дрожжи; до газообразного азота могут восстанавливать только прокариоты. Большинство из них — хемоорганогетеротрофы: *Pseudomonas stutzeri*, *P. aeruginosa*, *P. perfectomarina* (активные денитрификаторы), *Paracoccus denitrificans* и некоторые термофильные *Bacillus*, но есть и хемолитоавтотрофы. Процесс денитрификации хемоорганогетеротрофы ведут следующим образом:



Хемолитотрофы проводят следующую реакцию:



В аэробных условиях перечисленные возбудители денитрификации, являющиеся аэробами, почти не ведут этот процесс, так как при доступности свободного кислорода им энергетически более выгодно окислять с его помощью органические и минеральные соединения, чем использовать O₂, связанный в нитратах. Однако в биосфере есть обширные области с анаэробными условиями, где денитрификаторы осуществляют данный процесс. Подобные условия создаются, когда поступление органических веществ превосходит поступление O₂, необходимого для их разложения. Типичные примеры таких областей — арктическая тундра, болота и другие сходные местообитания с ограниченным доступом O₂. В тех почвах, куда поступает много органического вещества, денитрификация, возможно, протекает в глубине почв, где-то на уровне грунтовых вод.

Понимание сущности процесса денитрификации позволяет предупреждать ее при внесении в почву нитратных удобрений. Для это-

го необходимо одновременно с внесением нитратов рыхлить почву, чтобы обеспечить денитрификаторам доступ свободного кислорода; иначе они могут переключиться на нитратное дыхание. Совершенно противоположный прием — утрамбовывание — применяется при созревании навоза. Навоз ценен содержанием аммонийного азота, и для его сохранения необходимо, чтобы после прохождения в навозе процесса аммонификации, не происходил процесс нитрификации, который идет только в аэробных условиях (утрамбовывание почвы препятствует возникновению таких условий). Отсутствие нитратов в этом случае обеспечит и невозможность процесса денитрификации.

9.6. Биологическая фиксация молекулярного азота

В круговороте азота процесс фиксации молекулярного азота является ключевым звеном. Это наиболее медленно идущий процесс, ограничивающий скорость течения других процессов; об этом свидетельствуют огромные запасы N₂ в атмосфере и относительный дефицит соединенного азота в почве. N₂ не только основной биогенный элемент, главный компонент живой материи, но и важный элемент для земледелия, играющий большую роль в глобальной азотной экономике Земли. В отличие от азотных удобрений биологический азот — возобновляемый ресурс, он характеризуется почти полным отсутствием последствия, имеет высокий коэффициент усвоения растениями.

Биологическая фиксация молекулярного азота — единственно чистый и безопасный путь снабжения растений доступным азотом, при котором совершенно исключено загрязнение почвы, воды и воздуха. Биологический азот не только не загрязняет окружающую среду, но даже существенно оздоравливает экологическую ситуацию в природе, поскольку не проникает в грунтовые воды, не накапливается в сточных водах, не нарушает биологического равновесия в почве. Его использование относится к числу энергосберегающих, экономически выгодных технологий, снижающих потребление растениями азота из почв и необходимость внесения в почву дорогостоящих азотных удобрений.

В природе связывание азота может происходить при ионизации атмосферы космическими лучами, сгорании метеоритов, при электрических разрядах (молниях), за короткие мгновения выделяющих большое количество энергии, необходимое для того, чтобы азот смог прореагировать с кислородом и водородом воды. Вклад этих процессов в масштабе планеты составляет не более 10% от биологической азот-

фиксации. С дождем в почву вносится в год около 25 млн т фиксированного азота, из них, очевидно, 30% — в результате разрядов атмосферного электричества и других атмосферных явлений.

Процесс азотфиксации контролируют только прокариоты.

Для связывания в аммиак молекулярного азота техническим путем методом Габера—Боша—Ле Шателье требуются высокие температура (500—600 °С) и давление (200—300 атм), а также присутствие неорганических катализаторов. В клетках прокариот процесс идет при обычном давлении и температуре, регулируется ферментами и метаболической энергией клеток.

Суммарная годовая продукция азотфиксации в экосистемах почв составляет 175—190 млн т, в водных экосистемах — от 30 до 130 млн т связанного азота.

Среди азотфиксирующих прокариот встречаются аэробы, анаэробы, хемоорганогетеротрофы, хемолитоавтотрофы и фотолитоавтотрофы.

Облигатных азотфиксаторов в природе нет. Кроме молекулярного азота, азотфиксирующие прокариоты используют множество альтернативных источников связанного азота, и поэтому их называют *диазотрофами*.

В атмосфере молекулярный азот присутствует повсеместно. Для многих микроорганизмов он совершенно инертен, для некоторых — выполняет функцию индуктора азотфиксации, для бактерий — истинных азотфиксаторов — служит источником питания азотом. Молекулярный азот называют *газом-парадоксом*: с одной стороны, в нем все живое гибнет, с другой — он основа жизни, так как входит в состав белков и нуклеиновых кислот (НК). Для преодоления инертности N₂ надо затратить много усилий на его превращение в жизненно необходимые живым организмам соединения, но если бы он не был инертным, то вступил бы в реакцию с O₂ атмосферы с образованием оксидов и кислот, непригодных для тех форм жизни, в каких она существует на Земле.

У всех азотфиксирующих бактерий имеется ферментный комплекс *нитрогеназа*, катализирующий процесс восстановления N₂ до NH₃. У активных азотфиксаторов содержание нитрогеназы составляет 1—2% от общего количества белка в клетке. Нитрогеназа — сложный и очень медленно работающий фермент: за 1 мин 1 моль фермента превращает в аммиак 50—100 моль N₂. Для сравнения: 1 моль амилазы за это же время расщепляет 240 тыс. моль крахмала; есть и более активные ферменты.

Нитрогеназный комплекс состоит из двух компонентов: белка, в состав которого входят Mo, Fe, S (компонент I, MoFe-белок), и белка, содержащего FeS (компонент II, Fe-белок).

Поскольку в состав нитрогеназы входит молибден, необходимо его внесение под посевы бобовых при инокуляции их клубеньковыми бактериями.

В регуляции нитрогеназы задействованы *mf*-гены (англ. *nif*: *nitrogen fixation* — азотфиксация), входящие в состав хромосомы или плазмиды.

Для фиксации молекулярного азота необходимы источники энергии (АТФ) и источники водорода. Н-донором могут служить субстраты брожения (пируват), дыхания (восстановленный НАД), фотосинтеза (ферредоксин).

По отношению к растению азотфиксаторов делят на три группы: свободноживущие, ассоциативные и симбиотические. Гранницы между этими группами не такие четкие, как думали раньше.

Свободноживущие азотфиксаторы. Они обитают самостоятельно, независимо от растения, повсюду в почвах, даже в почвах пара, дорог и т. п. Тем не менее их все же больше там, где имеются экскретируемые в почву корневые выделения растения.

Очевидно, свободноживущие диазотрофы хотя бы периодически существуют в ассоциациях с растениями. Например, *Clostridium*, как ассоциант, развивается в корневой зоне пшеницы. *Azotobacter* и *Beijerinckia* обнаружены в сложном микробоценозе лишайников, где они и еще несколько партнеров — членов симбиотической ассоциации (грибы, цианобактерии и целлюлозолитические бактерии *Cellvibrio*) имеют общие резервуары факторов роста.

Диазотрофные свободноживущие бактерии вступают в ассоциации с грибами, получая взаимную выгоду. Так, *Bacillus polymyxa* обеспечивает грибы родов *Trichoderma* и *Penicillium* биологическим азотом, а грибы их в свою очередь — моносахарами и витаминами.

Из налетов листьев рдеста, стрелолиста и других водных растений выделяют *Azotobacter chroococcum*.

Свыше 70% активных свободноживущих диазотрофов формируют естественные ассоциации с дрожжами в почве (например, ассоциация *Beijerinckia* и *Lypomyces*).

Azotobacter и *Clostridium* нередко выделяют из эктомикоризных грибов. Возможно, они способствуют формированию эктомикоризы у древесных растений.

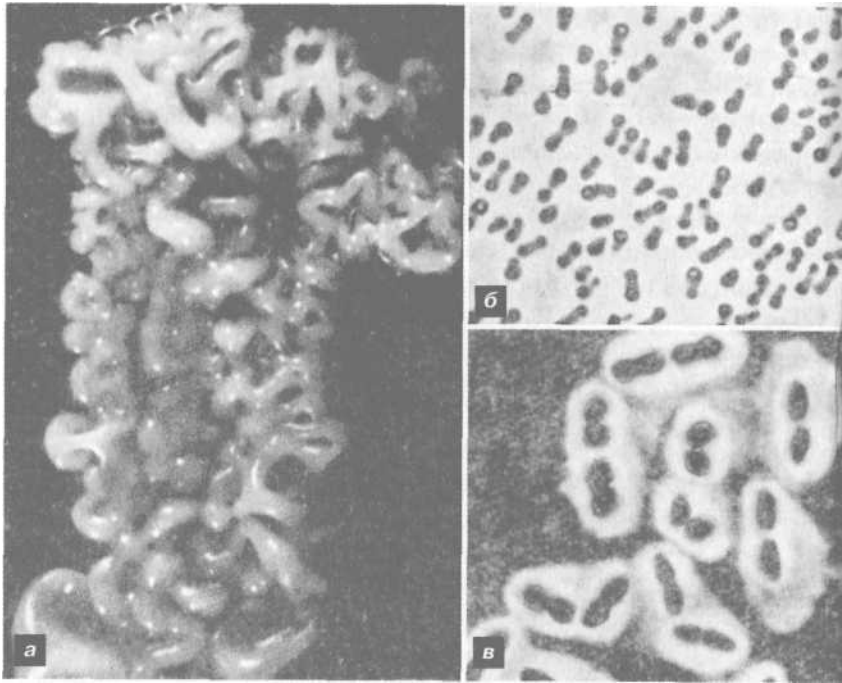


Рис. 1.30. Свободноживущие азотфиксаторы: *а* — сильноскладчатая слизистая колония *Beijerinckia indica* на среде без азота; *б* — типичные клетки этой же бактерии с полярными липидными включениями; *в* — клетки *Azotobacter chroococcum* [по: Берджи, 1997]

К свободноживущим азотфиксирующим бактериям относятся аэробные бактерии родов *Beijerinckia* (рис. 1.30, *а, б*) и *Azotobacter* (рис. 1.30, *в*), а также имеющие дыхательный тип метаболизма, анаэробы рода *Clostridium* с бродильным типом метаболизма.

Азотобактер — высокотребовательный к почвенным условиям организм. Ему необходимы нейтральная или близкая к нейтральной реакция среды, аэрация, умеренная влажность и обеспеченность фосфором, кальцием и молибденом. Он хорошо развивается в гумусированных гидроморфных почвах под травянистой растительностью, например в пойменных, пахотных, огородных почвах.

Из свободноживущих бактерий внимание практиков сельскохозяйственного производства привлек только азотобактер. Первый вклад в разработку практических основ действия азотобактера на растение был сделан *С. П. Костычевым* (1877—1931), предложившим способ его внесения в почву с посевным материалом. С этого времени

(30-е гг. XX в.) азотобактер стали использовать в качестве бактериального препарата *азотобактерина* для повышения урожайности растений (злаков, овощных, кормовых и других культур). Будучи, однако, чрезвычайно зависимым от условий среды и практически не являясь организмом ризосферы (где его доля не превышает 1%), азотобактер не выдерживал конкуренции с ризосферными бактериями в ризосфере, куда его вносили при бактеризации, и это привело к тому, что азотобактерин был снят с производства.

Однако в условиях защищенного грунта обработка азотобактерином рассады томатов и огурцов (10^5 клеток/мл; 10 мл на одно растение) дает прибавку урожая до 10—15%, или до 2,0 кг/м². Это определяется не азотфиксирующей активностью *Azotobacter* (как diaзотроф, в богатом парниковом грунте он переходит на питание связанным азотом), а иными его свойствами: способностью продуцировать витамины и другие биологически активные соединения, а также фунгистатической активностью против условно патогенных грибов. Он образует антибиотик *анисомицин* — открытый *Е. Н. Мишустиним* и *В. Г. Марьенко* (1933—1981) на кафедре микробиологии МСХА им. *К. А. Тимирязева*. При переносе в теплицу обработанной азотобактерином рассады именно благодаря этим особенностям азотобактера осуществляется стимулирующее воздействие на растения.

Beijerinckia предпочитает кислые верховые торфяники, целинные луговые и окультуренные кислые почвы. Распространена она в красноземах Грузии, субтропических и тропических почвах; в почвах зон умеренного климата встречается реже.

К анаэробным азотфиксаторам относятся *сахаролитические* *кlostридии* (см. с. 87), в частности *Clostridium pasteurianum*. Кlostридиум фиксирует 5—12 мг азота на 1 г использованного сахара, азотобактер — 15—25, т. е. энергия азотфиксации у *кlostридиума* меньше. Однако, в связи с тем что он — анаэроб и получает значительно меньше энергии при брожении, чем аэробный азотобактер при дыхании, продуктивность азотфиксации у *Clostridium* существенно выше, чем у азотобактера. И хотя азотфиксирующая способность свободноживущих азотфиксаторов в целом невелика, следует учитывать то, что они распространены в любых наземных экосистемах и в связи с этим вносят довольно значительный вклад в азотный баланс почв.

Ареалы развития разных видов *Clostridium* различны, особенно много сахаролитических азотфиксаторов в северных почвах.

За вегетационный период свободноживущие diaзотрофы способны обогатить почву на 30—40 кг азота на 1 га.

Ассоциативные азотфиксаторы. Представление об ассоциативной азотфиксации как о саморегулируемой автономной системе *почва — азотфиксирующие бактерии — растения* сформулировано М. М. Умаровым (1986, 2001) как основа концепции сопряженности и взаимобусловленности процессов азотфиксации и фотосинтеза в природе.

Ассоциативные, или межорганизменные, связи различаются степенью сложности. Ассоциативная азотфиксация происходит при колонизации азотфиксирующими бактериями любого органа растений (корня, стебля, листа и пр.) без образования специализированных морфологических структур, но с положительным воздействием бактерий на рост, развитие и продуктивность растений. Таковы ассоциации азотфиксирующих бактерий с водорослями, цианобактериями, грибами, дрожжами, червями и т. п.

Суммарная активность ассоциативных азотфиксаторов в биоценозах умеренного климата за вегетационный период достигает 50—150 кг/га. Именно за счет ассоциативной азотфиксации развиваются луговая, степная и таежная растительность и другие экосистемы, не содержащие симбиотических азотфиксирующих бактерий.

Около 65% бактерий ризосферы и 50% бактерий филлосферы различных видов растений являются активными азотфиксирующими ассоциантами. Связь ассоциативных diaзотрофов с корнями растений оказалась настолько тесной, что многих из них даже выделили в группу *ризобактерий* — бактерий, стимулирующих рост растений благодаря азотфиксации, продуцированию биологически активных веществ и антибиотиков. Ассоциативные азотфиксирующие водородокисляющие ризобактерий и метилотрофные азотфиксаторы распространены в почвах рисовых полей.

Широта распространения ассоциантов-диазотрофов говорит об их важной роли в экосистемах. Способность вступать в ассоциации выявлена не менее чем у 12 тыс. различных растений; до 50% фиксированного бактериями-ассоциантами азота поглощается растениями. Для ризобактерий источником углерода служат корневые выделения, величина которых может составлять 25—30% суммарной массы продуктов фотосинтеза.

По сравнению с почвой ризосфера — более благоприятный биотоп для бактерий. Во всяком случае суммарный уровень азотфиксации в почве под растениями всегда выше, так как продукты экзосмоса и корневого опада являются энергетическим материалом для бактерий, а высокая степень поглощения фиксированного азота корнями способствует оттоку метаболитов азотфиксаторов и поддерживает их нитрогеназную активность.

Обычно на корнях и листьях бактерии-диазотрофы локализуются микроочагово в местах наиболее интенсивного выделения экссудатов растениями. Растения являются ведущим экологическим фактором, регулирующим суточную и сезонную динамику азотфиксации, и центром формирования бактериальных сообществ не только при жизни растения, но и после его отмирания.

Спектр ассоциативных азотфиксаторов постоянно пополняется новыми таксонами. К бактериям-ассоциантам относятся роды *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Flavobacterium*, *Acetobacter*, *Pseudomonas* и вид *Klebsiella planticola*; всего свыше 30 родов и более 200 видов. Многих из них относят к *эндофитам* (см. с. 138).

Для повышения продуктивности растений (важнейших продовольственных, кормовых и технических культур) на базе ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии уже разработаны и разрабатываются торфяные и жидкие бактериальные моно- и мультипрепараты ассоциативных diaзотрофов.

Новый биопрепарат *агроциан* создан Е. М. Панкратовой (2000) на основе цианобактерий *Nostoc paludosum*, в околочлеточную слизь которых подседают ассоциативные и симбиотические азотфиксаторы.

Все эти препараты оказывают положительное влияние на урожай и качество продукции, позволяют снизить расход минерального азота, повышают устойчивость растений к болезням, подавляют развитие фитопатогенных грибов.

Симбиотические азотфиксаторы. Симбиоз между бактериями и растениями — это качественно иная и высшая форма ассоциативных diaзотрофных связей, это система, сформировавшаяся в процессе эволюции как морфологически выраженная структура растения — клубеньки на корнях или наросты в виде узелков на листьях и стеблях разных видов растений.

Для активной азотфиксации в клубеньке требуется уникальное органическое соединение — *леггемоглобин* (пигмент, близкий к гемоглобину крови; «лег» означает принадлежность бобовым растениям *Leguminosae*). Он снижает содержание кислорода в клубеньке, защищая нитрогеназу, которая функционирует в клубеньке только при низкой концентрации O_2 .

Симбиотические ассоциации есть в любом биоценозе. Партнерами при симбиотических отношениях могут быть представители самых разных высших таксонов и прокариот, детали их взаимоотношений существенно различаются.

Степень зависимости большинства микроорганизмов от растений неодинакова. Симбионты зависят от растения непосредственно, как от

источника энергии и питательных веществ; свободноживущие и ассоциативные бактерии получают энергию от растения косвенным путем, а у некоторых из них - цианобактерий и фотосинтезирующих бактерий, использующих непосредственно солнечную энергию, — связи определяются взаимообменом метаболитами.

Симбиотические азотфиксаторы могут существовать в почве как свободноживущие бактерии-сапротрофы, а в тканях растения-хозяина — как симбионты. Двойственность существования бактерий в клубеньках и почве определяет их биологию. Приспосабливаясь к одной среде, они могут утратить черты приспособления к другой.

Симбиоз основывается на взаимообмене продуктами метаболизма: микросимбионт дает растению фиксированный им азот, макросимбионт обеспечивает эконишей, создавая оптимальные физико-химические условия жизни (соответствующий pH и низкий уровень кислорода), и источником углерода (органическими C-содержащими соединениями, которые так или иначе были бы утрачены для растения в виде корневых выделений).

Наиболее изучен симбиоз клубеньковых бактерий с бобовыми растениями. Свыше 13 тыс. видов бобовых растений имеют клубеньки на корневой системе, из них более 200 используются в сельском хозяйстве. Клубеньковые бактерии относятся преимущественно к роду *Rhizobium* (гр. *rhiza* — корень, *bios* — жизнь, т. е. жизнь на корнях) (рис. 1.31).

В масштабах мировой экосистемы количество фиксированного азота только бобово-ризобиальной симбиотической системой практически компенсирует потери азота в этой системе в результате процесса денитрификации.

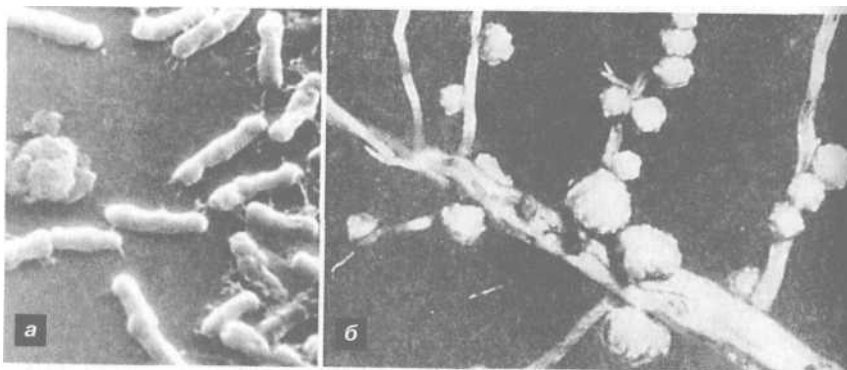


Рис. 1.31. Клубеньковые бактерии клевера, сканирующая электронная микроскопия, $\times 12\,000$ (а); клубеньки на корнях сои (б)

Клубеньковые бактерии обладают рядом свойств: специфичностью, вирулентностью, азотфиксирующей активностью (эффективностью).

Специфичность — это избирательность по отношению к растению, способность ризобий заражать определенный вид растения-хозяина. Она может быть очень узкой: ризобии сои заражают только растения сои, ризобии люпина заражают только безалкалоидные или только алкалоидные сорта люпина. Широкой, перекрестной специфичностью обладают бактерии *Rhizobium* subsp. *viciae*, заражающие горох, фасоль, вику. Критерием специфичности служит появление хотя бы одного клубенька на корневой системе.

Вирулентность — способность проникать в ткань корня, размножаться в ней и вызывать образование клубенька. Критерий — срок появления первого клубенька.

Активность (или эффективность) определяется содержанием азота или белка в тканях растения или интегральным показателем — урожаем (массой растения).

Благодаря азотфиксации бобовые растения обогащают почву азотом. Так, если пшеница при урожае зерна 20 ц/га дает 220—250 кг белка, то люпин желтый — в 2—3 раза больше. Растения люпина при этом на 80—85% удовлетворяют свои потребности в азоте за счет биологической азотфиксации, поскольку система *Bradyrhizobium lupini* — растение люпина фиксирует 150—180 кг и более атмосферного азота на 1 га.

Перспектива повышения интенсивности земледелия путем обогащения почвы за счет такого дешевого источника, как N_2 , реализовалась на практике инокуляцией (бактеризацией) семян бобовых растений препаратом клубеньковых бактерий. Первый препарат под названием нитрагин был произведен в 1896 г. в Германии, позднее под различными наименованиями (нитрагин, радицин, кампен, ризонит, нодулайд, нитрофикс и др.) его стали получать в разных странах.

В России чаще используют торфяной нитрагин — ризоторфин — стерилизованный гамма-лучами низинный торф, обогащенный питательными для ризобий веществами. Расфасованную массу с внесенной в нее соответствующей культурой клубеньковых бактерий выдерживают в термостате для размножения ризобий. Титр клубеньковых бактерий в готовом препарате — 2,5 млрд клеток в 1 г. Перед посевом семена бобовых растений обрабатывают из расчета 200 г препарата на одну гектарную порцию семян. Наполнителями в нитрагине (носителями бактерий) могут быть стерилизованные почва, бентонит, лигнит, гемицеллюлоза.

При инокуляции достигается получение высококачественной белковой растительной продукции, содержащей ряд незаменимых аминокислот, которых не хватает в кормах для животных. Каждая тонна фуражной продукции бобовых растений повышает содержание N_2 в почве на 60–75 кг/га. Прибавка урожая благодаря ризоторфину следующая: зерна гороха — 1–2 ц/га, зерна сои — 2–4 ц/га, сена люцерны, клевера — 6–8 ц/га. При этом на 2–3% возрастает содержания белка в урожае. На одной из лекций *Климент Аркадьевич Тимирязев* (1843–1920) говорил об этом препарате: «Удобрение для целого поля в жилетном кармане! Это фантастика!»

У более чем 200 видов растений, не относящихся к бобовым, также обнаружены клубеньки на корнях или наросты на стеблях и листьях, образуемые бактериями. В клубеньках ольхи, облепихи, практически не содержащих леггемоглобина, развиваются актиномицеты.

10. Участие микроорганизмов в превращениях фосфора, серы и железа в природе

10.1. Превращения фосфора

Фосфор — один из главных биогенных элементов, входящих в состав нуклеиновых и аденозинфосфорных кислот клетки. В природе он распространен в основном в почвах в органической и неорганической формах. Несмотря на быструю циркуляцию фосфорных соединений в цикле этого элемента и относительно высокое содержание фосфатов в почвах и рудных породах, фосфор относят к факторам, лимитирующим развитие многих организмов, так как его основные запасы на Земле находятся в виде водонерастворимых малодоступных солей кальция в сероземах, черноземах (от слегка кислых, нейтральных до слабощелочных); солей железа и алюминия — в кислых подзолах, красноземах и в виде трикальцийфосфата — в щелочных почвах.

В отличие от азота, входящего в органическое вещество клеток живых существ в восстановленной форме, фосфор в составе живых организмов находится в окисленной форме в виде свободных фосфатных ионов (PO_4^{3-}) или в виде органических фосфатных компонентов клетки.

Превращения фосфора в почве образуют замкнутый неполный цикл «литосфера — гидросфера», атмосфера в этих превращениях практически не участвует. В атмосферу фосфор может попадать лишь



Рис. 1.32. Превращения фосфора в биосфере [по: Бабьева, Зенова, 1989]

в ничтожных количествах с мельчайшими брызгами воды на побережье или вблизи обнаженных выветриваемых пород.

Главные особенности цикла фосфора — выведение из почвенной среды в моря и океаны основной массы растворимых фосфатов при вымывании и сосредоточение в живых организмах в очень незначительных количествах (1%). В гидросфере этот элемент однонаправленно переходит в биологически бесполезные морские отложения, образуя «мертвый запас». Наибольшие потери фосфора за счет вымывания происходят из песчаных почв и при избыточном внесении удобрений. Только небольшие количества фосфатов возвращаются из гидросферы через биосферу по пищевым цепям морских животных и далее попадают на сушу с гуано рыбоядных птиц.

Управляют циклом фосфора микроорганизмы, которые участвуют в минерализации органических и мобилизации минеральных фосфатов в соединения, усваиваемые растением и микроорганизмами.

Цикл состоит из трех звеньев (рис. 1.32): минерализации органического фосфора, мобилизации нерастворимых минеральных фосфатов и ассимиляции растворимого фосфора растениями и микроорганизмами.

Минерализация органического фосфора. В органической форме фосфор содержится в виде фитина и его производных — солей ино-



Рис. 1.33. Зоны растворения органических соединений фосфора вокруг колоний фосфор-минерализующих бактерий

(рис. 1.33) — бактерии родов *Bacillus* (*B. megaterium*), *Pseudomonas*, *Proteus*, дрожжи, грибы рода *Fusarium*.

Второй путь высвобождения фосфатов из органических соединений фосфора — косвенный: растворение их кислотами (продуктами метаболизма) такое же, как и при растворении минеральных фосфатов (см. ниже).

Используя фосфор для своей жизнедеятельности, микроорганизмы улучшают и фосфорное питание растений.

Мобилизация микроорганизмами нерастворимых минеральных фосфатов. В неорганической форме в почве фосфор входит в структуру нерастворимых или слаборастворимых порообразующих минералов. Значительный процент фосфора в почве находится в виде трикальциевых фосфатов $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и других труднорастворимых солей. Специфических микроорганизмов, растворяющих минералы и трикальцийфосфат, не установлено, но до 85% почвенных, особенно ризосферных, микроорганизмов (бактерий, актиномицетов, дрожжей, грибов) способны растворять нерастворимые минеральные фосфаты, преимущественно апатиты и фосфориты, и слаборастворимые минеральные соли, которые используют как минеральные удобрения в почве и ризосфере. Многие микроорганизмы при этом обладают также способностью к растворению органофосфатов. Участие микроорганизмов в этом процессе косвенное: через продукты метаболизма.

Наиболее продуктивно микроорганизмы растворяют нерастворимые минеральные фосфаты кислотами, образуемыми ими в процессах метаболизма. Шавелевая, молочная, лимонная и другие органические

кислоты накапливаются в процессе брожений или неполного окисления органических веществ.

Азотистую и азотную минеральные кислоты образуют нитрификаторы, серную — тионовые бактерии, высвобождая ионы ортофосфатов из минералов и малорастворимых минеральных солей.

Выделяющийся при дыхании микроорганизмов CO_2 в присутствии H_2O переходит в слабую угольную кислоту H_2CO_3 , которая сравнительно быстро разлагает трикальцийфосфаты до дифосфатов и монофосфатов.

Эксудация органических кислот и диоксида углерода корнями растений может быть также довольно значительной.

Подкисление — не единственный, хотя и главный, механизм микробной мобилизации фосфора кальциевых фосфатов. Существует немало органических соединений — продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, которые связывают кальций еще сильнее. В частности, многие органические вещества образуют с кальцием недиссоциирующие хелатные комплексы. Если фосфат кальция поместить в раствор такого вещества, то кальций будет связываться им, а фосфор — высвобождаться и переходить в раствор, реакция которого при этом может быть нейтральной и даже щелочной.

В анаэробных условиях в переувлажненных почвах многие бактерии образуют H_2S , который, реагируя с фосфатами железа, превращается в черные сульфиды железа и ионы растворимого ортофосфата. Этим объясняется большая доступность фосфора в почвах рисовых полей.

На этапе растворения нерастворимых минералов и минеральных солей в природных экосистемах для растений жизненно важна роль **микоризы** (грибокорня) (рис. 1.34). Микориза удлиняет корневую систему (у древесных растений почти на 10 км), снабжает растение водой и минеральными солями, улучшает фосфорное питание растений. Это тип непрямого симбиоза растения с грибом и ризосферными микроорганизмами.

Микориза бывает эктотрофная (*наружная*, не проникающая внутрь корня) и эндотрофная (*внутренняя*, гифы гриба развиваются в клетках корней).

Эктотрофная микориза образует вокруг корневых волосков и корня мицелиальные чехлы. Гифы при контакте с запасами минеральных фосфатов обильно ветвятся, усиливая процесс перехода растворимых фосфатов в почвенный раствор. К эктотрофной микоризе, в частности, относится большинство широко известных шляпочных грибов.

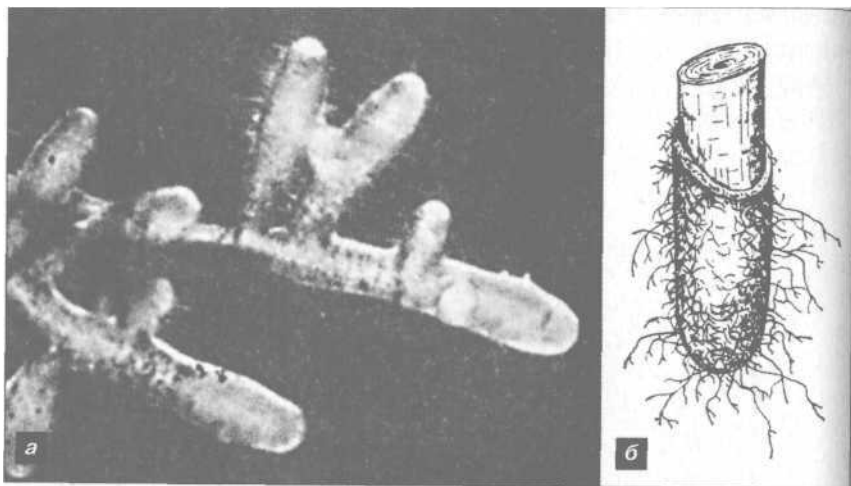


Рис. 1.34. Эктотрофная микориза на корнях бука (а); ее модель (б) [по: Либберт, 1976]

Эндотрофная микориза переносит фосфор непосредственно в корни растений и улучшает фосфорное питание растений, особенно на почвах, бедных подвижными соединениями фосфора. Эндомикориза развивается на корнях большинства сельскохозяйственных культур, включая злаки и бобовые.

Ассимиляция растворимого фосфора растениями и микроорганизмами. Микроорганизмы усваивают 4—10 кг/га и более в год доступного фосфора — иммобилизуют, закрепляя его в клетках. Примерно столько же выносятся из почвы растениями со средним урожаем. Содержание доступного фосфора в почвенном растворе в сотни раз меньше количества фосфора, которое выносятся из почвы (примерно 0,04 кг/га). За фосфор лабильного фонда между микроорганизмами и растениями может возникать конкуренция. Так, внесение почвы органических остатков, например соломы с низким содержанием фосфора (С : Р > 100:1), вызывает иммобилизацию фосфата микроорганизмами и фосфорное голодание растений. Если соотношение С : Р < 100 : 1, происходит минерализация микроорганизмами органических соединений фосфора.

Фосфор, связанный бактериями, после их отмирания снова становится органическим субстратом для минерализующих органофосфаты микроорганизмов, т. е. происходят микробные микроциклы фосфора.

10.2. Круговорот серы

Серя является одним из элементов, без которых невозможно представить существование живых организмов.

В неорганической форме сера встречается в почве в виде окисленных форм — сульфатов (CaSO_4 , K_2SO_4 , Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и других солей), накапливающихся в результате биогенных процессов. Восстановленные формы — сульфиды (FeS_2 , Na_2S , ZnS и др.) — обычно присутствуют в первичных горных породах, особенно изверженных, в почвах с нарушенным режимом аэрации; в почвах с хорошим режимом аэрации они быстро окисляются в сульфаты.

Сульфаты и сульфиды — основные формы минеральной серы в почвах. Все другие минеральные формы серы (тиосульфаты, полиитионаты и даже элементарная сера) трансформируются микроорганизмами и не накапливаются в почве.

Органическая сера в почве имеет растительное, животное и микробное происхождение. В результате мобилизации образуются доступные для растений и микроорганизмов соединения серы.

В круговороте серы, как и в круговороте азота, ключевые позиции микроорганизмов сохраняются. Движение серы в цикле возможно восстановительным или окислительным путями. На всех этапах цикла присутствуют микроорганизмы: аэробы и анаэробы, хемо-, фото- и гетеротрофы, истинные бактерии и археи.

Рассмотрим этапы превращения серы.

Восстановление сульфатов до органической серы. И растения, и микроорганизмы ассимилируют сульфаты в метаболических процессах как источник серы, необходимой для биосинтеза.

Минерализация органической серы, или аммонификация. Сера — обязательный компонент серосодержащих аминокислот цистина, Цистеина, метионина, входящих в состав белка и обеспечивающих связи между полипептидными цепями в белковой молекуле. Она является также составной частью некоторых алкалоидов и витаминов (биотина, тиамина).

Аммонификация — один из основных источников биогенной эмиссии серы в атмосферу и почву. Это неспецифический для серного круговорота процесс (см. с. 101). Главные продукты разложения органической серы в анаэробных условиях: летучие H_2S (сероводород), CH_3SH (метилмеркаптан), CH_3SCH_3 (диметилсульфид); в аэробных условиях — сульфиты, сульфаты, тиосульфаты.

Сульфатредукция, десульфофикация или сульфидогенез — восстановление сульфатов до H_2S . Сульфатредуцирующие бактерии (по Г. А. Заварзину, это сульфидогены, образующие сероводород в анаэробных условиях и таким образом иницирующие серный цикл на современной Земле) используют сульфаты в качестве окислителя органических соединений. Это узкоспециализированная группа бактерий, ведущих сульфидогенез. В круговороте азота аналогичный процесс денитрификации осуществляют денитрифицирующие бактерии.

Практически весь H_2S на Земле образуют вторичные анаэробы, серного цикла, использующие метаболиты первичных анаэробов, выделяющих гидролитические ферменты и ведущих брожения с образованием H_2 и олигомерных продуктов метаболизма. Вторичные анаэробы в отличие от первичных анаэробных клостридий не могут использовать полимерные соединения, так как не имеют гидролаз. Акцептором водорода у них служат сульфаты, сульфиты, тионовые соединения серы, коллоидная сера. Донор водорода — H_2 или органическое вещество, наиболее предпочтительные доноры — H_2 и ацетат — конечные продукты метаболизма первичных анаэробов. Если донором служит H_2 , а акцептором — сульфаты, такой процесс называется *гидрогенотрофным сульфидогенезом*; если донор — органическое соединение, в частности ацетат, а акцептор — сульфаты, то это — *ацетотрофный сульфидогенез*. Эти процессы осуществляют бактерии родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*. Восстановление тиосульфатов до молекулярной серы ведут облигатные термофилы *Clostridium thermosulfurogenes*; в восстановлении молекулярной серы до H_2S участвуют многие анаэробные археи, в частности гипертермофильные *Pyrobaculum islandicum* (гр. *pyr* — огонь). Растут они при pH 5–7, диапазоне температур 74 — более 100 °C, оптимальная температура развития — 100 °C. Используют серу, тиосульфаты в качестве акцепторов водорода, факультативные хемолитоавтотрофы. Местообитание — кипящие сольфатарные поля (по названию вулкана Сольфатара вблизи Неаполя; струи сернистого газа и сероводорода выделяются из трещин земной коры при температурах 100–300 °C).

В плодородных, хорошо аэрированных почвах, если при сульфатредукции и образуется локально сероводород, обычно сразу происходит реакция с образованием сульфатов и H_2S не выделяется.

В модельных опытах, если исключить контакт субстрата с атмосферой, возникают анаэробные условия, благоприятные для развития замкнутого анаэробного круговорота серы, в которых в определенной последовательности развиваются особые группы микроорганизмов. Основное условие — наличие света. Сначала

развиваются фотосинтезирующие пурпурные и зеленые серобактерии, использующие H_2S для восстановления CO_2 . Пурпурные несерные бактерии почти полностью ассимилируют ацетат и другие простые органические соединения. Затем фотосинтезирующие бактерии отмирают. Клостридии и другие анаэробы сбрасывают органические вещества их клеток, образуя CO_2 , H_2 , NH_3 , органические кислоты, спирты.

Водород и некоторые органические продукты брожений окисляют в анаэробных условиях сульфатредуцирующие и метанобразующие бактерии; в результате деятельности первых накапливаются H_2S и ацетат, их используют фотосинтезирующие бактерии. Метаногенные бактерии превращают CO_2 и отчасти ацетат (его метильную группировку) в метан. Метан не подвергается превращениям в анаэробных условиях, но проникает в аэробные области и окисляется аэробными метилотрофами. Потеря метана из анаэробного цикла серы — единственная существенная утечка.

Такой цикл можно создать в закрытом сосуде в лаборатории при наличии воды или ила из анаэробного источника. В условиях искусственного освещения он будет функционировать в течение нескольких лет.

Сульфатредукция характерна для таких биотопов, как илы, болота, лиманные грязи, почвы рисовых чеков, рубец жвачных, пластовые воды с нефтяными залежами (сероводород здесь может служить индикатором нефтеносности).

Существовало представление, что в Черном море на глубине ниже 200 м находится мертвая зона, где все живое гибнет. Возникновение этой зоны связывали с наличием на глубине 200 м пленки бактерий, выделяющих H_2S в глубь моря. Однако в настоящее время появилась гипотеза о том, что сероводород поступает со дна моря и деятельность микроорганизмов пленки в основном связана не с накоплением H_2S , а скорее с его удалением.

Окисление восстановленных минеральных соединений серы и молекулярной серы. Его осуществляют разнообразные микроорганизмы. В атмосфере сероводород и сернистый газ (SO_2) — микрокомпоненты. Почвенные микроорганизмы продуцируют H_2S , но в почве он либо тут же связывается с металлами, либо окисляется бактериями. Активные окислители восстановленных соединений серы — хемосинтезирующие бесцветные скользящие трихомные (нитчатые) серобактерии рода *Beggiatoa* с внутриклеточными включениями серы, которую они могут окислять до сульфатов при дефиците сероводорода (рис. 1.35, а), а также *Achromatium oxaliferum* (рис. 1.35, б) и бактерии Рода *Thiothrix* (рис. 1.35, в).

Пурпурные фотосинтезирующие серные бактерии родов *Chromatium* (рис. 1.36, а), *Thiospirillum* откладывают серу в виде капель, окруженных белковой мембраной; как и *Beggiatoa*, они могут окислять ее

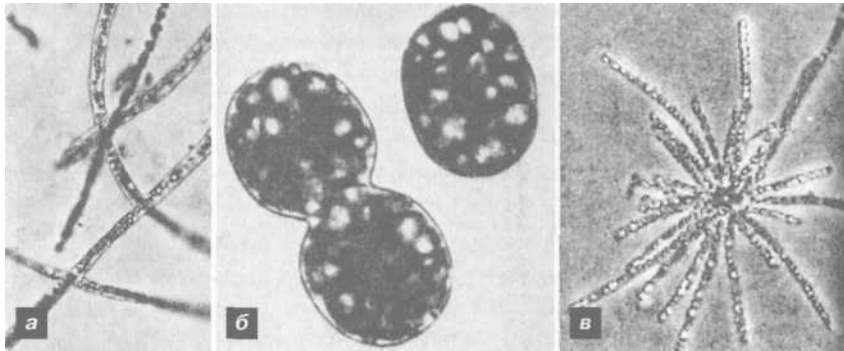


Рис. 1.35. Бесцветные серобактерии, окисляющие сероводород: а — *Beggiatoa* sp., \times 900; б — *Achromatium oxaliferum*, \times 700 [по: Стейниер, 1979]; в — розетки *Thiothrix*, \times 300 [по: Шлегель, 1987]

до серной кислоты. По данным Е.Н.Кондратьевой (1925—1996), на каждые 1,5 г CO_2 , используемого для построения клеточного вещества, эти микроорганизмы окисляют 14 г H_2S , образуя 40 г H_2SO_4 .

Зеленые серные вибриоподобные клетки *Chlorobium* (рис. 1.36, б) и нитчатые термофилы *Chloroflexus* выделяют серу наружу. Зеленые серобактерии — более строгие анаэробы, чем пурпурные, многие из них фиксируют молекулярный азот.

Тионовые бактерии (гр. *theion* — сера) — тиобациллы — аэробы и хемолитоавтотрофы. К ним относятся ацидофилы *Thiobacillus thiooxidans*, нейтрофилы, экстремальные алкалофилы и термоацидофильные тиобациллы *T. ferrooxidans*, а также экстремальные термоацидофиль-

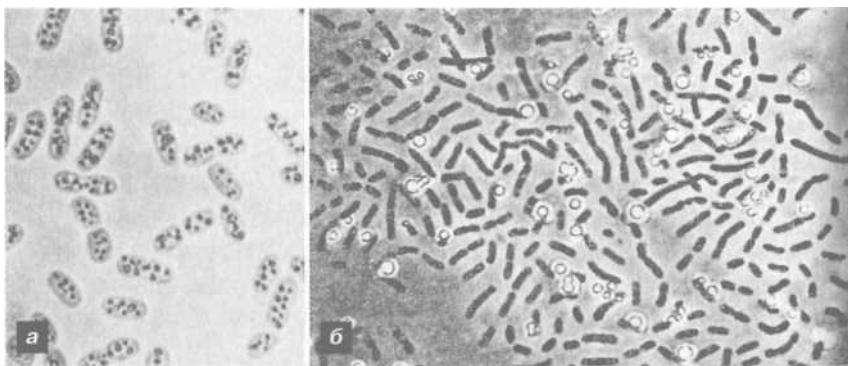


Рис. 1.36. Пурпурные серные бактерии *Chromatium vinosum* с включениями серы в клетках, \times 2 000 (а) [по: Берджи, 1997]; зеленые серные бактерии *Chlorobium limicola*, выделяющие серу в среду, \times 1 000 (б) [по: Шлегель, 1987]

ные археи *Sulfolobus acidocaldarius* (лат. *caldarium* - горячий) (рис. 1.37). Сульфолобусы имеют неправильную сферическую многолопастную форму, с тонкими образованиями наподобие пилей на поверхности клетки, ирредназначенными для прилипания к поверхности молекулярной серы. Развиваются эти микроорганизмы при pH 1,0—5,0 (оптимум 3,0), температурах 60—90 °C (оптимум 70 °C), изобилуют в континентальных сольфатарных полях, термальных источниках, содержащих большое количество серы. Их считают главными геохимическими агентами, ответственными за образование H_2SO_4 в районах с высокими температурами. Сульфолобусы могут быть гетеротрофами, хемолитоавтотрофами, окисляющими серу в серную кислоту или сульфиды железа в гидроксид железа и серную кислоту. Поскольку окислительные реакции приводят к образованию ионов водорода, это может вызвать местное закисление почвы. Именно поэтому обычно вносят серу в щелочные почвы, чтобы их подкислить.

Самой необычной и уникальной бактерией из облигатных термоацидофильных архей является *Thermoplasma acidophilum* (pH 0,5—4,0; оптимум 2,0; температура развития 45—63 °C, оптимум 50 °C), растущая в сильноокислых саморазогревающихся угольных отвалах (терриконах). Ее клетки необычайно устойчивы к лизоциму, трипсину, ряду антибиотиков, выдерживают температуру до 100 °C, но лизируются при pH меньше 0,5 и больше 6,0.

10.3. Трансформация соединений железа

Железо — обязательный компонент каждой живой клетки и один из наиболее распространенных на Земле элементов. Его содержание в клетках живых организмов составляет 0,01—0,1%. Железо входит в состав гемоглобина крови человека и животных, ряда ферментов всех живых существ. В почве железо находится в виде органических и минеральных соединений. Органическое железо — это железо животного, растительного и микробного происхождения, а также железо органико-минеральных конгломератов — хелатов (биологически важных гетерополярных соединений железа со многими полимерами, где железо двух- и трехвалентно).

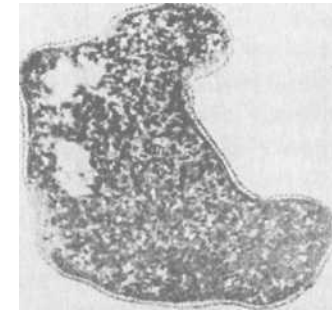


Рис. 1.37. Ультратонкий срез клетки археобактерии *Sulfolobus acidocaldarius*, \times 83 000 [по: Стейниер, 1979]

В природе преобладает трехвалентное нерастворимое железо, преимущественно в твердом осадочном состоянии. В анаэробных условиях оно переходит в оксидную (II) подвижную форму, но избыток его становится токсичным для растений. В аэробных условиях при нейтральной реакции среды или при pH менее 4,0 оксидное двухвалентное железо доступно растениям. В присутствии кислорода при pH более 5,0—6,0 оно окисляется в основном химическим путем.

Растения и микроорганизмы используют железо в ионной форме и в виде хелатов, облегчающих проникновение железа в клетку при нейтральных значениях pH. После прохождения через цитоплазматическую мембрану хелаты распадаются в клетке с высвобождением железа.

Окисленного железа в почве обычно не хватает для развития микроорганизмов из-за его очень низкой растворимости (при pH 7,4 она равна приблизительно 10^{-18}). В связи с этим у многих бактерий, актиномицетов и грибов выработался своеобразный механизм обеспечения собственных потребностей в железе с помощью синтеза и секреции небольших количеств *сидерофоров* (хелатоподобных агентов) — низкомолекулярных (м.м. 400—1500 Да) железосвязывающих соединений. Они бывают двух типов: *феноляты* (производные 2,3-диоксибензойной кислоты) и *гидроксаматы* (производные орнитина и аргинина). Сидерофоры эффективно связывают Fe^{3+} и транспортируют его в клетки микроорганизмов, где соединяются с клеточными рецепторами и включаются в метаболические процессы. Стимулирующее воздействие некоторых аэробных ризосферных бактерий на растения определяется их способностью синтезировать сидерофоры, которые связывают в зоне ризосферы большую часть оксидов железа и, создавая его дефицит, ограничивают развитие фитопатогенных грибов, также синтезирующих сидерофоры, но с существенно более низким сродством к Fe^{3+} . Связанное бактериальными сидерофорами железо может ассимилироваться растениями. Интродукция в ризосферу бактерий — активных сидерофорообразователей рассматривается как возможность создания эффективных конкурентных систем биоконтроля, направленного на борьбу с фитопатогенными микроорганизмами.

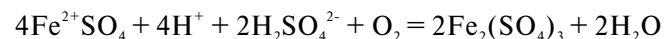
Минерализация органического железа. Она проходит в зависимости от условий среды с образованием окисленного нерастворимого инертного трехвалентного железа (Fe^{3+}) или растворимого двухвалентного (Fe^{2+}). Эти реакции осуществляют неспецифические почвенные микроорганизмы, банальные гетеротрофы, не имеющие непосредственного отношения к метаболизму железа. Благодаря их быст-

рому развитию на разлагающихся органо-минеральных субстратах они более, чем другие микроорганизмы, способны вызывать изменение pH и окислительно-восстановительного потенциала почвы и таким образом косвенно участвовать в минерализации органических соединений железа. Например, если в почве накапливаются восстановленные продукты H_2S , H_2 или CH_4 эти микроорганизмы вступают в реакцию с оксидом железа (III), превращая его в оксид железа (II). Оксид железа (II) в присутствии окисленных продуктов метаболизма гетеротрофных почвенных микроорганизмов окисляется вновь.

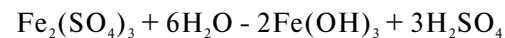
Кроме почвенных гетеротрофов, в минерализации органического железа участвует группа железобактерий, объединяемая общим названием *сидерокапсы*, способная не только окислять двухвалентные минеральные соединения железа, но и минерализировать органо-минеральные комплексы железа. Сидерокапсы образуют колонии клеток, инкрустированные оксидом железа (III), которые дают начало образованию железистых конкреций и прослоек в почвах и донных осадках.

Окисление минерального железа. В окислении оксида железа (II) принимает участие группа железобактерий. Это сборная группа бактерий, принадлежащих к разным таксонам. Их основные продукты: гидроксид железа $Fe(OH)_3$ (принятое, но не номенклатурное название *ферригидрит*) и $Fe_2O_3 \cdot nH_2O$ — n* гидрат триоксиддиоксида железа. Они окисляют восстановленные соединения железа, откладывая окисленное железо на поверхности клеток.

Облигатно-ацидофильные хемолитоавтотрофные железобактерии. К истинно облигатно-ацидофильным хемолитоавтотрофам, по С. Н. Виноградскому, относятся железобактерии, живущие в диапазоне pH 1,5—4,0 с оптимумом около 3,0, умеренные термофилы *Leptospirillum ferrooxidans*. Они ведут энергодающую реакцию окисления:



и далее окисляют $Fe_2(SO_4)_3$:



Могут окислять пирит (FeS_2) до сульфата железа. Развиваются в железистых и серных источниках, кислых дренажных водах каменноугольных шахт, пиритизированных торфяниках. К ним же относятся тионовые бактерии и экстремальные термофильные сульфобусы. Одна из наиболее активных железобактерий, образующих

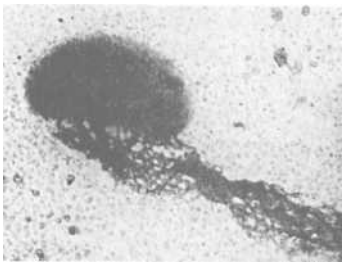


Рис. 1.38. Ультраструктура стебелька *Gallionella femiginea* [по: Берджи, 1997]

большое количество ферригидрита в системах водоснабжения и олиготрофных (лат. *oligos* — мало) железистых водоемах (содержат около 1% O₂, 150 мг/л CO₂ и 5–25 мг/л Fe²⁺) — *Gallionella femiginea* (рис. 1.38). Это хемолитоавтотроф, облигатный аэроб или микроаэрофил. По форме похож на боб, на вогнутой стороне которого откладываются оксиды железа в виде стебельков длиной до 400 мкм и шириной 0,3–0,5 мкм.

Отдельную группу составляют магнитобактерии *Aquaspirillum magnetotacticum* (спиралевидные формы, рис. 1.39). *Biophococcus magnetotacticus* (сферические формы), окисляющие железо с образованием внутри клеток магнетосом (одиночных кристаллов оксида железа — магнетита), чувствительных к магнитному полю Земли (см. с. 47). В клетках магнитных бактерий из сульфидсодержащих вод обнаружены сульфид железа и ферригидрит.

Хемоорганогетеротрофные железобактерии. К азотным хемоорганогетеротрофным железобактериям отнесены палочковидные бактерии, образующие цепочки, заключенные в чехлы из ферригидрита или оксида марганца, *Leptothrix ferruginea* и др. Предполагается, что эти микроорганизмы окисляют железо в результате взаимодействия с H₂O₂, выделяя внеклеточные пероксидазы для обезвреживания перекиси водорода; энергообеспечивающей функции процесс не выполняет.



Рис. 1.39. Клетка *Aquaspirillum magnetotacticum*. Видна цепочка магнетосом кубической формы [по: Берджи, 1997]

Железобактерии участвуют в формировании ржавых осадков, охристых налетов внутри водопроводных труб, приводя к сужению их диаметра. В подземных водах, содержащих Fe²⁺, лимитирующий фактор для железобактерий — отсутствие свободного кислорода. Наиболее распространены железобактерии вблизи донных от-

ложений в болотах и ручьях, в кислых подзолистых почвах, в щелочных солонцовых почвах, почвах рисовых полей. Биогенное окисление железа идет в природе намного быстрее, чем химическое.

Восстановление минеральных соединений железа. Этот процесс осуществляют неспецифические почвенные бактерии. Численность и активность этих бактерий в насыщенных влагой пахотных, обеспеченных органическим веществом почвах находится в полном соответствии с образующимся растворимым оксидом железа (II). Аналогичная картина наблюдается в затопленных рисовых чеках: весной численность бактерий, восстанавливающих окисленное железо, незначительна, а содержание трехвалентного железа высокое; к периоду созревания риса численность восстанавливающих железо бактерий достигает максимума, а в почвенном растворе накапливается много двухвалентного железа. Восстановление железа могут вызывать почвенные хемоорганогетеротрофные бактерии при окислении органических соединений в результате переноса электронов на ион Fe³⁺, который выступает в роли акцептора электронов и восстанавливается. Наиболее быстро восстанавливается FePO₄, медленнее — Fe(OH)₃ и Fe₂O₃.

Литература

- Айанаба А. Бактерии и азотная промышленность. ЮНЕСКО: Актуальные проблемы использования биосферы ИМПАКТ, 1983.
- Аристовская Т. В. Микробиология подзолистых почв. М.; Л., 1965.
- Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв. М., 1989.
- Бекер М. Е., Дамберг Б. Э., Рапопорт А. И. Анабиоз микроорганизмов. Рига, 1981.
- Вербина Н. М., Кантерева Ю. В. Микробиология пищевых производств. М., 1988.
- Виноградский С. Н. Микробиология почвы. М., 1952.
- Воробейков Г. А. Микроорганизмы, урожай и биологизация земледелия. СПб., 1998.
- Воробьева Л. И. Промышленная микробиология. М., 1989.
- Громов Б. В. Строение бактерий. Л., 1985.
- Громов Б. В., Павленко Г. В. Экология бактерий. Л., 1989.
- Гусев М. В., Минеева Л. А. Микробиология. М., 2004.
- Делвич Н. П. Круговорот азота Биосфера Под ред. А. М. Гилярова, Ю. М. Фролова. М., 1972.

- Добровольская Т. Г.* Структура бактериальных сообществ. М., 2002.
- Емцев В. Т., Шильникова В. К.* Микробиология. М., 1990.
- Заварзин Г. А.* Бактерии и состав атмосферы. М., 1984.
- Заварзин Г. А.* Лекции по природоведческой микробиологии. М., 2003.
- Заварзин Г. А., Колотилова Н. Н.* Введение в природоведческую микробиологию. М., 2001.
- Звягинцев Д. Г.* Почва и микроорганизмы. М., 1987.
- Звягинцев Д. Г., Зенова Г. М.* Экология актиномицетов. М., 2001.
- Зенова Г. М., Звягинцев Д. Г.* Разнообразие актиномицетов в наземных экосистемах. М., 2002.
- Ивлев А. М.* Биогеохимия. М., 1986.
- Кольман Я., Рём К.-Г.* Наглядная биохимия. М., 2004.
- Кондратьева Е. Н.* Автотрофные прокариоты. М., 1996.
- Лёвы А., Сикевиц Ф.* Структура и функции клетки. М., 1971.
- Либберт Э.* Физиология растений. М., 1976.
- Михайлов В. В., Кузнецова Т. А., Еляков Г. Б.* Морские микроорганизмы и их вторичные метаболиты. Владивосток, 1999.
- Мишустин Е. Н., Шильникова В. К.* Биологическая фиксация атмосферного азота. М., 1968.
- Мишустин Е. Н., Шильникова В. К.* Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. М., 1973.
- Мусил Я., Новикова О., Кунц К.* Современная биохимия в схемах. М., 1994.
- Никитин Д. И., Васильева Л. В., Лохмачева Р. А.* Новые и редкие формы почвенных микроорганизмов. М., 1966.
- Определитель бактерий Берджи:* В 2 т. Пер. с англ.; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Смита и др. М., 1997.
- Панкратова Е. М.* Агроэкологический потенциал цианобактерий Аграрная наука России на рубеже тысячелетий. Киров, 2000. Т. 1.
- Роуз Э.* Химическая микробиология. М., 1977.
- Руссель С.* Микроорганизмы и жизнь почвы. М., 1977.
- Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж.* Мир микробов: В 3 т. М., 1979.
- Умаров М. М.* Ассоциативная азотфиксация. М., 1986.
- Умаров М. М.* Современное состояние и перспективы исследований, микробной азотфиксации Перспективы развития почвенной биологии. М., 2001.
- Фафф Г.* Промышленные микроорганизмы Промышленная микробиология и успехи генетической инженерии. М., 1984.
- Чурикова В. В., Викторов Д. П.* Основы микробиологии и вирусологии. Воронеж, 1989.
- Шапошников В. Н.* Техническая микробиология. М., 1947.
- Шендеров Б. А.* Медицинская микробная экология и функциональное питание: В 3 т. М., 1998.
- Шильникова В. К., Серова Е. Я.* Микроорганизмы-азотонакопителина службе растений. М., 1983.
- Шлегель Г.* Общая микробиология. М., 1987.
- The Prokaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria.* Eds. A. Balows et al. NY; Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1992. V. 1-4.

Микробиологические процессы при хранении и переработке плодоовощной продукции

1.1. Эпифитные микроорганизмы плодов и овощей

1.1.1. Свойства эпифитных микроорганизмов

В питании человека продукты растительного происхождения занимают особое место. Эта группа продуктов в наименьшей степени поддается замене. Фрукты и овощи¹ служат источником витаминов, минеральных солей, органических кислот, легкоусвояемых углеводов, незаменимых аминокислот, микроэлементов и других веществ, необходимых для организма человека. Клетчатка и пектиновые вещества, присутствующие только в тканях растений, обеспечивают нормальную работу желудочно-кишечного тракта, способствуя выделению желудочного сока, стимулируя перистальтику кишечника и деятельность естественной микрофлоры. При высокой биологической ценности калорийность плодов и овощей по сравнению с другими продуктами питания низка из-за малого содержания в них углеводов, жиров и белков. Исключение составляют картофель с высоким содержанием крахмала, бананы, финики и виноград, содержащие большое количество сахарозы, орехи и семечки — источники высокоценных масел и богатые белком бобовые. Средняя суточная норма свежей плодоовощной продукции на одного человека составляет 200—300 г картофеля, 325—400 г овощей и 240 г плодов.

Фрукты и овощи представляют собой различные вегетативные и генеративные органы растений, поверхность которых обильно заселена

В соответствии с принятой в товароведении классификацией плодоовощную продукцию подразделяют на плоды и овощи. К *плодам* относят плоды семячковых и косточковых, субтропических и тропических культур, ягоды и орехоплодные. В быту сладкие плоды называют *фруктами*. *Овощи* подразделяют на плодовые (генеративные) и вегетативные. К плодовым овощам относят, например, огурец, томат, перец, к вегетативным — капусту, морковь, лук. Картофель выделяют в отдельную категорию.

микроорганизмами. Микроорганизмы поверхности растений называют *микроорганизмами филлосферы* (гр. *phylon* — лист) или *эпифитными* (гр. *epi* — на, *phyton* — растение). Эпифиты представлены как типичными, характерными для данного вида растений микроорганизмами, так и случайными. Источником типичных эпифитов служат растения, семена, растительные остатки, почва. Случайные могут быть занесены ветром, водой, насекомыми, птицами, грызунами из почвы, а также с инвентаря, тары, упаковочных материалов и других объектов. В их составе можно обнаружить фитопатогенных и патогенных для человека и животных микроорганизмов.

Типичные эпифиты существуют на здоровых растениях как *олиготрофы*, т. е. за счет незначительных количеств питательных веществ, постоянно выделяющихся на поверхность органов растений, — продуктов *экзосмоса*. Из-за недостатка питательных веществ и влаги они могут находиться в неактивном (инертном) состоянии.

Эпифитные сообщества микроорганизмов устойчивы к фитонцидам, солнечной радиации, способны переносить колебания влажности и температуры. Перечисленные способности, выработанные в процессе эволюции от цианобактериальных матов и наземных водорослевых корочек до появления высших растений и расселения бактерий по различным органам (в *филлосфере* — на надземных частях растений, *ризосфере* — на подземных, *геммисфере* — на почках растений, *спермосфере* — на семенах), позволяют микробному эпифитному сообществу жить и поддерживать свою численность на поверхности растений, не причиняя им вреда. К тому же многие эпифиты вырабатывают биологически активные вещества и существенно влияют на продуктивность растений. Способность к синтезу стимуляторов роста растений — *ауксинов*, *гиббереллинов* и *цитокининов* — присуща грамотрицательным протеобактериям рода *Pseudomonas*, обитающим в филлосфере различных сельскохозяйственных культур. Многие бактерии известны как продуценты *витаминов*. Так, молочнокислые бактерии — довольно распространенные эпифиты — синтезируют витамины группы В. В определенных условиях эпифиты проявляют антагонизм по отношению к ряду фитопатогенных грибов и бактерий благодаря синтезу *антибиотиков*. Например, *Erwinia herbicola* (травяная палочка) — бактерия, часто выявляемая в составе эпифитов, известна как антагонист возбудителя мягкой гнили овощей *E. carotovora*. Таким образом, эпифиты способны препятствовать проникновению паратрофов в растительные ткани, представляя собой естественный защитный барьер и усиливая тем самым природный иммунитет растений.

Осваивая поверхность растений, эпифиты постепенно внедрялись и в их ткани, завоеывая в процессе эволюции новые экониши, что приводило к возникновению эндофитных сообществ: *бактерии-эндофиты — растение-хозяин*. **Бактерии-эндофиты** способны внедряться во внутреннюю ткань корня или листа растения, не оказывая на него неблагоприятного воздействия. Эволюция шла по пути формирования ассоциативных и симбиотических (дiazотрофных) взаимоотношений с растениями (см. с. 116—118). Одними из первых примитивных специализированных симбиотических бактерий-эндофитов можно считать представителей рода *Phyllobacterium*, которые не имели генов азотфиксации, но вступали в тесные метаболические связи с растениями сем. *Myrsinaceae* и *Rubiaceae*, обитая в узелках на их листьях. Число обнаруживаемых эндофитов, считавшихся ранее истинными эпифитами, быстро растет. Среди эндофитов найдены представители родов *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Klebsiella*. Некоторые из данных бактерий обнаруживаются только в филлосфере, выделить их из почвы не удастся. Предполагается, что эти бактерии существуют в почве в «некультивируемой форме» (см. с. 53). Предложено называть такие бактерии облигатными эндофитами, прочие — факультативными эндофитами.

11.2. Микроорганизмы свежих фруктов и овощей

Микробное население плодов и овощей характеризуется специфичностью и большим разнообразием видов. Состав и численность микроорганизмов зависят от вида и сорта растения, степени зрелости плодов и овощей, расстояния от почвы в период вегетации, природно-климатической зоны. Наиболее распространены в филлосфере растений умеренной зоны бактерии родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Gluconobacter*, *Acetobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Zymomonas*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Clavibacter*.

Численность эпифитов и их специфичность обусловлены химическим составом, количеством и степенью доступности экссудатов, выделяемых растениями и используемых бактериями в качестве питательных веществ. Например, груши и яблоки, выращенные в одном саду, существенно различаются по количеству микроорганизмов, обитающих на их поверхности. На грушах численность микроорганизмов достигает 10^5 КОЕ/г, а на яблоках она не превышает 10^2 . Подобные различия можно объяснить значительно более высоким содержанием углеводов в плодах груши, интенсивным выделением их с экссудатами и доступностью для микроорганизмов. На яблоках часто присутствует восковидный налет, затрудняющий питание микроорганизмов.

Большое значение имеет степень зрелости плодов и овощей. На зрелых, особенно перезревших, плодах и овощах численность микроорганизмов резко возрастает. Например, на перезревшей малине количество дрожжей за несколько часов увеличивается в десятки и сотни раз.

Содержание микроорганизмов в филлосфере плодов и овощей в значительной степени определяется расстоянием их от почвы в период вегетации. Почва — естественная среда обитания многих видов микроорганизмов. Численность их в почве достигает нескольких миллионов КОЕ в 1 г. Безусловно, почва — постоянный источник инфекции. На плоды и овощи микроорганизмы из почвы могут попадать с брызгами поливной воды, переноситься воздушными потоками, а также насекомыми, птицами, грызунами. Чем ближе плоды и овощи расположены к поверхности почвы, тем больше на них выявляется микроорганизмов. Поэтому, содержание микроорганизмов на овощах, как правило, значительно выше, чем на плодах. Особенно высока численность микроорганизмов на клубне- и корнеплодах — 10^5 — 10^6 КОЕ/г, в том числе бактерий группы кишечной палочки (БГКП) — 10^2 КОЕ/г.

К естественным эпифитам плодов и овощей относят бактерии, дрожжи и микроскопические грибы.

Спектр **бактериальных таксонов** особенно разнообразно представлен на овощах. В составе эпифитов практически всегда выявляется неспорообразующая палочка *Erwinia herbicola*. Широко распространены молочнокислые бактерии. Они обитают на капусте, салате, огурце, укропе, малине, яблоках, винограде. Из кокковых форм преобладают *Lactococcus lactis* и *L. cremoris*. Встречаются представители родов *Pediacoccus* и *Leuconostoc*. Среди палочковидных форм доминируют *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis* и *L. fermentum*. Доля молочнокислых бактерий среди эпифитов зависит от вида растения. Численность этих бактерий на белокочанной и краснокочанной капусте, плодах огурца и на укропе колеблется в пределах 10^4 — 10^6 КОЕ/г; на тыкве, свекле — 10^2 , на ягодах вишни и винограда — единичные клетки. Немногочисленность молочнокислых бактерий в филлосфере ряда растений объясняют тем, что некоторые представители эпифитов продуцируют антибиотические вещества, подавляющие их жизнедеятельность. Сами же молочнокислые бактерии выделяют соединения, ингибирующие развитие протеолитических бактерий.

На многих овощах часто встречаются также бактерии родов *Alcaligenes*, *Flavobacterium* и *Micrococcus*, а на плодах и ягодах с повышенной кислотностью — уксуснокислые бактерии.

На поверхности клубней картофеля и корнеплодов моркови, свеклы, репы и др. в большом количестве обнаруживаются бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium*. Численность и состав микроорганизмов на клубнях и корнеплодах в значительной степени зависят от типа почвы и погодных условий в день сбора урожая. На 1 г клубней картофеля, корнеплодов свеклы, репы, моркови приходится десятки и даже сотни миллионов клеток спорообразующих бактерий. Из представителей рода *Bacillus* часто встречаются следующие виды: *B. mesentericus* (картофельная палочка), *B. megaterium* (земляная палочка), *B. subtilis* (сенная палочка), *B. mycoides* (грибовидная палочка). Клубнеплоды легко обсеменяются в почве мезофильными бактериями рода *Clostridium*, отдельные виды которого, например *C. butyricum*, обнаруживаются в 100% проб. Промывание овощей с последующей сушкой на солнце (или просто просушивание на солнце) значительно снижает численность бактерий на клубнях и корнеплодах.

На поверхности плодов и ягод преобладают **дрожжи**. Это объясняется кислой реакцией среды из-за высокого содержания в них органических кислот. Так, рН лимонов, клюквы, винограда, ананаса — 2,5—3,5; апельсинов, яблок — 3,5—4,5; бананов — 4,5—5. Для бактерий предпочтительна нейтральная реакция среды; исключение составляют уксуснокислые и молочнокислые бактерии. На плодах винограда, черешни, сливы, малины, крыжовника, земляники распространены дрожжи родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Hanseniасpora*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, пленчатые дрожжи родов *Pichia* и *Debaryomyces*. Многие из них — слизепобразующие и пигментные дрожжи, устойчивые к солнечной радиации. На фруктах обитают в основном те же роды в разных соотношениях в зависимости от вида растения. Количество дрожжей существенно возрастает по мере поспевания плодов. На зрелых ягодах земляники, малины и крыжовника может находиться от тысяч до нескольких миллионов дрожжевых клеток (на одном плоде). Дрожжи являются частью естественного микробного комплекса растений и не вызывают порчи здоровых плодов. Причиной порчи они становятся обычно после повреждения плодов, т. е. нарушения целостности их покровов.

Микроскопические грибы в составе эпифитов представлены большим разнообразием родов: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Monilia*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Botrytis*. Численность их в 1 г колеблется от нескольких сотен клеток на поверхности яблок, груш до миллионов на корнеплодах моркови, свеклы, клубнях картофеля. Плоды и овощи разных сортов, выращенные в одинаковых условиях и одновременно собранные, различаются по преобладающим ви-

дам грибов. Например, на поверхности яблок сорта Ренет шампанский в среднем 80% обитателей — альтернарии, 10% — мукор, 8% — фузари, прочие виды — 2%. На поверхности яблок сорта Ренет Симиренко преобладают пенициллы — 70% и аспергиллы — 25%, прочие виды составляют 5%. По мере созревания плодов и овощей количество грибов на них увеличивается.

Естественная эпифитная микрофлора свежих плодов и овощей не может стать причиной заболевания человека. Однако на поверхность растений могут попадать **патогенные бактерии** (см. с. 210): БГКП — *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*; стафилококки — *Staphylococcus aureus*; энтеровирусы (кишечные вирусы); бактерии — возбудители сибирской язвы — *Bacillus anthracis*, столбняка — *Clostridium tetani*, ботулизма — *C. botulinum*, газовой гангрены — *C. perfringens*, а также дрожжи — возбудители кандидомикозов и микроскопические грибы — продуценты микотоксинов. Поэтому употребление немытых плодов и овощей в свежем виде может быть опасным.

Источником патогенных микроорганизмов являются больные люди и животные. На растения патогены могут попадать с фекалиями при удобрении культур, а также с мокротой, слюной, гнойными выделениями; с кожи, ногтей, загрязненного инвентаря, оборудования, тары, транспортных средств. Активными переносчиками патогенов служат насекомые, птицы, грызуны.

12. Микробиологические процессы при хранении плодоовощной продукции

12.1. Биологические принципы консервирования

Продукты растительного происхождения не могут сохраняться длительное время. Порча плодов и овощей происходит в результате идущих в них естественных биохимических процессов и вследствие деятельности микроорганизмов.

Консервирование (лат. *conserve* — сохранение) — сохранение плодов, овощей и продуктов их переработки в течение продолжительного времени путем регулирования биологических процессов, предупреждающих возникновение порчи.

Плоды и овощи, предназначенные для хранения и переработки, представляют собой живые вегетативные и генеративные органы растений, которые уже отделены от растения. Поступление питательных веществ в эти органы прекращено, однако в них продолжают идти

биологические процессы. Основные биологические процессы — дыхание и испарение — транспирация (лат. *spiro* — выдыхаю). При дыхании и органические вещества плодов, например сахара, окисляются до CO_2 и H_2O с выделением энергии. Транспирация ведет к постепенному обезвоживанию растительной ткани — сочные плоды становятся вялыми, мягкими, сморщиваются. Биохимические процессы в растительном сырье приводят только к расходованию ценных питательных веществ и воды без их возобновления. Масса плодов и овощей уменьшается, снижается пищевая ценность, ухудшаются органолептические свойства. Таким образом, нормальное течение жизненных процессов в здоровых неповрежденных плодах таит в себе неминуемую их гибель и последующую порчу.

Жизненная активность обитающих на поверхности плодов и овощей разнообразных микроорганизмов определяется совокупностью факторов внешней среды: количеством доступных питательных веществ, температурными условиями, влажностью, рН и др. (см. с. 138—140). На здоровых неповрежденных растениях доминируют нормальные эпифитные микроорганизмы, которые не принимают участия в процессах порчи и, как правило, находятся в неактивном состоянии, так как количество питательных веществ в экссудатах незначительно. Однако при нарушении целостности покровов эпифиты легко проникают внутрь растительной ткани и вызывают порчу плодов и овощей, поскольку по химическому составу последние представляют прекрасную питательную среду для любого сапротрофного микроорганизма. Повреждения поверхностных тканей возникают при неблагоприятных погодных условиях в период вегетации или в день сбора урожая, при транспортировке, хранении и вследствие других причин. Фитопатогенные микроорганизмы, обладающие более мощным ферментным аппаратом, способны проникать и через ненарушенные покровы плодов и овощей.

Проблема консервирования сводится к регулированию биохимических процессов в растительном сырье (плодах, овощах) — с одной стороны, и в микробных клетках — с другой. Изменяя условия среды, воздействуя на сырье и микроорганизмы физическими или химическими факторами, можно добиться сохранения плодоовощной продукции.

В основу методов консервирования положены биологические принципы, сформулированные *Я. Я. Никитинским* (1878—1941), — биоз, анабиоз, абиоз и ценанабиоз.

Принцип биоза заключается в поддержании на низком уровне жизненных процессов в свежей плодоовощной продукции и микроор-

ганизмах, в ней обитающих. На состоянии биоза основано хранение плодов и овощей в свежем виде. При этом для каждого отдельного вида продукции создают оптимальные условия, способствующие поддержанию его естественного иммунитета. Численность микроорганизмов должна оставаться на уровне, не представляющем опасности для сохранения продукции.

Принцип анабиоза состоит в замедлении, торможении жизненных процессов в сырье (плодах, овощах) и микроорганизмах посредством изменения физических или химических факторов среды, например влажности, температуры, кислотности. Анабиоз (гр. *a* — отрицание, *an* — отрицание, *bio* — жизнь, т. е. отрицание жизни и отрицание этого отрицания — возможность оживления) — латентное безжизненное, но обратимое состояние живых биологических систем, когда метаболические процессы в них заторможены или идут на чрезвычайно низком уровне и они ведут себя как «закрытые». На этом принципе основаны многие способы консервирования: сушка, замораживание, маринование, спиртование и др.

Принцип абиоза (гр. *a* — отрицание, *bio* — жизнь, т. е. отсутствие жизни) заключается в полном прекращении всех жизненных процессов в растительном сырье и микроорганизмах. Он осуществляется при термическом консервировании (стерилизации), радиуризации (облучении) и других способах жесткой обработки плодов и овощей.

Принцип ценанабиоза состоит в изменении посредством внешних воздействий состава естественного биоценоза продукта и получении нового продукта с иным составом микроорганизмов. В соответствии с этим принципом проводится консервирование на основе молочнокислого брожения — квашение, соление, мочение, ферментация — и на основе спиртового брожения — изготовление вина. Данные способы переработки можно причислить к методам консервирования плодов и овощей лишь условно, поскольку в результате процессов брожения происходит изменение свойств исходного сырья и образуется абсолютно новый продукт. Сама цель такой обработки заключается не в консервировании, а в получении нового продукта с определенными желаемыми свойствами. Так, вино — это не консервированный виноградный сок и изготавливают его не для того, чтобы сохранить сок впрок; точно так же квашение капусты проводят не для того, чтобы сохранить в течение длительного времени свежую капусту с присущими ей вкусовыми качествами, а чтобы получить качественно новый закусочный продукт. Однако эти продукты сохраняются благодаря подавлению микроорганизмов с помощью кислоты или спирта.

Как правило, ни один из перечисленных биологических принципов не осуществляется на практике в чистом виде. Чаще всего методы консервирования основываются на нескольких принципах.

12.2. Биологические основы хранения плодов и овощей

Фрукты и овощи, предназначенные для хранения в свежем виде, представляют собой живые органы растений. В основе мероприятий по их хранению лежит управление связанными между собой физиологическими процессами, определяющими состояние покоя и созревания этой продукции, а также ее устойчивость к патогенным микроорганизмам.

Биологический покой, как и активный рост, обусловлен сложными биохимическими процессами, а также присутствием в клетках *абсцизовой кислоты* — гормона покоя. Состояние покоя рассматривают как приспособительное наследуемое свойство, возникшее в результате эволюции. Во время покоя блокируются процессы деления или растяжения клеток либо те и другие одновременно. Непосредственными причинами наступления биологического покоя (естественного или вынужденного) могут быть сокращение длины дня, снижение степени освещенности, изменение спектрального состава света, понижение температуры. Знание биологии покоя растения позволяет правильно организовать хранение плодовоовощной продукции, что дает возможность использовать основной ассортимент овощей и фруктов (за исключением слабозеленых зеленых овощей, фруктов косточковых культур и ягод) в течение всего года.

Возможные сроки хранения различных видов фруктов, бахчевых культур, помидоров, огурцов определяются в первую очередь степенью зрелости, при которой они собраны, и интенсивностью послеуборочного дозревания. Чем медленнее идут процессы дозревания, тем дольше хранится продукция. Так, помидоры, снятые в фазу молочной спелости, дозревают довольно длительный период, и срок их хранения больше, чем помидоров, снятых розовыми или красными. Яблоки ранних сортов обычно вызревают на дереве, поэтому срок их хранения короткий. Яблоки поздних сортов снимают недозрелыми, и товарные качества они приобретают только через несколько месяцев. В процессе дозревания фруктов между семенем и плодом продолжается обмен пластическими и физиологически активными веществами. В этот период интенсивность дыхания фруктов находится примерно на одном уровне, затем, в момент созревания, она резко усиливается, тогда плоды достигают наивысших потребительских качеств: околоплодник приобретает характерные для сорта цвет, консистенцию, аромат и

вкус. Далее идет так называемый климактерический период, начинаются процессы перезревания: семена в это время уже созрели, идет старение тканей околоплодника, ухудшаются товарные и пищевые качества фруктов, снижается их устойчивость к болезням.

Хранение корнеплодов, лука, капусты кочанной особенно сложно, поскольку на второй год жизни из этих морфологически измененных вегетативных органов развиваются цветущие побеги, на которых образуются семена. У корнеплодов нет ясно выраженного перехода к периоду покоя. В условиях средней полосы России они растут до глубокой осени. В период зимнего хранения в точках роста луковиц, корнеплодов, кочанов капусты проходят физиолого-биохимические процессы, приводящие к формированию генеративных органов. Поэтому при хранении этой продукции необходим строгий контроль влажности воздуха и температуры.

Однако даже при оптимальных условиях хранения происходит естественное завершение жизненного цикла фруктов и овощей в результате идущих в них нормальных биологических процессов. Все мероприятия, связанные с хранением плодовоовощной продукции, направлены лишь на замедление этих процессов. Чем медленнее идут биохимические процессы — дыхание, транспирация, — тем дольше хранятся фрукты и овощи без изменений, тем выше их *лежкость* при хранении. Напротив, чем интенсивнее биохимические процессы, тем быстрее наступают глубокие и необратимые изменения, характеризующие старение фруктов и овощей: снижаются лежкость, товарность, вкусовые качества и питательная ценность, устойчивость к микроорганизмам; ткани теряют упругость, становятся вялыми, мягкими.

Порча плодовоовощной продукции происходит и вследствие деятельности микроорганизмов. Однако необходимо иметь в виду, что фрукты и овощи как живые организмы обладают естественным иммунитетом и располагают разными системами защиты, определяющими их физиологическую сопротивляемость заражению микроорганизмами.

Механическую защиту обеспечивают покровные ткани. К ним относят *кутикулу* — пленку из особого вещества кутина, вырабатываемого клетками кожицы. Многие фрукты и овощи, например яблоко, слива, виноград, огурец, покрыты *восковидным налетом*, инертным в химическом отношении и плохо поддающимся ферментативному воздействию микроорганизмов. Клетки мякоти плода плотно спаяны *протопектином*. Чтобы микроорганизмы могли добраться до каждой отдельной клетки, внутри которой находятся ценные питательные вещества, необходимо эти клетки «расцементировать». *Стен-*

ки клеток, содержащие протопектин и целлюлозу, также представляют собой механическую преграду для микроорганизмов. Последний барьер на пути проникновения микроорганизмов — *цитоплазматическая мембрана*, состоящая из белков и липидов. При повреждении цитоплазматической мембраны белки коагулируют, растительная клетка, погибает и ее содержимое становится доступным микроорганизмам. Плоды и овощи служат прекрасной естественной средой для микроорганизмов, поскольку в них содержатся все необходимые питательные элементы. Проникнув в растительную ткань, микроорганизмы начинают быстро размножаться. Количество мезофильных аэробных микроорганизмов в расчете на 1 г поврежденной продукции может достигать 10^9 — 10^{10} КОЕ. Потребляя питательные вещества, они выделяют метаболиты, среди которых есть соединения с неприятным запахом и ядовитые. В результате воздействия микроорганизмов продукт портится, т. е. становится непригодным к употреблению в пищу.

Химические системы защиты определяются наличием в тканях растений различных органических соединений. Среди химических систем защиты есть *специфичные* для отдельных видов соединения, например рафанин — в редьке, бензойная кислота — в ягодах брусники и клюквы, сорбиновая — в ягодах рябины. Эти вещества обычно не выделяются в среду, накапливаясь в определенных органах или тканях и защищая их. К *неспецифичным* можно отнести фруктовые кислоты — лимонную и яблочную, содержащиеся во многих ягодах и фруктах. Они снижают рН клеточного сока и ограничивают тем самым возможности развития бактерий.

Важную роль в защитных реакциях против микроорганизмов играют фенольные вещества, эфирные масла, фитонциды и другие летучие соединения, обладающие антибиотическим действием. Они содержатся в чесноке, укропе, луке, плодах цитрусовых, горчице, хрене, лавровом листе, кориандре, перце. Таким образом, хранящиеся плоды окутаны облаком токсичной для микроорганизмов атмосферы.

Несмотря на естественные системы защиты, лишь немногие виды плодов и овощей можно длительно хранить и транспортировать на большие расстояния в свежем виде. Технология хранения растениеводческой продукции сводится к тому, чтобы как можно дольше поддерживать ее в жизнеспособном состоянии и дать возможность самой противостоять воздействию микроорганизмов.

Главной задачей хранения представляется максимальное замедление жизненно важных процессов как в самой продукции, так и в микроорганизмах, присутствующих на ее поверхности. Наилучшее сохра-

нение продукции достигается при оптимальном сочетании температуры, влажности, состава газовой среды и соответствующей подготовке хранилища. Хранение целесообразно осуществлять при температуре от -1 до $+10$ °С в зависимости от вида продукции, поскольку все биохимические реакции при снижении температуры замедляются. Для уменьшения потерь влаги вследствие транспирации необходимо поддерживать при хранении относительную влажность воздуха (степень насыщенности воздуха растворенными в нем парами воды) на уровне 85—95%. Чтобы количество микроорганизмов в таких условиях не возрастало, следует предотвращать образование капельно-жидкой (конденсационной) влаги на поверхности плодов и овощей. С этой целью осуществляют активное вентилирование.

Большое значение имеет состав газовой среды. Необходимо обеспечить свободный доступ воздуха к отдельным плодам. В противном случае при недостатке кислорода и накоплении CO_2 процесс нормального дыхания нарушается и наступает так называемое *интрамолекулярное дыхание*, приводящее к образованию спирта и диоксида углерода. Спирт оказывает токсическое действие на растительные клетки и приводит к их гибели. Если концентрацию CO_2 в составе газовой среды поддерживать на уровне, недостаточном для возникновения интрамолекулярных явлений (до 10%), то дыхание плодов не прекращается полностью, а только замедляется. Аналогичное действие повышенные количества CO_2 оказывают и на аэробные микроорганизмы. Благодаря этому срок хранения продукции в такой модифицированной атмосфере удлиняется. Перспективным является метод диоксидного шока, при котором концентрацию CO_2 повышают до 40% и поддерживают на таком уровне в течение 3—4 суток в зависимости от вида продукции. Затем продукцию вентилируют и 2—3 недели хранят в обычном режиме, после чего диоксидный шок проводят повторно.

При длительном хранении овощей и плодов используют капитальные сооружения — хранилища с естественной и принудительной вентиляцией, погреба, холодильники с искусственным охлаждением и регулируемым составом газовой среды. Предварительно хранилище, оборудование и тару дезинфицируют, поскольку микроорганизмы, особенно споры бактерий и грибов, могут сохраняться в них длительное время. Используют также простейшие временные сооружения — ямы, ледники, траншеи. Все большее значение приобретает краткосрочное хранение свежей плодоовощной продукции в условиях заготовительных пунктов и при развитии прямых связей с магазином с целью доставки свежих овощей и плодов к потребителю. В этом слу-

чае основные меры сохранения направлены на снижение механических повреждений, отбраковку испорченных экземпляров и сокращение времени транспортирования продукции.

12.3. Бактериальные и грибные болезни плодов и овощей при хранении

Большинство заболеваний у растений вызывают специфические фитопатогенные микроорганизмы. В настоящее время известно более 150 видов грибов и бактерий — инфекционных агентов плодов и овощей. Одни из них заражают продукцию еще в поле и саду, другие — в период хранения. Развитие инфекционного процесса начинается только при внедрении фитопатогенного микроорганизма в организм растения. Для этого бактериальная клетка или спора гриба должна попасть на поверхность органа растения, затем проникнуть через эпидермис в основную ткань и распространиться в ней.

При повреждении естественных защитных тканей проникновение микроорганизмов внутрь плодов и овощей существенно облегчается. Повреждения возникают в результате небрежной уборки плодов и овощей, неблагоприятных погодных условий (град, мороз, засуха), их вызывают насекомые, грызуны, птицы. В этих случаях возбудитель болезни проникает через повреждения пассивно. Однако он может внедряться в ткани растения и активно (контактно) — при соприкосновении больных и здоровых растений. В последнем случае заражение может быть *локальным* — ограниченным близлежащими к возбудителю тканями или *диффузным* — не ограниченным.

После заражения проходит инкубационный период различной продолжительности, по его окончании появляются специфические симптомы: увядание, налеты, изменение окраски, загнивание и др. Распространению заболеваний способствуют значительная влажность почвы и воздуха, повышенная температура, избыток азота и недостаток калия в почве.

Не всегда причиной порчи, по виду напоминающей микробную, служат микроорганизмы. Встречаются так называемые *физиологически неинфекционные болезни*, развивающиеся в результате нарушения физиологических функций клеток и тканей. Перезревшие плоды и овощи при высокой активности собственных гидролитических ферментов приобретают мягкую кашицеобразную консистенцию и темную окраску. При этом плоды теряют естественную устойчивость к микроорганизмам. Неблагоприятные условия хранения (низкие температуры или недостаток кислорода) могут вызывать ферментативное

потемнение в результате окисления дубильных веществ. Подобные изменения можно часто наблюдать на яблоках. При этом в них происходит накопление спирта и уксусного альдегида, отравляющих клетки. Потемнения могут быть и результатом повреждения плодов.

Побурению сердечка и развитию водянистости сердцевины яблок способствует хранение их при низкой температуре, поздний съем плодов или избыток азотных удобрений. Побурение или почернение салата, капусты при хранении в буртах часто происходит при активизации деятельности дыхательных ферментов. Физиологические и инфекционные заболевания нередко протекают параллельно.

Микроорганизмы — возбудители порчи плодоовощной продукции — хемогетеротрофы (см. с. 60). Среди них есть облигатные и факультативные сапротрофы, облигатные и факультативные паратрофы. Сапротрофы используют органические субстраты отмерших растений.

Факультативные сапротрофы и паратрофы — многочисленная группа возбудителей болезней плодов и овощей. К факультативным сапротрофам относят микроорганизмы, которые развиваются как сапротрофы, но способны заражать здоровую ткань, предварительно умерщвляя ее выделяемыми токсинами. Их называют также некротрофами. К факультативным сапротрофам относят большинство сумчатых грибов. Факультативные паратрофы питаются тканями живого растения, т. е. это биотрофы, но способные при определенных условиях развиваться на отмерших тканях, как некротрофы. К ним относят, например, грибы рода *Rhizopus*.

Облигатные паратрофы развиваются только за счет сохранившихся живых клеток растений. Эти биотрофы представляют наибольшую степень паразитизма. К облигатным паратрофам относят возбудителей ржавчины и мучнистой росы.

Болезни плодов, вызываемые микроскопическими грибами. Наиболее агрессивными инфекционными агентами при хранении плодов и ягод являются микроскопические грибы (микромикеты).

Плодовая гниль (монилиоз) — распространенное заболевание семечковых культур, вызываемое грибом *Monilia fructigena*. Поражение начинается с небольшого серого пятна, которое быстро разрастается и охватывает всю поверхность плода. Мякоть приобретает буро-коричневый цвет, размягчается, становится рыхлой, губчатой и теряет свои вкусовые качества. При заражении плодов в саду, на дереве на их поверхности образуются желтовато-бурые подушечки конидиального спороношения гриба, расположенные правильными концентрически-

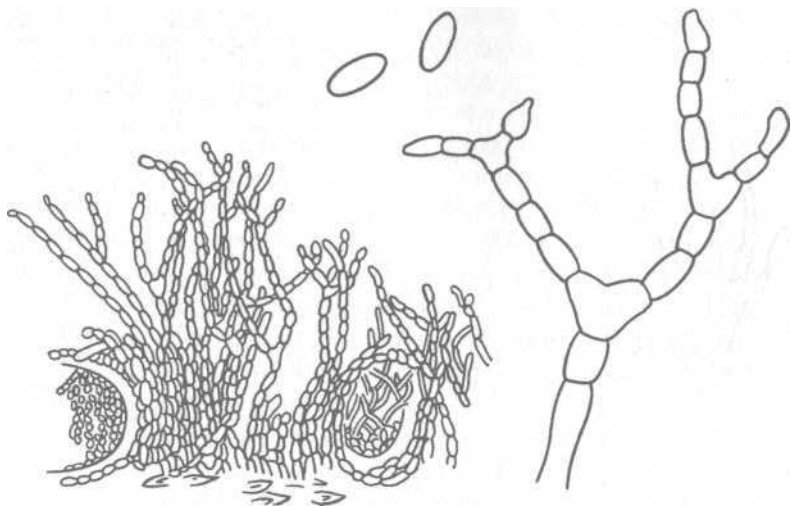


Рис. 2.1. Спороношение *Monilia fructigena* [по: Дементьева, Выгонский, 1988]

ми кругами (рис. 1 цв. вкл.). Подушечки состоят из плотного скопления гиф, на концах которых расположены небольшие конидиеносцы с ветвящимися цепочками спор — конидий. Конидии округлые, лимонovidные или эллипсоидальные (17,5—25 × 11—15 мкм) (рис. 2.1, 2.2). При заражении плодов в хранилище, когда создаются условия, неблагоприятные для развития гнили, конидиальное спороношение на поверхности может и не развиваться. В этом случае плод приобретает черную или сине-черную окраску и мумифицируется (рис. 2 цв. вкл.).

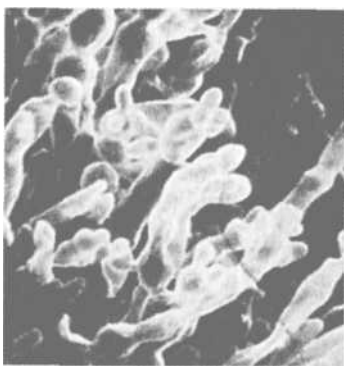


Рис. 2.2. Цепочки *Monilia fructigena*, x500 [Кудряшова, 1986]

В этом случае плод приобретает черную или сине-черную окраску и мумифицируется (рис. 2 цв. вкл.).

Горькая гниль (антракноз) — поражение плодов, вызываемое грибами *Gloeosporium perennans*, *G. album*, *G. fructigenum*. Плоды семечковых и косточковых культур, арбузы, дыни, пораженные возбудителем заболевания, приобретают горький вкус. На поверхности плодов появляются округлые желто-коричневые, четко очерченные вдавленные пятна (рис. 3 цв. вкл.), на более поздней стадии, когда поражены и паренхимные ткани, на поверхности развиваются серо-желтые или молочно-белые бугор-

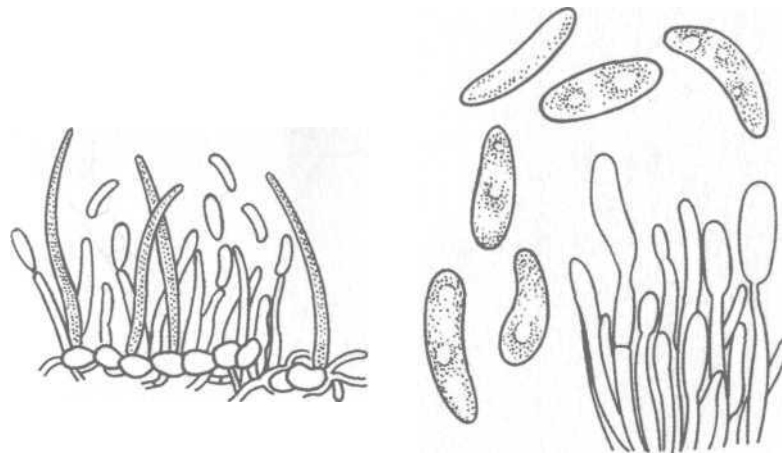


Рис. 2.3. Конидии *Gloeosporium fructigenum* [по: Дементьева, Выгонский, 1988]

ки со спорами возбудителя (рис. 2.3). Особенно четко перечисленные признаки проявляются на вишне. Если болезнь вызывают только грибы, поверхность плодов становится сухой, а сами плоды — легкими и пустыми. Часто одновременно с грибами продукцию заражают бактерии. В результате совместного воздействия грибов и бактерий плоды и овощи превращаются в студенистую массу.

Серая гниль (ботритиоз) — часто встречающееся заболевание земляники, винограда, семечковых культур, а также капусты, моркови и других овощей, вызываемое грибом *Botrytis cinerea* (рис. 4—7 цв. вкл.). Болезнь проявляется в виде мягкой гнили плода с образованием на нем серого пушистого налета высотой 1—2 мм, состоящего из мицелия, конидиеносцев и конидий возбудителя (рис. 8 цв. вкл.).

Конидиеносцы ветвящиеся, с небольшими утолщениями на концах. Споры (конидии) бесцветные или дымчатые, яйцевидные, одноклеточные (8—12 × 6—10 мкм), в гроздьях (рис. 2.4). Возбудитель серой гнили может попасть на плоды в период вегетации или при транспортировке продукции, но развитие гнили и повторное заражение ею происходят во время хранения. При этом нарушение режима хранения ослабляет устойчивость плодов к болезни и способствует ее развитию.

Зеленую (голубую) гниль (пенициллез), вызываемую микромицетами *Penicillium italicum*, *P. oligitatum*, *P. expansum*, можно часто наблюдать на плодах цитрусовых, семечковых и косточковых культур (рис. 9, 10

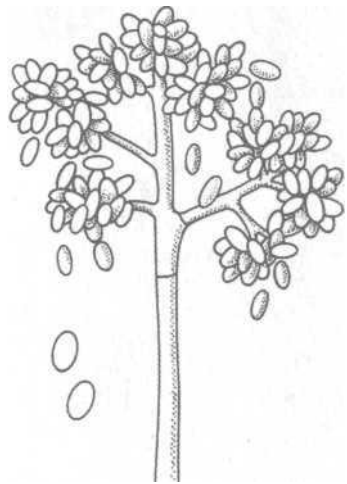


Рис. 2.4. Конидиеносец и конидии *Botrytis cinerea* [по: Деметьева, Выгонский, 1988]

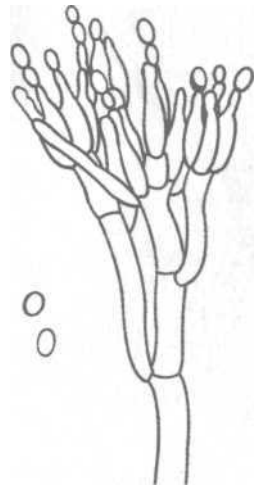


Рис. 2.5. Конидиеносец и конидии *Penicillium expansum* [по Деметьева, Выгонский, 1988]

цв. вкл.), а также на чесноке и других овощах в процессе хранения (рис. 11 цв. вкл.). В начале заболевания на коже появляются светло-коричневые пятна, которые по мере разрастания втягиваются внутрь и приобретают складчатость. Затем паренхима размягчается, и начинает развиваться бело-серый мицелий плесневого гриба, на котором впоследствии формируются и созревают порошкообразные скопления спор зелено-голубого цвета (рис. 12 цв. вкл.). Конидиеносцы имеют кистевидное строение, кисточки несимметричные, с мутовками на концах. Споры эллипсоидальные или почти шаровидные диаметром 2–4 мкм, гладкие, расположены цепочками (рис. 2.5, 2.6).

Фузариозная гниль (фузариоз) поражает многие виды сельскохозяйственных растений. Возбудители — микромицеты рода *Fusarium*. Наибольшее распространение имеет *F. avenaceum*. При поражении яблок гриб развивается в основном в семенных камерах, из-за чего плоды становятся горькими. От загнившей сердцевинки гриб затем распространяется на весь плод, который в результате ссыхается и покрывается розоватыми подушечками конидиального спороношения (рис. 13, 14 цв. вкл.). Конидии гриба бесцветные, серповидно изогнутые, с 3–5 поперечными перегородками (рис. 2.7). Фузариозная гниль проявляется, как правило, к концу хранения, хотя заражение плодов происходит обычно в период вегетации.

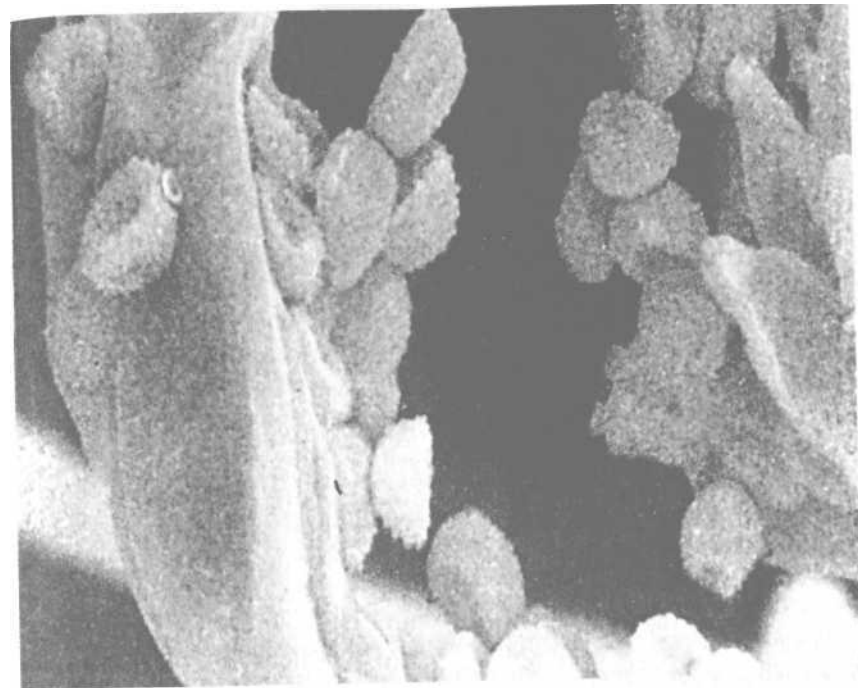
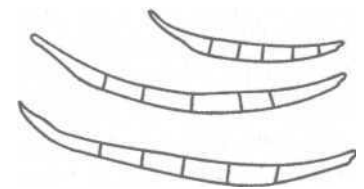


Рис. 2.6. Конидии и стеригмы *Penicillium expansum*, x 20 000 [по: Кудряшова, 1986]

Хранилищная парша — распространенное заболевание яблок, груш, вишен, персиков и других плодов, при котором на пораженных частях растения появляются налеты (рис. 15, 16 цв. вкл.). Сначала образуются темно-коричневые, буровато-зеленые, иногда темно-оливковые язвообразные с бархатистым налетом пятнышки диаметром до нескольких миллиметров. Позднее оболочка под пятном исчезает, плоды растрескиваются, другие микроорганизмы проникают через повреждения, и плод полностью разрушается. Возбудитель — гриб рода *Venturia*. Даже незначительное заражение им плодов в период вегетации может привести к полной потере урожая при хранении.



Бактериальные гнили плодов менее распространены. Их вызывают чаще всего *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas marginalis* и *Bacillus mesentericus*.

Рис. 2.7. Конидии *Fusarium sp.* [по: Деметьева, Выгонский, 1988]

Бактериальные болезни овощей. Овощи при хранении поражают и бактерии, и грибы, но экономический ущерб от бактериальных гнилей существенно выше.

Мокрая (мягкая) гниль, вызываемая бактериями *Erwinia carotovora* или *Xanthomonas campestris*, можно наблюдать при хранении моркови, сельдерея, салата, томатов, капусты, лука, картофеля и других овощей (рис. 17–20 цв. вкл.). Бактерии выделяют гидролитические ферменты, разрушают пектин срединных пластинок растительных тканей и превращают овощи в кашицеобразную водянистую массу с неприятным запахом. У белокочанной капусты первый симптом бактериальной гнили — покоричневение или почернение сосудов на пожелтевших, а позднее приобретающих вид пергамента, высушенных листьях — **сосудистый бактериоз**. Наиболее быстро заболевание развивается при температуре хранения выше 20 °С.

Бактериальная мокрая гниль — основная болезнь картофеля в хранилищах. Возбудителем ее служит *E. carotovora* var. *atroseptica*. В гниющих клубнях развиваются также *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas fluorescens*. Мокрая гниль поражает картофель обычно еще в поле, особенно если он болен «черной ножкой». При этом стебель в основании сначала покрывается мокрой гнилью, окрашенной в черный цвет, а затем разрушается. Если заболевание передалось на клубни, то при хранении их мякоть превращается в мягкую, гниющую с резким затхлым неприятным запахом кашицеобразную массу, которая легко отстает от твердой кожицы. При повышенной температуре и влажности, недостатке кислорода в хранилище заболевание протекает с невероятной быстротой. Выделяющийся клеточный сок, содержащий возбудителя заболевания, инфицирует окружающие клубни прежде всего через поврежденные участки.

Болезни овощей, вызываемые микроскопическими грибами.

Среди гнилей овощей, вызываемых грибами, распространены белые, коричневые и черные гнили. Возбудитель **белой гнили** — *Sclerotinia sclerotiorum*, **коричневой гнили** — виды родов *Rhizoctonia* и *Phoma* (рис. 2.8, 2.9) и **черной гнили** — роды *Alternaria* (рис. 2.10, 2.11) и *Pleospora*. Пораженные части овощей размягчаются, превращаясь в слизистую массу, и покрываются ватообразным или хлопьевидным мицелием гриба, приобретающим со временем соответствующую окраску и часто инкрустированным мелкими капельками воды. Белая гниль нередко встречается при хранении моркови (рис. 21 цв. вкл.), огурца, капусты; коричневая — может вызывать порчу моркови (рис. 22 цв. вкл.), свеклы (рис. 23 цв. вкл.), репы, сельдерея, тыквы;

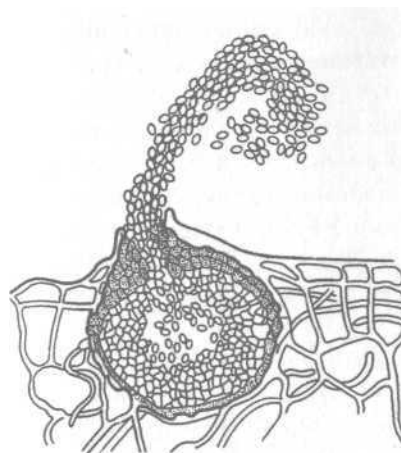


Рис. 2.8. Пикниды и пикноспоры *Phoma betae* [по: Дементьева, Выгонский, 1988]



Рис. 2.9. Пикнида *Phoma* sp., высвобождающая мелкие бесцветные конидии, $\times 460$ [по: Саттон, 2001]

черная — томата (рис. 24 цв. вкл.) и перца. Основным источником заражения белой гнилью — почва, коричневой и черной — семена. Инфекция быстро распространяется в овощехранилищах. Заболевание может начаться и при температуре 0 °С. Его распространению способствуют повышенные температура и влажность.

Белая (сухая) фузариозная гниль поражает картофель при хранении (рис. 25 цв. вкл.). Это заболевание развивается не ранее чем через 2 месяца после начала хранения, что, очевидно, связано с химическими изменениями в клетках клубней при подготовке к прорастанию. В связи с этим возрастает их восприимчивость к грибным

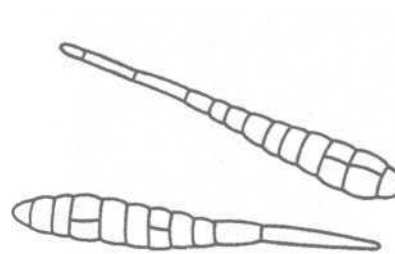


Рис. 2.10. Конидии *Alternaria solani* [по: Дементьева, Зыгонский, 1988]



Рис. 2.11. Хламидоспоры и конидии *Alternaria solani*, $\times 460$ [по: Саттон, 2001]

инфекциям, вызывающим белую гниль. Заболевание часто сопровождается вторичным поражением — *фитофторозом*. Особенно распространена белая гниль в хранилищах с плохой вентиляцией. Сначала она проявляется в образовании на клубнях небольших выпуклостей с розово-белыми подушечками, затем — темноокрашенных сухих вдавленных язвобразных пятнышек. Впоследствии клубни сморщиваются, сильно подсыхают, но сохраняют форму. Внутри клубня нередко возникают пустоты. Мицелий гриба рода *Fusarium*, в основном *F. solani*, развивается в мякоти клубня и превращает ее в сухую массу. Сухая фузариозная гниль может перейти в мокрую. Основная мера предупреждения белой гнили — закладывание на хранение сухих клубней.

Сухая фитофторозная гниль клубней картофеля (рис. 26 цв. вкл.) проявляется в виде твердых, слегка вдавленных пятен неправильной формы, окрашенных в бурый или свинцово-серый цвет, и побурения ткани, распространяющегося в глубь клубня неравномерно в виде языков или клиньев. Возбудитель — *Phytophthora infestans*. Фитофтороз опасен тем, что вслед за ним часто возникают мокрые бактериальные гнили.

Серая шейковая гниль поражает лук при хранении прежде всего в результате повышенной влажности продукции и недостаточной вентиляции хранилища. Вызывает ее гриб *Botrytis allii*, при развитии которого луковицы размягчаются, становятся подобными вареным и коричневеют (рис. 27 цв. вкл.).

Если после гриба в ткани внедряются бактерии, развивается *мокрая гниль*. Для предупреждения заболевания лук необходимо предварительно высушивать и хранить в хорошо проветриваемых помещениях при влажности воздуха 70—75%.

Парша картофеля проявляется в виде выпуклых порошистых поверхностных язв, впоследствии растрескивающихся. Эти язвы не только снижают товарную ценность картофеля, но и служат своеобразными воротами инфекции: через них легко проникают возбудители мокрых бактериальных и сухих грибных гнилей. Возбудителями парши картофеля могут быть грибы *Oospora pustulans* (*парша бугорчатая*, или *ооспороз*), *Helminthosporium solani* (*парша серебристая*), а также актиномицет *Streptomyces scabies* (*парша обыкновенная*) (рис. 28 цв. вкл.).

Возможность использования химических способов борьбы с возбудителями порчи плодов и овощей при хранении ограничена, поэтому решающее значение имеют профилактические мероприятия — соблюдение режима хранения продукции, сортирование, свое-

временное удаление зараженных плодов и овощей, содержание хранилища в чистоте.

В последнее время все большее распространение в практике хранения растениеводческой продукции приобретает метод биоконтроля, основанный на использовании биопрепаратов, действующим началом которых служат микроорганизмы, обладающие антагонистическими свойствами в отношении фитопатогенов — возбудителей гнилей плодов и овощей. Способностью подавлять развитие фитопатогенов обладают бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, дрожжи рода *Metschnikowia*, микромицеты родов *Trichoderma* и *Fusarium*. Так, например, эпифитные дрожжи *M.pulcherrima* подавляют возбудителей бурой гнили персиков и серой гнили столового винограда на 49—89%. Микроорганизмы, используемые в качестве агентов биоконтроля, быстро растут и осваивают питательный субстрат, обладают самым широким спектром антагонистических свойств — продуцируют антибиотики, бактериоцины и другие вещества, угнетающие жизнедеятельность фитопатогенов. Источником получения исходных штаммов служит природная среда — почва или поверхность растений. Использование микроорганизмов-антагонистов для защиты плодов и овощей от возбудителей заболеваний позволяет контролировать активность и численность последних, поддерживая ее на уровне, не представляющем опасности для сохраняемой продукции.

13. Микробиологические процессы при переработке плодов и овощей

Переработка плодов и овощей включает разнообразные способы их обработки с целью предупреждения порчи и сохранения в течение длительного времени. Технология переработки основана на подавлении биологических процессов в сырье и микроорганизмах.

Методы переработки плодов и овощей делят на физические, химические и микробиологические. К физическим относят тепловую стерилизацию, охлаждение и замораживание, сушку, облучение, стерилизацию за счет обеспложивающего фильтрования; к химическим — маринование, спиртование, применение высоких концентраций осмотически активных веществ (сахара и соли) и веществ с антимикробным действием (диоксида серы, бензойной и сорбиновой кислот), к микробиологическим — квашение, соление, мочение, ферментацию.

13.1. Термическое консервирование плодов и овощей

Термическое консервирование в герметичной таре — основной и наиболее надежный метод сохранения пищевых продуктов. Именно таким образом обработанные и расфасованные в стеклянную или металлическую тару продукты принято называть *консервами*. Сущность метода состоит в том, что под воздействием высокой температуры в протоплазме живой клетки происходит коагуляция белка, разрушение мембран, повреждение нуклеиновых кислот и другие необратимые изменения, приводящие ее к гибели (см. с. 17). Принцип абиоза в этом методе консервирования соблюден как в отношении микроорганизмов, так и в отношении консервируемого сырья.

При проведении термического консервирования нестерильный продукт помещается в нестерильных условиях в нестерильную тару и после герметизации подвергается соответствующей тепловой обработке. В результате этого микроорганизмы, находящиеся внутри, погибают, проникновение новых микроорганизмов из окружающей среды невозможно благодаря герметичной укупорке тары. Разрушаются также собственные ферменты сырья, которые могут вызвать порчу продукта. Таким образом, подвергнутые тепловой обработке в герметичной таре пищевые продукты сохраняются в хорошем состоянии десятки лет.

Этот способ консервирования был открыт *Н. Аппером* — поставщиком двора французского герцога Христиана IV в конце XVII в. В своей книге «Искусство сохранять пищевые продукты животного и растительного происхождения на многие годы», которая увидела свет в 1810 г., он во всех деталях описал метод термического консервирования в герметичной таре. Возможно, что открытие Н. Аппера долго пребывало бы в неизвестности, если бы не возникшая во времена наполеоновских войн потребность армии в натуральных пищевых продуктах. «Мои эксперименты, — писал Аппер, — убедили меня в том, что существенное действие тепла заключается не только в том, что изменяется комбинация компонентов пищевых продуктов, но также в том, что, если не уничтожается, то во всяком случае задерживается на долгие годы естественная склонность этих продуктов к разложению». Если под «склонностью к разложению» понимать действие микроорганизмов, то можно сказать, что Н. Аппер пророчески приблизился к проникновению в суть проблемы. О том, что порча пищевых продуктов вызывается действием микроорганизмов, стало известно лишь полвека спустя из трудов Луи Пастера. Несмотря на то что со времени открытия метода термического консервирования прошло почти 200 лет, в течение которых были заложены микробиологические и тепло-

физические основы процесса тепловой стерилизации и создана современная, часто очень сложная, стерилизационная аппаратура, предложенный Н. Аппером принцип не претерпел никаких изменений.

Консервирование действием высокой температуры достигается двумя путями: пастеризацией (см. с. 6) и стерилизацией (см. с. 19). Основная цель тепловой обработки — уничтожить в плодовоовощной продукции патогенные микроорганизмы и прекратить все биохимические процессы, разрушив ферменты. Поскольку *пастеризация* — это неполная или частичная стерилизация, ее применяют либо в тех случаях, когда заведомо известно, что в исходном продукте не содержатся патогенные микроорганизмы, либо если наряду с консервирующим термическим воздействием роль консервантов в готовом продукте выполняют другие факторы, например повышенная кислотность. Так пастеризуют соки, компоты, джемы, варенья из плодов и ягод, имеющие кислую реакцию. Прием пастеризации может быть кратковременным — от нескольких до 20 мин при 85—90 °С или длительным — 30 мин при 65—75 °С с последующим быстрым охлаждением. Пастеризация губительна практически для всех вегетативных клеток микроорганизмов, в том числе и патогенных, однако споры бактерий сохраняются. Кроме того, продукт может обсеменяться микроорганизмами во время охлаждения и розлива. Поэтому пастеризованные продукты часто содержат более $5 \cdot 10^4$ КОЕ в 1 г, и хранить их можно не более 3—6 месяцев при соответствующих условиях.

Собственно *стерилизация* представляет собой обработку сырья насыщенным паром с применением избыточного давления и проводится в автоклаве. Давлению на 0,5 атм выше нормального соответствует температура 115 °С, на 1 атм - 120 °С, на 1,5 атм - 127 °С, на 2 атм - 133 °С. Это наиболее быстрый и надежный способ стерилизации, при котором гибнут самые устойчивые споры. Он гарантирует выполнение основной задачи обработки — уничтожение патогенных микроорганизмов. Прекращение биохимических процессов в сырье обеспечивает как пастеризация, так и стерилизация. Малокислотные овощные консервы, в том числе соки из овощей, стерилизуют при 115—120 °С.

Стерилизованные и герметично укупоренные в банки из белой жести, алюминия или стекла различного объема плодовые и овощные консервы можно хранить продолжительное время: до 18 месяцев и более. Известны случаи хранения в течение многих десятилетий. При этом естественные свойства сырья — вкус, внешний вид, содержание полезных веществ — изменяются минимально. Несколько лет назад в Лондоне дегустировали музейные образцы консервов, изготовленных еще в начале XIX в. Качество их оказалось удовлетворительным.

Для предупреждения различных видов порчи консервы следует хранить при температуре не ниже 0 °С, чтобы не допустить замерзания содержимого, и не выше 15–20 °С, чтобы не вызвать неферментативного химического взаимодействия различных веществ. Относительная влажность воздуха должна быть около 75%. Это предупреждает ржавление металлических банок и крышек.

Термин «стерильные консервы» в микробиологическом отношении неправилен, поскольку в этих продуктах могут сохраняться жизнеспособные микроорганизмы. В связи с этим более правильно называть их *практически стерильными, коммерчески стерильными, промышленно стерильными*. В этих случаях понимают, что в консервированном продукте отсутствуют микроорганизмы и микробные токсины, опасные для здоровья человека, а сохранившиеся живые микроорганизмы не способны развиваться при температуре хранения, установленной для конкретного вида консервов. В соответствии с требованиями промышленной стерильности в консервах не допускается присутствие мезофильных бактерий рода *Clostridium*, неспорообразующих бактерий, дрожжей и микроскопических грибов.

В овощных консервах, имеющих рН 4,2 и выше, а также в компотах, соках и пюре из абрикосов, персиков и груш с рН 3,8 и выше допускается присутствие мезофильных аэробов *Bacillus subtilis* в количестве, не превышающем 10–12 КОЕ в 1 г продукта. В консервированных овощных маринадах, салатах, винегретах и других продуктах с рН 3,7–4,2 допускается наличие негазообразующих видов мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, численность которых в 1 г продукта не превышает 90 КОЕ. Бактерии рода *Bacillus* не представляют опасности в условиях вакуума в герметично закрытых банках, поскольку не способны развиваться в анаэробных условиях.

Нарушение технологии изготовления и неправильное хранение консервов приводят к их порче. Основной порок овощных натуральных консервов и соков, в которых сохраняются споры термофильных бацилл, — *прокисание*, или *плоскокислая порча*. При плоскокислой порче развитие термофильных бацилл не сопровождается выделением газов, и прокисание содержимого банок происходит без изменения их внешнего вида, т. е. банки и крышки не вздуваются, а остаются плоскими.

В томатных консервах (томатный сок, цельноконсервированные томаты, паста, соусы и другие томатопродукты) с нерегулируемой кислотностью (рН 3,7–4,8 в зависимости от сырья) могут развиваться термофильные бактерии *B. coagulans* и мезофильные сахаролитические бактерии рода *Clostridium*. Порчу пастеризованных концентриро-

ванных томатопродуктов, изготовленных с горячей расфасовкой без дополнительной стерилизации после нее, могут вызывать дрожжи, плесневые грибы, молочнокислые бактерии и мезофильные бактерии рода *Clostridium*.

Фруктово-ягодные консервы — хорошая питательная среда для дрожжей, особенно осмофильных. Из-за развития последних может начаться спиртовое брожение варенья, джема, повидла, консервы пенятся и приобретают запах спирта. При производстве таких консервов пастеризация должна гарантировать гибель в них кишечной палочки, сальмонеллы и других бактерий кишечной группы. Переработка плохо инспектированного, даже частично заплесневелого сырья может привести к тому, что фруктовые соки, компоты, пюре и другие плодово-ягодные консервы будут содержать микотоксины (см. с. 245).

Основой контроля производства всех овощных и плодово-ягодных консервов служит технический и бактериологический контроль сырья, бактериологический контроль процесса его мытья, санитарного состояния оборудования, технический контроль за термической обработкой.

При развитии микроорганизмов в баночных консервах микробиологический брак может проявляться в виде изменения внешнего вида банок и (или) нарушения органолептических свойств содержимого, а также (или) изменения химического состава продукта. Накопление газообразных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов (водорода, диоксида углерода, сероводорода) и летучих органических соединений (уксусной кислоты и др.) приводит к вспучиванию банок — *бомбажу*. Если в продукте содержалось значительное количество белковых соединений, в составе газов может присутствовать аммиак, а в составе летучих соединений — метилмеркаптан, индол, скатол, путресцин (см. с. 99).

Употребление консервов с признаками бомбажа опасно, поскольку вспучивание банок часто происходит вследствие развития в консервах анаэробных бактерий рода *Clostridium* — *C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. sporogenes*, *C. putrificus*, — образующих токсины. Особенно опасен *ботулинический токсин*, накапливающийся в консервированном продукте в результате жизнедеятельности *C. botulinum*. Обычно продукты, в которых образуется ботулинический токсин, по внешнему виду выглядят испорченными: ткани размягчены, присутствует посторонний сырный запах, выделяется газ. Однако зарегистрированы случаи, когда продукты, содержащие токсин, не меняли органолептических свойств. Ботулинический токсин в отличие от его продуцента *C. botulinum* нетермостабилен: нагревание в течение 20–30 мин при 80 °С

разрушает его. Однако большинство консервированных продуктов, в которых возможно развитие возбудителя ботулизма (см. с. 244), употребляют в холодном виде (закусочные овощные консервы, зеленый горошек). Поэтому только надежная стерилизация может гарантировать уничтожение спор возбудителя ботулизма.

Развитие в консервах еще более термостойких, чем возбудитель ботулизма, гнилостных анаэробных бактерий *C. sporogenes*, *C. perfringens* и *C. putrificus* всегда вызывает изменение внешнего вида продукта, что служит предостережением против использования его в пищу. Токсины, продуцируемые перечисленными видами, менее ядовиты.

Бомбаж может иметь и химическую природу: взаимодействие кислот с металлами. В этом случае вздутие банок происходит главным образом за счет выделения водорода. Возможна и физическая природа данного явления: увеличение объема содержимого в результате замораживания.

При обычных методах термической обработки пищевых продуктов для уничтожения микроорганизмов требуется довольно длительное нагревание, что снижает их качество: ухудшаются внешний вид, вкус, нарушается консистенция.

Метод горячего розлива позволяет отдельно простерилизованные горячие продукты фасовать в тару и герметически их укупоривать. В результате получают, как и при заливке маринадом или пряном соусе, так называемые *презервы* — консервы, которые не гарантируют полного уничтожения микроорганизмов. В таре большого объема охлаждение подвергнутого термической обработке продукта идет медленно, что отрицательно влияет на его органолептические свойства. Кроме того, температура у стенок банок не превышает обычно 98 °С. В связи с этим презервы готовят только из продуктов с высокой кислотностью (например, фруктовые соки, томатная паста) в таре вместимостью не более 3—5 л.

Более перспективен, чем горячий розлив, **метод асептического термического консервирования**. Сущность его в следующем: продукты и тару (банки и крышки) стерилизуют отдельно. Затем в асептических условиях предварительно охлажденные продукты помещают в тару и герметически укупоривают. При этом в отличие от горячего розлива продукты не только мгновенно нагревают, но и также быстро охлаждают. Асептический метод применяют для консервирования соков и продуктов пюреобразной консистенции в больших стационарных или транспортабельных резервуарах вместимостью 200—400 м³, например в железнодорожных цистернах, автоцистернах, а также в

бочках, бидонах и другой таре вместимостью от 5 до 200 л. Методом асептического термического консервирования готовят фруктовые и овощные соки, консервы для детского питания, джемы, повидла, томатные соусы и пасты. Заготовка полуфабрикатов асептическим методом не требует применения консервантов.

Особый вариант термической стерилизации пищевых продуктов — применение электрического переменного тока высокой и сверхвысокой частоты (ВЧ и СВЧ). При данном способе обработки происходит переход электрической энергии в тепловую. Поскольку поглощение электрической энергии осуществляется одновременно всеми структурными элементами продукта, он разогревается быстро и не от периферии к центру, как при обычных способах передачи тепла, а сразу и равномерно по всему объему. Если обычный способ нагревания консервов требует десятков минут, то нагревание в поле СВЧ происходит в течение нескольких секунд. При ВЧ-стерилизации используется радиочастотный диапазон электромагнитных волн 20—30 МГц, а при СВЧ — 2400 МГц. Существуют высокочастотные и сверхвысокочастотные установки непрерывного и периодического действия. СВЧ-нагрев можно применять для пастеризации и стерилизации соков, компотов, цельноконсервируемых томатов, огурцов и других продуктов. Кратковременный эффективный нагрев позволяет получать высококачественные консервы, особенно в тех случаях, когда при обычной стерилизации качество ухудшается из-за разваривания плодов (компоты, цельноконсервируемые плоды).

13.2. Микроорганизмы охлажденных и замороженных плодов и овощей

Консервирующее действие пониженных температур основано на резком замедлении или прекращении обменных процессов в живых организмах (см. с. 17). Снижение биологической и биохимической активности плодов и микроорганизмов при понижении температуры объясняется известной зависимостью скорости химических реакций от температуры, падением проницаемости клеточных мембран, инактивацией ферментов. В результате этих процессов жизнь клетки замирает, не прекращаясь полностью, и клетка впадает в состояние анабиоза. Большинство микроорганизмов не способны развиваться при температуре ниже -10 °С. Даже облигатно психрофильные микроорганизмы (см. с. 18) с нижней границей температурного оптимума -5 °С при более низких температурах сохраняют жизнеспособность, но активная жизнедеятельность их прекращается.

Искусственный холод применяют в двух модификациях: охлаждение, или умеренный холод, при температуре от -1 до -3°C , не ниже, когда сырье не замерзает, и быстрое замораживание при -18°C и ниже, когда большая часть влаги превращается в лед и все биохимические процессы в сырье и клетках микроорганизмов приостанавливаются. В первом случае консервирующим фактором является только низкая температура, во втором — и обезвоживание.

Метод холодного хранения дает возможность сохранить сырье при минимальном изменении его натуральных свойств значительно дольше, чем метод биооза. При охлаждении плодов не ниже $2,5^{\circ}\text{C}$ и овощей не ниже 0°C процессы созревания в них резко замедляются и способность к хранению повышается. Яблоки обычно хранят при охлаждении до 4°C в контролируемой атмосфере, поддерживающей дыхание на минимальном уровне и предотвращающей их высыхание. Лук, картофель, свеклу, морковь тоже хранят при пониженной температуре. Однако для картофеля температура не должна быть слишком низкой, иначе крахмал под действием ферментов превратится в сахар.

Во время хранения свежих плодов в охлажденном виде наибольшую опасность представляют психрофильные грибы — *Gloeosporium fructigenum* и *Botrytis cinerea* — возбудители гнилей. При хранении ягод в условиях низких положительных температур на них часто поселяются дрожжи *Nadsonia nigra*. В результате жизнедеятельности дрожжей ягоды окрашиваются в черный цвет и слипаются, образуя конгломераты. Особенно часто это можно наблюдать на малине.

Снижение температуры при хранении овощей в буртах и подвалах, в специальных хранилищах не исключает развития микроорганизмов: их численность остается на высоком уровне и может возрастать. В связи с этим необходим микробиологический контроль продукции. Пораженные овощи следует срочно отсортировать.

При замораживании создается температура значительно более низкая, чем соответствующая температура замерзания продукта. Замороженные продукты и сырье можно сохранять в течение многих месяцев, т. е. значительно дольше, чем при использовании умеренных низких температур. Это объясняется не только существенно более низкими температурами, но и тем, что в замороженных пищевых продуктах большая часть влаги переходит в твердое состояние. Поэтому микроорганизмы, которые питаются голофитным способом, т. е. всасывают питательные вещества в растворенном состоянии, в таких условиях питаться не могут. Тот факт, что принятый температурный уровень, до которого доводят почти все замораживаемые продукты, составляет -18°C , объясняется тем, что при этой температуре подав-

ляющее количество влаги превращается в лед: из овощей вымерзает 84–91% воды, а из плодов — 71–80%. При замораживании плоды и овощи, как живые организмы, погибают, а большинство микроорганизмов сохраняют жизнеспособность, переходя в неактивное состояние.

Качество замороженных продуктов зависит от скорости замораживания и предварительной подготовки сырья. При быстром замораживании плодов и овощей биохимические процессы в них и клетках микроорганизмов прекращаются, плоды и овощи становятся законсервированными. Быстрое замораживание выполняют при температуре -30°C и ниже в морозильных установках. Температура в центре замораживаемого продукта должна быть на уровне -18°C в течение 3–4 ч. Хранение и доставка готовых продуктов потребителю также должны происходить при -18°C , иначе качество их может ухудшиться вследствие возобновления активной жизнедеятельности микроорганизмов. Таким образом, метод замораживания требует соблюдения принципа единой холодильной цепи, или ледяной дорожки: цех заморозки —> холодильные камеры —> специальный железнодорожный транспорт с холодильными установками или авторефрижераторы —> распределительные холодильники в торговой сети. После оттаивания, т. е. дефростации, продукт следует сразу же использовать. Время оттаивания должно быть минимальным, иначе не только произойдет распад витамина С, но и создадутся условия для развития психрофильных дрожжей и молочнокислых бактерий, которые могут вызвать сбраживание продукта и изменить его вкусовые качества.

В замороженных плодах и овощах сохраняются практически все микроорганизмы, присутствовавшие в свежем сырье. Численность их снижается в основном в процессе предварительной подготовки — при мытье и бланшировании.

Бланширование — часто используемый перед замораживанием прием, который состоит в кратковременном погружении плодов и овощей в горячую воду или обработке паром. При этом происходят гибель микроорганизмов, чувствительных к высокой температуре, и быстрая инактивация гидролитических ферментов сырья, что позволяет максимально сохранить естественные вкусовые качества продукта. После бланширования немедленно проводят замораживание продукта. Важно сократить до минимума период от момента завершения бланширования до начала замораживания с тем, чтобы при положительных температурах сохранившиеся в продуктах микроорганизмы не успели бы развиваться. Если затем температуру поддерживать на уровне температуры замораживания, то продукт можно хранить в гер-

метичной упаковке продолжительное время. Замороженные продукты готовят из доброкачественных, здоровых, зрелых плодов и ягод, которые пригодны к употреблению в свежем виде.

На замороженных плодах сохраняются в основном те же микроорганизмы, которые были на свежих. Кроме того, в процессе переработки на них могут быть занесены микроорганизмы из почвы и воды. Встречаются сахаромицеты (дрожжи); пенициллы, аспергиллы, фузариумы (грибы); микрококки, псевдомонады, молочнокислые бактерии, бациллы. Известны случаи выживания микроорганизмов этих групп на замороженных ягодах земляники в течение трех лет.

Количество микроорганизмов в свежемороженых овощах, картофеле, фруктах, ягодах и продуктах их переработки колеблется в пределах $1 \cdot 10^4$ — $5 \cdot 10^5$ КОЕ в 1 г. По качественному составу микроорганизмов овощей и фруктов имеются некоторые различия. В замороженных овощах обычно меньше содержание дрожжей и грибов, однако обильно представлены различные виды молочнокислых бактерий, коринебактерий, флавобактерий, псевдомонады, бациллы, энтеробактерии. В замороженных фруктах и ягодах преобладают дрожжи и грибы. Их численность составляет 10^2 — 10^3 КОЕ в 1 г продукта. Патогенные для человека бактерии также сохраняют жизнеспособность. Так, в томатах после девятимесячного хранения в замороженном виде обнаружены *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, а также бактерии родов *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*. Таким образом, замораживание не приводит к гибели микроорганизмов, поэтому использование в пищу продуктов после оттаивания без последующей тепловой обработки представляет определенный риск для здоровья.

13.3. Микроорганизмы сушеных плодов и овощей

Сушка — старинный и широко распространенный на Руси метод консервирования. Под *высушиванием* пищевых продуктов понимают процесс их обезвоживания. В плодах и овощах содержится большое количество воды — от 75% в картофеле до 95% в огурцах. Вода присутствует в них главным образом в свободной подвижной форме и только 5% воды находится в связанном состоянии. Сушка как метод консервирования основана на том, что в отсутствие определенного количества воды биохимические процессы в клетках живых организмов прекращаются (см. с. 14). Микроорганизмы всасывают питательные вещества лишь в растворенном виде. Минимум влажности, при котором

возможно развитие бактерий, составляет 20—30%, грибам необходимо не менее 13—15% влаги в окружающей среде.

Способность переносить высушивание определяется индивидуальными особенностями микроорганизмов. Так, споры возбудителя сибирской язвы сохраняют жизнеспособность в высушенном состоянии более 20 лет. Высокая стойкость к высушиванию характерна для молочнокислых бактерий, дрожжей, БГКП; в отличие от них уксуснокислые бактерии и холерный вибрион погибают при высушивании через несколько часов.

Высушивание ограничивает рост и развитие микроорганизмов, так как уровень содержания влаги в сухих плодах и овощах лежит ниже уровня потребностей в ней микроорганизмов. Концентрация питательных веществ и осмотическое давление клеточного сока при высушивании возрастают во много раз. Развитие микроорганизмов становится невозможным, часть из них погибает, остальные переходят в анабиотическое состояние. В анабиозе находятся и те микроорганизмы, которые попадают на поверхность сушеных плодов и овощей в процессе хранения. Биохимические процессы в продукции прекращаются вследствие инактивации ферментов. Продукт считается законсервированным, если содержание влаги доведено в овощах до 12—14%, в плодах до 16—25%.

Состав микроорганизмов сушеных плодов в значительной степени зависит от вида и качества перерабатываемого сырья, а также способа его переработки. В высушенных овощах можно выявить споры грибов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Neurospora*, споры бацилл и клостридий, а также жизнеспособные клетки стрептококков, коринебактерий, псевдомонад и БГКП. Общая численность микроорганизмов в сухих овощах может достигать нескольких миллионов в 1 г.

Опасность порчи сушеных плодов создается при развитии осмофильных дрожжей (см. с. 16), которые развиваются при влажности, несколько большей чем 22%, в инжире, финиках, грушах, яблоках и осмофильных грибов (аспергиллов и пенициллов), которые вызывают гниль чернослива и других сухофруктов. Споры многих плесневых грибов в высушенном состоянии хранятся долгое время и могут прорасти уже при 15%-ной влажности.

Для получения сушеных плодов и овощей высокого качества применительно к каждому виду сырья разработаны оптимальные режимы, при которых в единицу времени удаляется максимальное количество влаги при минимальном изменении свойств продукта. Высушивание не должно приводить к денатурации белков, клейстеризации крахмала, карамелизации Сахаров. Нельзя допускать ферментативно-

го потемнения в результате химических реакций между аминокислотами и сахарами. В противном случае при последующем оводнении (регидратации) не восстановятся исходные объем и масса продукта, а также его естественные органолептические свойства.

Высушить плоды и овощи до содержания в них 10—12% воды сравнительно легко, дальнейшее удаление влаги, особенно ниже 5%, может быть достигнуто лишь при помощи специальных методов сушки.

Высушивание проводят разнообразными способами: в домашних условиях сушка может быть *солнечная, в духовых шкафах, сушильных печах*, при промышленной переработке — *в сушилках ленточных паровых, вальцовых, распылительных*, или *аэрофонтанных*, и *сублимационная* сушка. Отсортированные очищенные и нарезанные плоды и овощи подвергают *бланшированию* или *сульфитации* — окуриванию сернистым газом (сухая сульфитация) либо обработке раствором сернистой кислоты (мокрая сульфитация). Так, яблоки, склонные к ферментативному потемнению, для снижения активности ферментов обязательно подвергают сухой сульфитации. При этом в окуривательных камерах в течение 1,5—5 ч сжигают черенковую серу (2 кг/т) или подают в камеру SO₂. Согласно техническим условиям, действующим в нашей стране, содержание диоксида серы в сушеных плодах не должно превышать 0,01%. Численность микроорганизмов при правильно выполненных подготовительных операциях снижается на порядок.

Яблоки, груши, абрикосы, сливы, виноград из-за высокого содержания кислот более пригодны для сушки, чем овощи. Сушеные овощи, не подвергавшиеся предварительно тепловой обработке, во время хранения приобретают запах и привкус сена, меняется их цвет, консистенция, снижается содержание витаминов. Указанные нежелательные изменения происходят, если обезвоживание выполняют при невысокой температуре, поскольку собственные ферменты сырья сохраняются достаточно долго и под их влиянием в продукте осуществляются процессы разложения питательных веществ. Поэтому перед высушиванием овощи, как правило, бланшируют. При этом ферменты разрушаются, но сохраняется витамин С. Наиболее полное и быстрое разрушение ферментов достигается при сочетании бланширования с сульфитацией.

Кроме теплового обезвоживания, применяют сушку при пониженном давлении и в распылительных сушилках (высушивание концентрированных соков и пюреобразных продуктов). Перспективна лиофилизация, или сублимационная сушка, основанная на

замораживании продукта при низком давлении. Этот процесс наряду с наиболее полным сохранением свойств продукта обеспечивает его последующую быструю регидратацию. При этом в плодах и овощах содержание исходных веществ не изменяется и после набухания продукты восстанавливают первоначальные объем, цвет, запах, вкус и биологическую ценность. При сублимационной сушке сырье помещают в *сублиматор* — специальный прибор, в котором создается вакуум до 0,07 атм. Вначале продукт замораживают до температуры -18—25 °С, затем нагревают до 30—40 °С. При этом лед переходит в пар, минуя жидкое состояние. Сублимационная сушка позволяет получать продукт с содержанием влаги до 5%. Такой продукт, помещенный в воду, быстро восстанавливает свои органолептические свойства.

Лиофилизированные овощи, в основном морковь, картофель, фасоль, свеклу, лук, зеленый горошек, широко используют для приготовления сухих супов. Овощные продукты, предварительно бланшированные, а затем обезвоженные методом сублимации, лучше сохраняют органолептические свойства в атмосфере азота. Плоды, предназначенные для сублимационной сушки, бланшированию, как правило, не подвергают. Количество остаточной микрофлоры на высушенных сублимационным методом плодах, в частности ягодах, не должно превышать $5 \cdot 10^2$ — $5 \cdot 10^3$ КОЕ/г продукта (для дрожжей и плесневых грибов — не более 50). Преобладают на сублимационно высушенных плодах бактерии *Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. megaterium*; дрожжи *Hanseniaspora apiculata*, *Pichia anomala*; грибы *Penicillium glaucum*, *Rhizopus nigricans*. Увлажнение сухих продуктов приводит к резкому возрастанию численности микроорганизмов.

13.4. Маринование и спиртование плодов и овощей

В основу таких методов консервирования, как маринование (см. с. 19) и спиртование, положено консервирующее действие кислоты и спирта, поскольку многие микроорганизмы не могут развиваться в кислой среде или среде, содержащей спирт. В отличие от стерилизованных термической обработкой консервов маринованные и спиртованные полуфабрикаты называют *презервами* — нестерильными продуктами, не подлежащими длительному хранению.

При мариновании и спиртовании в пищевые продукты вносят консервирующие агенты — кислоту или спирт. Для изготовления маринадов при мариновании подготовленные плоды (яблоки, сливы, груши, виноград) или овощи (капуста, тыква, огурцы, перец, свекла, кабачки, морковь, баклажаны, патиссоны, готовые салаты и винегреты) залива-

ют раствором, содержащим уксусную кислоту, соль, сахар и натуральные специи или ароматические вещества. Существуют маринады и на основе других пищевых кислот, например молочной, лимонной, яблочной. рН готового продукта — 3,7–4,2. Содержание основного консерванта — уксусной кислоты — колеблется в пределах 0,2–0,6% — в слабокислых маринадах; 0,6–0,8% — в кислых и 0,8–1,8% — в острых. Максимальное содержание кислоты в острых маринадах — 2,5%.

Кислоты, добавляемые в маринады, препятствуют развитию маслянокислых и гнилостных бактерий, в том числе возбудителя ботулизма *Clostridium botulinum*, бактерий кишечной группы и других микроорганизмов, опасных для здоровья человека. В то же время высокое содержание органических кислот делает маринады особо благоприятной средой для развития определенных групп микроорганизмов, использующих эти кислоты в качестве источника углерода. Это в первую очередь плесневые грибы, дрожжи, особенно рода *Candida*, способные окислять уксусную кислоту при концентрации более 10%, а также уксуснокислые и молочнокислые бактерии. Последние вызывают прокисание с видимым газообразованием или без него, иногда образуют клейкую слизь, слизистые комья. Эти микроорганизмы вызывают порчу маринованных плодов и овощей.

Маринованные продукты не подлежат длительному хранению. Для увеличения срока хранения маринадов их герметично укупоривают, пастеризуют и хранят при пониженных температурах от 0 °С до +5 °С. Большинство неспорообразующих микроорганизмов погибает при пастеризации, а прорастанию спор препятствует повышенная кислотность среды. Поэтому пастеризованные маринады значительно более стабильны. Главная причина, определяющая развитие микроорганизмов и порчу таких консервов, — это плохо подготовленная, нестерильная тара. Термическая обработка при приготовлении маринадов и использование пониженной температуры при их хранении несколько меняют консервирующий принцип: консервантом выступают уже не только кислота, но и температура пастеризации и хранения. Острые маринады не требуют пастеризации.

Спиртование применяют как метод консервирования плодовых соков в безалкогольной и ликероводочной промышленности. Спирт не обладает сильным консервирующим действием, и для предохранения продукта от порчи необходимы его высокие концентрации. Так, дрожжи полностью прекращают свою жизнедеятельность при концентрации спирта в среде не менее 16%. Именно такое количество спирта добавляют в плодовые соки-полуфабрикаты, предназначенные для изготовления безалкогольных напитков.

13.5. Радуризация плодов и овощей

Радуризация (лат. *radiare* — излучать, *duro* — прочность, стойкость) — способ консервирования, основанный на полном прекращении биологических процессов в сырье и микроорганизмах при воздействии ионизирующей радиации β- и γ-лучей радиоактивных изотопов Co^{60} , Cs^{137} или потока ускоренных электронов. Поглощение веществом даже высоких доз ионизирующих излучений не вызывает существенного повышения температуры продукта, что представляет одну из важнейших положительных особенностей метода хранения при помощи ионизирующей радиации.

Радиоактивное облучение продуктов может привести к отрицательным последствиям подобно радиоактивному загрязнению. Облучение осуществляют такой дозой ионизирующей радиации, при которой наличие в продуктах наведенной радиоактивности полностью исключается, но поскольку облучение способно вызвать изменения в химическом составе продукта, нельзя игнорировать возможность появления токсичных, канцерогенных и мутагенных веществ. Так, при высокой дозе ионизирующего излучения происходят изменения в основных питательных веществах продуктов, в частности липидах. Образующиеся «радиотоксины» (эпоксиды, лактоны, хиноны, перекиси) обладают высокой реакционной способностью и, вступая во взаимодействия с другими веществами, приводят к образованию соединений, несвойственных нормально функционирующим клеткам. Поэтому вопросы сохранения пищевых продуктов методом облучения тщательно исследуются.

Министерством здравоохранения РФ запрещено применение ионизирующего облучения для консервирования пищевых продуктов. Разрешена лишь обработка небольшими дозами некоторых плодов и овощей во время зимнего хранения для подавления прорастания. Так, рекомендуется облучать картофель и лук дозами до $1,0 \cdot 10^3$ Гр (грей)¹.

В Нидерландах землянику, спаржу, шампиньоны облучают дозой 2,0–2,5*10³Гр. При облучении дозой выше 3,0* 10³Гр происходит размягчение тканей продукции, связанное с деполимеризацией пектиновых веществ, ухудшение вкуса и выделение сока. Дозы ниже 2,0 * 10³ Гр практически не влияют на микроорганизмы плодовоовощной продукции.

После облучения β- и γ-лучами, ускоренными электронами в диапазоне оптимальных доз в зависимости от ботанического вида расте-

¹ Грей — единица измерения поглощенной дозы радиации, соответствующая 1 Дж (джоуль) поглощенной энергии на 1 кг облучаемого объекта.

ния сроки хранения плодов и овощей увеличиваются в 2—3 раза. Сразу после облучения дозой $3,0 \cdot 10^3$ Гр численность микроорганизмов на них снижается на 2—3 порядка. Однако при хранении облученных плодов и овощей количество микроорганизмов на их поверхности может возрасти в результате реактивации и размножения выживших клеток, репарации (восстановления) лучевых повреждений у отдельных видов. Через 5—10 дней число микроорганизмов может достичь исходного уровня, причем произойдет это тем быстрее, чем выше температура хранения. Порча облученных плодов и овощей происходит в результате деятельности выживших после облучения микроорганизмов. Таким образом, указанная выше доза ($3,0 \cdot 10^3$ Гр) не обеспечивает полной гибели микроорганизмов.

Наиболее чувствительны к облучению грамотрицательные бактерии: кишечная палочка, бактерии родов *Salmonella* и *Pseudomas*; наиболее устойчивы грамположительные бактерии, особенно микрококки, в частности *Deinococcus radiodurans*. Споры бацилл и клостридий в 10—12 раз устойчивее их вегетативных клеток.

Чувствительность грибов и дрожжей к облучению примерно равна радиоустойчивости бактериальных спор. Микроскопические грибы на поверхности плодов и овощей по-разному реагируют на облучение. Так, летальная доза для *Penicillium expansum* — $1,0—5,0 \cdot 10^3$ Гр, *Botrytis cinerea* — $3,0—8,0 \cdot 10^3$, *Rhizopus nigricans* — $8,0—10,0 \cdot 10^3$ Гр. Споры *Rhizopus stolonifer* при облучении дозой $3,0 \cdot 10^3$ Гр погибали почти полностью (сохраняли жизнеспособность 1% спор), но через 48 ч восстанавливалось более 80% первоначального числа клеток. Таким образом, подавить все микроорганизмы путем облучения продуктов теми дозами, которые приняты в настоящий момент для плодов, ягод, овощей, не представляется возможным.

Радиационная обработка эффективна только при условии, что подвергаемая ей продукция качественна и однородна по степени зрелости и сортовым особенностям. Облучение продукции, имеющей механические повреждения, не дает эффекта или даже приводит к отрицательным результатам. Характер поражения при хранении облученных овощей и плодов определяется видом продукции. Так, на ягодах малины и земляники в пострadiационный (после облучения) период в наибольшей степени увеличивается численность дрожжей, количество бактерий и грибов сохраняется примерно на одном уровне. Яблоки и цитрусовые поражаются преимущественно грибами, в меньшей степени — дрожжами; груши — и грибами, и дрожжами.

Целесообразна радиуризация малолетних плодов и овощей, поскольку она сокращает микробную обсемененность и благодаря этому

сроки хранения удлиняются хотя бы на несколько дней. Например, при $5—7^\circ\text{C}$ срок хранения облученной земляники — 5—9 дней вместо 2-3 дней у необработанной ягоды; малины — 3—5 вместо 1—2 дней; черешни — 6—9 вместо 3—4. Для томатов, которые выдерживают при $20—25^\circ\text{C}$, срок хранения после облучения составляет 8—15 дней вместо 4—7 для необработанных. Понижения товарных качеств ни у одной из перечисленных групп продукции при этом не происходит.

Высоким стерилизующим эффектом обладает ультразвук (УЗ). Однако практическое использование ультразвуковых волн ограничивается жидкими пищевыми продуктами (фруктовые соки, вино, молоко). При обработке УЗ плодов, овощей и других пищевых продуктов плотной консистенции в дозах, обеспечивающих их стерилизацию, не только погибают микроорганизмы, но и повреждается молекулярная структура самих продуктов, поэтому данный способ консервирования не нашел пока широкого применения.

13.6. Химические консерванты плодов и овощей

Консервирование плодов и овощей с использованием химических консервантов основано на применении веществ, обладающих ингибирующим действием на микроорганизмы. Эти вещества проникают в клетки, вступают во взаимодействие с белками протоплазмы, парализуют тем самым функции клетки и приводят ее к гибели.

Химические консерванты должны удовлетворять ряду требований. Во-первых, оказывая эффективное ингибирующее действие на микроорганизмы, они не должны причинять вреда организму человека. Во-вторых, химические соединения, используемые для консервирования, не должны вступать в реакции с веществами консервируемого продукта и придавать ему посторонние запахи и вкус, а также реагировать с материалом технологического оборудования или консервной тары.

Набор возможных консервантов весьма ограничен, поскольку большинство ингибирующих микроорганизмы веществ вредны и для человека. В России разрешено использовать только диоксид серы (SO_2), серную кислоту, бензойную, сорбиновую кислоты и их соли.

Диоксид серы (сернистый ангидрид) наиболее широко используется в практике консервирования. Он служит основным действующим веществом при сульфитации (см. с. 168), а также применяется как техническое вспомогательное средство для дезинфекции тары, используемой при хранении и транспортировке плодов и овощей. SO_2 не соответствует большинству перечисленных выше требо-

ваний к химическим консервантам. Он оказывает консервирующее действие в небольших концентрациях — 0,15–0,20%, но в этом количестве он ядовит для человека и придает продукту неприятные запах и вкус. Диоксид серы не обладает высокой реакционной способностью, однако частично связывается некоторыми веществами плодов, например сахарами. SO₂ сильно корродирует металлическую аппаратуру, преждевременно выводя ее из строя. SO₂ — удушливый газ, поэтому работа с ним требует соблюдения особых мер безопасности. Однако большим достоинством этого антисептика, в значительной степени перекрывающим его недостатки, является возможность почти полного удаления его из продукта перед употреблением в пищу. При нагревании сульфитированного продукта SO₂ улетучивается. Поэтому в консервном производстве его применяют для временного сохранения фруктовых полуфабрикатов и заготовок, которые впоследствии используют для варки джема, повидла и т. п.

Наименее устойчивы к диоксиду серы плесневые грибы (исключение составляют грибы рода *Mucor*), уксуснокислые и молочнокислые бактерии. Среди дрожжей есть очень устойчивые формы, например *Saccharomyces bayanus*, выдерживающие концентрацию SO₂ до 235 мг/л, *Schizosaccharomyces pombe*, представители рода *Pichia*. Рост большинства дрожжей ингибируется уже при концентрациях 50–70 мг/л. Асептический эффект сульфитации усиливается по мере повышения температуры и кислотности среды. Поэтому если сульфитацию сочетать с пастеризацией, то можно применять диоксид серы в меньших концентрациях. Влияние повышенной кислотности определяется снижением степени диссоциации сернистой кислоты, поскольку с уменьшением рН сильно возрастает доля ее недиссоциированной свободной формы, а асептический эффект связан именно с ней. В связи с этим сульфитации подвергают, как правило, плоды и ягоды, имеющие кислую реакцию клеточного сока.

Допустимое содержание сернистой кислоты в полуфабрикатах из ягод составляет 300 мг на 100 г продукта, в томат-пасте — 150, в варенье — 10, в мармеладе — 2 мг на 100 г продукта. Хотя такая концентрация считается безвредной для человека, при изготовлении детского питания сульфитированные продукты не используют.

Бензойная кислота содержится в корице, гвоздике, анисе, ягодах брусники (0,24%, преимущественно в виде эфиров) и, являясь природным консервантом, способствует длительному хранению этих продуктов. При консервировании применяют натриевую соль бензойной кислоты — бензоат натрия, представляющий собой кристаллический порошок без цвета и запаха. Бензоат натрия оказывает

консервирующее действие в концентрации 0,1%. Он удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к антисептикам (за исключением придания продукту легкого привкуса), однако удалить его из продукта не представляется возможным. Его применяют для сохранения фруктовых соков в концентрации до 100 мг на 100 мл; мармелада, пастилы, повидла — до 70 мг на 100 г продукта. Консервант рекомендуется вносить в горячий продукт.

В последние годы в консервном производстве успешно используют сорбиновую кислоту и ее калиевую или натриевую соли. Сорбиновая кислота и ее производные совершенно безвредны, поскольку разлагаются в организме человека до диоксида углерода и воды. Они оказывают консервирующее действие в небольших концентрациях — 0,05–0,1%, не придают продуктам постороннего привкуса или запаха, могут применяться вместо диоксида серы для консервирования плодового пюре, ягод, фруктовых соков (в количестве 100 мг на 100 г продукта), безалкогольных напитков (30–50 мг/100г). Часто сорбиновую кислоту комбинируют с аскорбиновой, при этом концентрацию первой можно снизить.

Действие сорбиновой и бензойной кислот в первую очередь сказывается на развитии дрожжей и плесневых грибов, в меньшей степени — на развитии бактерий. Поэтому обычно их применяют в сочетании с тепловой стерилизацией. Наиболее устойчивы к сорбиновой кислоте молочнокислые бактерии *Lactobacillus arabinosus* и гриб *Aspergillus niger*, так как они используют ее в качестве источника углерода и энергии. Прочие микроорганизмы угнетаются при концентрации сорбиновой кислоты 100–500 мг/л. Сорбиновую кислоту нередко добавляют в соленые и маринованные огурцы, квашеную капусту, яблочный сок, кетчуп.

Перспективными консервантами, удлиняющими срок хранения овощей и плодов, могут служить антибиотики низин и субтилин, поскольку в очень низких концентрациях оказывают мощное биологическое действие и совершенно нетоксичны для человека. Продуцент низина — *Lactococcus lactis*, продуцент субтилина — *Bacillus subtilis*. Оба антибиотика подавляют прорастание спор бактерий рода *Clostridium*, развитие термофильных микроорганизмов, стафилококков, стрептококков и других групп бактерий. Их используют при консервировании томатов, зеленого горошка, цветной капусты и других овощей. Применение антибиотиков позволяет снизить продолжительность термообработки продуктов почти в 2 раза.

Для консервирования плодов и овощей применяют осмотически активные вещества — сахар и соль, которые при определенной кон-

центрации вызывают плазмолиз растительных и микробных клеток, в результате чего последние впадают в анабиотическое состояние. Стойкий плазмолиз клеток микроорганизмов обеспечивают высокие концентрации этих веществ — не менее 50% сахара и 14% соли.

Консервирующее действие сахара используется при изготовлении таких продуктов, как варенье, джем, повидло, мармелад. Эти продукты получают увариванием плодов с сахарным сиропом или сахаром. В процессе варки в результате действия высокой температуры биологические процессы в сырье прекращаются. Погибают и микроорганизмы, которые находились до варки в сырье и сахаре. Принцип анабиоза распространяется на те микроорганизмы, которые попадают в готовую продукцию при ее хранении и не могут в ней развиваться из-за высокого осмотического давления в окружающей среде. Полной гарантии долгосрочного хранения пищевых продуктов этот метод не дает. Поэтому консервирующее действие сахара иногда дополняют пастеризацией расфасованных в герметичную тару продуктов. При засахаривании сырых ягод и плодов концентрацию сахара увеличивают в несколько раз. Порчу консервов с высоким содержанием сахара могут вызывать только некоторые осмофильные дрожжи и микроскопические грибы (см. с. 16).

Консервирующее действие соли (NaCl) основано на том, что большинство микроорганизмов не переносят ее в концентрации, превышающей 5%. Концентрированные растворы соли используют для засола рыбных и мясных продуктов. Овощи не консервируют одной лишь поваренной солью, однако в некоторых случаях при фасовке, например, томатной пасты в негерметичную тару в нее добавляют с целью консервирования 10% соли. Способность к размножению в продуктах с высоким содержанием соли сохраняют лишь немногие галофилы (см. с. 16).

13.7. Консервирование на основе молочнокислого брожения

Переработка плодов и овощей, основанная на молочнокислом брожении, включает старые и широко используемые в настоящее время в России приемы консервирования: квашение, соление, мочение, ферментацию. Термин *квашение* обычно используют применительно к капусте. В отношении огурцов, томатов, арбузов пользуются термином *засол (соление)*. Квашеные яблоки называют *мочеными*, а под *ферментацией* понимают брожение маслин и оливок. Все эти продукты консервируются с помощью молочнокислого брожения. В роли консервирующего агента при данном способе переработки выступает молочная кислота, но в отличие от маринования кислота не вносится в пищевую

продукт извне, а образуется в самом сырье в результате жизнедеятельности молочнокислых бактерий.

В основе данного способа консервирования лежит молочнокислое брожение (см. с. 80) имеющихся в сырье Сахаров, в результате которого выделяется молочная кислота, подавляющая жизнедеятельность гнилостных, маслянокислых и других микроорганизмов, которые могут вызывать порчу продукта. Благодаря накоплению молочной кислоты продукт консервируется и может сохраняться в течение длительного времени. Одновременно в процессе молочнокислого брожения продукт приобретает новые полезные вкусовые и питательные свойства. Таким образом, в данном способе консервирования принцип анабиоза выражен в чистом виде — посредством внешних воздействий изменяется состав естественного биоценоза, в результате чего образуется совершенно новый продукт с иным составом микроорганизмов и другими химическими и органолептическими свойствами.

Консервирование на основе молочнокислого брожения осуществляется либо самопроизвольно, т. е. на «своих» естественных молочнокислых бактериях, которые всегда присутствуют в составе эпифитных микроорганизмов перерабатываемого продукта, либо благодаря введению чистой культуры молочнокислых бактерий. Для создания условий, благоприятных для развития молочнокислых бактерий, необходимы достаточная концентрация сахара как источника углерода, анаэробные условия и оптимальный температурный режим на стадии брожения- 18-21 °С.

Консервирование способом квашения применяют в промышленных масштабах во многих странах в основном для сохранения капусты, огурцов, томатов; реже солят арбузы, дыни, цветную капусту, баклажаны, морковь, чеснок, черемшу и пр. Иногда плоды и овощи требуют предварительной обработки. Оливки, например, содержат горький фенольный гликозид олеуропин, и для устранения горечи перед засолкой их обрабатывают разбавленным раствором гидроксида натрия.

Квашение капусты. В основе квашения лежит процесс молочнокислого брожения, поэтому все технологические мероприятия направлены на создание оптимальных для развития молочнокислых бактерий условий. Капусту, предназначенную для квашения, в течение 1–2 дней выдерживают в больших буртах для саморазогрева и обесцвечивания зеленых листьев. Затем последние и кочерыги удаляют, остальную капусту измельчают, смешивают с солью (не более 2,5%) и плотно укладывают в деревянные емкости — чаны, дошники, бочки. Сверху помещают пресс (гнет), поскольку капуста должна на-

ходиться в соке. Равномерное перемешивание с солью и тщательное уплотнение важны для быстрого выделения клеточного сока и создания анаэробных условий. Можно добавить морковь (3—5%), яблоки (8%), клюкву или бруснику (2—3%), различные специи.

Внесение соли при квашении капусты не обязательно, поскольку молочнокислое брожение может происходить и в ее отсутствие. Однако соль, как осмотически активное вещество, способствует быстрому плазмолизу клеток, в результате чего интенсивнее выделяется клеточный сок, содержащий сахара и другие питательные вещества, которые становятся легкодоступными для молочнокислых бактерий и способствуют их активной жизнедеятельности. Молочнокислые бактерии переносят большее содержание соли, чем другие микроорганизмы. Предельная концентрация соли для них — 12—13%, для маслянокислых бактерий — 8%, для кишечной палочки — 6%. Соль улучшает вкусовые качества продукта. Квашеная капуста без соли обычно мягкая, вялая, с солью — плотная, хрустящая, сочная. Во Франции распространено квашение капусты без соли, но с добавлением 1% сахара.

В составе эпифитов капусты кроме молочнокислых бактерий присутствуют разнообразные виды микроорганизмов. В наружных листьях капусты их общая численность может достигать $2 \cdot 10^6$ КОЕ в 1 г, во внутренних — 10^4 — 10^6 КОЕ в 1 г. В наружных листьях могут быть и случайные виды микроорганизмов, занесенные насекомыми, ветром, на внутренних — преимущественно молочнокислые бактерии.

Квашение — сложный биохимический процесс, представляющий собой совокупность взаимодействий различных групп микроорганизмов. В ходе квашения наблюдается *сукцессия* микроорганизмов, т. е. закономерная смена одних микроорганизмов другими в результате естественного отбора.

В процессе брожения капусты выделяют три стадии, характеризующиеся развитием разнообразных микроорганизмов.

Подготовительная стадия — это стадия смешанного брожения. В данный период при pH 6,2—6,5 начинают бурно развиваться аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы: дрожжи, грамположительные и грамотрицательные палочковидные бактерии, в том числе БГКП, различные кокки, типичные эпифиты и случайно попавшие микроорганизмы. Развитие этих микроорганизмов, выделяющих разные продукты обмена и использующих остаточные количества кислорода в заквашенной капусте, существенно влияет на вкус и запах готового продукта. В эту стадию образуются небольшие количества муравьиной, уксусной, янтарной, пропионовой, молочной, масляной кислот, этиловый спирт, выделяется CO_2 , в ничтожных количе-

ствах — метан. Первая стадия длится 1—3 дня. Аэробные микроорганизмы при этом поглощают кислород и создают условия для развития анаэробов. Брожение сопровождается обильным пенообразованием и повышением кислотности. Среди молочнокислых бактерий первыми активизируются гетероферментативные молочнокислые кокковидные бактерии *Leuconostoc mesenteroides*, которые становятся доминирующими к концу 3—4 суток.

Основная стадия. Общая кислотность продукта в результате деятельности *L. mesenteroides* повышается до 0,7—1% (в пересчете на молочную кислоту), и развитие гнилостных бактерий становится невозможным. Кроме молочной, образуются также уксусная кислота, этиловый спирт, эфиры, диоксид углерода, маннит, придающий капусте горьковатый привкус.

Через 4—6 суток брожения кокковидную форму сменяют гомоферментативные молочнокислые палочковидные бактерии *Lactobacillus plantarum*. Именно они обеспечивают основной процесс молочнокислого брожения капусты, так как при сбраживании углеводов образуют только молочную кислоту. Других метаболитов у бактерий этого вида не найдено. Наиболее благоприятные температуры для их развития — 18—21°C. Количество *L. plantarum* в этот период может достигать многих миллионов клеток в 1 г рассола. Содержание молочной кислоты повышается до 1,5—2%. Бактерии усваивают маннит, что устраняет неприятный горький привкус капусты. Завершается основная стадия примерно через 3 недели, когда *L. plantarum* начинает угнетать высокая кислотность среды. В данный период наблюдается активная жизнедеятельность дрожжей, накапливающих до 1% спирта, который, соединяясь с кислотами, образует эфиры, придающие капусте характерную остроту.

Конечная стадия характеризуется развитием кислотоустойчивых, гетероферментативных молочнокислых палочковидных бактерий, среди которых преобладает *L. brevis*. Сбраживаются в основном пентозы, концентрация молочной кислоты достигает 2—2,5% (pH 3,4—3,8), соотношение уксусной и молочной кислот составляет 1 : 4. Завершается конечная стадия к концу 5-й недели. Наряду с молочной кислотой в квашеной капусте содержатся 0,25% этилового спирта, маннит, декстран и другие продукты. При ее микроскопировании в этот период можно обнаружить клетки *L. brevis*, *L. plantarum* и пакеты кокковидных клеток *Pediococcus cerevisiae*. Брожение заканчивается, когда все сбраживаемые углеводы оказываются использованными. На поверхности капусты в этот период развиваются в виде пленки дрожжи родов *Pichia*, *Debaryomyces* и *Candida*.

Характер микробиологических и биохимических процессов при квашении капусты зависит от ряда факторов, в частности температуры, концентрации соли, доступа воздуха.

Для получения высококачественной капусты необходимо создать соответствующую температуру. Теоретически оптимальная температура для молочнокислых бактерий лежит в области 30–40 °С. Указанные температурные условия способствуют быстрому развитию в первую очередь гомоферментативных молочнокислых бактерий, но для гетероферментативных, среди которых много ароматообразующих видов, эта температура не слишком благоприятна. Если гетероферментативные молочнокислые бактерии не будут развиваться, то капуста не приобретет приятного аромата. Кроме того, при повышенной температуре преимущество может получить гомоферментативный кокк *Pediococcus cerevisiae*, развитие которого сопровождается образованием нежелательного запаха. Высокая температура способствует также ферментативным процессам, в результате которых капуста размягчается, теряет нормальный цвет, в ней разрушается витамин С.

При температуре 18–21 °С, рекомендуемой для процесса квашения, брожение завершается через 4–5 недель. Более низкая температура тормозит молочнокислое брожение: могут развиваться нежелательные группы микроорганизмов, возможно также нарушение последовательности развития молочнокислых бактерий. Хранить капусту следует при температуре 0–3 °С.

Второй фактор, определяющий качество капусты, — концентрация соли. При квашении соль не играет роль консерванта, но обладает в некоторой степени избирательным действием, т. е. тормозит развитие в капусте нежелательных микроорганизмов. Оптимальная концентрация соли, способствующая ускоренному размножению молочнокислых бактерий, — 2,2–2,5%. При снижении концентрации до 1% преимущество получают гетероферментативные молочнокислые процессы. Если при этом разовьется *Leuconostoc mesenteroides*, капуста может стать слизистой, если *Lactobacillus brevis*, — повысится ее кислотность и увеличится содержание уксусной кислоты. И в том и другом случае процессы приведут к размягчению капусты.

Если содержание соли повысить до 3,5%, клеточный сок будет выделяться интенсивнее, капуста станет более хрустящей, но вкус ее ухудшится, так как жизнедеятельность *L. brevis* и ароматообразующей группы молочнокислых бактерий будет подавлена. Преимущественное развитие получит *Pediococcus cerevisiae*. Могут развиваться также дрожжи, в частности виды рода *Rhodotorula*, окрашивающие капусту

в красный цвет. Общая кислотность капусты при 3,5% соли существенно выше, чем при 1%.

Третий фактор, определяющий получение высококачественной квашеной капусты, — доступ кислорода. Молочнокислые бактерии — *аэротолерантные* (устойчивые к кислороду) формы, поэтому могут активно размножаться на всех стадиях квашения. Развитие плесневых грибов и других аэробов будет подавлено. В начальный период брожения допустимо присутствие небольшого количества дрожжей, поскольку они используют O₂ в среде и выделяют ароматические соединения. При обильном развитии дрожжи могут стать конкурентами молочнокислых бактерий. Обычно этого не происходит, хотя они, являясь факультативными анаэробами, продолжают размножаться. В результате жизнедеятельности дрожжей накапливается этиловый спирт — около 1%. К концу брожения его концентрация снижается до 0,25%, поскольку другие микроорганизмы используют спирт в качестве источника углерода и, кроме того, он вступает в реакции с органическими кислотами, образуя эфиры. В анаэробных условиях могли бы развиваться маслянокислые бактерии, но поскольку они в основном почвенные обитатели, присутствие их возможно только в том случае, если капуста загрязнена почвой и плохо подготовлена к процессу переработки. К тому же интенсивное накопление молочной кислоты вследствие деятельности молочнокислых бактерий приводит к резкому снижению рН среды до значений, при которых маслянокислые бактерии не развиваются.

Квашеная, или кислая, капуста содержит в среднем 86–94% воды, 3–6% углеводов (из них 85% представлено глюкозой и фруктозой), 0,2–1% белковых веществ. В капусте много микроэлементов, витаминов, в частности витамина С — 30–70 мг на 100 г. Минеральные соли, содержащиеся в большом количестве в свежей капусте, обеспечивают буферный эффект в процессе молочнокислого брожения, благодаря чему, несмотря на образование молочной кислоты, рН капусты не опускается ниже 3,4.

Известны **различные способы (рецепты) приготовления** квашеной капусты. Так, при изготовлении деликатесной (винной) капусты в квашеную капусту во время или после брожения добавляют виноградное или яблочное вино, а иногда — пряности и яблоки в любом соотношении по вкусу. Капусту провансаль получают при смешивании квашеной капусты с маринованными ягодами и плодами: крыжовником, виноградом, черносливом, вишней (30–100 кг на 1 т капусты), клюквой или брусникой (40–50 кг на 1 т), сахаром (50–80 кг на 1 т) при заливке растительным маслом (50–80 кг на 1 т) или

при маринадной заливке с пряностями (20—25 кг на 1 т). Провансаль — 4 скоропортящийся продукт, хранение которого не должно превышать 2 суток при 6—16 °С, 5 суток — при 6 °С.

Пороки квашеной капусты возникают при технологических нарушениях, некачественном сырье и неправильном хранении готового продукта.

Потемнение (почернение) может быть вызвано доступом кислорода или неравномерным распределением соли при квашении. В первом случае начинают развиваться аэробные микроорганизмы, в частности дрожжи, например родов *Candida* и *Pichia*, образующие серый налет, или грибы, вызывающие потемнение капусты за счет темноокрашенных конидий и спор, например виды родов *Alternaria* *Botrytis*. Во втором случае избыточные количества соли в отдельных зонах квашения могут подавить молочнокислые бактерии и способствовать развитию гриба *Aureobasidium pullulans* — продуцента меланинов — пигментов, придающих продукту коричневый или черный цвет. Почернение продукта может быть обусловлено также высоким содержанием железа, которое взаимодействует с танинами с образованием сульфидов.

Покраснение — розовое или кораллово-красное окрашивание капусты, вызываемое дрожжами рода *Rhodotorula*, образующими каротиноиды. Развитию дрожжей данного рода способствуют высокая концентрация соли и присутствие кислорода.

Кремовые, белые и зеленые налеты на поверхности капусты образуют грибы *Geotrichum candidum* (молочная плесень) и виды рода *Penicillium*. Последние вызывают зеленое окрашивание капусты, и их развитие происходит только при грубейших нарушениях технологии.

Дряблость (размягчение) — порок, который вызывают недостаток соли и высокая температура, нарушающие последовательность развития молочнокислых бактерий, а также доступ кислорода, способствующий развитию аэробных бактерий и грибов, выделяющих целлюлозоразрушающие и пектолитические ферменты.

Ослизнение капусты наблюдается вследствие развития *Leuconostoc mesenteroides*, преобразующего сахарозу в полисахарид декстран. Слизистые вещества из углеводов способны образовывать также дрожжи рода *Pichia*.

Прогоркание может произойти в результате развития в капусте маслянокислых бактерий *Clostridium butyricum* при задержке по каким-либо причинам молочнокислого брожения. Масляная кислота придает капусте острый и прогорклый вкус, резкий неприятный за-

пах. Наряду с этим образуются газообразные продукты. Данный порок развивается при грубых нарушениях технологии. Иногда горький привкус придают капусте психрофильные бактерии, которые способны размножаться при температуре ниже 5 °С. Горечь может вызывать сульфат магния (горькая соль), поэтому надо уделять особое внимание чистоте поваренной соли.

Соление огурцов. Соленые огурцы относят к продуктам, в основе получения которых также лежит молочнокислое брожение. При подготовке огурцов к засолу их сортируют и тщательно моют, так как на них обычно содержатся почвенные микроорганизмы, которые могут нарушить ход брожения. Затем огурцы укладывают вместе с пряностями в подготовленную тару и заливают рассолом, содержащим 4—9% NaCl. Для приготовления рассола лучше брать кипяченую воду (не жесткую), иначе содержащиеся в ней карбонаты и бикарбонаты натрия, магния, кальция могут нейтрализовать молочную кислоту и это затормозит процесс квашения. Содержание указанных солей в воде не должно превышать 1%. В качестве пряностей используют укроп, петрушку, сельдерей, листья эстрагона, мяты для придания аромата; листья черной смородины, черники, малины, розы, кизила, содержащие водорастворимые танниноподобные вещества, взаимодействующие с пектиновыми соединениями огурцов и способствующие уплотнению последних, т. е. делающие их хрустящими; чеснок, перец, хрен, корицу, горчичное масло, которые благодаря наличию бактерицидных веществ подавляют гнилостные микроорганизмы и придают продукту специфические вкусовые качества.

Для процесса брожения огурцов характерны те же стадии, что и для квашения капусты. В основной стадии брожения главная роль принадлежит *Lactobacillus plantarum* и *Pediococcus cerevisiae*. Брожение завершается через 3—6 недель. В готовом продукте доминируют гомоферментативные *L. plantarum* и гетероферментативные *Lactobacillus brevis*.

Содержание углеводов в огурцах ниже, чем в капусте, поэтому накопление кислот к концу брожения достигает 1—1,5% (в пересчете на молочную кислоту). Этого количества вполне достаточно для обеспечения стойкого консервирующего эффекта при условии правильного хранения продукта, т. е. при пониженной температуре и без доступа воздуха.

В некоторых случаях рекомендуют добавлять в рассол 1% сахара. Для того, чтобы содержание молочной кислоты быстрее достигало 0,7—1%. Это предотвратит возможность развития бактерий родов *Clostridium* и *Bacillus*. В некоторых странах в начальный период брожения вносят в рассол молочную и уксусную кислоты, молочнокислые бак-

терии или бродящий рассол из чанов, где уже идет брожение, так как на огурцах содержатся в большом количестве не только молочнокислые бактерии, но и огромное число почвенных и эпифитных микроорганизмов.

Пороки соленых огурцов возникают вследствие недостатка молочной кислоты в результате ее расщепления плесневыми грибами и дрожжами, угнетения молочнокислых бактерий инсектицидами, дезинфицирующими средствами, которыми обрабатывают бродильные чаны, или повышенными концентрациями соли. В последнем случае получают огурцы со складчатой поверхностью (сморщенные) из-за высокого осмотического давления рассола. Для предохранения от порчи необходимы тщательная подготовка огурцов, тары и строгое соблюдение технологии приготовления продукта.

Мягкими огурцы становятся при ферментативном расщеплении в них пектиновых и целлюлозосодержащих соединений. Ферменты могут быть как микробного происхождения (бактериального, дрожжевого, грибного), так и растительного. Например, фермент полигалактуроназа в больших количествах присутствует в перезрелых огурцах.

Пустоты в огурцах (*дутыши*), вздутия вызывают дрожжи-представители энтеробактерий и гетероферментативные молочнокислые бактерии. Порок наблюдается при использовании для засолки перезревших и длительно хранившихся огурцов с жесткими оболочками, которые препятствуют выходу газов. Предотвратить его можно накалыванием огурцов перед засолкой.

Пленка на поверхности рассола образуется в аэробных условиях в разное время после прохождения основной стадии брожения. Состоит она преимущественно из пленчатых дрожжей родов *Debaryomyces* и *Pichia*. В пленке могут развиваться также грибы *Geotrichum candidum*, пенициллы, аспергиллы и др. Пленчатые микроорганизмы используют молочную кислоту и сахар, находящиеся в рассоле. Развитие пленки можно предотвратить, поддерживая анаэробные условия, низкие температуры, а также добавлением горчичного масла, корицы, чеснока. Эффективно внесение до 0,1% сорбиновой кислоты. Если образовавшуюся пленку не удалять, у огурцов может появиться неприятный привкус.

Стерилизованные огурцы готовят так же, как и соленые огурцы, но применяют горячий рассол и небольшое количество пищевого уксуса, благодаря чему молочнокислое брожение ускоряется. Однако добавлять уксусную кислоту необходимо в строго определенной концентрации, иначе молочнокислое брожение подавляется.

Соление томатов и других овощей. Соление томатов несколько отличается от соления огурцов. Концентрация соли составляет 6–8% для зеленых и 8–9% для красных плодов томата; количество пряных добавок — вдвое меньшее, поскольку вкусовая гамма томатов богаче, чем огурцов. Процесс молочнокислого брожения идет аналогично, однако более растянут во времени из-за того, что в томатах содержится соланин — антибиотик, сдерживающий в подготовительной стадии брожения развитие молочнокислых бактерий.

При засолке плодов перца, баклажана, свеклы, тыквы, патиссонов используют 4–5%-ный раствор соли без добавления пряных растений. При засолке арбузов обычно используют мелкие зрелые экземпляры с тонкой коркой. Их заливают рассолом, содержащим 5–6% соли. Предварительное сбраживание ведут в теплом помещении в течение 1,5–2 суток, затем переносят бочки в погреб с температурой 5 °С и выдерживают 3–3,5 недели. Наряду с молочнокислым в арбузах идет и спиртовое брожение, но менее интенсивное.

Мочение, или квашение, яблок. Мочение яблок также основано на молочнокислом брожении. Для мочения используют сорта с достаточной кислотностью и сахаристостью (8–12%) в стадии технической зрелости. Рассол, которым заливают яблоки, должен содержать 1,5% соли, 3% сахара (меда или патоки), 1% ячменного или ржаного солода в виде суслу или ржаную муку, 0,25% сухой горчицы. В течение первых 8–10 суток брожение осуществляют в теплом помещении при 12–19 °С. При этом накапливается 0,3–0,4% молочной кислоты. Затем бочки доливают рассолом, укупоривают и помещают в погреб, где молочнокислые бактерии продолжают вести брожение в течение 1–2 месяцев. В готовом продукте содержится 0,6–1,5% молочной кислоты; 0,6–1,8% этилового спирта, так как спиртовое брожение идет параллельно и даже превалирует над молочнокислым; до 0,1% летучих кислот в пересчете на уксусную кислоту; 0,5–1% соли.

Ферментация маслин. Маслины содержат горький гликозид с бактерицидным действием. При подготовке к ферментации для удаления горечи их обрабатывают слабым раствором едкого натра. При этом иногда погибают молочнокислые бактерии, поэтому промытые маслины заливают сильно бродящим рассолом, содержащим 0,5–1% сахара, или используют чистую культуру *Lactobacillus plantarum*. Можно использовать комбинированную закваску *L. plantarum* и *Lactobacillus brevis*. Зеленые маслины бродят несколько месяцев, зрелые — несколько недель. Как и при солении огурцов, принимают меры, предотвращающие развитие пленки.

13.8. Микробиологические основы виноделия

Виноделие — классическое микробиологическое производство, зародившееся в глубокой древности. Около 6 тыс. лет до н. э. в Вавилоне уже умели изготавливать с использованием дрожжей напитки, подобные вину, пиву, печь хлеб, о чем свидетельствуют старинные клинописные тексты. Тема виноградарства и виноделия отражена на многочисленных барельефах Древнего Египта, найденных при раскопках археологами. Технология приготовления вина была позаимствована у Вавилона Персией, Грецией и другими странами Средиземноморского бассейна. До наших дней дошло множество поэтических мифов и легенд Древней Греции и Древнего Рима, отражающих процесс изготовления вина. Около 2 тыс. лет назад виноделие стало развиваться во Франции, а затем и в других европейских странах. Издревле вина готовили в Грузии и Армении. В Древней Руси в XI–XII вв. умели «варить» пиво. Излюбленными напитками были также брага, хлебный квас, «мед» («медовуха»). Виноделие начало развиваться в России значительно позже. Об использовании вызываемых дрожжами процессов говорят русские предания, былины, летописи. Человек в течение своей истории эмпирически совершенствовал эти процессы. Научные основы виноделия были заложены в середине XIX в. в классических трудах Луи Пастера. Он выдвинул и обосновал биологическую теорию брожения, показав, что превращение сахара в спирт и диоксид углерода представляет собой процесс, связанный с жизнью дрожжевых клеток. Работы по изучению продуктов брожения и ряд рекомендаций, данных им для бродильного производства, явились стимулом для проведения дальнейших исследований, которые послужили основой современной биотехнологии брожения.

Вино — это пищевой продукт (напиток), получаемый путем спиртового брожения из плодов и ягод. В зависимости от сырья, из которого готовят вина, их подразделяют на виноградные и плодово-ягодные. В настоящем разделе речь пойдет о вине, приготавливаемом из винограда.

Основными частями виноградной ягоды являются кожица, мякоть и семена. При полной зрелости винограда мякоть насыщена углеводами, большую часть которых составляют глюкоза и фруктоза. Содержание сахарозы обычно невелико — 0,05–0,4% в зависимости от сорта винограда. Присутствуют также в небольшом количестве пентозы — L-арабиноза, D-ксилоза и L-рамноза, которые входят в состав полисахаридов, камедей, слизей и некоторых гликозидов. Азотсодержащие вещества представлены аминокислотами, полипептидами и белками. Значительно также содержание аммиачного азота — наиболее доступ-

ной и легко усвояемой для дрожжей формы азота. Из органических кислот преобладает винная (40–95% всех кислот), яблочная и лимонная. Присутствуют также минеральные компоненты — соли калия, кальция, фосфорная кислота и витамины.

В кожице винограда содержится мало Сахаров, но она богата целлюлозой, пектиновыми веществами, белками, органическими кислотами. Особенно много в ней фенольных соединений — пигментов, обуславливающих ее окраску, дубильных веществ, флавоноидных компонентов (в красных сортах винограда их в 2 раза больше, чем в белых). В кожице также локализуются ароматические вещества, представляющие собой в основном производные терпенов, придающие различным сортам винограда специфический аромат.

Дрожжи — возбудители спиртового брожения. В основе виноделия лежит процесс спиртового брожения (см. с. 75), осуществляемого дрожжами. Дрожжи составляют обширную группу микроскопических одноклеточных грибов, широко распространенных в природе. Они обитают в филлосфере растений, в желудочно-кишечном тракте, на поверхности кожи животных и человека. Особенно богаты дрожжами сладкие плоды и ягоды, поскольку сахара являются основным источником углерода для этих микроорганизмов. С опавшими плодами и листьями дрожжи попадают в почву — наибольшая их численность и разнообразие в почве наблюдаются в осенние месяцы. Зимой число дрожжей в почве убывает, так как условия становятся неблагоприятными, и в результате естественного отбора выживают лишь самые сильные расы. Поэтому почва виноградников, взятая весной, является наилучшим материалом для выделения чистых культур местных рас дрожжей. Весной дрожжи выносятся на поверхность зимующими в почве насекомыми и попадают на медоносные цветы, где начинается их размножение. С цветов дрожжи попадают на плоды. Большую роль в распространении дрожжей играют насекомые — пчелы, шмели, осы и особенно дрозодилы (уксусные мушки), которые обладают исключительно развитым обонянием и сразу же появляются там, где начинается брожение. Из пищеварительного канала дрозодилы выделяют свыше 30 различных родов и видов дрожжей. Значительное количество дрожжевых клеток присутствует на стенах винных подвалов, винодельческих помещений, аппаратуре и оборудовании.

В филлосфере винограда распространены разнообразные эпифитные микроорганизмы: дрожжи, бактерии, грибы. Дрожжи, как правило, занимают доминирующее положение. На поверхности ягод винограда в различных частях света выявлены в основном одни и те же ви-

ды дрожжей. На незрелых ягодах наиболее часто встречаются представители родов *Candida* и *Rhodotorula*. В период зрелости винограда появляются дрожжи родов *Saccharomyces* и *Hanseniaspora*.

При производстве вина предназначенный для переработки виноград подвергают дроблению и прессованию. Раздавленные ягоды винограда, т. е. смесь сока, мякоти, кожицы и семян, в виноделии называют *мезгой*. При отжиме или прессовании мезги из нее вытекает сок - *сусло*. Для производства белых вин сусло быстро отделяют от мезги. Такая технология называется *переработкой «по белому способу»*. При приготовлении красных вин сусло настаивают на мезге (иногда при нагревании), проводят брожение сусла на мезге или применяют другие приемы для более полной экстракции из кожицы винограда ароматических, дубильных и красящих веществ, благодаря которым вина приобретают высокие качественные характеристики. При приготовлении некоторых сортов вин виноград перед брожением не дают, и переход сахара в спирт осуществляется внутри ягод.

При переработке винограда в сусло с поверхности ягод, гребней и винодельческого оборудования попадают различные бактерии, дрожжи, микроскопические грибы, водоросли, простейшие. Под действием физико-химических условий окружающей среды происходит естественный биологический отбор. Высокая активная кислотность виноградного сока (рН 2,7—3,8), наличие этанола, повышенная концентрация сахара и другие факторы создают неблагоприятные условия для жизнедеятельности бактерий, и поэтому за период спиртового брожения естественная бактериальная популяция виноградного сусла уменьшается с 10^4 до 10^2 КОЕ/мл. В конце брожения преобладают в основном гетероферментативные молочнокислые бактерии *Leuconostoc oenos*. В этот период продукты автолиза дрожжей начинают действовать как факторы роста молочнокислых бактерий, их количество может резко возрастать. За спиртовым брожением часто следует яблочно-молочнокислое брожение сусла, которое продолжается несколько суток. В начальной стадии брожения аэробные микроорганизмы, в том числе микромицеты, простейшие, бактерии и водоросли, используют запас молекулярного кислорода в сусле и вследствие создавшегося анаэробноза, погибают. В результате естественного отбора остаются дрожжи.

В процессе спиртового брожения наблюдается закономерная смена видов дрожжей. Наибольшее участие в спиртовом брожении виноградного сусла принимает *Saccharomyces cerevisiae*, однако на первой стадии и в середине процесса ферментации значительная роль принадлежит другим видам. Так, в начале брожения, когда



Рис. 2.12. Дрожжи *Hanseniaspora uvarum*, $\times 2000$ [по: Нудель, 1980]

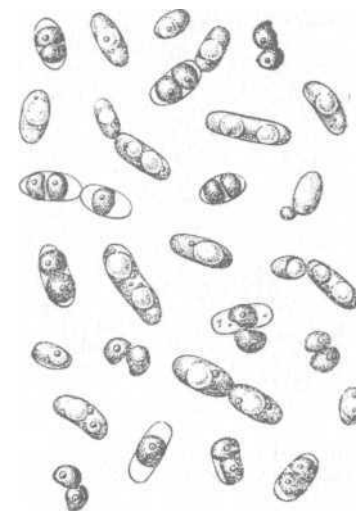


Рис. 2.13. Дрожжи *Pichia anomala*, $\times 2000$ [по: Нудель, 1980]

концентрация спирта в сусле не превышает 4%, развиваются *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckera apiculata*) (рис. 2.12), *Candida colliculosa*, *C. stellata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia anomala* (*Hansenula anomala*) (рис. 2.13). Содержание этих видов дрожжей возрастает с 10^4 — 10^5 КОЕ/мл в свежотжатом виноградном соке до 10^6 — 10^8 КОЕ/мл в конечной популяции. Затем среду осваивают дрожжи рода *Saccharomyces* — *S. cerevisiae* (*S. vini*) (рис. 2.14) и *S. bayanus* (*S. oviformis*) (рис. 2.15). Такая смена видов обусловлена различной способностью дрожжей образовывать спирт и разной к нему чувствительностью. Дрожжи, завершающие процесс брожения, обладают наибольшей спиртоустойчивостью и могут накапливать в среде до 16—18% об.¹ спирта. Существенное влияние на скорость смены видов дрожжей в сусле оказывают условия брожения; среди них определяющим является температура.

В зависимости от содержания сахара в винограде при брожении получают вина разной крепости, которая исчисляется в градусах или в *объемных процентах* (% об.). Один процент сахара в отжатом сусле дает при брожении 0,6% об. спирта. Таким образом, виноград, поступивший на переработку с базисной сахаристостью 18%, после полного сбраживания дает вино крепостью 10,8% об., т. е. столовое.

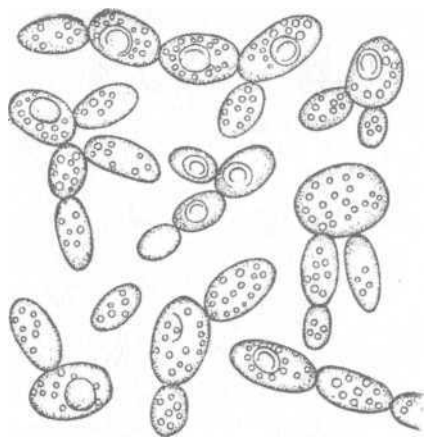


Рис. 2.14. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, $\times 2000$ [по: Нудель, 1980]



Рис. 2.15. Дрожжи *Saccharomyces bayanus*, $\times 2000$ [по: Нудель, 1980]

Дрожжи, развивающиеся в процессе брожения, обладают неодинаковыми свойствами и поэтому по-разному влияют на химический состав и качество вин. Следовательно, при сбраживании сусла на естественной микрофлоре конечный результат предвидеть трудно: наряду с высококачественными, хорошо выброженными винами могут быть получены вина невысокого качества, содержащие мало спирта при полном сбраживании сахара.

Наиболее эффективно и надежно применение в виноделии чистых культур дрожжей. Брожение виноградного сусла на удачно подобранных чистых культурах дрожжей проходит со значительно лучшими показателями: сусло быстрее забраживает, брожение протекает без замедления и остановок; сахар полностью сбраживается, при этом образуется на 0,1—1,0% об. больше спирта; вина быстрее осветляются, улучшается их вкус и аромат. В настоящее время для приготовления отдельных типов вин рекомендованы особые расы дрожжей. Чистые культуры дрожжей должны обладать совокупностью важных свойств, в частности высокой бродильной активностью при отсутствии пенообразования; способностью полно выбраживать сусло с высоким выходом этанола (80—97% от теоретического) и быстро осаждаться после завершения брожения; быть устойчивыми к этиловому спирту; образовывать мало летучих кислот, сульфидов, сульфитов и, напротив, много эфиров, формирующих букет вина; проявлять конкурентоспособность по отношению к другим видам дрожжей, а также сохранять активность в высушенном состоянии.

Улучшение ценных технологических признаков винных дрожжей проводится в генетико-селекционных центрах в нашей стране и за рубежом. Свойства чистой культуры дрожжей, сорт винограда и район его произрастания в значительной степени определяют качество вина. Место выделения чистой культуры существенной роли не играет. Ценные свойства могут сформироваться у дрожжей, обитающих в разных эколого-географических районах.

Способ подготовки дрожжей для сбраживания сусла имеет важное значение. Обычно суспензию дрожжей (*дрожжевую разводку*) готовят в лабораторных условиях. Исходным материалом служит чистая культура (в пробирке), которую последовательно размножают на стерильном сусле. В больших винодельческих хозяйствах производственное размножение дрожжей проводят в ферментерах на стерильном сусле в условиях, исключающих инфицирование посторонними микроорганизмами.

Для успешного применения чистых культур необходимо подавить или уничтожить естественную микрофлору сусла. С этой целью используют один из следующих приемов: сульфитацию, пастеризацию или стерилизующую фильтрацию. Наиболее часто применяют сульфитацию — введение в сусло небольшого количества диоксида серы или водного раствора сернистой кислоты или бисульфита (метабисульфита) калия. Многие нежелательные микроорганизмы — уксуснокислые бактерии, дикие дрожжи, плесневые грибы — гибнут или прекращают развиваться под влиянием сернистых соединений, тогда как истинные винные дрожжи угнетаются слабо. В последние годы в некоторых странах стали готовить вина из стерильного сусла, используя совершенные стерилизующие фильтры, полностью защищающие от проникновения бактерий. Чистую культуру дрожжей вводят в подготовленное сусло, брожение строго контролируют в соответствии с технологическим режимом, установленным для определенного типа вина.

Большое значение при изготовлении отдельных типов вин имеет раса дрожжей. Так, для производства *мадеры* (от названия о. Мадейра в Португалии) используют дрожжи, которые ведут процесс спиртового брожения при наличии в среде кислорода и не переходят к дыханию. При изготовлении мадеры проводят аэрирование вина при повышенных температурах. Мадера — вино, «дважды рожденное на солнце»: сначала на солнце созревает виноград, а потом — вино в открытых дубовых бочках при температуре около 30⁰С. Это наиболее окисленное вино. В противоположность мадере *шампанское* — наиболее восстановленное вино. Расы дрожжей, используемые при произ-

водстве шампанского, приспособлены к условиям анаэробнозиса и повышенному содержанию CO_2 . Они также должны быть активными при высокой кислотности (рН 2,8–3,2) и концентрации спирта в среде 10–12% об. Дрожжи шампанского производства представляют собой различные расы вида *Saccharomyces cerevisiae*. При производстве *xerеса* (от названия г. Херес де ля Фронтьера в Испании) используют специальные хересные дрожжи, образующие на поверхности вина в аэробных условиях характерную пленку («соллера»). При выдержке вина под пленкой происходят сложные окислительно-восстановительные и автолитические процессы. Хересные дрожжи окисляют спирт до CO_2 и H_2O и частично — до ацетальдегида, поэтому содержание этанола в вине снижается на 0,4–1% об. Кроме уксусного альдегида, в вине под пленкой образуются ацетали и органические кислоты — щавелевая, гликолевая, фумаровая, приводящие к образованию специфического хересного тона.

Сбраживание сусла можно проводить и на смешанных культурах дрожжей. Так, совместное применение *S. cerevisiae* с дрожжами *S. paradoxus*, обладающими повышенной пектолитической активностью, способствует увеличению выхода сусла. Однако смешанные культуры дрожжей не нашли широкого применения, и вопрос об их использовании требует дальнейших исследований.

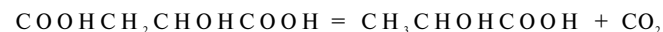
После завершения спиртового брожения образуется *молодое вино*, в котором продолжают идти сложные биохимические процессы. Вино живет, меняется — формируется, созревает, стареет и распадается — умирает, причем у разных сортовых групп вина для каждой из этих стадий имеются свои сроки.

Период формирования вина включает время от конца брожения до первой переливки, когда вино снимают с дрожжевого осадка. В этот период интенсифицируются автолитические процессы и вино обогащается продуктами автолиза дрожжевых клеток, изменяется также содержание некоторых компонентов — органических кислот, диацетила, ацетоина, 2,3-бутиленгликоля, увеличивается содержание орнитина. Для удаления находящихся в вине солей металлов и белковых веществ проводят осветление (*оклейку*). Чтобы перевести железо, медь, цинк в труднорастворимые соли, добавляют желтую кровяную соль. Для удаления белковых соединений используют танин, желатину или активированный уголь.

Стадии созревания и старения вина включают время бочковой (резервуарной) и бутылочной выдержки. При созревании вино становится стабильным, приобретает соответствующие его типу

вкус и аромат. Стадия старения вина происходит в процессе его выдержки в анаэробных условиях. При этом улучшаются органолептические свойства вина, и оно приобретает качества, присущие выдержанным винам. Излишне длительная выдержка отдельных типов вина приводит к постепенному его разрушению (отмиранию), а качество некоторых крепких вин, например хереса, напротив, непрерывно улучшается.

Яблочно-молочнокислородное брожение. В винах с содержанием спирта не более 15% об. и рН не ниже 2,9 в начале стадии созревания может происходить вторичное яблочно-молочнокислородное брожение, возбудителями которого служат молочнокислородные бактерии. Наиболее активными агентами этого процесса являются гетероферментативные кокки рода *Leuconostoc*, гомоферментативные педиококки и лактобациллы. Термин «яблочно-молочнокислородное брожение» принят в виноделии. Однако с биохимической точки зрения фактически идет не брожение, а ферментативное превращение яблочной кислоты в молочную с выделением диоксида углерода:



Из каждого грамма яблочной кислоты образуется 0,67 г молочной, в результате чего происходит снижение кислотности вина. Данный процесс носит название *биологического кислотопонижения* и является единственным полезным и используемым в практике виноделия процессом, вызываемым молочнокислородными бактериями.

Яблочно-молочнокислородное брожение весьма желательно в винах с высоким содержанием яблочной кислоты, например в некоторых рейнских винах, в красном бордосском, столовых и шампанских винах с повышенной кислотностью. Развиваясь в таких винах, молочнокислородные бактерии значительно улучшают их качество, уничтожая резкий вкус, который придает им яблочная кислота, и делая их более мягкими и гармоничными. В малоокислородных винах, например молодых винах с невысокой кислотностью, биологическое кислотопонижение недопустимо, так как ведет к ухудшению вкуса, а иногда — и полной порче. Для предупреждения процесса проводится длительное отстаивание с сульфитацией в дозах 100–150 мг/л, снятие с дрожжевого осадка, подкисление вина и хранение при температуре 8–10 °С.

Управление процессом биологического кислотопонижения осуществляется путем регулирования деятельности спонтанной микрофлоры, обитающей в вине. Однако это не всегда дает стабильные ре-

зультаты. В последние десятилетия разработана и введена в практику виноделия биотехнология яблочно-молочнокислого брожения с использованием чистых культур молочнокислых бактерий. Наиболее эффективно применение селекционированных штаммов *Leuconostoc oenos*, а также *Pediococcus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. higaridii*, *Leuconostoc mesenteroides*. Селекционированные штаммы обычно хранят в лиофилизированном или замороженном состоянии. Перед использованием их обязательно адаптируют к вину с повышенным количеством яблочной кислоты, закваску вносят в вино с рН 3,3 из расчета 10^6 КОЕ/мл. При этом сернистая кислота должна отсутствовать, так как она тормозит размножение бактерий. При проведении процесса необходимо систематически осуществлять химический и микробиологический контроль за разложением яблочной кислоты: определять величину титруемой кислотности¹ и микроскопировать пробы вина.

При снижении титруемой кислотности до 8 г/л проводят определение яблочной кислоты хроматографическим методом. Если яблочной кислоты в вине не обнаруживают, процесс приостанавливают. Дальнейший контакт вина с бактериями недопустим, так как при отсутствии в нем яблочной кислоты микроорганизмы могут начать потреблять глицерин, лимонную кислоту, азотсодержащие вещества, образуя при этом летучие кислоты, резко ухудшающие вкусовые качества продукта. Вино освобождают от бактерий путем фильтрации (или пастеризации, или сульфитации) и разливают в бутылки. Длительность кислотопонижения зависит от ряда факторов — температуры, рН и др. Обычно процесс заканчивается через 10–20 суток.

Яблочно-молочнокислое брожение широко проводят в странах Западной Европы, в Аргентине и Австралии. Во Франции, например, инокуляцию красных вин проводят селекционированными культурами яблочно-молочнокислого брожения. Критериями для отбора являются толерантность к этанолу (13–14%) и SO_2 (50 мг/л), способность к размножению при рН 3,2 (при рН 3,5 и выше молочнокислые бактерии предпочитают сбрасывать сахар, а не яблочную кислоту), наличие метаболической активности при 15^oС, минимальное образование

¹ *Титруемая кислотность* — это сумма свободных кислот и кислых солей, которые способны оттитровываться щелочью. Выражается в г/л (в пересчете на винную кислоту) или в моль/л, что соответствует количеству миллилитров 1 н. щелочи, идущей на нейтрализацию 1 л виноградного сока (для винной кислоты 7,5 г/л = 100 моль/л).

летучих кислот и сохранность органолептических свойств инокулируемых вин.

В отечественном виноделии процесс кислотопонижения проводят в винах с повышенной кислотностью, предварительно доведя ее до рН 3,2. Затем в вино вносят чистую культуру *Leuconostoc oenos*. Бактерии переводят оставшуюся яблочную кислоту в молочную, и вино приобретает мягкий, гармоничный вкус.

Классификация вин. В соответствии с принятой классификацией по содержанию CO_2 вина делят на два основных типа: *тихие* и *инасыщенные*.

По содержанию спирта и сахара **тихие вина** подразделяют на столовые, крепленые и ароматизированные.

Столовые вина получили свое название благодаря тому, что они являются постоянной и привычной составляющей трапезы. Это вина ежедневного потребления с умеренным содержанием спирта, которые пьют во время еды. Столовые вина готовят без каких-либо добавлений, они содержат только спирт, полученный в результате естественного брожения, — от 9,0 до 14,0% об. В зависимости от концентрации сахара столовые вина подразделяют на *сухие* (не содержат сахар или его концентрация не превышает 1%), *полусухие* (от 1 до 2,5% сахара) и *полусладкие* (от 3 до 8% сахара).

Крепленые вина допускают использование спирта-ректификата. Они бывают крепкими и десертными. *Крепкие вина* (портвейн, херес, мадера, марсала) содержат больше спирта — 17,0–20,0% об., в том числе спирта естественного брожения не менее 3,0% об., и меньше сахара — 1,0–14,0%, а *десертные* (мускат, токай, кагор, малага) — напротив, содержат спирта 12–17,0% об., в том числе спирта естественного брожения не менее 1,2% об.; сахара — до 35%.

По содержанию сахара **десертные вина** делят на *полусладкие* (5,0–12,0%), *сладкие* (14,0–20,0%) и *ликерные* (21,0–35,0%). Введение в бродящее сусло спирта при приготовлении крепленых вин дает возможность приостановить брожение на любой его стадии и этим сохранить несброженным заранее намеченное количество сахара. Так получают вина ликерного типа сравнительно низкой спиртуозности, в котором сахар выполняет роль консерванта. Суждение о том, что спиртование обязательно связано с приготовлением крепких вин, совершенно не обосновано.

Некоторое сходство во вкусе и аромате десертных вин виноделы объясняют влиянием гриба *Botrytis cynerea*, развивающегося на винограде. На процессах, вызываемых этим грибом, следует остановиться

особо. Данный вид может влиять на качество вина положительно, вызывая так называемую *благородную гниль*, и отрицательно, поражая виноград *серой гнилью*. Условия для развития благородной гнили постоянно существуют лишь в некоторых районах с определенными благоприятными климатическими условиями, например во Франции (Сотерн) и Германии (на Рейне). В России таких районов нет. Виноград, пораженный благородной гнилью, дает вино-материал высокого качества, так как этот гриб, разрушая кожицу виноградной ягоды, способствует испарению влаги и, следовательно, концентрированию сока, увеличению сахаристости, наиболее полному переходу ароматических веществ кожицы в сок винограда. В процессе своей жизнедеятельности он поглощает часть кислот и дубильных веществ винограда. Ягода при этом усыхает. В нашей стране проводят работы по искусственному заражению винограда грибом. При неблагоприятных условиях *V. sapinea* образует на винограде серую гниль. Мицелий гриба проникает в толщу клеток мякоти ягоды, потребляет много Сахаров и отрицательно влияет на качество вина.

Ароматизированные вина готовят по специальной рецептуре с использованием спирта-ректификата, сахара и настоев отдельных частей различных растений. Они также бывают крепкими и десертными. Содержание спирта в *крепких* винах — 16,0—18,0% об., сахара — 6,0—10,0%; в *десертных* — 10% об. и 16% соответственно. Ароматизированные вина готовили в Древней Греции и Риме, считая их целебными. В наши дни особой популярностью пользуется *вермут* (нем. *Wermut* — полынь), в который добавляют настои полыни, кардамона и других душистых и пряных растений.

Насыщенные вина, содержащие избыточное количество диоксида углерода, подразделяют на игристые и шипучие (газированные).

Игристые вина содержат CO_2 , образующийся исключительно естественным путем в процессе брожения. Интенсивное выделение диоксида углерода в виде многочисленных мелких пузырьков создает эффект искристости — «игры» вина. Игристые вина получают путем вторичного брожения вино-материалов, которое вызывается добавлением сахара в виде ликера и чистых культур дрожжей, в герметически закрытых сосудах.

Существует несколько способов приготовления игристых вин, но основных два. Первый — *бутылочный*, при котором брожение проходит в бутылках. Именно таким способом готовят шампанское. Бутылочный способ первым применил Дон Пьер Периньон — монах аббатства Отвильяр провинции Шампань во Франции в XVII в. Установлено, что каждые 4 г сахара после сбраживания выделяют такое

количество CO_2 , которое при температуре 10°C образует внутри бутылки давление в 1 атм. Следовательно, после полного выбраживания сахара в бутылке создается давление около 4—5 атм.

В Россию рецепт приготовления шампанского был привезен знатком французского виноделия князем Л. С. Голицыным в конце XIX в. Следует отметить, что название «шампанское» применимо лишь к определенному типу игристых вин, производимых только в провинции Шампань. «Советское шампанское» могло так называться только в пределах СССР. При поставке на экспорт его etikетировали как «Игристое».

Второй способ приготовления игристых вин — *резервуарный*, когда вторичное брожение проводят в чанах, выдерживающих высокое давление. После достижения определенной насыщенности диоксидом углерода вино фильтруют и разливают в бутылки.

В зависимости от содержания сахара шампанские вина подразделяют на *брют* (не более 1%), *сухое* (1—3%), *полусухое* (3—5%), *полусладкое* (5—8%), *сладкое* (8—10%) и *мускатное* (до 12%). Содержание спирта во всех шампанских винах составляет от 10 до 12,5% об.

Шипучие, или газированные, вина получают путем искусственного насыщения вина диоксидом углерода (*сатурации*). Они бывают *полусухие* и *полусладкие* и готовятся, как правило, из натуральных продуктов (виноградный сок, лимонная кислота, сахар), но иногда ароматизируются синтетическими материалами. Срок хранения таких вин — 1 месяц.

Вина подразделяют на **сортовые**, если их готовят из одного сорта винограда, и **купажные**, если их готовят из нескольких сортов.

В зависимости от качества и срока выдержки виноградные вина подразделяют на молодые, обыкновенные, ординарные, выдержанные, марочные и коллекционные.

Молодые вина готовят по общепринятой технологии из одного или нескольких сортов винограда и реализуют до 1 января следующего за урожаем винограда года. Они должны содержать не менее 8,5% об. спирта. Молодые вина, особенно красные, богаты полезными для организма человека веществами.

Обыкновенные вина получают так же, как и молодые вина, но реализуют с 1 января следующего за урожаем винограда года.

Ординарными называют молодые вина, прошедшие технологическую обработку, реализуемые не ранее чем через три месяца, считая с 1 января следующего за урожаем винограда годом.

Выдержанные вина получают по специальной технологии из отдельных сортов винограда или их смеси с обязательной выдержкой перед розливом в емкостях не менее 6 месяцев. Это вина улучшенного качества.

Марочные вина — это высокого качества выдержанные вина, приготовленные по специальной технологии (установленной для каждой марки вина) из лучших сортов винограда, произрастающего в отдельных винодельческих районах. Продолжительность выдержки — не менее 1,5 лет для сухих столовых вин и не менее 2 лет для крепких и десертных вин, считая с 1 января следующего за урожаем года.

Коллекционные вина — это выдающиеся по качеству марочные вина, которые после окончания выдержки в стационарных резервуарах (бочках, бутях, цистернах) дополнительно выдерживаются после розлива не менее 3 лет.

По окраске различают вина белые, розовые и красные.

Белые вина имеют цвет соломенно-желтый, золотисто-желтый, желтый с зеленоватым оттенком, цвет слабозаваренного чая и т. д.

Красные вина бывают с синеватым (молодые вина), гранатовым, рубиновым и кирпичным (старые вина) оттенками.

Оттенки *розовых вин* занимают промежуточное положение между оттенками белых и красных вин, приближаясь иногда к окраске красных неинтенсивно окрашенных вин.

Как правило, виноградный сок бесцветен. Цвет вину придает кожица винограда. Поэтому из красного винограда (кроме винограда сорта *саперави*) можно приготовить белое вино, если готовить его, как говорят виноделы, «по-белому», т. е. без мезги, только из одного прозрачного и бесцветного виноградного сока.

Красные столовые вина вырабатывают исключительно из красных сортов винограда, причем виноградное сусло сбраживают обязательно с кожицей, семенами, а иногда — и с гребнями. Красящие вещества, содержащиеся в кожице винограда, окрашивают вино в характерный красный цвет. Дубильные вещества кожицы, семян и в особенности гребней придают специфическую для красных вин терпкость, а ароматические вещества кожицы и семян обогащают букет вина.

Качественная характеристика вина. Под *букетом вина* понимают сочетание запахов и вкусовых тонов данного напитка, которые в процессе брожения и выдержки сообщают вину ароматические вещества винограда. Для определения тончайшей гаммы вкусовых и ароматических особенностей вина виноделы пользуются выразительным лексиконом, состоящим из точных эпитетов. Вино называют *гармоничным*,

если в нем чувствуется удачное сочетание отдельных вкусовых тонов; *терпким*, если оно слегка горчит вследствие избытка танина, вызывающая во рту ощущение сухости; *горячим*, если вызывает длительное ощущение теплоты; *живым*, если оно слегка бодрит; *вялым*, если в нем отсутствует выразительность, характерность; *бархатистым* — если вино мягкое; *тонким*, *легким* называют безукоризненно приятное вино, во вкусе которого не чувствуется никаких посторонних примесей («вкус чистый»); *плоским* — недостаточно выразительное; *свежим* — вызывающее ощущение холодка; *спиртуозным* — вино с четко выраженным привкусом спирта; *примитивным* и т. п.

Вино по своему химическому составу представляет сложный многокомпонентный напиток, содержащий различные ценные для организма человека питательные вещества. Количество *остаточных Сахаров*, представленных в основном глюкозой и фруктозой, составляет 1—35% в зависимости от вида вина. Большая часть углеводов виноградного сусла в результате спиртового брожения сбраживается в *спирты*, содержание которых — 9—20%. Кроме этанола, преобладающего во фракции спиртов, вино содержит в очень небольших количествах побочные спирты — пропиловый, бутиловый, амиловый и метиловый (метанол). Эти спирты, особенно метанол, ответственны за неблагоприятные эффекты, возникающие у человека после чрезмерного употребления вина — неприятный привкус во рту, головные боли, жажда, тошнота, дрожание рук, усталость. Технология приготовления крепленых и ароматизированных вин предусматривает добавление *спирта-ректификата* — спирта, тщательным образом очищенного от примесей, без каких-либо посторонних вкусов и запахов. Этот прием, называемый в виноделии *спиртованием*, позволяет повысить крепость вина до определенных пределов или приостановить процесс брожения, сохранив заранее намеченное количество сахара. Присутствующие в вине *кислоты* — винная, яблочная, молочная, уксусная, лимонная, салициловая — способствуют созданию в нем кислой реакции среды (рН 2—3), близкой к кислотности желудочного сока человека. Одни кислоты переходят в вино из винограда, другие — образуются в процессе брожения. Вино — богатый источник *минеральных солей* и *микроэлементов*. Больше всего в нем содержится калия и фосфора — 700—1600 и 100—200 мг/л вина соответственно. Количество кальция, магния и натрия составляет 20—250 мг/л. Магний и кальций находятся, как правило, в ионизированном состоянии и поэтому хорошо всасываются в тонком кишечнике человека. Среди микроэлементов преобладает железо — 2—10 мг/л вина. Медь, цинк и марганец присутствуют в меньших количествах — от 0,1 до 5,0 мг/л вина. Микроэлементный со-

став вина в значительной степени определяется почвой виноградника. По набору микроэлементов можно определить, из какой местности произошло вино. В вине содержатся в небольших количествах *витамины* группы В ($V_1, V_2, V_3, V_5, V_6, V_{12}$) — 0,1—0,9 мг/л, *альдегиды, эфиры, фенолы, эфирные масла, ацетали*, относящиеся наряду со спиртами к категории летучих веществ и обуславливающие аромат вина, а также *дубильные вещества*. Большой интерес в последнее время вызывают *полифенолы* — вещества, обладающие эффективным антиоксидантным действием, концентрация которых составляет от 1,2 г/л в белых винах до 3,0 г/л в красных винах. В группу полифенолов входят фенольные кислоты, флавоноиды (или витаминный фактор Р), антоцианы, содержащие танины; флавонолы, в том числе катехины; хиноны, кумарины. Из *консервирующих веществ* в вино разрешено вводить только сернистую кислоту в строго регламентируемых количествах. Содержание полезных компонентов больше в красных винах, чем в белых. При этом выдержанные и тем более коллекционные вина сильно уступают по количеству этих веществ молодым винам. Кроме того, в белых винах чаще содержатся консерванты.

О пользе и вреде вина. Со времен античности известно применение виноградных вин в медицинских целях. В Древней Греции вино использовали как антисептическое средство. Гиппократ употреблял вино наружно для лечения ревматизма. Римляне считали, что натуральное вино возбуждает аппетит, улучшает сон, укрепляет организм.

Современные исследования показали, что натуральное вино в небольших количествах действительно оказывает укрепляющее действие на организм человека, повышает его иммунитет, обладает выраженными бактерицидным и антивирусным свойствами, способствует восстановлению жизненных сил. Оно обогащает организм микроэлементами, витаминами, аминокислотами; выводит токсины и нормализует обмен веществ.

Установлено, что в странах, где пьют много натурального виноградного вина (например, во Франции), люди меньше умирают от сердечно-сосудистых заболеваний. Содержащиеся в вине полифенолы полезны как профилактическое средство от многих заболеваний: обладая антиоксидантным действием, они блокируют свободные радикалы, образующиеся при курении, действии ультрафиолетовых лучей и радиации, чрезмерной физической нагрузке. Полифенолы способствуют сохранению эластичности клеточных мембран, замедляя процесс старения клеток. При некоторых расстройствах и болезнях желудочно-кишечного тракта полезны красные вина с большим содержа-

нием дубильных веществ. Вино препятствует развитию кариеса и отложению зубного камня.

Однако, чтобы вино приносило пользу, следует знать, как и в каких количествах его употреблять. Специалисты считают, что вино можно пить во время еды, но лишь в умеренном количестве. В противном случае содержащийся в вине алкоголь, в том числе этиловый спирт, может оказывать негативное воздействие на организм человека. Являясь нормальным продуктом обмена веществ, этанол содержится в крови и тканевых жидкостях организма человека независимо от поступления извне. При поступлении в организм этиловый спирт диффундирует через стенки желудка и кишечника, быстро достигает печени и попадает в кровь. Состояние опьянения зависит от концентрации этанола в крови, поэтому если спиртной напиток выпивается во время приема пищи и благодаря этому «разбавляется», то период поступления спирта в кровь растягивается. Если употребить спиртной напиток натощак, эффект опьянения быстро достигнет максимума.

Основной путь метаболизма этанола в организме человека — последовательное окисление в печени под действием фермента алкогольдегидрогеназы до ацетальдегида, а затем — до уксусной кислоты, которая в дальнейшем входит в основную цепь обмена веществ. Количество алкогольдегидрогеназы в организме — индивидуальный признак человека, определяющий его физиологическую способность к усвоению алкоголя и, следовательно, дозу спиртного напитка, которую он может выпить, не причиняя вреда своему организму и окружающим. Систематическое неумеренное потребление спиртных напитков стимулирует синтез алкогольдегидрогеназы, но при этом повышается и содержание недоокисленных продуктов этанола, токсичных для организма. Так, например, ацетальдегид является гепатотропным (поражающим печень) ядом, а также предшественником морфиноподобных веществ, поражающих деятельность мозга и вызывающих психическую и физиологическую зависимость от алкоголя. Хроническое отравление этанолом приводит к нарушению интеллектуальных и физиологических функций организма — заторможенности двигательной и умственной активности, сопровождающейся такими характерными признаками, как остановившийся взгляд, чувство страха, депрессия, слюнотечение и др. Результатом хронической алкогольной интоксикации являются тяжелые заболевания — гастрит, цирроз печени, периферический паралич. Поэтому каждый человек должен знать «свою дозу» алкоголя. Культура потребления спиртных напитков — неотъемлемая часть общей культуры человека.

13.9. Болезни вина

Развитие нежелательных микроорганизмов в вине приводит к глубокому изменению его свойств — *болезни вина*. Заболевание вина можно определить органолептически: по запаху, вкусу, помутнению и другим признакам. Однако для точной оценки качества вина и идентификации возбудителей заболевания необходимо проводить химический и микробиологический анализы.

Болезни вин приводят к существенным изменениям их состава, исчезают характерные вкус и аромат, снижается качество продукта, вино может стать непригодным к употреблению. Заболевшие вина лечат (исправляют), однако исправленные вина не обладают высокими качествами, и их применяют обычно только в купаже с другими винами. Микроорганизмы, вызывающие заболевания вин, легко передаются через винодельческий инвентарь, оборудование, тару; переносчиками могут служить обслуживающий персонал, насекомые и другие агенты.

Возбудителями болезней вина являются бактерии и грибы.

Болезни вина, вызываемые бактериями. Среди заболеваний бактериальной этиологии наиболее известны прогоркание, уксусное и молочное скисание, маннитное брожение и ожирение.

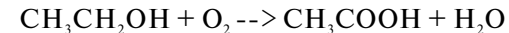
Прогоркание — заболевание преимущественно красных выдержанных вин. Возбудитель — *Bacillus amaracrylus* — превращает глицерин в ненасыщенный альдегид акролеин (CH_2CHCHO), который, соединяясь с полифенолами, образует продукты полимеризации, напоминающие по вкусу и запаху хрен. Свойством разлагать глицерин обладают также отдельные представители палочковидных и кокковидных молочнокислых бактерий. Обычно они развиваются при средней кислотности вина (рН 3,3). Поражение в этом случае сопровождается дальнейшим повышением кислотности. По мере развития болезни вино сначала теряет блеск, оставаясь прозрачным, затем в нем образуется осадок. Цвет вина не всегда сильно меняется, но иногда оно становится грязно-бурым, коричневым или даже сине-черным, приобретает горький вкус и резкий неприятный запах.

Для предупреждения прогоркания вина рекомендуется сортировать и мыть ягоды винограда, проводить брожение на чистых культурах дрожжей, необходимы также раннее снятие вина с дрожжевого осадка и стерильный розлив в бутылки.

Больные вина не только непригодны к употреблению, их даже нельзя использовать для перегонки, поскольку горькие соединения переходят в дистиллят. Пастеризовать больные вина не следует, так

как при нагревании акролеин растворяется и придает вину еще большую горечь. Для уничтожения горького вкуса вино подвергают переброжанию или последовательно настаиванию на свежих выжимках, замораживанию, оттаиванию, фильтрации при доступе воздуха, обработке активированным углем. После лечения в вино вводят таннин, лимонную кислоту, а затем купажируют его со здоровым вином.

Уксусное скисание (прокисание) — весьма распространенное и опасное заболевание вин с содержанием спирта до 14—15% об. Возбудителями заболевания являются уксуснокислые бактерии различных видов рода *Acetobacter*, для которых окисление этилового спирта в уксусную кислоту является процессом, доставляющим энергию. Окисление этилового спирта происходит по уравнению



Теоретически при этом из 100 г спирта получается 130 г уксусной кислоты. Поскольку процесс аэробный, он начинается в местах контакта вина с воздухом и из верхних слоев вина постепенно опускается вниз. Сначала на поверхности вина образуется тонкая серая с легким голубоватым оттенком пленка, которая постепенно утолщается, становится складчатой, а затем частично падает на дно, формируя слизистые тягучие массы — *уксусные гнезда*. Процессу способствует образующаяся уксусная кислота, поскольку она, как более тяжелая, опускается вниз, а более легкий спирт поднимается и подвергается окислению.

Развитие уксуснокислых бактерий в вине происходит при свободном доступе воздуха, высокой температуре (около 30 °С), низкой спиртуозности и кислотности, невысоком содержании сахара. Характерным признаком заболевания служит появление в вине запаха и вкуса уксусной кислоты и ее эфиров. При дегустации больного вина чувствуется жгучесть, появляется царапающее ощущение в горле. Допустимое содержание летучих кислот (г/л) в пересчете на уксусную кислоту составляет для белых вин — до 1,2; для красных и кахетинских — до 1,5; для мадеры — до 1,75. Если в вине содержание уксусной кислоты больше 3 г/л, его перерабатывают на уксус.

Надежных методов лечения вин от уксусного скисания нет, поэтому главное — профилактика, предусматривающая сортировку винограда (удаление больных и поврежденных гроздей), сульфитацию сула и мезги, применение чистых культур дрожжей, соблюдение чистоты производства, предохранение вина от доступа воздуха, низкие температуры брожения и хранения. В начальной стадии заболевания сульфитация из расчета 60—70 мг/л, фильтрация и последующая пастеризация при 60—70 °С в течение 5—15 мин могут исправить недо-

статки вина. Рекомендуется также прием переброживания на свежих выжимках с последующей сульфитацией, пастеризацией и переливкой в чистую тару. Однако в любом случае при исправлении вина первоначальное его качество не восстанавливается.

Молочнокислосое скисание (прокисание) — очень опасная болезнь, которой подвергаются вина практически всех типов, но особенно — столовые с остаточным сахаром (недоброд) и крепленые с низкой кислотностью. При развитии заболевания вина мутнеют, в них появляются «шелковистые волны» — скопления бактерий, которые можно увидеть невооруженным глазом при легком встряхивании вина. Затем вина приобретают сладковато-кислый царапающий вкус, запах квашеной капусты, иногда — мышинный тон. Процесс вызывают спиртоустойчивые расы гетероферментативных молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* — *L. buchneri*, *L. brevis*, переводящие сахар в молочную и уксусную кислоты, ацетоин, диацетил, уксуснокислый этиловый эфир, которые придают продукту неприятный вкус. От мышинного тона в больных винах избавиться практически невозможно. Даже при использовании их на перегонку для получения коньяка этот тон переходит во все фракции отгона.

Молочнокислые бактерии попадают в вино с грязной тары, аппаратуры, инвентаря, с водой, разносятся уксусной мушкой. Поэтому профилактические мероприятия направлены прежде всего на то, чтобы перекрыть пути инфекции. Необходимо строго соблюдать чистоту тары и аппаратуры. После тщательного мытья проводят дезинфекцию 2%-ным раствором сернистой кислоты или хлорной известью с последующим промыванием водой. Деревянную тару (корзины, бочки) рекомендуется также пропаривать. Большое внимание следует уделять соблюдению чистоты территории винодельческого предприятия и его ближайших окрестностей. Промывные воды, впитывающиеся в почву на территории предприятия, скопления отходов виноделия — прекрасная среда для развития бактерий. Поэтому необходимы закрытые стоки, позволяющие отводить с территории загрязненную воду, приемочные площадки должны быть заасфальтированы и содержаться в чистоте. Виноград, предназначенный для переработки, нужно сортировать и не допускать размножения на нем уксусной мушки.

Для предупреждения прокисания столовых вин важно, чтобы брожение сусла проводилось на сильных расах чистых культур винных дрожжей, а также чтобы вина полностью выбраживали. Если в столовом вине остался несброженный сахар, то необходимо провести дображивание вина путем внесения в него после снятия с дрожжевого осадка хорошо бродящей разводки сильной расы винных дрожжей.

Низкокислотные вина рекомендуется подкислять лимонной кислотой до pH 3,5 и не держать на дрожжевых осадках, так как выдержка на дрожжах приводит к обогащению вин азотистыми веществами, стимулирующими развитие молочнокислых бактерий. Еще лучшие результаты дает подкисление сусла до брожения винной кислотой до pH 3,3.

При обнаружении первых признаков заболевания необходимо профильтровать вино через обеспложивающий фильтр с предварительной фильтрацией через обычный фильтр для увеличения пропускной способности стерилизующих пластин. Надежными способами лечения являются пастеризация вина при 70 °С в течение 5—10 мин или сульфитация до 100 мг/л с последующей фильтрацией.

Маннитное брожение поражает малоокислотные красные вина с низким содержанием спирта и сахара. Возбудители — *Lactobacillus mannitoformans*, образующие зооглеи — склеенные массы клеток размером с голубиное яйцо, и *Leuconostoc gracile*. Оба вида бактерий переводят фруктозу в маннит и уксусную кислоту, а яблочную и лимонную кислоты — в молочную кислоту. При маннитной болезни вино мутнеет, приобретает запах разлагающихся фруктов, острый кисло-сладкий вкус. Помимо фруктозы, бактерии могут использовать мальтозу, сахарозу и ксилозу.

Больные вина после фильтрации необходимо перелить в чистую, предварительно сульфитированную тару или подвергнуть пастеризации. Вина со слабыми симптомами болезни после лечения можно использовать в купаже. Полного излечения не происходит, поэтому важны профилактические мероприятия: сортирование винограда, отставание сусла и его сульфитация, подкисление винной или лимонной кислотой малоокислотных вин и сусел, частое перемешивание мезги при брожении винограда красных сортов, использование чистых культур дрожжей, оптимальные температуры брожения, раннее снятие вина с дрожжевого осадка и хранение его при низких температурах.

О ж и р е н и е — редкое заболевание вина. Обычно ожирение поражает молодые малоокислотные, низкоспиртуозные и малоэкстрактивные белые столовые вина с недоброжеланным сахаром, полученные из винограда северных районов виноделия. Возбудители — гетероферментативные молочнокислые бактерии рода *Leuconostoc*, клетки которых имеют мощную слизистую капсулу, — *L. gracile* и *L. mesenteroides*. Они превращают сахарозу в декстран. Вино становится слизистым, тягучим, похожим на яичный белок, льется медленно, как масло, без плеска. Если вино взболтать, тягучесть исчезает, появляется пена, но вскоре оно вновь приобретает неприятную слизистую консистенцию. Однако характерный букет вина сохраняется.

Для профилактики этой болезни пользуются теми же приемами, что и при других болезнях, вызываемых анаэробными бактериями. Вина, больные ожирением, как правило, легко поддаются лечению: при первых симптомах заболевания достаточно добавить таннин, на более поздних стадиях — необходимо сначала удалить образовавшуюся слизь при помощи переливания вина через разбрызгиватель с сильной аэрацией. После того как вино снова станет жидким, его сульфитируют (до 100 мг/л) и осветляют бентонитом (50—100 г бентонита + 10 г желатина на 100 л вина). Через 15 дней после осветления вино фильтруют и пастеризуют при 60—65 °С в течение 1 мин. После лечения вино становится прозрачным и его первоначальный вкус и аромат восстанавливаются.

Ослизнение вин вызывают смешанные популяции микроорганизмов, в составе которых преобладают *Micrococcus viscosus-vini*, молочнокислые бактерии *Leuconostoc mesenteroides*, склонные к слизиобразованию, и плесневые грибы. Заболеванию подвержены главным образом белые молодые вина. При развитии болезни вино тянется в виде нитей, изменяется его вкус. Ослизнение наблюдается обычно в анаэробных условиях, приток кислорода разрушает слизь. Для лечения используют обычно те же приемы, что и при заболевании ожирением.

Болезни вина, вызываемые микроскопическими грибами. Среди болезней вина, вызываемых микроскопическими грибами, наиболее распространена цвель. Ее возбудители — пленчатые дрожжи родов *Candida* и *Pichia*, образующие пленку на открытой поверхности вина. Заболеванию подвергаются вина с небольшим содержанием спирта (не более 12% об.) при хранении в негерметично закрытой или неполно налитой таре. Поверхность вина покрывается гладкой тонкой пленкой белого цвета иногда с желтоватым или розовым оттенком, которая постепенно утолщается и становится морщинистой.

Вред, причиняемый вину цвелью, зависит от степени развития пленчатых дрожжей. В начале болезни вкус вина изменяется мало, оно остается прозрачным. Вино, долго остающееся под пленкой, постепенно превращается в жидкость с неприятным запахом стоячей затхлой воды и прогорклым вкусом. Это происходит в результате окисления спирта и органических кислот дрожжами.

Предупреждение цвели вина основано главным образом на прекращении к нему свободного доступа воздуха. Это достигается регулярными доливками емкости здоровым вином с тем, чтобы над поверхностью вина не оставалось воздушного пространства. Необходимо также

строго соблюдать технологические правила переработки винограда, хранить вина при низкой температуре и содержать тару и оборудование в чистоте. При заболевании вина цвелью следует немедленно приступить к его лечению. Если на поверхности вина заметна слабо развитая пленка, то пространство над вином надо заполнить сернистым газом, который подавляет развитие пленчатых дрожжей, не убивая их. Через несколько часов после окулирования следует осторожно провести доливку вина через воронку с длинной трубкой так, чтобы небольшое количество вина перелилось через край и увлекло с собой пленку. После этого рекомендуется перелить вино в чистую тару. Если пленка осела на дно и вино помутнело, необходимо его профильтровать, провести оклейку, затем подвергнуть пастеризации при 60—65 °С в течение 5 мин и вновь профильтровать через обеспложивающий фильтр. После лечения цвели первоначальный вкус вина обычно не восстанавливается, остается «пустым». Поэтому необходимо либо скупажировать пастеризованное вино со здоровым, либо смешать его со свежим виноградным суслом и подвергнуть вторичному брожению на чистой культуре винных дрожжей. Красные вина можно исправить настаиванием на выбродившей и частично отпрессованной мезге.

Снижение качества вина может происходить вследствие причин, не связанных с деятельностью микроорганизмов, в результате химических, биохимических или физико-химических процессов. Такие негативные изменения называют *пороками вина*.

Литература

- Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Санитарные правила и нормы. СанПиН 2.3.2.560-96. М., 1997.
- Дементьева М. И., Выгонский М. И. Болезни плодов, овощей и картофеля при хранении. М., 1988.
- Защита растений от болезней в теплицах. Под ред. А. К. Ахатова. М., 2002.
- Квасников Е. Н. Микробиологические процессы в виноделии. Некоторые актуальные аспекты. Прикладная биохимия и микробиология, 1995. Т. 31. № 2.
- Квасников Е. Н., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., 1976.
- Квасников Е. Н., Щелокова И. Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. Киев, 1991.
- Консервы. Метод определения промышленной стерильности. ГОСТ 30425-97. Минск, 1997.

Кудряшова А. А. Микробиологические основы сохранения плодов овощей. М., 1986.

Мотиньяк М. Чудесные свойства вин. М., 1999.

Мюллер Г., Литц Я., Мюнх Г.-Д. Микробиология пищевых продуктов растительного происхождения. М., 1977.

Пудель Л. Ш., Короткевич А. В. Микробиология и биохимия вина. М 1980.

Охременко Н. С., Бурьян Н. И., Валуйко Г. Г., Датунашвили Е. Н. и др. Виноделие. М., 1969.

Рибера-Гайон Ж., Пейно Е. Виноделие. Возбудители брожения. Приготовление вин. М., 1971.

Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. М., 2001.

Флауменбаум Б. Л., Танчев С. С., Гришин М. А. Основы консервирования пищевых продуктов. М., 1986.

Широков Е. П., Полегаев В. И. Хранение и переработка плодов и овощей. М., 1982.

Штерншис М. В., Джалилов Ф. С., Андреева И. В., Томилова О. Г. Биопрепараты в защите растений. Новосибирск, 2000.



Рис.1. Плодовая гниль (монилиоз) семечковых — проявление заболевания при заражении плодов на дереве



Рис.2. Мумифицированный плод яблони — проявление монилиоза в хранилище плодов



Рис. 3. Горькая глеоспориозная гниль (антракноз) семечковых

Примечание. Здесь и далее рисунки без ссылок на автора приведены (по: Дементьева, Выгонский, 1988]

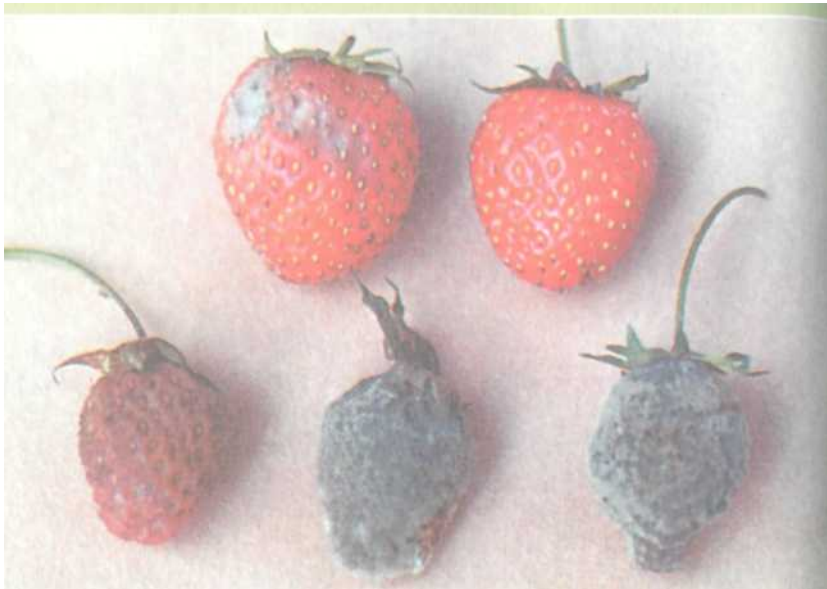


Рис. 4. Серая гниль (ботритиоз) земляники



Рис. 5. Серая гниль (ботритиоз) винограда



Рис. 6. Серая гниль плода яблони



Рис. 7. Серая гниль капусты

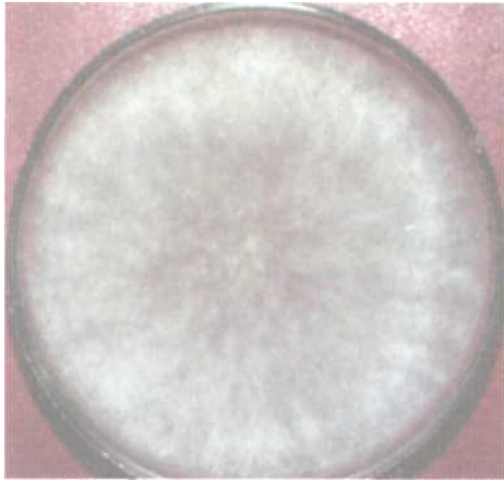


Рис. 8. Культура *Botrytis cinerea* на плотной питательной среде [по: Ахатов, 2002]



Рис. 10. Плоды персика, пораженные пенициллезом



Рис. 9. Зелено-голубая гниль (пенициллез) плода яблони



Рис. 11. Зеленая гниль (пенициллез) чеснока



Рис. 12. Культура *Penicillium sp.* на плотной питательной среде [по: Ахатов, 2002]

Рис. 13. Фузариозная гниль (фузариоз) плодов яблони



Рис. 15. Парша на плодах яблони



Рис. 14. Культура *Fusarium sp.* на плотной питательной среде [по: Ахатов, 2002]

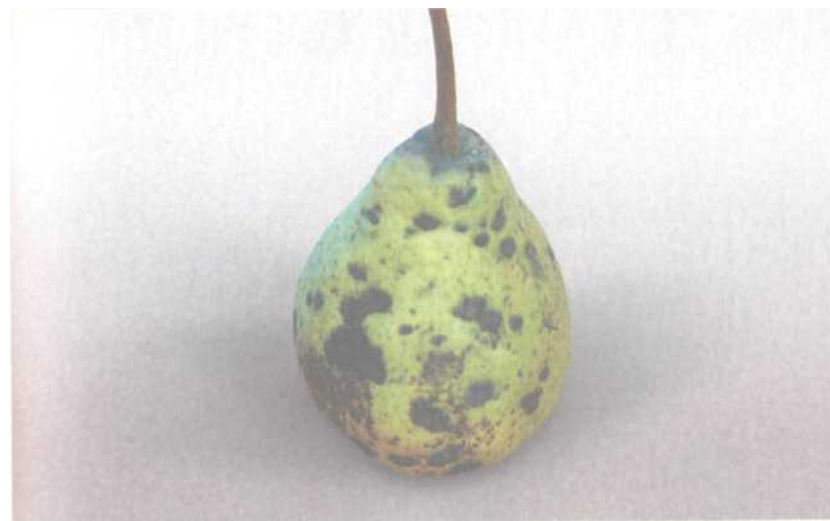


Рис. 16. Парша на плодах груши



Рис. 17. Бактериальная мокрая гниль картофеля

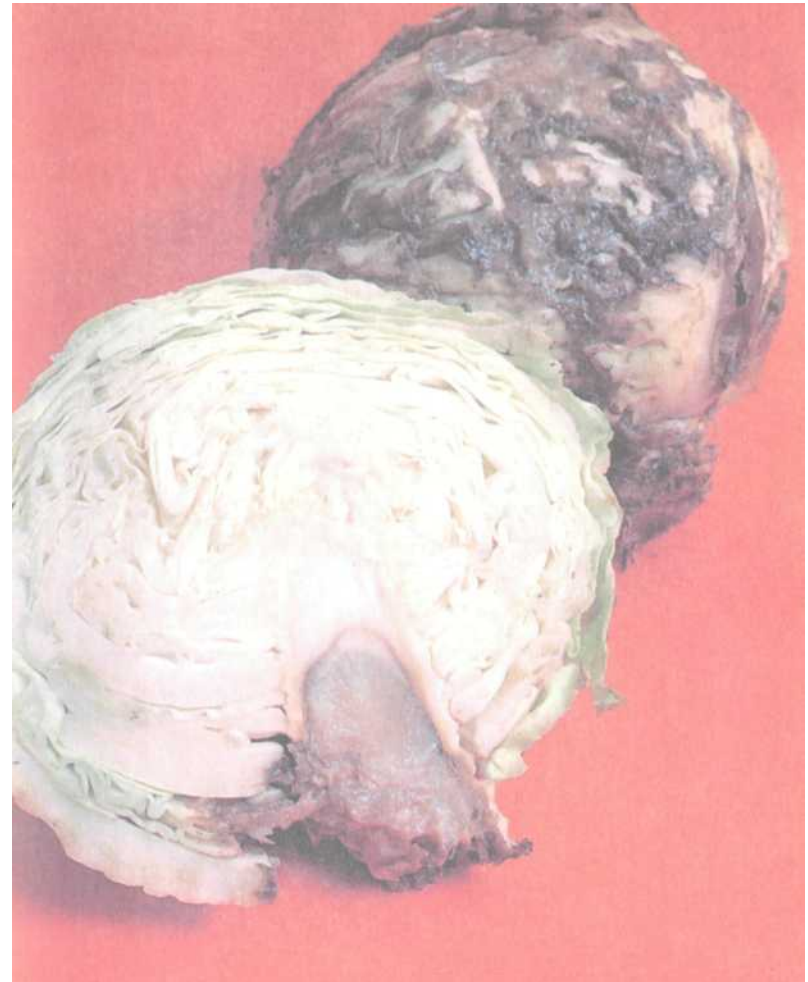


Рис. 19. Слизистый бактериоз капусты



Рис. 18. Бактериальная гниль лука

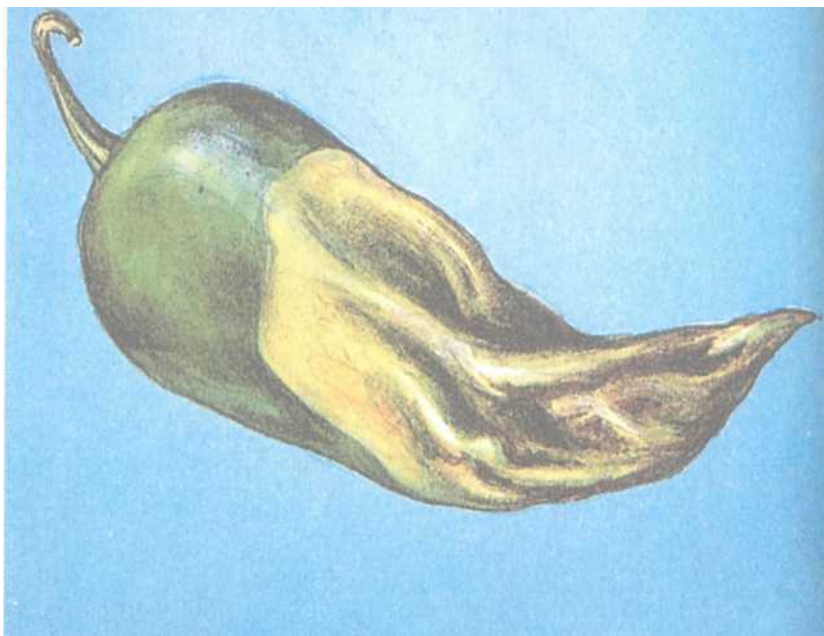


Рис. 20. Бактериальная мокрая гниль перца



Рис. 22. Коричневая, или сухая фиолетовая, гниль (физоктониоз) моркови



Рис. 21. Белая гниль (склеротиниоз) моркови



Рис. 23. Корнеплоды свеклы, пораженные фомозом



Рис. 24. Черная гниль (альтернариоз) томатов



Рис. 25. Клубни картофеля, пораженные фузариозом



Рис. 26. Фитофтороз картофеля



Рис. 27. Серая шейковая гниль лука



Рис. 28. Парша картофеля



Рис. 29. Колонии *Escherichia coli* (справа) и *Shigella dysenteriae* (слева) на дифференциальной среде Плоскирева.

Красный цвет *E. coli* приобретает вследствие сбраживания лактозы с образованием кислот, в результате чего локально изменяется цвет индикатора среды — нейтрального красного. Дизентерийные палочки лактозу не ферментируют [по: Поздеев, 2001]

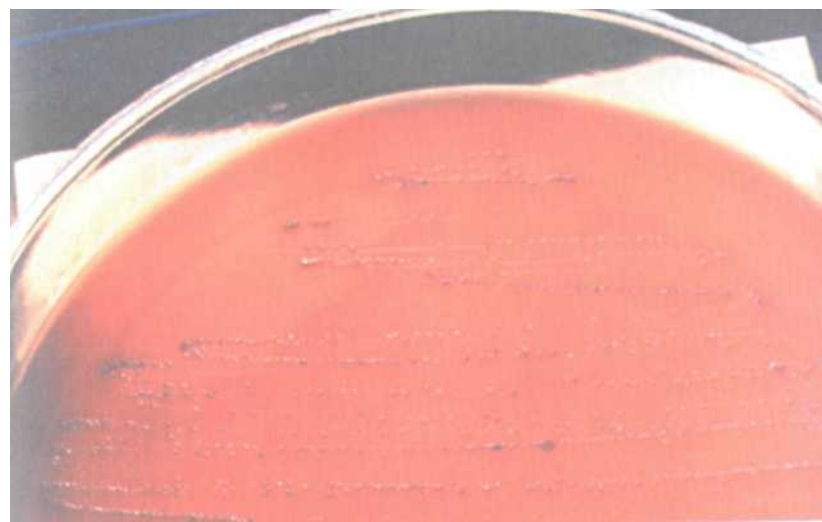


Рис. 30. Колонии *Clostridium perfringens* на агаре Цейслера [по: Поздеев, 2001]

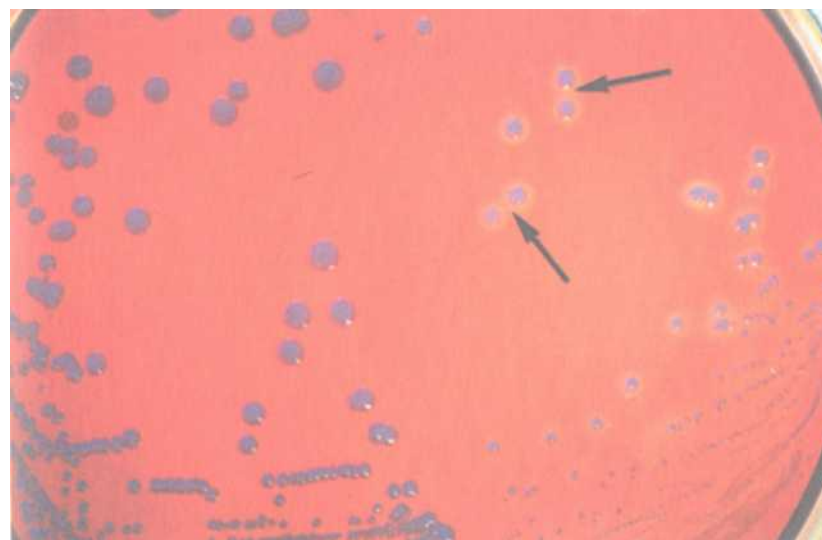


Рис. 31. Колонии *Staphylococcus aureus* (справа) окружены зонами гемолиза на кровяном агаре (КА); слева — колонии *Staphylococcus epidermidis* [по: Поздеев, 2001]

Основы санитарно-микробиологического контроля хранения растениеводческой продукции

Г.В. Годова

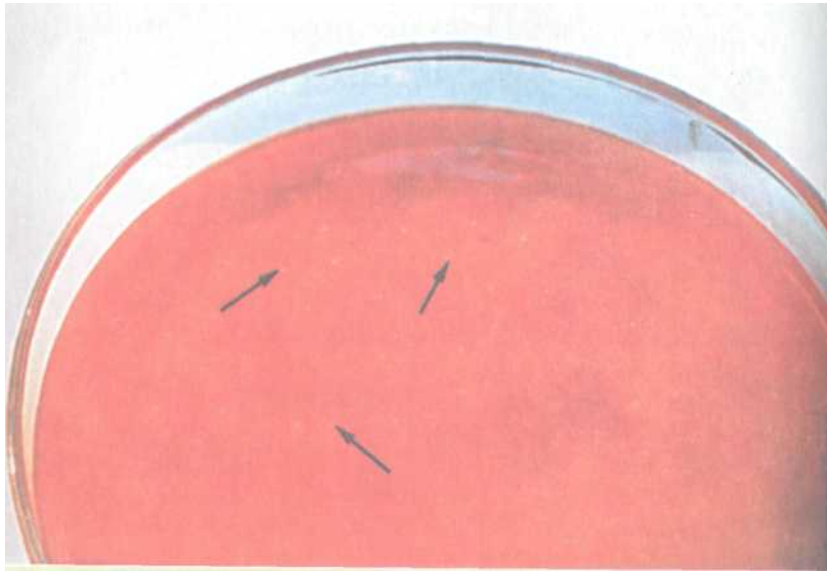


Рис. 32. Колонии *Streptococcus pyogenes* на КА, окруженные зонами гемолиза [по: Поздеев, 2001]



Рис. 33. Колонии зеленающих стрептококков на КА. В центре - диск с пенициллином, ингибирующим рост α -гемолитических стрептококков [по: Поздеев, 2001]

В процессе хранения плодов и овощей, зерна и другой продукции растениеводства большое значение имеет предупреждение развития на ней микроорганизмов, которые могут неблагоприятно влиять на здоровье человека.

Санитарно-гигиенические требования, предъявляемые к производству, хранению и состоянию пищевых продуктов, базируются на принципах и методах санитарной микробиологии, лежащих в основе деятельности санитарно-эпидемиологической службы. Важными задачами этой службы являются разработка санитарных правил, норм и гигиенических нормативов по производству и хранению продукции, а также санитарно-микробиологический контроль качества пищевых продуктов, уровня санитарного состояния воды, воздуха, почвы и других объектов. Подразделения санитарно-эпидемиологической службы — центры Госсанэпиднадзора — осуществляют государственный контроль на закрепленных за ними территориях.

Знание основ санитарно-микробиологического контроля состояния окружающей среды, производства и качества пищевых продуктов необходимо специалистам сельского хозяйства особенно сейчас, когда в связи с интенсификацией сельского хозяйства, нарастающей урбанизацией и ростом численности населения ухудшается экологическая обстановка, нарушается биотическая среда человека.

14. Принципы санитарно-микробиологических исследований

Основной задачей санитарно-микробиологических исследований является определение безопасности использования продуктов питания, воды и других объектов. В связи с этим используются следующие **принципы санитарно-микробиологических исследований:**

1) **правильный отбор проб исследуемого материала.** При отборе проб нельзя допускать гибели или размножения в пробе исходных микро-

организмов, поскольку изменение их количественного и качественного состава может привести к неправильным выводам. При невозможности быстрого проведения анализа материал хранят в холодильнике, но не более 6–8 ч;

2) *отбор проб из разных участков исследуемого объекта (материала)*. Это необходимо в связи с тем, что микроорганизмы в объекте распределены количественно и качественно неравномерно;

3) *повторное взятие проб*. Дает возможность проводить анализ данных в динамике и позволяет получать более объективные результаты, поскольку состав микроорганизмов в воде, воздухе и других объектах сильно меняется во времени;

4) *применение только стандартных и унифицированных методов исследования*, соответствующих государственным стандартам (ГОСТу), методическим указаниям Минздрава РФ, что обеспечивает возможность получения сравнимых результатов;

5) *использование комплекса тестов*. Для получения разносторонней санитарно-микробиологической характеристики объекта всегда проводят несколько анализов, результаты которых взаимно дополняют друг друга (см. «Методы санитарно-микробиологических исследований»);

6) *комплексный характер заключительной оценки объекта*. Необходимо также учитывать физические, химические и органолептические показатели состояния объекта, так как они могут усиливать или снижать степень размножения микроорганизмов;

7) *точность обоснования выводов и заключений*. Санитарные микробиологи — сотрудники санитарно-бактериологических лабораторий центров Госсанэпиднадзора несут ответственность за предоставляемые ими выводы и заключения.

15. Методы санитарно-микробиологических исследований

Степень опасности объектов в микробиологическом отношении определяется наличием в них *патогенных*, т. е. болезнетворных, микроорганизмов и их количества. Термин «патогенность» (гр. *pathos* — страдание, болезнь; *genos* — род, происхождение) означает способность микроорганизмов-патогенов вызывать инфекционные заболевания. Экологической нишей патогенных бактерий служит организм человека или животных. После выделения патогенов во внешнюю среду они попадают в почву, водоемы, способны инфицировать пищевые про-

дукты, в том числе плоды, овощи, зерно. В результате эти объекты могут стать причиной заболеваний человека и животных.

В санитарной микробиологии используют прямой и косвенный методы обнаружения патогенных микроорганизмов во внешней среде.

15.1. Прямое обнаружение патогенов

Наиболее точным и надежным методом является посев исследуемого материала на специальные обогащенные питательные среды, предназначенные для выращивания патогенных микроорганизмов. Однако выявление возбудителей инфекционных болезней в объектах окружающей среды сопряжено с рядом проблем:

1) пул патогенных микроорганизмов во внешней среде вне эпидемических периодов обычно невелик и непостоянен;

2) патогены распределены в окружающей среде неравномерно, локально, что делает необходимым проведение многократных исследований в динамике;

3) конкурентные взаимоотношения между патогенными и сапротрофными микроорганизмами создают дополнительные проблемы, поскольку сапротрофы мешают развитию патогенов на питательных средах (в случае конкуренции исход взаимодействия зависит от начальной плотности конкурирующих популяций).

Следовательно, получение отрицательных результатов при прямом определении патогенных микроорганизмов в исследуемых объектах еще не дает основания с достоверностью утверждать, что возбудители заболеваний в них отсутствуют.

15.2. Методы косвенной индикации патогенов

В санитарно-микробиологических исследованиях чаще применяют методы косвенной индикации патогенов.

Они включают использование двух показателей степени опасности объектов:

1) общего микробного числа (ОМЧ);

2) содержания в объекте санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ).

Оба критерия отражают санитарно-микробиологическое состояние изучаемого объекта или материала.

Общее микробное число (ОМЧ). Это общее количество сапротрофных микроорганизмов в 1 г или 1 мл изучаемого объекта, выражаемое в КОЕ: КОЕ/г или КОЕ/мл в зависимости от физического со-

стояния объекта. Определяется обычно на мясопептонном агаре (МПА). На этой среде растут микроорганизмы, использующие органические соединения, т. е. ОМЧ дает количественное представление о загрязнении объекта органическими веществами. Чем выше ОМЧ, тем больше вероятность проникновения в объект и потенциально опасных микроорганизмов, поэтому ОМЧ чаще расценивают как показатель уровня загрязненности объекта органическими веществами, которые могут использовать и патогены. Однако возможно и несоответствие между ОМЧ и содержанием патогенов в объекте вследствие неравномерности его микробного обсеменения, наличия взаимобмена микроорганизмами с окружающей средой, а также из-за подавления патогенов сапротрофами вследствие конкурентных взаимоотношений. Для примера: в картофельных чипсах общее микробное число не должно превышать $1 \cdot 10^3$ КОЕ/г.

Санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ). Эти микроорганизмы содержатся в выделениях человека и животных, поэтому обнаружение СПМ во внешней среде отражает санитарное состояние объекта и косвенно свидетельствует о возможном присутствии патогенных микроорганизмов — возбудителей инфекционных заболеваний.

При санитарно-микробиологических исследованиях важно установить присутствие СПМ в объектах или материалах, определить их количество и сравнить с допустимым в соответствии с ГОСТом или другими нормативами содержания СПМ в исследуемых объектах. Такими количественными показателями служат титр и индекс.

Титр — это наименьший объем исследуемого материала (в миллилитрах) или его масса (в граммах), в которых обнаружена хотя бы одна клетка СПМ. Например, титр бактерий группы кишечной палочки (БГКП) для питьевой водопроводной воды составляет 300 мл, а для свежих быстрозамороженных овощей — 1 г.

Индекс — количество клеток СПМ, обнаруженных в определенном объеме (массе) исследуемого объекта: в 1 л для воды, молока и других жидких продуктов и в 1 г для почвы и плотных пищевых продуктов. При хранении плодоовощной продукции и продуктов ее переработки кроме санитарно-показательных микроорганизмов, необходимо контролировать содержание других микроорганизмов, способных оказать неблагоприятное влияние на качество продуктов и здоровье потребителей. Например, индекс плесневых грибов в сухофруктах не должен превышать $1 \cdot 10^2$ КОЕ/г.

Индекс - величина, обратная титру, поэтому оба критерия легко взаимно перерасчитывают по следующим формулам:

$$\text{для жидких веществ: титр} = \frac{1000}{\text{индекс}}; \text{ индекс} = \frac{1000}{\text{титр}};$$
$$\text{для твердых веществ: титр} = \frac{1}{\text{индекс}}; \text{ индекс} = \frac{1}{\text{титр}}.$$

В окружающую среду через кишечник и верхние дыхательные пути человека и теплокровных животных попадают многие микроорганизмы, однако не все они могут считаться санитарно-показательными.

СПМ должны соответствовать следующим требованиям (Кочемасова и др., 1987):

- 1) постоянно содержаться в выделениях человека или теплокровных животных и выделяться в окружающую среду в больших количествах;
- 2) не иметь других природных мест обитания, кроме организма человека и животных;
- 3) после выделения в окружающую среду сохранять жизнеспособность в течение сроков, близких срокам выживания патогенов, выводимых из организма теми же путями;
- 4) не размножаться в окружающей среде;
- 5) не изменять свои биологические свойства в окружающей среде;
- 6) быть достаточно типичными, что облегчает дифференциацию.

16. Основные группы санитарно-показательных микроорганизмов

На основании вышеуказанных свойств определены санитарно-показательные микроорганизмы кишечника и верхних дыхательных путей.

Санитарно-показательные микроорганизмы кишечника:

- 1) бактерии группы кишечной палочки (БГКП) — *Escherichia*, *Curobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* и некоторые другие роды;
- 2) энтерококки — *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*;
- 3) сульфитредуцирующие анаэробы — *Clostridium perfringens*;
- 4) бактерии группы протей — *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*;
- 5) термофильные бактерии;
- 6) кишечный и дизентерийный бактериофаги, или колифаги.

Санитарно-показательные микроорганизмы верхних дыхательных путей:

- 1) гемолитические стрептококки — *Streptococcus pyogenes*, *Str. viridans*;

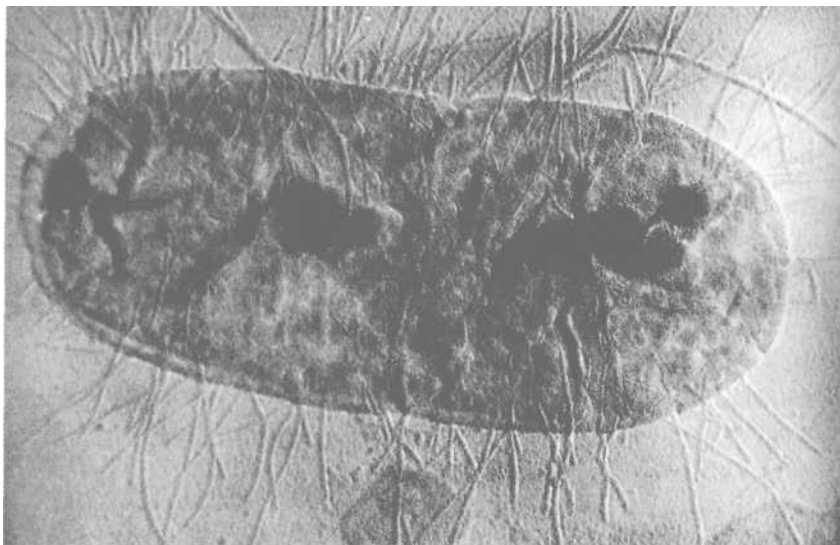


Рис. 3.1. Электронная микрофотография *Escherichia coli*, х 150 000. Видны жгутики и пили [по: Авакян и др., 1972]

2) золотистый стафилококк — *Staphylococcus aureus*.

СПМ, входящие в группу представителей микроорганизмов кишечника, указывают на фекальное загрязнение объектов, например воды, почвы, пищевых продуктов, различных предметов и т. п.

Если в исследуемом объекте обнаружены СПМ верхних дыхательных путей, то можно утверждать, что произошло биологическое загрязнение объекта выделениями из верхних дыхательных путей.

Большинство санитарно-показательных бактерий выращивают при температуре 37 °С.

Бактерии группы кишечной палочки (БГКП). Эти микроорганизмы являются основным показателем фекального загрязнения объекта. В данную группу входят палочковидные неспорообразующие грамотрицательные протеобактерии¹ родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Senatia* и некоторые другие. Особое положение среди БГКП занимает кишечная палочка — *Escherichia coli* (рис. 3.1, рис. 29 цв. вкл.), выделенная немецким бактериологом Т. Эшерихом в 1885 г.

¹ В соответствии с современной систематикой прокариот протеобактерии объединяют большинство грамотрицательных бактерий.

Считают, что, как и многие другие бактерии кишечника человека и теплокровных животных, она является *комменсалом*, т. е. организмом, питающимся за счет хозяина без особого для него ущерба. Однако кишечная палочка оказывает и полезное воздействие на кишечник макроорганизма: синтезирует витамины группы В, утилизирует остатки пищевых субстратов, является антагонистом по отношению к некоторым кишечным патогенам (такие взаимовыгодные отношения называют *мутуалистическими*). Эшерихии других видов обнаруживаются в кишечном содержимом пресмыкающихся, рыб и насекомых. БГКП являются показателем свежего (сравнительно недавнего) фекального загрязнения.

Допустимые количества БГКП в объектах и продуктах регламентируются санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами, причем существует ряд объектов, в которых БГКП быть не должно, в частности:

- 1) питьевая вода (артезианская, водопроводная хлорированная, колодезная) и вода дистиллированная, взятая из дистиллятора;
- 2) смывные воды при проведении контроля эффективности дезинфекционной обработки объекта не ранее 45 мин и не позднее 1 ч после обработки.

Бактерии рода *Enterococcus*. К санитарно-показательным относятся два вида этого рода — *Enterococcus faecalis* (рис. 3.2) и *E. faecium*. По морфологическим признакам это диплококки с клетками овальной или округлой формы, иногда располагаются цепочками; грамположительные; спор не образуют. Энтерококки так же, как и БГКП, считаются показателями свежего фекального загрязнения. Благодаря их более высокой устойчивости к действию физических и химических факторов они точнее отражают санитарное состояние объектов, поэтому тесту на присутствие в объектах энтерококков в санитарной микробиологии придают все большее значение.

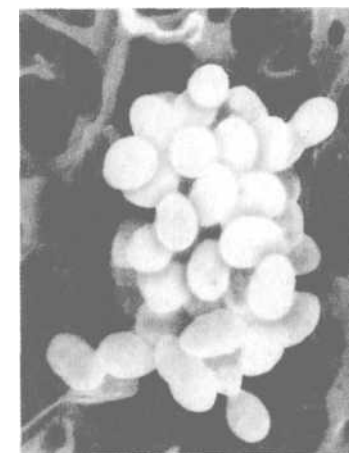


Рис. 3.2. *Enterococcus faecalis*, сканирующий электронный микроскоп, х 31 200

Нормативные документы Российской Федерации рекомендуют проводить определение численности энтеро-

кокков при исследовании воды в открытых водоемах, плавательных бассейнах с морской и пресной водой, сточных вод, почвы, предметов обихода.

Сульфитредуцирующие клостридии. *Clostridium perfringens* (рис. 3.3, рис. 30 цв. вкл.) восстанавливает сульфит до сульфида при температуре 43—45 °С. Это крупные неподвижные грамположительные анаэробные палочки с субтерминально или центрально расположенной спорой. Естественная среда обитания — кишечник человека и животных. С испражнениями клостридии попадают в почву, где могут длительно *персистировать* (сохраняться) в виде спор. Присутствие клостридий в определенном титре в окружающей среде свидетельствует о давнем фекальном загрязнении. Превышение допустимого титра *Clostridium perfringens* в пищевых продуктах и почве может косвенно служить индикатором наличия других опасных клостридий — возбудителей ботулизма и столбняка.

В нормативах РФ учет *перфрингенс-титра* предусмотрен при исследованиях почв, воды открытых водоемов, воды на предприятиях пищевой промышленности, некоторых пищевых продуктов, консервов.

Бактерии группы протей. Эти бактерии широко распространены в природе, участвуют в процессах минерализации азотсодержащих органических веществ. В небольших количествах протей присутствуют в кишечнике человека и животных, их обнаруживают в воде водоемов,

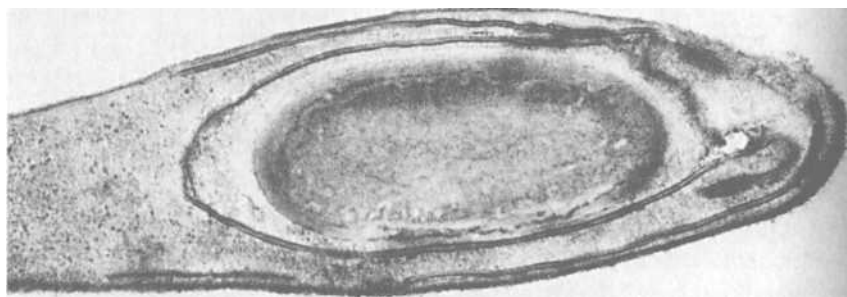


Рис. 3.3. Электронная микрофотография *Clostridium perfringens*, x 100 000 [по: Авакян и др., 1972]

в сточных водах, почве. Бактерии группы протей относят к роду *Proteus*, в состав которого входит несколько видов. Санитарно-показательное значение имеют *Proteus mirabilis* и *P. vulgaris* (рис. 3.4) — грамотрицательные протеобактерии, подвижные с перитрихально расположенными жгутиками; неспорообразующие факультативно-анаэробные палочки разной длины. Показателем фекального загрязнения объектов является *P. mirabilis*, он чаще обнаруживается в фекалиях. *P. vulgaris* — показатель загрязнения объекта органическими веществами и порчи пищевых продуктов, его чаще находят в гниющих остатках. Пищевые продукты и воду, содержащие палочки протей, употреблять нельзя.

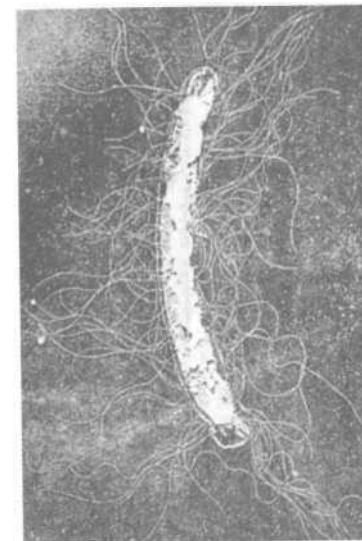


Рис. 3.4. *Proteus vulgaris*, электронная микрофотография [по: Пяткин, Кривошеин, 1980]

Термофильные микроорганизмы. Оптимальная температура для этих микроорганизмов составляет 58—60 °С (см. с. 18, 19). Термофилы встречаются среди представителей бактерий (кокков, бацилл, лактобацилл, спирилл, актиномицетов), микроскопических грибов. В фекалиях человека термофилов мало, значительно больше их в фекалиях крупного рогатого скота и других животных. Присутствие термофилов в почве, водоемах, в продуктах питания, консервах свидетельствует о загрязнении их навозом или компостом, также являющимися естественной средой для развития термофилов. По содержанию в объектах термофилов и других СПМ судят о сроках загрязнения, например наличие в почве большого количества термофилов при незначительном содержании БГКП характеризует давнее ее загрязнение навозом или компостами; напротив, высокий титр БГКП при малом количестве термофилов указывает на свежее фекальное загрязнение. Как правило, в незагрязненных органическими отходами почвах термофилы не встречаются.

Кишечный и дизентерийный бактериофаги — колифаги. В последнее время в качестве СПМ используют бактериофаги (см. с. 11) кишечных бактерий — эшерихий, шигелл, сальмонелл. *Колифаги* — ви-

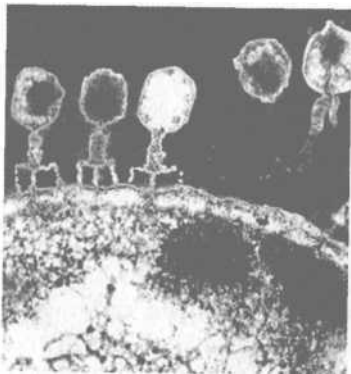


Рис. 3.5. Адсорбция бактериофага на поверхности клетки [по: Лебедева, 1960]

русы бактерий кишечной группы, лизирующие клетки своих хозяев во внешней среде (рис. 3.5). Колифаги считаются реальными показателями фекального загрязнения, поскольку их обнаружение свидетельствует о присутствии бактерий кишечной группы. Все большее значение колифаги приобретают и как косвенные индикаторы вирусного загрязнения воды. Колифаги и кишечные вирусы в значительных количествах выделяются с фекалиями человека, имеют практически одинаковую устойчивость и выживаемость в окружающей среде.

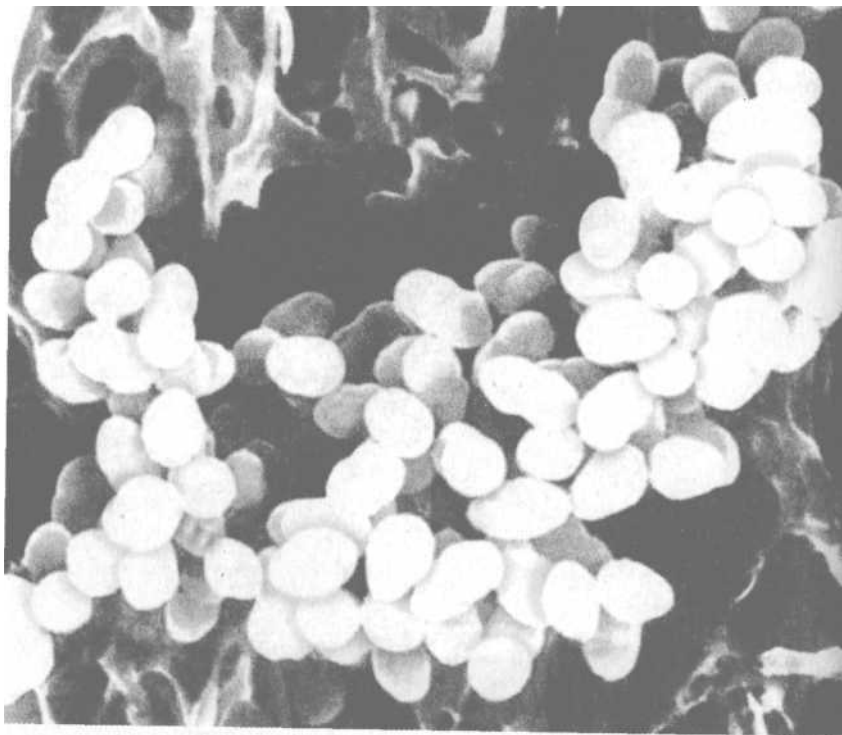


Рис. 3.6. *Staphylococcus aureus* — золотистый стафилококк, электронная сканирующая микроскопия, $\times 23\ 000$

Стафилококки. Они обитают на слизистых оболочках верхних дыхательных путей и на кожных покровах человека. Стафилококки служат показателями санитарного состояния воздуха, так как в окружающую среду попадают воздушно-капельным путем: со слюной и мокротой при разговоре, кашле, чихании, а также из гнойных ран. Стафилококки присутствуют и в кишечнике здоровых людей, поэтому могут загрязнять воды водоемов при купании. Относятся к роду *Staphylococcus*. Это шаровидные грамположительные бактерии, неподвижны, образуют скопления клеток, напоминающие гроздья винограда. Род *Staphylococcus* представлен несколькими видами, но санитарно-показательное значение имеет только *Staphylococcus aureus* — золотистый стафилококк, обладающий гемолитическими свойствами (рис. 3.6, рис. 31 цв. вкл.). При употреблении пищевых продуктов (молочных, мясных, изделий с кремом, мороженого), обсемененных золотистым стафилококком, возникают пищевые отравления вследствие накопления в продуктах энтеротоксина. *S. aureus* рекомендуется в качестве санитарно-показательного микроорганизма воздуха закрытых помещений, его определяют в воде плавательных бассейнов и в пищевых продуктах.

Стрептококки. Относятся к роду *Streptococcus*. Морфологически это грамположительные шаровидные бактерии, образующие цепочки разной длины (рис. 3.7). Стрептококки распространены в организме животных и человека (около 20 видов), среди них есть и возбудители опасных инфекционных заболеваний — скарлатины, рожи, ангины. Стрептококки обитают преимущественно в верхних дыхательных путях, в больших количествах присутствуют в полости рта, носа, в носоглотке больных и здоровых людей и поэтому могут попадать в воздух помещений со слюной при разговоре, кашле, чихании. Санитарно-показательное значение имеют гемолитические стрептококки, вызывающие лизис красных кровяных телец — эритроцитов, т. е. гемолизи-

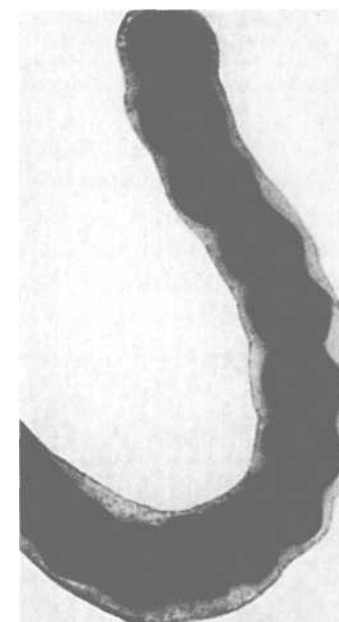


Рис. 3.7. *Streptococcus pyogenes*. Длинная цепочка, окруженная капсулой, $\times 23\ 000$ [по: Авакян и др., 1972]

рующие кровяной агар. Существуют α -гемолитические стрептококки (*Streptococcus viridans*), которые не полностью разрушают эритроциты крови и приводят к позеленению кровяного агара (*зеленящие стрептококки*), и β -гемолитические стрептококки (*Streptococcus pyogenes*) (рис. 32,33 цв. вкл.), полностью гемолизирующие кровяной агар и часто выявляющиеся у лиц с острыми и хроническими заболеваниями верхних дыхательных путей. Для оценки санитарного состояния воздуха закрытых помещений определяют суммарно α - и β -гемолитические стрептококки.

Итак, присутствие в определенном титре санитарно-показательных бактерий в окружающей среде свидетельствует о ее загрязнении выделениями человека или животных. Каждый объект внешней среды (вода, воздух, пищевые продукты и т. п.) исследуют на присутствие определенных СПМ, регламентированных санитарными нормативами РФ (табл. 3.1).

Таблица 3.1. Санитарно-показательные микроорганизмы, определяемые в объектах окружающей среды

Исследуемые объекты	Санитарно-показательные микроорганизмы
Воздух	Гемолитические стрептококки Золотистый стафилококк
Вода	БГКП Энтерококки Золотистый стафилококк
Почва	БГКП Энтерококки Клостридии (<i>C. perfringens</i>) Термофилы
Пищевые продукты	БГКП Энтерококки Золотистый стафилококк Бактерии группы протей

Из рассмотренных санитарно-показательных микроорганизмов для характеристики безопасности и качества растениеводческой продукции и продуктов ее переработки чаще определяют БГКП, сульфитредуцирующие клостридии, стафилококки, бактерии группы протей.

17. Условно-патогенные микроорганизмы

В зависимости от взаимоотношений с макроорганизмом-хозяином существуют непатогенные, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы. Если *непатогенные* микроорганизмы практически безвредны, *патогенные* вызывают инфекционные заболевания, то *условные патогены* занимают промежуточное положение, поскольку их способность вызывать болезни зависит от резистентности хозяина, состояния его защитной (иммунной) системы.

Условно-патогенные микроорганизмы называют также *микробами-оппортунистами* (лат. *opportunus* — удобный, выгодный), так как они способны вызывать гнойно-воспалительные заболевания (ангины, циститы, отиты, менингиты, сепсисы и др.) у людей с пониженным статусом иммунитета, например перенесших тяжелую хирургическую операцию, страдающих длительными хроническими заболеваниями, а также получивших дозу ионизирующего излучения и т. п. К возбудителям таких заболеваний относятся микроорганизмы, обитающие в организме человека и в природной среде и обладающие слабой патогенностью для человека: стафилококки, стрептококки, эшерихии, палочки протей, псевдомонады и др.

Для того чтобы условно-патогенные микроорганизмы вызвали заболевание, необходимы два условия:

- 1) очень большая концентрация условных патогенов;
- 2) резко сниженная естественная сопротивляемость (иммунная защита) макроорганизма.

Оппортунистические инфекции нередко называют *аутоинфекциями*, или *эндогенными инфекциями*, так как многие микроорганизмы-оппортунисты входят в состав естественного (нормального) микробного комплекса тела человека.

18. Микроорганизмы тела человека

Более 500 видов микроорганизмов колонизируют поверхность тела человека и внутренние полости, сообщаемые с окружающей средой. Эти микроорганизмы составляют *нормальную микрофлору*¹ че-

¹ Термин «микрофлора» с середины XX в. в микробиологической литературе применять не принято, поскольку флора — это совокупность растений какой-либо территории, а микроорганизмы — не растения. Однако, в связи с тем что в медицинской и санитарной микробиологии термин по-прежнему используется, его употребление в данном разделе уместно.

ловека и находятся в состоянии равновесия и взаимодействия друг с другом и с организмом человека.

Новорожденный ребенок полностью стерилен, поскольку развивается в полости матки матери в стерильных условиях. К концу третьего месяца жизни у него формируется нормальная микрофлора, сходная с микрофлорой взрослого человека. В результате возникает единая система — организм человека и населяющие его микроорганизмы. Всего в организме взрослого человека обитает около 10^{14} клеток различных микроорганизмов: бактерий, микроскопических грибов, дрожжей, вирусов. Различают *резидентные* (постоянные) микроорганизмы, всегда присутствующие в макроорганизме, и *транзиторные* (непостоянные), которые не способны к длительному существованию в макроорганизме. К транзиторным микроорганизмам можно отнести и патогенные микроорганизмы, вызывающие инфекционные заболевания. Однако присутствие в организме патогена не всегда приводит к развитию заболевания, что связано с состоянием защитных факторов организма, уровнем его иммунного статуса. Воздействию защитных сил макроорганизма подвергаются не только патогены, но и все микроорганизмы тела человека независимо от их вирулентных свойств.

У здорового человека микроорганизмы отсутствуют в крови, спинномозговой жидкости, в печени, почках и других внутренних органах.

Кожные покровы обильно заселены микроорганизмами, и это во многом определяет распространение микроорганизмов в воздухе. В результате отшелушивания эпителия миллионы клеток микроорганизмов попадают в воздух и загрязняют окружающую среду. На коже человека преобладают пропионовокислые бактерии (преимущественно *Propionibacterium acnes*). В значительных количествах на поверхности кожи встречаются стафилококки *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, стрептококки, дрожжи рода *Candida*, реже — микрококки и коринебактерии. На поверхности кожи взрослого человека содержится от 85 млн до 1 млрд клеток микроорганизмов. Увеличению количества микроорганизмов на коже препятствуют ее кислая реакция, а также бактерицидные факторы кожи — α -глобулин, иммуноглобулины А и G, лизоцим и другие антимикробные вещества. При несоблюдении гигиенических правил на грязной коже происходит усиленный рост микроорганизмов: на 1 см^2 кожи их число может достигать миллиона. При снижении уровня иммунитета, чрезмерной потливости, травмах размножающиеся микроорганизмы вызывают гнилостное разложение органических веществ, выделяемых сальными и потовыми железами, нагноительные процессы, сопровождающиеся неприятным запахом тела.

Полость рта считается благоприятной средой для микроорганизмов, так как в слюне — питательном для них субстрате — содержатся белки, аминокислоты, углеводы, липиды и другие необходимые вещества. С другой стороны, в слюне имеются антимикробные вещества (лизоцим и другие ингибирующие соединения), которые сдерживают развитие микроорганизмов. Чаще встречаются зеленящие стрептококки, а также бактероиды (род *Bacteroides*), бифидобактерии, лактобациллы и лактококки, спирохеты, стафилококки, дрожжи (*Candida*), простейшие. Микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности образуют зубной налет, способный привести к порче зубов и десен.

В верхних дыхательных путях обнаруживаются стрептококки, стафилококки, дифтероиды, псевдомонады, непатогенные нейссерии. Они попадают в верхние дыхательные пути с пылевыми частицами, большая часть которых задерживается в носо- и ротоглотке. С каждым вдохом человек поглощает от 1500 до 14 000 и более микробных клеток. В выдыхаемом воздухе их количество уменьшается в десятки—сотни раз. Трахея, альвеолы легких и конечные ветви бронхов здорового человека не содержат микроорганизмов.

Микроорганизмов в мочеполовой системе меньше, но состав их достаточно разнообразен. В нижних отделах встречаются стафилококки, стрептококки, коринебактерии, микобактерии, дрожжи и другие микроорганизмы. Верхние отделы мочевыводящих путей обычно стерильны.

Микроорганизмы в пищевode здоровых людей отсутствуют или их там крайне мало.

В желудке в связи с кислой реакцией среды численность микроорганизмов не превышает 10^3 КОЕ/мл. Присутствуют кислотоустойчивые микроорганизмы: эукарии (дрожжи, грибы), молочнокислые бактерии. Появление гнилостных бактерий свидетельствует о нарушении нормальной функции желудочной секреции. При гастритах и язве желудка часто выявляется изогнутая палочка *Helicobacter pylori*, в настоящее время ее считают причиной этих заболеваний.

В тонком кишечнике микроорганизмов немногим больше, чем в желудке, но качественный состав представлен преимущественно грамположительными бактериями: лактобациллами, энтерококками, бифидобактериями и в меньшей степени — грамотрицательными бактериями: кишечными палочками, бактероидами. Размножению бактерий препятствуют бактериостатическое действие желчи, иммуноглобулины и пищеварительные ферменты.

Микроорганизмы толстого кишечника по численности и многообразию превосходят все другие органы тела человека, их содержащие. Суммарно в кишечнике взрослого человека находится более 1 кг микроорганизмов. За сутки взрослый человек выделяет с экскрементами до 17 триллионов микробных клеток. Такое обилие обусловлено благоприятными для микроорганизмов условиями: рН, температурой, наличием питательных веществ, отсутствием лизоцима.

Кишечник новорожденного ребенка стерилен, но в первые дни жизни в толстом кишечнике начинают развиваться разнообразные, в том числе и гнилостные бактерии. Далее при питании грудным молоком гнилостные бактерии исчезают и появляется микробный комплекс, содержащий преимущественно кислотофильную палочку *Lactobacillus acidophilus* и бифидобактерии. С переходом на смешанное вскармливание формируется постоянное микробное сообщество.

Основную массу микроорганизмов толстого кишечника здорового человека составляют бифидобактерии и бактероиды (96—99%). Присутствуют также бактерии группы кишечной палочки (БГКП), энтерококки и лактобациллы (1—4%). Еще меньшую долю составляет так называемая *остаточная микрофлора* (0,01—0,001%), к которой принадлежат стафилококки, палочки протей, дрожжи рода *Candida*, *Clostridium perfringens* и другие виды клостридий, псевдомонады. Могут временно или постоянно обнаруживаться и вызывать кишечные инфекции представители родов *Salmonella*, *Shigella* и другие патогенные бактерии. Встречаются также простейшие, вирусы, бактериофаги.

Микробное сообщество толстого кишечника имеет огромное значение для жизнедеятельности человека. Оно является антагонистом гнилостных и патогенных микроорганизмов, играет важную роль в водно-солевом обмене, в процессах пищеварения, регуляции газового состава кишечника, продукции ферментов, витаминов, антибиотиков, токсинов, разрушении канцерогенных веществ в кишечнике, формировании и поддержании иммунитета.

Таким образом, нормальная микрофлора тела человека, населяющая кожные покровы и слизистые оболочки, образует с макроорганизмом мощную единую систему взаимодействий, поддерживающую динамическое равновесие. Нормальная микрофлора является одним из важных факторов естественной резистентности, она препятствует размножению в организме других, в том числе и патогенных, микроорганизмов. По мнению И. И. Мечникова, «...природа пользуется конкуренцией безобидных микробов, чтобы помешать поселению патогенных микробов». Однако, как уже отмечалось, практически все представители нормальной микрофлоры при воздействии факторов,

снижающих естественную устойчивость макроорганизма, могут вызывать гнойно-воспалительные процессы различной локализации (см. «Условно-патогенные микроорганизмы»). Кроме того, некоторые микроорганизмы кишечника и верхних дыхательных путей служат в качестве санитарно-показательных микроорганизмов индикаторами загрязнения воды, почвы, воздуха, продуктов питания и других объектов окружающей среды.

19. Учение об инфекции

Термин *инфекция* (лат. *inficere* — заражать, портить) означает сложный комплекс процессов взаимодействия микро- и макроорганизма в конкретных условиях внешней среды, который имеет следующие проявления:

- 1) явный или скрытый инфекционный процесс;
- 2) временное носительство микроорганизмов макроорганизмом;
- 3) длительное персистирование (пребывание) возбудителя в макроорганизме.

Отсюда следует, что развитие инфекционной болезни зависит не только от свойств возбудителя, но во многом и от состояния макроорганизма, которое, в свою очередь, определяется условиями его существования.

Отличия инфекционных болезней от других заболеваний состоят в следующем:

- 1) инфекционные болезни вызывают живые возбудители;
- 2) для этих возбудителей характерны:
 - а) заразность;
 - б) наличие инкубационного (скрытого) периода;
 - в) специфические реакции организма на внедрение возбудителя;
 - г) выработка макроорганизмом иммунитета как ответная реакция на внедрение микроорганизма.

Организм человека, животного или растения, находящийся в состоянии инфекции, называют *инфицированным*, а предметы окружающей среды, на которые попали возбудители, — *контаминированными*, или загрязненными.

19.1. Патогенность и вирулентность микроорганизмов

Очень немногие (приблизительно 1/30 000 часть всех известных) микроорганизмы представляют угрозу для людей и называются *патогенными*, т. е. вызывающими инфекционные заболевания. Считается,

что патогенные микроорганизмы произошли от сапротрофных, приспособившихся в процессе эволюции к паразитическому существованию в различных тканях и органах животных и растительных организмов. Такое приспособление могло произойти в результате действия различных механизмов: адаптации, передачи плазмид с генами, придающими бактериям патогенные свойства, а также действия специальных систем, перестраивающих метаболизм микробной клетки с сапротрофного на паразитический. Этим объясняется, например, факт наличия наряду с микобактериями, вызывающими туберкулез человека, также микобактерий, патогенных для теплокровных животных, для холоднокровных и, наконец, микобактерий-сапротрофов, обитающих в воздухе, воде, на слизистых оболочках организма человека. Другими словами, существуют виды, патогенные для разных живых организмов, и виды непатогенные.

Таким образом, патогенность — это видовой признак микроорганизмов, который передается по наследству и закреплен в геноме, т. е. это генотипический признак. Однако, по современным представлениям, патогенность — свойство, широко распространенное у самых разных микроорганизмов, которое может проявляться регулярно, периодически или случайно. Например, патогенность условно-патогенных микроорганизмов для человека и теплокровных не является необходимым условием существования, а определяется иммунным статусом макроорганизма. Патогенность в отношении человека и животных могут проявлять также истинные сапротрофы — обитатели почв и водоемов.



Рис. 3.8. Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis*. Крупные капсулированные палочки, располагающиеся цепочками [по: Поздеев, 2001]

Патогенность неодинаково проявляется у разных представителей одного вида. Для оценки степени патогенности используют термин *вирулентность* (лат. *virulentus* — ядовитый). Если термин «патогенность» применяют в отношении видов микроорганизмов, то термин «вирулентность» — в отношении штаммов внутри видов.

В целом «патогенность» и «вирулентность» — понятия близкие, однако под патогенностью понимают качественное проявление свойств вида, т. е. способность вызы-

вать болезнь, а под вирулентностью — количественную оценку, т. е. меру, степень патогенности. Вирулентность можно повышать и понижать. Путем селекции при определенных условиях можно получить и авирулентные штаммы. Так, Л. Пастер получил вакцину против сибирской язвы путем выращивания возбудителя при высокой температуре (42 °С). В результате произошла утрата плазмид, определяющих патогенность возбудителя сибирской язвы *Bacillus anthracis* (рис. 3.8).

Количественные показатели вирулентности выражаются в DLM (dosis letalis minima). DLM — минимальное количество микроорганизмов, которое способно вызвать гибель 80% опытных животных за определенный срок. Статистически наиболее достоверным критерием считается DL_{50} — доза патогенных микроорганизмов, убивающая половину зараженных животных.

19.2. Факторы патогенности бактерий

Бактерии считаются патогенными, если они могут:

- 1) инфицировать слизистые поверхности или поврежденные кожные покровы (зоны первичного инфицирования) макроорганизма;
- 2) проникать через них в организм хозяина;
- 3) размножаться внутри организма хозяина;
- 4) противодействовать защитным механизмам макроорганизма;
- 5) причинять организму хозяина вред.

Реализация этих действий возможна при наличии следующих **факторов патогенности** бактерий.

1. **Адгезия** (прикрепление) и **колонизация** (заселение) зоны первичного инфицирования. Адгезия основана на избирательном взаимодействии различных структур клеточной стенки бактерий — фимбрий, белков наружной мембраны, липополисахаридов и др., называемых *адгезинами*, с рецепторами эпителиальных клеток хозяина. Если возбудитель не способен прикрепиться к клетке хозяина, то реализовать свою патогенность он не сможет. Кроме этого, патогенная бактерия должна противодействовать иммунным факторам макроорганизма, лишая их антиадгезивного эффекта. После прикрепления к клетке хозяина возбудитель активно размножается и колонизирует поверхностные ткани (хозяина). Положительную роль для осуществления адгезии играют хемотаксис и наличие у бактерий жгутиков.

2. **Инвазия** (проникновение в клетку хозяина), т. е. выход за пределы зоны первичной колонизации. Инвазия осуществляется с помощью различных механизмов, к которым относятся: действие ферментов, способных разрушить цитоплазматическую мембрану; обра-

зование особых токсинов, ингибирующих белковый синтез клетки и этим подавляющих клеточную активность. С другой стороны, активными защитниками эукариот являются *фагоциты* — специализированные клетки соединительной ткани человека и животных, способные к *фагоцитозу*, т. е. захвату и поглощению инородных микробных объектов. Сопrotивляясь, патогены могут разрушить фагоциты токсинами или изменить их функции таким образом, что фагоциты становятся неспособными к дальнейшей защите организма. Капсула бактерий предохраняет их от взаимодействия с фагоцитами. Патогенные бактерии (например, сибиреязвенная палочка *Bacillus anthracis*, возбудитель чумы *Yersinia pestis*) образуют капсулу только находясь внутри макроорганизма; при попадании во внешнюю среду они ее теряют. У стафилококков фермент плазмокоагулаза образует вокруг клеток белковую пленку, защищающую стафилококки от фагоцитоза.

В случае подавления защитных факторов макроорганизма и вторжения патогенных микроорганизмов в его ткани и органы формируются вторичные очаги инфекции.

3. **Токсинообразование** является ведущим фактором патогенности микроорганизмов. *Токсины* (гр. *toxikon* — яд) — продукты жизнедеятельности микроорганизмов, которые в очень малых дозах вызывают повреждения клеток макроорганизма. При развитии многих заболеваний (дифтерия, холера, сибирская язва, ботулизм, столбняк) именно токсины определяют основные их симптомы. Однако роль токсинов не ограничивается только инфекциями. В природе токсины используются как средство антагонизма в микробных сообществах (холерный токсин ингибирует некоторые бактерии), а также в качестве защиты хозяина от хищников в почвенных и водных экосистемах (например, токсины цианобактерий защищают их от поедания рыбами и беспозвоночными животными).

Токсины подразделяют на экзотоксины и эндотоксины.

Экзотоксины продуцируют грамположительные и грамотрицательные бактерии: возбудители ботулизма *Clostridium botulinum*, столбняка *Clostridium tetani*, чумы *Yersinia pestis*, холеры *Vibrio cholerae*, сибирской язвы *Bacillus anthracis*; некоторые виды шигелл, гемолитических стрептококков, стафилококков и др. Они обладают резко выраженной токсичностью и действуют на восприимчивый организм в малых дозах. Самые сильные природные токсины — это токсины микробного происхождения. Самый мощный из них — ботулиновый токсин, 6 кг которого хватило бы, чтобы уничтожить все человечество. Другие экзотоксины также весьма действенны: 1 мг столбнячного токсина уби-

вает 150 млн мышей, а такое же количество дифтерийного токсина губительно для 150 тыс. морских свинок.

Экзотоксины синтезируются в период активного роста бактериальной клетки, аккумулируются в цитоплазме и затем секретируются в окружающую среду. Они обладают избирательным действием на ткани и органы. Так, столбнячный экзотоксин поражает только двигательные нервные клетки.

По химической структуре экзотоксины — вещества белковой природы. Ботулиновый, стафилококковый и некоторые другие экзотоксины термостабильны и выдерживают кипячение в течение нескольких минут. Термостабильность этих экзотоксинов сопряжена с устойчивостью в высушенном состоянии к свету и кислороду. Есть и термолабильные экзотоксины.

Экзотоксины — сильные *антигены*, которые индуцируют образование в макроорганизме *антител* — веществ, обладающих антиоксидантным действием. При обработке некоторыми химическими реагентами, например формалином, экзотоксины обезвреживаются и превращаются в анатоксины. Анатоксины не токсичны, однако сохраняют способность к индукции синтеза антител, поэтому используются для создания искусственного иммунитета против столбняка, ботулизма, дифтерии и ряда других заболеваний.

Эндотоксины имеются только у грамотрицательных протеобактерий (сальмонелл, некоторых видов шигелл, нейссерий). Отличаются от экзотоксинов меньшей избирательностью действия, меньшей токсичностью, большей термостабильностью. По химической природе — это комплекс липополисахаридов (ЛПС) и связанных с ними белков. Как установлено, токсичность эндотоксинов обусловлена так называемым липидом А, входящим в состав ЛПС. Эндотоксины локализованы в наружной мембране, выделяются во внешнюю среду только после разрушения бактерий и накапливаются в среде при массовой гибели бактериальных клеток. Токсическое действие эндотоксинов в организме проявляется в форме различных воспалительных процессов, диареи, ухудшения сердечной деятельности, в понижении температуры тела. Неспецифичность действия эндотоксинов связана с индукцией в организме синтеза многих биологически активных соединений, которые вызывают нарушения в различных органах и тканях.

ЛПС-эндотоксины обладают антигенными свойствами, но при обработке формалином токсигенность не утрачивают и в анатоксин не превращаются.

Факторы патогенности бактерий (адгезия, колонизация, инвазия, токсинообразование) детерминируются хромосомными и плазмидными

ми генами. Информация об эндотоксинах заложена в бактериальной хромосоме (ДНК), а способность к образованию экзотоксинов контролируется внехромосомными генами — tox-генами плазмид и умеренных фагов. В связи с легкостью самопереноса плазмид из клетки в клетку способность к токсинообразованию может утрачиваться, что не влияет на жизнеспособность бактерий. Поэтому биологический смысл токсинообразования до конца не выяснен. Предполагается, что способность бактерий синтезировать токсины может быть связана с сигнальными функциями в популяциях.

19.3. Классификация патогенных для человека микроорганизмов

В соответствии с Санитарными правилами 1.2.036-95, утвержденными Госкомсанэпиднадзора РФ (даются в сокращенном варианте), все болезнетворные для организма человека микроорганизмы разделены на 4 группы в зависимости от степени их опасности для человека. В приведенной классификации учтены также биологические яды — токсины, выделяемые микроорганизмами, и яды других живых существ. Самой опасной считается I группа.

I группа. Возбудитель чумы, вирус натуральной оспы, вирус Эбола.

II группа. Возбудители холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза, сапа, мелиоидоза; возбудители грибковых заболеваний — гистоплазмоза, бластомикоза; вирусы гепатитов С, В, D, вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2); биологические яды — ботулиновый токсин всех типов, столбнячный токсин, яд паука каракурта.

III группа. Возбудители кишечных инфекций — брюшного тифа, дизентерии, листериоза, иерсиниоза; возбудители туберкулеза, дифтерии, ботулизма, столбняка, менингита, сифилиса; возбудители грибковых заболеваний — аспергиллеза, кандидоза; вирусы гриппа А, В и С, вирусы гепатитов А и Е; микотоксины, стафилококковый и стрептококковый токсины, яды змей (кобры, эфы, гюрзы и др.).

IV группа. Возбудители токсикоинфекций и острых бактериальных отравлений — стафилококки, вибрионы, клостридии, протей и др.; сальмонеллез — сальмонеллы; энтеритов — эшерихии; возбудители амебиаза; возбудители вирусных заболеваний — ОРВИ, пневмоний, кори, ринитов.

При санитарно-микробиологическом исследовании объектов окружающей среды, в частности при анализе растениеводческой продукции и продуктов ее переработки, чаще определяют микроорганизмы III и IV групп.

19.4. Основные источники инфекции

Основным источником инфекции является больной человек или бактерионоситель. Даже после выздоровления человек иногда остается носителем патогенных бактерий на более или менее длительный срок и выделяет их во внешнюю среду со слюной, при чихании, с испражнениями, способствуя распространению патогенных бактерий. Такое носительство возникает, в частности, после перенесенных кишечных инфекций — дизентерии, брюшного тифа, холеры и некоторых других. Животные, а также природные объекты — вода, почва, растения — также являются естественными резервуарами патогенных микроорганизмов.

В зависимости от источника инфекции различают следующие **группы инфекционных заболеваний:**

1) **антропонозы**, которыми болеют только люди (дифтерия, брюшной тиф, дизентерия, холера, гонорея, сифилис, полиомиелит и др.);

2) **зооантропонозы**, которыми болеют и животные, и люди, заражающиеся от животных (бруцеллез, лептоспироз, чума, сальмонеллез, туляремия, вирусно-клещевые энцефалиты и др.). При многих зооантропонозах дополнительными переносчиками возбудителей являются клещи и другие кровососущие членистоногие. Поэтому человек может заразиться и через укусы кровососущих, и в результате контакта с инфицированными животными. От человека к человеку зооантропонозы не передаются (исключения — чума, сальмонеллез);

3) **зоонозы**, которыми болеют только животные и практически не болеют люди (чума свиней, собачья чумка и др.);

4) **сапронозы** — инфекции, возбудители которых обитают во внешней среде и могут вызывать заболевания человека: легионеллез, столбняк (рис. 3.9), листериоз и др. Человек от человека при сапронозах не заражается; источниками возбудителей являются почва и водоемы. Экспериментально доказано, что основным звеном в цепи переноса возбудителей инфекционных заболеваний в природе являются растения, откуда возбудители попадают в организм животных и человека.



Рис. 3.9. *Clostridium tetani* — возбудитель столбняка. Имеет вид «барабанной палочки» за счет терминально расположенной споры, $\times 1\ 800$ [по: Поздеев, 2001]

19.5. Пути передачи инфекции

Возбудители инфекционных болезней могут проникнуть в организм человека через поврежденную кожу и слизистые оболочки глаз, органов дыхания и пищеварения, мочеполовой системы. Неповрежденная здоровая кожа труднопроницаема для большинства микроорганизмов. Место проникновения возбудителя в организм человека или животного называется *входными воротами инфекции*.

Существуют **несколько путей заражения человека**:

- 1) *алиментарный*, или *пищевой*, — при употреблении контаминированной пищи;
- 2) *водный* — при использовании для питья, купания, хозяйственно-бытовых нужд воды, зараженной возбудителями инфекционных заболеваний;
- 3) *контактно-бытовой* — через грязные руки, контаминированную посуду, предметы;
- 4) *воздушно-капельный* или *воздушно-пылевой* — через воздух, в котором патогенные микроорганизмы находятся в виде **капельных аэрозолей**, когда капельки слизи попадают в воздух при чихании, кашле, или **пылевых аэрозолей** — при высыхании капелек слизи.

Кроме вышперечисленных, существуют *трансмиссивный* (через укусы кровососущих), *раневой*, *половой* и другие пути передачи инфекционных заболеваний.

20. Кишечные инфекционные заболевания и пищевые отравления, возникающие при употреблении недоброкачественной продукции растениеводства и других продуктов питания

20.1. Кишечные инфекционные заболевания

К наиболее распространенным кишечным инфекциям относятся бактериальная дизентерия, или шигеллез, брюшной тиф и паратифы, сальмонеллез, холера, кишечный иерсиниоз, листериоз, амёбная дизентерия, или амёбиаз. Причиной этих заболеваний могут быть больные люди и животные, бактерионосители, инфицированная вода, пищевые продукты, в том числе овощи, плоды и ягоды.

В отличие от пищевых отравлений кишечные инфекции заразны, характеризуются единым способом заражения — фекально-оральным.

Пути передачи кишечных инфекций — *водный*, *алиментарный* (пищевой) и *контактно-бытовой*.

Бактериальная дизентерия. Вызывается бактериями рода *Shigella* и поэтому другое название болезни — *шигеллез*. Дизентерия — антропонозное заболевание. Источник инфекции — больной человек с острой или хронической формой болезни; животные в естественных условиях дизентерией не болеют. Заражение происходит через рот при употреблении контаминированных пищевых продуктов, особенно молочных, воды, через грязные руки, мух, зараженные шигеллами предметы.

Выживание шигелл в окружающей среде зависит от температуры. На поверхности почвы летом они сохраняют жизнеспособность 2—3 дня, в более глубоких слоях — до 20 дней. Зимой в почве шигеллы живут до 3 месяцев. В речной воде летом они выживают 35—60 дней. На овощах и фруктах шигеллы живут в среднем 1—2 недели: на огурцах, малине — до 4 дней; на яблоках, редисе, зеленом луке, салате — 5—6 дней; на томатах — до 7 дней; на смородине — до 11 дней. Прямые солнечные лучи губительны для возбудителей дизентерии: они погибают через 30 мин. При довольно высокой устойчивости в окружающей среде шигеллы обладают слабой резистентностью к дезинфицирующим средствам и быстро погибают под действием хлорамина и хлорной извести.

Род *Shigella* представлен несколькими видами: *Sh. dysenteriae* (рис. 29 цв. вкл.), *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* (рис. 3.10). Морфологически



Рис. 3.10. Электронная микрофотография *Shigella flexneri* — возбудителя дизентерии [по: Пяткин, Кривошеин, 1980]

это короткие грамтрицательные неспорообразующие неподвижные палочки. Все шигеллы выделяют эндотоксины, а *Sh. dysenteriae* — еще и экзотоксин, что усиливает тяжесть заболевания, вызываемого этим видом.

Через желудочно-кишечный тракт шигеллы попадают в толстую кишку и размножаются, не проникая в кровь. При разрушении бактерий высвобождается эндотоксин, обуславливающий общую интоксикацию организма повышением температуры тела, диареею. Если болезнь вызвана *Sh. dysenteriae*, то интоксикация еще более усиливается за счет выделяющегося экзотоксина, нарушается деятельность центральной нервной системы. В очагах дизентерийной инфекции для экстренной профилактики применяют дизентерийный бактериофаг. После перенесенной болезни формируется кратковременный иммунитет, поэтому возможны повторные заболевания, часто переходящие в хроническую форму. Заболеваемость возрастает в июле—сентябре.

Брюшной тиф и паратифы. Это острые кишечные инфекции, похожие по клиническим проявлениям и вызываемые сальмонеллами — короткими грамтрицательными неспорообразующими палочками, обладающими активной подвижностью (перитрихи). Возбудителем брюшного тифа является *Salmonella typhi* (рис. 3.11), возбудителями паратифов — *S. paratyphi* и *S. schottmuelleri*. Брюшной тиф характеризуется глубокой общей интоксикацией, проявляющейся в виде сильных головных болей, помрачения сознания, повышения температуры тела, бреда, поражения лимфатического аппарата тонкого кишечника, острой диареи. Паратифы протекают менее тяжело.

Сальмонеллы через рот и желудок (если не погибнут в желудке из-за высокой кислотности) попадают в лимфатические образования тонкого кишечника, где размножаются и затем проникают в кровь. С кровью они попадают в различные органы тела — селезенку, печень, почки, костный мозг. После разрушения бактерий выделяется эндотоксин, вызывающий выраженную интоксикацию организма человека. Тяжелыми осложнениями брюшного тифа являются прободение стенки кишки, перитонит (воспаление брюшины), кишечное кровотечение в результате некроза лимфатических узлов тонкого кишечника. После перенесенной болезни вырабатывается стойкий и продолжительный иммунитет.

Брюшной тиф и паратифы — антропонозные инфекции. Пути передачи инфекций — чаще водный, а также алиментарный и контактно-бытовой (через грязные руки). Возбудители этих заболеваний хо-

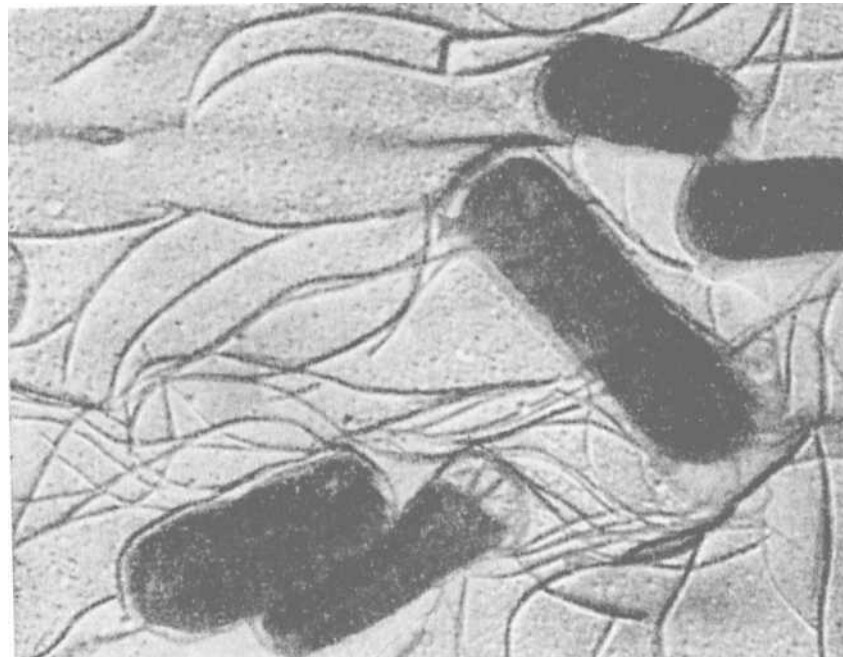


Рис. 3.11. Брюшнотифозная палочка, *Salmonella typhi*, х 45 000 [по: Лебедева, 1960]

рошо сохраняются в окружающей среде - воде, почве (до 9 мес) пыли (до 3мес). В холодной воде могут сохраняться до 1,5лет. Чувствительны к высокой температуре (при 70⁰С гибель наступает через 5-10 мин) и ультрафиолетовым лучам. В пищевых продуктах сохраняются в течение различного времени: в масле, сыре - до 3 месяцев, на овощах и фруктах - 5-10 дней. Так, на огурцах и томатах сальмонеллы сохраняют жизнеспособность до 9 дней, на винограде, крыжовнике - до 12 дней, яблоках - до 15, на землянике - 3-4 дня. Хлорирование водопроводной воды (1 мг/л) или ее озонирование защищают от сальмонелл и других кишечных патогенов. Высокая чувствительность сальмонелл к дезинфектантам обеспечивает гибель возбудителей в течение нескольких минут.

Профилактика брюшного тифа и паратифов заключается в проведении санитарно-гигиенических мероприятий, вакцинировании населения в эпидемически неблагополучных районах и применении для экстренной профилактики брюшнотифозного бактериофага. Наибольшая заболеваемость отмечается летом и осенью.

Сальмонеллез. Это острая кишечная инфекция, часто протекающая по типу пищевых отравлений (токсикоинфекций). Поражается преимущественно желудочно-кишечный тракт. Возбудители — представители рода *Salmonella*, исключая возбудителей брюшного тифа и паратифов. Род *Salmonella* насчитывает около 2500 видов, среди возбудителей сальмонеллезозов чаще встречаются *S. typhimurium*, *S. enteritidis*.

Сальмонеллез — зооантропонозная инфекция. Первичным источником служат животные: крупный рогатый скот, свиньи, птицы — утки, гуси, куры. Носителями сальмонелл могут быть мыши, голуби, тараканы и др. Реже источником заболевания являются люди — больные и бактерионосители. Путь передачи инфекции — пищевой.

Сальмонеллезы могут протекать с различными клиническими проявлениями: в виде пищевой токсикоинфекций, сальмонеллезной диареи и болезни, напоминающей брюшной тиф. Общим является поступление большого количества сальмонелл в кровь, их гибель и высвобождение эндотоксина, который обуславливает следующие симптомы: диарею, тошноту, рвоту, боли в животе. После болезни вырабатывается нестойкий (приблизительно в течение года) иммунитет.

По сравнению с возбудителями брюшного тифа и паратифов *S. typhimurium* и *S. enteritidis* обладают несколько большей устойчивостью к факторам окружающей среды и дезинфектантам. Эти возбудители становятся более резистентными к высоким температурам при нахождении в пищевых продуктах, особенно в мясе. Возбудители сальмонеллезозов активно размножаются в пищевых продуктах. Большую опасность представляют яйца зараженных птиц. Плоды и овощи тоже могут стать причиной сальмонеллезозов при несоблюдении санитарных правил их хранения и переработки.

Холера. Это острое антропонозное заболевание, сопровождающееся глубокой интоксикацией, поражением тонкого кишечника, нарушением водно-солевого обмена и обезвоживанием организма. Холера относится к особо опасным, карантинным инфекциям в связи с тенденцией к широкому эпидемическому распространению и высокой летальностью.

Возбудители холеры представлены двумя биологическими разновидностями {биовариантами} одного вида: *Vibrio cholerae (cholerae)* (рис. 3.12) и *Vibrio cholerae (eltor)*, или *вибрион Эль-Тор*, впервые обнаруженный на карантинной станции Эль-Тор в Египте.

Холерные вибрионы — короткие грамотрицательные неспорообразующие изогнутые палочки, монотрихи, очень подвижны. Они неус-

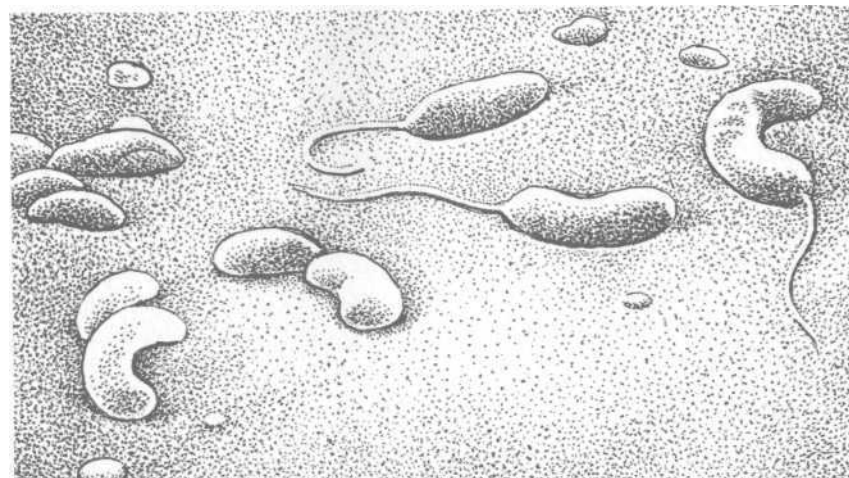


Рис 3.12. Микрофотография культуры *Vibrio cholerae*. Видны характерные изогнутые палочки [по: Поздеев, 2001]

тойчивы к физическим и химическим факторам: нагреванию (при 80 °С погибают через 5 мин), действию солнечных лучей, дезинфектантам. Особенно чувствительны к действию кислот. Более устойчив к факторам внешней среды биовариант Эль-Тор, видимо, поэтому именно им обусловлено распространение холеры в середине XX в.

Источник инфекции — больные холерой люди и бактерионосители. Путь передачи инфекции — в основном через воду, используемую для питья, купания и хозяйственных нужд, хотя возможны алиментарный и контактно-бытовой (через грязные руки, посуду) пути.

Вибрионы проникают через рот в желудок, где под действием соляной кислоты могут погибнуть, однако достигнуть тонкого кишечника им помогает либо большая их численность, либо снижение кислотности желудочного сока при разбавлении водой, пищей. При попадании в просвет тонкого кишечника холерные вибрионы путем адгезии прикрепляются к гликокаликсу эпителия и интенсивно размножаются, вырабатывая большое количество экзотоксина. У больного сначала резко повышается температура, развиваются рвота, понос. При тяжелой форме холеры температура тела после повышения падает до 34 °С, сильное обезвоживание приводит к нарушению деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем, судорогам. Летальность от холеры составляет в настоящее время 17%. Иммунитет после перенесенной болезни непрочный.

Профилактика холеры направлена на выполнение санитарно-гигиенических требований и проведение карантинных мероприятий в очагах инфекции. Для вакцинирования населения применяют убитую холерную вакцину.

Холерные вибрионы хорошо выживают при низких температурах, например во льду — до 1 месяца. В морской воде они сохраняются до 47 дней, в речной — до нескольких недель, в почве — до 2 месяцев, в пищевых продуктах (молоке, мясе) — до 5 дней. На свежих овощах: огурцах, моркови — до 8 дней. На свежих фруктах: грушах — до 7 дней; ягодах: смородине, бруснике, чернике — до 5 дней, на винограде и малине — 1 сутки.

Кишечный иерсиниоз. Это острая инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением желудочно-кишечного тракта с тенденцией поражения других органов и систем. Возбудитель кишечного иерсиниоза — *Yersinia enterocolitica* — имеет форму короткой, почти овоидной палочки, грамотрицателен, спор не образует. Подвижен (перитрих) при относительно низких температурах — 18–20°C, при 37°C подвижность утрачивается.

К роду *Yersinia* относятся также *Y. pestis* (рис. 3.13) — возбудитель особо опасной инфекции — чумы, передающейся трансмиссивным, воздушно-капельным или контактным путем, и *Y. pseudotuberculosis* — возбудитель псевдотуберкулеза (рис. 3.14).

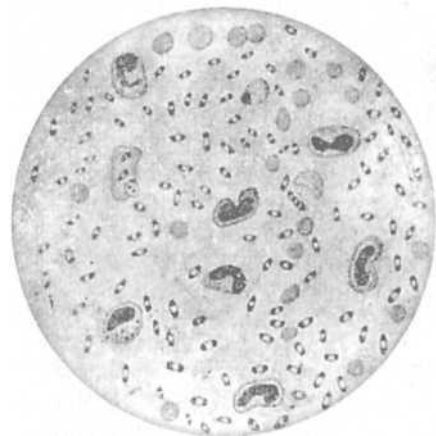


Рис. 3.13. Возбудитель чумы *Yersinia pestis*. Овоидные биполярно окрашенные палочки [по: Поздеев, 2001]

Источником кишечного иерсиниоза для человека являются грызуны, обитающие в овощехранилищах, а также сельскохозяйственные животные и птицы, очень редко — человек. В свою очередь, источниками заражения грызунов, животных и птиц являются почва и растения, что дает основание считать иерсиниозы сапронозными инфекциями. Иерсинии способны размножаться не только на растениях, но и внутри них, например в салате, горохе, овсе. Путь передачи иерсиниоза — алиментарный, при употреблении инфицирован-

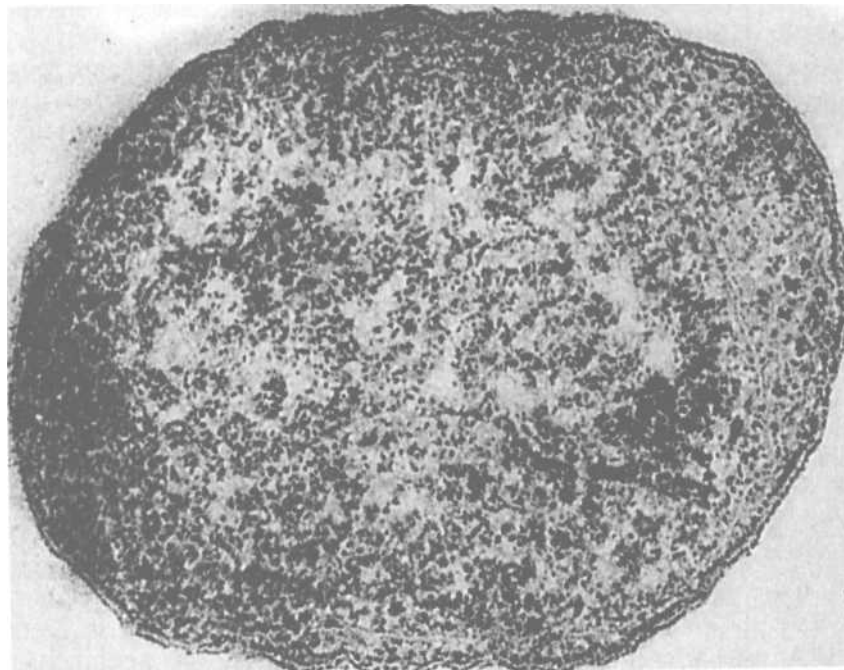


Рис. 3.14. Электронная микрофотография *Yersinia pseudotuberculosis* — возбудителя псевдотуберкулеза, $\times 80\ 000$ [по: Авакян и др., 1972]

ных овощей, плодов, ягод, молока, мяса. Первые случаи кишечного иерсиниоза были отмечены в начале 60-х гг. прошлого века во Франции и Бельгии; в настоящее время эта болезнь широко распространена, в том числе и в России.

Y. enterocolitica, проникая в тонкий кишечник, вызывает воспалительный процесс. После гибели бактерий выделяется эндотоксин, возникает диарея. Иногда при этом развивается аппендицит, сепсис и другие гнойно-воспалительные заболевания. Болезнь начинается остро с повышения температуры, рвоты, поноса, болей в животе. Течение болезни достаточно продолжительное. Иммуитет изучен мало.

Возбудитель кишечного иерсиниоза чувствителен к высокой температуре, действию прямых солнечных лучей, дезинфицирующим средствам, но очень устойчив к низким температурам: в морозильнике при -15–20°C хорошо сохраняется, а в холодильнике при 4°C может размножаться. Возбудитель псевдотуберкулеза — *Y. pseudotuberculosis* (у человека вызывает энтероколит с аппендицитоподобным синдро-

мом) также хорошо размножается в условиях холодильника на корнеплодах и других овощах. Ряд вспышек псевдотуберкулеза отмечен после употребления овощных салатов, в частности сырой капусты из овощехранилища.

Профилактика иерсиниозов заключается в соблюдении санитарно-гигиенических правил, уничтожении грызунов в плодо- и овощехранилищах, правильном хранении и кулинарной обработке продуктов.

Листерриоз. Это сапронозная инфекционная болезнь, вызываемая *Listeria monocytogenes* (рис. 3.15) — небольшими грамположительными неспорообразующими подвижными палочками, которые могут образовывать короткие цепочки. Природным источником листерий служит почва, откуда они проникают в растения и водоемы. Листерриозом заболевают дикие и сельскохозяйственные животные и птицы в результате употребления зараженных воды, кормов, особенно силоса, фуража, в которых листерий могут длительно выживать.

Листерий проникают в организм человека практически любым способом, но все-таки основной путь передачи листерриоза людям — алиментарный (при употреблении зараженных овощей, мяса, молока, сыров), а также водный, воздушно-пылевой (при выделке шкур, обработке шерсти), контактный (при контакте с больными животными), трансмиссивный (при наличии микротравм кожных покровов). Возбудители поступают в организм человека через слизистые оболочки полости рта, глаз, носа, поврежденную кожу. Через кровь листерий попадают в различные ткани и органы (печень, селезенку, мозговые оболочки и др.), в нервную систему, образуя в них *листериомы* — узелки,

состоящие из клеток возбудителей и пораженных клеток органов. Некроз (омертвление) листериом приводит к дегенеративным изменениям органов и тканей. При гибели листерий освобождается эндотоксин, вызывающий острую интоксикацию организма.

Проявления листериоза могут быть самыми разнообразными: от ангиноподобного заболевания до тяжелых поражений центральной нервной системы (менингиты, энцефалиты), сепсиса, септико-тифозной формы заболевания. Характерным признаком болезни является увеличение числа *моноцитов* — особого типа лейкоцитов крови (отсюда видовое название возбудителя — *L. monocytogenes*). После перенесенной болезни формируется непрочный иммунитет. При тяжелых формах листериоза летальность составляет 30—60%.

На жизнеспособность листерий влияет температура окружающей среды. При умеренных и низких температурах они сохраняются в течение нескольких месяцев и даже лет, например при хранении зерна в условиях низких температур листерии жизнеспособны в течение 3 лет. Листерии длительно сохраняются в свежих и замороженных овощах, поэтому овощехранилища могут служить источником распространения листериоза среди людей и животных, в первую очередь — грызунов. В молочных и мясных продуктах листерий размножаются даже в условиях холодильника при 4—6 °С. С другой стороны, листерии переносят и температуры пастеризации: они сохраняются при пастеризации молока, взятого от больных листериозом животных или бактерионосителей. Погибают при кипячении в течение 3—5 минут.

Зимой листерий хорошо сохраняются в пожнивных остатках, соломе. Высушенные стебли и листья растений, инфицированных при жизни листериями, содержат жизнеспособные клетки возбудителя. Дезинфицирующие средства губительно действуют на листерий, однако они относительно устойчивы к этанолу и 2,5%-ному раствору формалина.

Профилактика листериоза заключается в постоянном санитарно-микробиологическом контроле продукции овощеводства и животноводства, употреблении только кипяченого молока, термически обработанного мяса, дезинфекции и дератизации мест хранения продукции сельскохозяйственного производства.

Амебная дизентерия, или амебиаз. Это антропонозная кишечная инфекция, вызываемая энтамебами. В кишечнике человека обитают шесть видов амеб, пять из которых не патогенны. Шестой вид — *Entamoeba histolytica* — патогенная амеба, вызывающая язвенные поражения толстой кишки.

Заражение происходит при занесении в организм цист энтамеб с пищевыми продуктами, с овощами, особенно с теми, которые выращи-

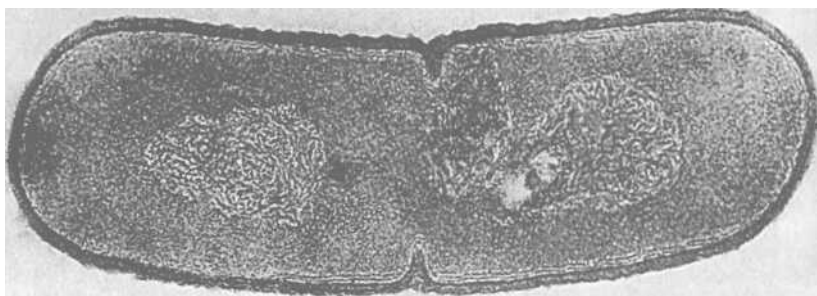


Рис. 3.15. *Listeria monocytogenes* — возбудитель листериоза (делящаяся клетка), электронная микрофотография, $\times 120\ 000$ [по: Авакян и др., 1972]

ваются на полях орошения, плодами, а также через грязные руки, загрязненные предметы, реже — с питьевой некипяченой водой. Мухи и тараканы способствуют распространению цист.

Возбудитель имеет две стадии развития: вегетативную и стадию покоя (цисты). У заразившихся людей патогенные амебы обитают в толстой кишке в виде вегетативных форм, которые проникают в слизистую толстой кишки, вызывают язвенные процессы и фагоцитируют эритроциты (рис. 3.16). Попадая в кровь, амебы разносятся по другим органам, вызывая абсцессы. В нижних отделах кишечника энтамебы превращаются в цисты и выводятся с испражнениями.

Амебная дизентерия проявляется в виде частого жидкого стула с кровью, слизью. После заболевания иммунитет нестойкий, выздоровевшие могут оставаться носителями цист годами, выделяя их с испражнениями.

Вегетативная форма возбудителей амебиаза во внешней среде неустойчива, погибает через 20—30 минут. Цисты сохраняют жизнеспособность во влажной среде в течение 1 месяца, на пищевых продуктах — в течение нескольких дней. Кипячение убивает их очень быстро.

В качестве общих профилактических мер рекомендуется правильное хранение плодоовощной продукции, обследование ее на выявление цист энтамеб; специфическая профилактика не разработана.

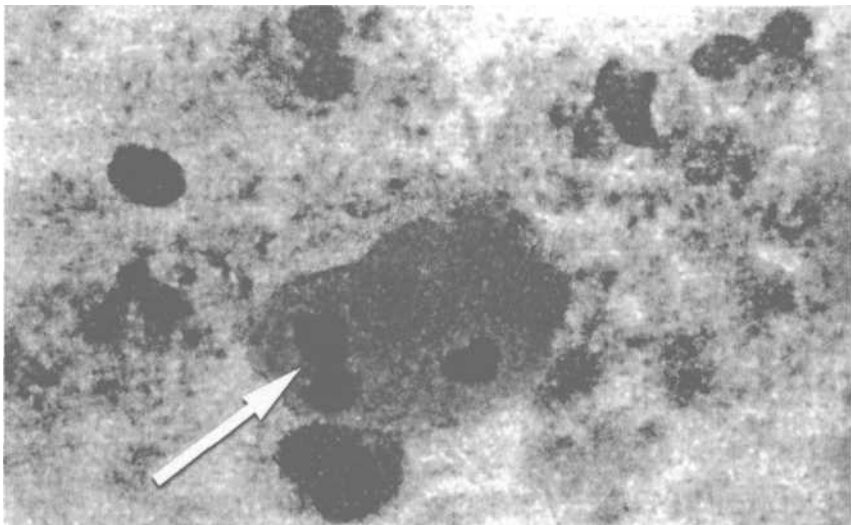


Рис. 3.16. Микрофотография цисты и большой вегетативной формы *Entamoeba histolytica*, поглотившей эритроцит [по: Поздеев, 2001]

20.2. Пищевые отравления

Пища может стать причиной отравлений микробного и немикробного происхождения.

Немикробные пищевые отравления происходят при употреблении ядовитых растительных и животных продуктов, а также при попадании в организм токсичных органических и неорганических веществ, ядохимикатов и пр. Среди растительных продуктов наиболее ядовиты грибы (бледная поганка, мухомор, сатанинский гриб), некоторые дикорастущие и культурные растения (белена, дурман, красавка, бузина, аконит и др.), а при неправильном хранении — также зеленый проросший картофель из-за содержания в нем соланина и косточковые плоды при накоплении амигдалина в ядрах. Отравления ядовитыми продуктами животного происхождения бывают в основном при употреблении рыбы (фугу, усача, иглобрюха и др.).

Пищевые отравления микробного происхождения делят на две группы: пищевые токсикоинфекции и пищевые интоксикации.

Пищевые токсикоинфекции. К пищевым токсикоинфекциям относят острые кишечные заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, содержащих большое количество размножившихся возбудителей и их токсинов. В организме человека они продолжают размножаться и выделять токсины, которые обуславливают характерные симптомы — острую диарею, рвоту, в некоторых случаях — повышение температуры тела. Издавна пищевые токсикоинфекции называли «мясными отравлениями», однако и другие продукты — рыба, птица, молоко, яйца, консервы — могут вызывать подобные заболевания.

Пищевые токсикоинфекции характеризуются коротким инкубационным периодом и острым непродолжительным течением. Среди возбудителей токсикоинфекций *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Bacillus cereus* и другие микроорганизмы (табл. 3.2). Обитающий в кишечнике человека и животных *Clostridium perfringens* длительно сохраняется в почве и может инфицировать пищевые продукты, в том числе овощи. Его часто находят на зелени укропа, петрушки, на моркови, картофеле, сельдерее. Почвенная бактерия *Bacillus cereus* встречается также в воде и воздухе. При попадании на продукты питания животного и растительного (чаще овощи) происхождения она может активно размножаться и вызывать токсикоинфекцию. Споры *B. cereus* высоко термоустойчивы и могут сохраняться при приготовлении консервов и стерилизации молока.

Пищевые интоксикации. Это отравления, вызываемые только токсинами бактерий или грибов. Живые возбудители при этом могут отсутствовать, особенно в пищевых продуктах, подвергнутых термической обработке. Отравление наступает в результате накопления в пищевом продукте большого количества токсинов вследствие активно размножающихся возбудителей (табл. 3.2), которые затем попадают в кишечник, далее — в кровь и погибают, а поступившие с пищей токсины вызывают острый токсикоз.

Таблица 3.2. Возбудители пищевых отравлений

Токсикоинфекции	Интоксикации
Возбудители бактериальной природы:	Возбудители бактериальной природы:
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Clostridium botulinum</i>
<i>Citrobacter sp.</i>	Возбудители грибной природы —
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	представители родов:
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Claviceps</i>

К интоксикациям бактериальной природы относят стафилококковую интоксикацию и ботулизм.

Стафилококковую пищевую интоксикацию вызывает золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus*, выделяющий кишечный токсин — энтеротоксин.

Наиболее благоприятной средой для размножения *Staphylococcus aureus* и накопления его токсина являются главным образом молоко, изделия из молока и мясные продукты. В кисломолочных продуктах стафилококки, как правило, не размножаются и не выделяют энтеротоксин из-за губительного воздействия на них молочной кислоты. Тепловая обработка продуктов часто не разрушает стафилококковый энтеротоксин.

Ботулизм — наиболее тяжелая пищевая интоксикация, которую связывают чаще всего с употреблением не прошедших достаточной термической обработки консервов — грибных, овощных, мясных, рыбных, а также ветчины, колбас, рыбы, в частности соленой красной рыбы. Возбудитель ботулизма — анаэробная бактерия *Clostridium botulinum* (рис. 3.17) — обнаруживается в фекалиях человека, живот-

ных, а также в почве и воде, откуда может попадать в пищевые продукты, размножаться и выделять экзотоксин, который вызывает интоксикацию, поражая пищеварительный тракт, вызывая расстройства зрения или дыхания. Споры *C. botulinum* выдерживают кипячение в течение 5 часов, в больших емкостях они могут оставаться живыми даже после автоклавирования в течение 15 минут при 120 °С. Ботулиновый токсин не разрушается при кипячении в течение нескольких минут, устойчив к замораживанию, в консервах сохраняется в течение 6—8 месяцев.

Профилактика ботулизма, других пищевых интоксикаций и токсикоинфекций заключается в тщательном соблюдении технологических и санитарных правил хранения и приготовления пищевых продуктов. Необходимо правильно обрабатывать продукты, осуществлять их достаточную термическую обработку и хранить в соответствии с санитарно-гигиеническими требованиями. Вода для мытья плодов, овощей и другой продукции должна соответствовать санитарным нормам. Следует исключить попадание почвы в сырье, полуфабрикаты и готовые продукты, поскольку в ней могут содержаться споры *C. botulinum* и других возбудителей.

Необходимо помнить, что видимые признаки порчи продуктов, зараженных возбудителями бактериальных отравлений, отсутствуют.

Микотоксикозы — пищевые отравления, вызываемые микотоксинами, которые выделяют некоторые виды микроскопических грибов. Микотоксины отличаются не только высокой токсичностью, но и канцерогенным и мутагенным действиями. Грибы могут инфицировать пищевые продукты как растительного, так и животного происхождения, включая корма для сельскохозяйственных животных и птиц, на любом этапе их производства и хранения. Микотоксины попадают в молоко и мясо при употреблении животными и птицей кормов, содержащих микотоксины. Размножению токсигенных грибов способствуют поздняя уборка урожая и повышенная влажность в период вегетации растений и при хранении зерновых, зернобобовых культур и другой продукции.

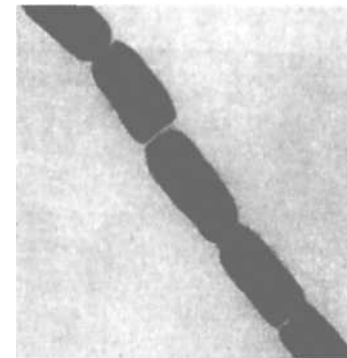


Рис. 3.17. Микрофотография бульонной культуры *Clostridium botulinum* — крупные палочки с закругленными концами, образующие цепочку [по: Поздеев, 2001]

В отличие от продуктов, зараженных возбудителями бактериальных отравлений, продукты, инфицированные микроскопическими грибами, отличаются по внешнему виду от доброкачественных. Большинство микотоксинов резистентны к действию высоких температур.

К пищевым микотоксикозам относят афлатоксикозы, фузариотоксикозы, патулиновый микотоксикоз, эрготизм.

Афлатоксикозы вызываются афлатоксинами, выделяемыми микроскопическими грибами *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae*, реже — грибами рода *Penicillium*, которые могут заражать растительные пищевые продукты и корма. При употреблении таких продуктов и кормов развиваются тяжелые поражения печени — некрозы, цирроз и первичный рак.

Для продуцентов афлатоксинов нужны повышенные температура и влажность, поэтому большое значение имеют условия выращивания, уборки, послеуборочной просушки и хранения урожая. Наиболее часто афлатоксинами загрязняются арахис, грецкие орехи, миндаль, фисташки, семена хлопчатника, зерно злаковых культур (кукурузы, пшеницы, ячменя), сухофрукты. Обнаруживают афлатоксины также в копченой и сушеной рыбе, зернах кофе, какао, некоторых овощах.

Афлатоксины термостабильны и не инактивируются при пастеризации и термической кулинарной обработке продуктов. Полное разрушение афлатоксинов происходит только при автоклавировании.

Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы (СанПиН) регламентируют содержание афлатоксинов в молоке, сливках, кисломолочных продуктах — не более 0,0005 мг/кг (л), в зерне продовольственном, семенах зернобобовых, масличных культур, зернах кофе, какао-бобах, орехах — не более 0,005 мг/кг.

Фузариотоксикозы вызываются фузариотоксинами, выделяемыми грибами рода *Fusarium*. Эти грибы широко распространены в природе. Они встречаются в почве и на растениях. Фузарии могут развиваться и продуцировать фузариотоксины на поверхности зерен хлебных злаков, кукурузы, бобовых культур во время созревания, уборки урожая, транспортировки, хранения, переработки. Активное развитие фузариозов зерна наблюдается при уборке урожая в условиях холодного и дождливого лета. Грибы рода *Fusarium* выделяют около 40 биологически активных микотоксинов. Каждый продуцент вырабатывает один или несколько токсинов, среди которых — зеараленон, дезоксиниваленон, Т2-токсин и др. Опасность фузариоза заключается в токсичности пораженного зерна для человека и животных. К фузариотоксикозам относятся отравления «пьяным» хлебом, возникающие при употреблении продуктов из токсичного зерна, пораженного *Fusarium*

graminearum, а также алиментарно-токсическая алейкия, вызываемая использованием в пищу перезимовавшего под снегом зерна. В зимний период в зерне накапливаются микотоксины, выделяемые *Fusarium sporotrichiella* (var. *sporotrichioides*).

Отравление «пьяным» хлебом по симптомам напоминает тяжелое опьянение. Оно сопровождается головной болью, головокружением, резким возбуждением, шаткой походкой. Степень отравления зависит от количества токсина, попавшего в организм. В результате алиментарно-токсической алейкии нарушается и может прекратиться кроветворение, так как токсигенные фузарии вызывают дегенеративные и некротические изменения костного мозга.

Признак заражения зерна фузариозом — измененная розовая с красноватым оттенком окраска зерна, появление которой требует проведения анализов на присутствие в зерне грибов рода *Fusarium*.

Санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами допускается определенное содержание токсинов, например для зеараленона в продовольственном зерне — не более 0,1 мг/кг, в муке (пшеничной, ячменной, кукурузной) — не более 0,2 мг/кг. Количество фузариозных зерен в зерновой массе не должно превышать 1%.

Профилактика фузариотоксикозов заключается в своевременной уборке урожая (недопустимо оставлять зерно под снегом), строгом соблюдении правил хранения зерна (в хорошо вентилируемых сухих помещениях).

Микотоксикозы, вызываемые патулином. Микотоксин патулин продуцируют микроскопические грибы родов *Penicillium* (*P. expansum*, *P. utticae*) и *Aspergillus* (*A. davatus*, *A. terreus*). Патулин обнаруживают на различных плодах, овощах, ягодах, хранящихся с нарушениями правил (яблоках, грушах, абрикосах, винограде, бананах, томатах, садовой землянике), а также в продуктах их переработки — фруктовых и овощных соках, компотах, пюре. Однако на других овощных культурах — картофеле, луке, баклажанах, редисе, цветной капусте, тыкве, а также на цитрусовых патулин не обнаруживается по причине естественной резистентности этих культур к продуцентам патулина.

Высокая токсичность патулина приводит к поражениям желудочно-кишечного тракта человека. Он обладает также канцерогенным и мутагенным действием.

Согласно санитарным нормативам содержание патулина в овощных, фруктовых и ягодных соках и консервах, джемах, варенье, повидле, сокосодержащих безалкогольных напитках не должно превышать

0,05 мг/кг (л), в продуктах детского питания, приготовленных из яблок, томатов, облепихи, оно должно быть менее 0,02 мг/кг (л).

Эрготизм — тяжелое отравление, возникающее при употреблении продуктов из зерна, пораженного рожками спорыньи — *Claviceps purpurea*. Этот гриб паразитирует в основном на зерновых культурах: ржи, овсе, пшенице, кукурузе, образуя на месте зерен в колосе красно-фиолетовые твердые рожки, которые являются покоящейся стадией гриба. Развитие спорыньи приводит не только к частичной потере урожая зерна, но и к серьезным последствиям для здоровья людей и сельскохозяйственных животных, если пораженное зерно используется в качестве пищи и корма.

Токсины спорыньи — эрготоксин, эрготин и др. — вызывают сильное поражение центральной нервной системы (судороги, онемение конечностей), желудочно-кишечные расстройства (тошнота, рвота), в тяжелых случаях — внутренние кровоизлияния и гангрену конечностей. Токсины спорыньи отличаются стойкостью, однако при хранении зерна в течение нескольких лет токсичность рожков несколько снижается, сохраняя патогенность.

По санитарным нормативам спорынью относят к вредным примесям зерна, и ее содержание в нем не должно превышать 0,05%.

Основные мероприятия по борьбе с эрготизмом — очистка и защита посевного материала и посевных площадей, тщательное соблюдение правил агротехники.

Другие фитопатогенные грибы, например *Stachybotris alternans* (рис. 3.18), *Dendrodochium toxicum*, попадая в корма, могут вызывать отравления сельскохозяйственных животных — стахиботриотоксикоз и дендродохиотоксикоз. Возбудители этих заболеваний заражают солому зерновых культур — пшеницы, ржи, овса, например при скирдовании промокшей соломы, неправильном хранении кормов. Возбудитель стахиботриотоксикоза образует на поверхности сена, соломы черный сажистый налет, а корма, пораженные возбудителем дендродохиотоксикоза, внешне выглядят до-

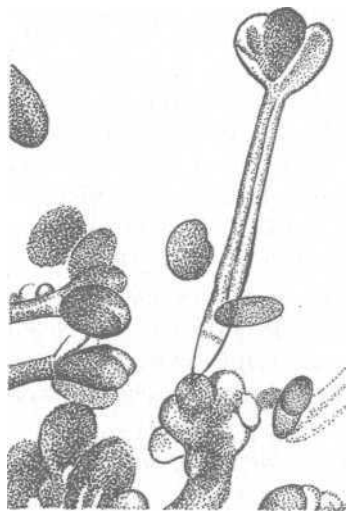


Рис. 3.18. Конидиеносец *Stachybotrys alternans*, стеригмы и отдельные конидии [по: Байрак и др., 1980]

брокачественными. К микотоксикозам наиболее чувствительны лошади, менее восприимчивы свиньи и овцы. Крупный рогатый скот практически не чувствителен к этим токсинам. Однако у людей, которые работали с соломой, инфицированной *Stachybotris alternans*, могут развиваться дерматиты кожи, сыпь, воспалительные заболевания верхних дыхательных путей, глаз в результате попадания на эти органы спор гриба, содержащих токсины.

Профилактика стахиботриотоксикоза и дендродохиотоксикоза заключается в быстрой уборке кормов в сухую погоду и хранении их в условиях, не допускающих порчи.

21. Распространение микроорганизмов в природе

На распространение и количество микроорганизмов в природных объектах влияют условия существования и наличие питательных веществ. Географические и климатические факторы определяют развитие их в разных экосистемах. В каждом природном объекте, обладающем конкретными физико-химическими свойствами, формируются определенные микробоценозы и устанавливается биологическое равновесие, характерное для данных условий.

21.1. Микроорганизмы воздуха

Основным источником поступающих в атмосферный воздух микроорганизмов является почва, точнее — поверхностная сухая почвенная пыль, поднимаемая в воздух ветром, в результате производственной деятельности человека и т. п. В свободном виде микроорганизмы в воздухе почти не встречаются, они ассоциированы с пылевыми или водными частицами.

Воздух по сравнению с другими объектами окружающей среды — почвой, водой, пищевыми продуктами — не считается благоприятной эконишей для микроорганизмов, что связано с недостатком в воздухе влаги, почти полным отсутствием питательных веществ и губительным действием УФ-лучей. Поэтому микроорганизмы не способны размножаться в воздухе, они могут лишь сохраняться в нем какое-то время, пока под действием силы тяжести не осядут на поверхность почвы или не погибнут в результате воздействия ультрафиолета или других факторов.

Чаще всего в воздухе встречаются бациллы, пигментобразующие кокки — микрококки, сарцины, а также некоторые актиномицеты,

дрожжи, плесневые грибы. Считается, что пигментобразующие формы более устойчивы к ультрафиолету, поскольку, акцептируя ультрафиолетовые лучи, пигмент выполняет защитную функцию.

Количественный и качественный состав микроорганизмов воздуха зависит от многих факторов: влажности, температуры, загрязнения воздуха химическими веществами (например, в составе дыма, копоти, промышленной пыли), а также климатических условий, сезона года, характера местности. В воздухе крупных городов в 1 м³ обнаруживаются десятки тысяч клеток микроорганизмов. Воздух над сельскими районами традиционно считается чистым, однако, если в них есть животноводческие и птицеводческие комплексы, биологическое загрязнение атмосферного воздуха достигает почти 50% от содержания микроорганизмов в воздухе больших городов. Над тайгой, горами, морем в 1 м³ воздуха обнаруживаются единичные клетки микроорганизмов.

Исследование воздуха над Москвой выявило на высоте 500 м в 1 м³ 2000—3000 клеток микроорганизмов, на высоте 1000 м — около 1500 клеток, а на уровне 2000 м — около 500 клеток микроорганизмов.

Зеленые насаждения играют положительную роль в очищении воздуха от микроорганизмов: лесопарки, парки, рощи, скверы снижают численность микроорганизмов в воздухе в 3—9 раз. Листья деревьев и кустарников, травяной покров активно задерживают распространение пыли, в 1 г которой содержится до 1 млн микробных клеток. Многие растения выделяют *фитонциды* — вещества, губительные для микроорганизмов.

По воздуху распространяются споры грибов, бациллы, клетки водорослей, простейшие. Воздушными течениями на сотни километров разносятся споры фитопатогенных грибов, например возбудителей ржавчинной болезни злаков, что может служить причиной *эпифитотий*.

На содержание микроорганизмов в атмосферном воздухе значительное влияние оказывают сезоны года. Наиболее низкие концентрации микроорганизмов в воздухе наблюдаются зимой и ранней весной, что связано главным образом с наличием снегового покрова, препятствующего поступлению в воздух почвенных микроорганизмов; наиболее высокие концентрации — летом и в начале осени. Осадки способствуют снижению численности микроорганизмов в воздухе. Патогенные микроорганизмы в атмосферном воздухе практически не обнаруживаются (во внеэпидемические периоды), их чаще определяют в воздухе закрытых помещений.

Обсемененность микроорганизмами воздуха закрытых помещений в зависимости от их санитарно-гигиенического режима может во много раз превышать содержание микроорганизмов в атмосферном возду-

хе. Количество микроорганизмов увеличивается при большом скоплении людей, неэффективной вентиляции, недостаточном естественном освещении, неправильной и нерегулярной уборке помещений. Воздух жилых и общественных помещений с плохими санитарными характеристиками при большом скоплении людей может содержать до 7000—200 000 КОЕ/м³; чистый воздух помещений — не более 2000 КОЕ/м³.

Видовые составы микроорганизмов воздуха закрытых помещений и открытых пространств существенно различаются. Кроме представителей нормальной микрофлоры, выделяемой здоровыми людьми и животными, от больных и бактерионосителей в воздух попадают патогенные микроорганизмы — возбудители инфекционных болезней, передающихся воздушно-капельным путем: микобактерии туберкулеза, возбудители дифтерии, коклюша, ангины, различных вирусных инфекций.

Циркуляция микроорганизмов в воздухе во взвешенном состоянии может продолжаться несколько часов, затем они с пылевыми частицами оседают на пол и другие поверхности помещений. На пылевых частицах находятся также представители почвенных микроорганизмов, среди которых могут быть и болезнетворные. Опасность пыли в передаче инфекций состоит в многократном ее ресуспендировании: при нахождении в помещении людей пыль поднимается в воздух и длительное время в нем циркулирует, если своевременно не проводить влажную уборку. Некоторые болезнетворные бактерии — микобактерии туберкулеза, патогенные стафилококки и стрептококки, которые могут находиться в пыли, при высыхании не теряют жизнеспособности в течение нескольких недель.

Регулярному санитарно-бактериологическому обследованию подлежат помещения с большим скоплением людей: школы, казармы, больницы, кинотеатры, производственные помещения.

Воздух производственных помещений может быть не только переносчиком инфекций между людьми, но и одним из путей проникновения микроорганизмов в хранящиеся и перерабатываемые продукты. Например, в цехах плодо-, овоще-, зернохранилищ при сортировке и расфасовке продукции обсемененность воздуха возрастает в десятки и сотни раз. При производстве консервированных овощей и фруктов в условиях загрязненного воздуха качество консервов снижается. Воздух производственных помещений может быть источником загрязнения сырья, оборудования и готовой продукции. Создание чистой воздушной среды устраняет или значительно снижает необходимость применения химических средств для гарантии стерилизации, что положительно отражается на качестве консервированной продукции.

В воздухе чистых пищевых производств должно содержаться от 100 до 500 КОЕ/м³ (в зависимости от характера производства).

Для снижения общего микробного числа и количества болезнетворных микроорганизмов в воздухе производственных помещений необходимо поддерживать его влажность и температуру в строгом соответствии с санитарно-технологическими требованиями. Регулярная влажная уборка камер хранилищ должна производиться с применением разрешенных дезинфицирующих средств. Для обеззараживания воздуха используют также распыление пропиленгликоля и триэтиленгликоля, безвредных для человека и продукции. Применяют озонирование воздуха и ультрафиолетовое облучение, а также специальные электростатические фильтры (ЭСФ) с максимальной эффективностью очистки воздуха от пыли до 98%. На осадительных электродах осаждаются не только бактерии, но и вирусные частицы. ЭСФ способны очищать как приточный, так и вытяжной воздух.

21.2. Микроорганизмы природных водоемов

Вода является естественной средой обитания микроорганизмов. В природных водах распространены представители всех таксономических групп бактерий, а также микроскопические грибы, водоросли, простейшие, вирусы. Совокупность микроорганизмов водоема носит название *микробный планктон*.

Микрофлора природных вод в значительной степени зависит от их происхождения. Различают поверхностные, подземные и атмосферные воды.

На содержание микроорганизмов в атмосферных водах (дождь, снег, град) оказывает влияние микрофлора воздуха, например дождевая вода над городами содержит микроорганизмов больше, чем над сельской местностью. В атмосферных осадках количество микроорганизмов колеблется от нескольких десятков до нескольких сотен в 1 мл.

В состав подземных вод входят грунтовые, ключевые и артезианские воды. Наиболее чистыми считаются глубокозалегающие артезианские воды, содержащие в 1 мл единичные клетки бактерий. Вода колодцев, особенно мелких, обычно содержит значительное количество микроорганизмов, которые попадают туда с просачивающимися поверхностными водами. Ключевые, или родниковые, воды представляют собой естественные выходы подземных вод. Родники обычно содержат немного микроорганизмов, что объясняется фильтрующей способностью почв. Однако, смешиваясь с грязными потоками воды во время дождя или таяния снега, ключевые источники могут содер-

жать до нескольких тысяч бактерий в 1 мл. Непригодны для питья родники, находящиеся в черте города, из-за возможного попадания в них микроорганизмов из подземных коммуникационных сетей.

Наибольшим содержанием микроорганизмов и их видовым разнообразием отличаются поверхностные воды — реки, озера, пруды, водохранилища, моря и океаны. Численность микроорганизмов в воде открытых водоемов варьирует в широких пределах: от десятков, сотен до миллионов клеток в 1 мл, что зависит от вида водоема, степени его загрязнения, проточности, рельефа, метеорологических условий, времени года. Например, содержание микроорганизмов в р. Москва — 0,4—1,3 млн КОЕ/мл; в Неве — 0,2—0,6 млн КОЕ/мл; в озерах, прудах и водохранилищах количество микроорганизмов может достигать нескольких миллионов клеток в 1 мл. В соленых водах морей и океанов содержание микроорганизмов ниже, чем в пресноводных водоемах, и уменьшается с удалением от берега и с глубиной. Видовой состав представлен в основном галофильными формами.

Микробное население воды часто отражает качественный состав микроорганизмов почвы, с которой вода соприкасается. Поэтому большинство водных микроорганизмов являются распространенными обитателями почв.

Микроорганизмы, населяющие природные водоемы, делят на две группы:

- 1) *автохтонные* микроорганизмы (гр. *autohthon* — местный, коренной) — собственно водные, постоянно живущие в воде;
- 2) *аллохтонные* микроорганизмы (гр. *allos* — другой, иной; *chthon* — земля), контаминирующие водоемы извне.

К автохтонному микробиоценозу воды относятся микрококки, сарцины, псевдомонады, бациллы, протеи, железобактерии, спириллы и др. Анаэробных бактерий в незагрязненных водоемах мало. В состав аллохтонной микрофлоры входят микроорганизмы, попадающие в водоемы с фекалиями человека и животных, с бытовыми и промышленными сточными водами и отходами.

Поверхность водоемов открыта для всех видов загрязнения, что значительно изменяет микробный состав водоемов и ухудшает их санитарное состояние. Основной путь микробного загрязнения водоемов — поступление в них неочищенных отходов и сточных вод.

Среди видов сточных вод (различают хозяйственно-бытовые, промышленные, сельскохозяйственные, ливневые, талые сточные воды) в наибольшей степени загрязнены микроорганизмами хозяйственно-бытовые (канализационные) сточные воды, содержащие миллиарды микробных клеток на 1 мл стока. Микробиоценоз такой сточной

жидкости состоит из обитателей кишечника человека и животных, в его состав могут входить и патогенные формы, вызывающие инфекционные заболевания. Очищают сточные воды с помощью механической и бактериальной фильтрации.

Биологическое загрязнение водоемов происходит также при купании людей и животных. В течение 10 мин купания человек может внести в воду около 3 млрд сапротрофных микроорганизмов и от 100 тыс. до 20 млн представителей БГКП.

Однако водоемы, даже самые загрязненные, способны к *самоочищению* — важному экологическому процессу освобождения от аллотонной загрязняющей микрофлоры, быстро размножающейся при обильном содержании в воде субстратов животного и растительного происхождения. Природный процесс самоочищения водоемов происходит за счет конкурентной активизации сапротрофной автохтонной микрофлоры, что приводит к разложению органических веществ и сокращению численности микроорганизмов.

Количественный и качественный состав водных биоценозов меняется в зависимости от содержания органических веществ, других факторов, т. е. меняется по сапробности.

Сапробность — комплексное понятие уровня загрязненности водоема, включающее изменения количественного и качественного состава микроорганизмов при содержании органических веществ в определенной концентрации и степени минерализации. Различают полисапробные, мезосапробные и олигосапробные зоны.

Полисапробные зоны (зоны сильного загрязнения) содержат большое количество органических веществ при поступлении в водоем канализационных стоков, сточных вод промышленных и сельскохозяйственных производств. Численность микроорганизмов в полисапробных зонах велика, но ввиду почти полного отсутствия кислорода видовой состав ограничен в основном анаэробными бактериями, на поверхности водоемов могут присутствовать плесневые грибы. Основные процессы — минерализация растительных и животных остатков и брожения целлюлозы и иных углеводов с выделением сероводорода, аммиака, диоксида углерода и др. Количество микроорганизмов в этой зоне достигает 2–4 млн КОЕ/мл и более.

Мезосапробные зоны (зоны умеренного загрязнения) характеризуются преобладанием окислительных процессов. Качественный состав микроорганизмов разнообразен — от анаэробных до облигатно аэробных. Присутствуют клостридии, псевдомонады, микобактерии, нитрификаторы, появляются цианобактерии. Общее количество микроорганизмов — сотни тысяч КОЕ/мл.

Олигосапробные зоны (зоны чистой воды) характеризуются небольшим содержанием органических соединений. Качественный состав микробценоза приближается к собственно водной микрофлоре, содержание бактерий — от 10 до 100 КОЕ/мл. Примером олиготрофных водоемов служат горные озера, оз. Байкал, оз. Ладожское, оз. Онежское в отсутствие антропогенного загрязнения.

Процессы самоочищения воды в водоемах происходят последовательно и непрерывно с постоянной сменой биоценозов. Патогенные бактерии не характерны только для олигосапробных зон, в мезо- и особенно в полисапробных зонах они могут находиться в достаточно больших количествах. Поэтому, несмотря на постоянное самоочищение, вода может быть источником инфекционных заболеваний: бактериальных кишечных инфекций — холеры, дизентерии, сальмонеллеза; вирусных инфекций — полиомиелита, гепатита.

Воду открытых водоемов, предназначенную для питьевых целей, обрабатывают с помощью специальной фильтрации и дезинфицируют хлорированием, озонированием или ультрафиолетовым облучением. Санитарно-микробиологическое исследование воды проводят в центрах санэпиднадзора. Результаты анализов оцениваются по санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам — СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». В соответствии с этим документом общее микробное число (ОМЧ) питьевой воды не должно превышать 50 КОЕ/мл, коли-титр — 300 мл. Вода исследуется также на присутствие колифагов, спор сульфитредуцирующих клостридий и цист лямблий.

При переработке плодоовощной продукции, мытье плодов и овощей, приготовлении полуфабрикатов, консервов должна использоваться питьевая вода, соответствующая вышеприведенным нормам. При использовании загрязненной воды в продукцию могут попадать возбудители инфекционных заболеваний, пищевых отравлений, а также различные сапротрофы — гнилостные, кислотообразующие, которые способны оказать влияние на технологические процессы, качество и стойкость готовой продукции, а также вызвать вспышки кишечных и других инфекций среди населения.

21.3. Микроорганизмы почвы

Почва — основной резервуар микроорганизмов в природе и естественная среда их обитания. Микроорганизмы обуславливают многие важные процессы в почве, обеспечивают круговорот всех биогенных эле-

ментов, участвуют в почвообразовании и поддержании почвенного плодородия.

Количество микроорганизмов в почве зависит от типа почвы, содержания в ней органических веществ и влаги, климатических условий, времени года, степени загрязнения почвы отходами хозяйственной деятельности человека, многих других факторов и может достигать нескольких миллиардов в 1 г. Даже в песках пустынь, например Сахары, при почти полном отсутствии влаги в 1 г может содержаться до 100 000 микробных клеток. Основная масса микроорганизмов находится на глубине 10—40 см, в нижележащих горизонтах почвы их количество падает соответственно снижению уровня питательных веществ и влаги.

Качественный состав микробоценозов почвы представлен бактериями, актиномицетами, грибами, простейшими, вирусами. По микробному разнообразию почва представляет собой самую богатую среду обитания по сравнению с другими естественными средами, такими как природные воды, рубец жвачных животных, кишечник теплокровных.

Ключевым процессом, имеющим санитарное значение, является минерализация органических веществ, которые поступают в почву после отмирания растений, животных и самих микроорганизмов. В результате деятельности представителей микромира обеспечивается непрерывность цепей питания, объединяющих все живое, синтезируется гумус, обуславливающий плодородие почвы, осуществляются нитрификация, денитрификация и биологическая азотфиксация, также имеющие важное экологическое значение.

Огромна и разнообразна утилитарная роль почвенных микроорганизмов. Кроме абсолютно всех природных веществ, они могут использовать для питания многие соединения, получаемые в результате современного химического синтеза: трудно разлагаемые различные виды пластмасс, средства химической защиты растений и многие другие, очищая биосферу от большого количества несвойственных ей химических веществ.

Микроорганизмы распределяются в почве неравномерно. Они скапливаются в тех местах, где больше питательных веществ, например в корневой зоне растений — ризосфере. Через корневую систему растения выделяют в почву различные соединения (углеводы, органические кислоты, ферменты, витамины и др.), которые могут использовать микроорганизмы. Кроме этого, пищей микроорганизмам служат отмирающие корни и корневые волоски. В свою очередь, микроорганизмы обеспечивают растения необходимыми веществами: связывают

атмосферный азот воздуха, делая его доступным для растений, выделяют различные гормональные вещества (гиббереллины, ауксины, цитокинины), которые стимулируют рост и развитие растений, переводят труднорастворимые соединения в легкоусваиваемые растениями формы.

В почву поступает большое количество разнообразных микроорганизмов с хозяйственно-бытовыми, промышленными и сельскохозяйственными отходами, с выделениями человека и животных. В основном это представители нормальной кишечной микрофлоры, среди которых встречаются и патогенные бактерии. Почва, содержащая патогены, может попасть в питьевую воду, водоемы, на пищевые продукты, бытовые предметы и поэтому представляет потенциальную опасность в эпидемиологическом отношении. Существуют участки с особенно большой вероятностью биологического загрязнения, например территории животноводческих комплексов, боен, поля орошения, пляжи и т. д. На полях орошения для полива овощей и ягод, которые на них выращиваются, применяются обеззараженные сточные воды. При использовании недостаточно обеззараженных сточных вод на полях орошения может произойти контаминирование почвы, затем — овощей и ягод и, наконец, заражение людей, которые употребили эту продукцию в пищу.

Считается, что поступившие в почву представители нормальной микрофлоры кишечника человека и животных, а также патогенные микроорганизмы сохраняют жизнеспособность непродолжительное время. Однако многие из них вступают в почвенный биоценоз, участвуют в биохимических процессах, а некоторые виды становятся постоянными обитателями почвы. Спорообразующие бактерии практически постоянно присутствуют в почве, например *Clostridium botulinum* — возбудитель тяжелого пищевого отравления ботулизма, *Bacillus anthracis* — возбудитель сибирской язвы, *Clostridium tetani* — возбудитель столбняка. Неспорообразующие патогенные и условно-патогенные бактерии, попадающие в почву с выделениями человека и животных, могут сохраняться в ней в течение нескольких недель или месяцев. К их числу относятся сальмонеллы, шигеллы, вибрионы, бактерии группы кишечной палочки и др. Не имея спор, эти бактерии относительно быстро гибнут в результате воздействия факторов окружающей среды, которые способствуют активному самоочищению почвы от кишечной микрофлоры. К числу таких факторов относятся механический состав и тип почвы, влажность, температура, кислотность, а также растительный покров почвы. На легких по механическому составу почвах с хорошим воздушным режимом, кислой реакцией поч-

венного раствора и несколько пониженной влажностью самоочищение происходит быстрее. Значительное влияние на самоочищение почвы оказывает ее растительный покров. Некоторые виды растений, например пырей, костер, райграс, способствуют гибели микроорганизмов кишечной группы в загрязненных почвах.

Загрязненные бактериями кишечной группы почвы средней полосы России самоочищаются за 8 месяцев (Мишустин, Перцовская, 1954).

Почва является источником обсеменения микроорганизмами растениеводческой продукции, находящейся как в поле, так и в хранилищах и складских помещениях. Несмотря на то что подавляющее большинство почвенных обитателей составляют сапротрофные микроорганизмы, среди них могут быть и патогены. Контаминация плодов, овощей и зерна патогенными микроорганизмами может происходить и от больных людей и животных со слюной, гнойными выделениями из верхних дыхательных путей, с кожи, ногтей, из гнойных ран, кишечника грызунов и птиц; велика роль мух в переносе патогенной микрофлоры. Кроме этого, особое значение имеют загрязненные почвой инвентарь, оборудование, транспортные средства.

22. Санитарная микробиология плодов и овощей

Кроме эпифитных микроорганизмов, на поверхности плодоовощной продукции могут находиться патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также яйца гельминтов и простейшие. Такие загрязнения наблюдаются при удобрении почвы фекалиями и поливе загрязненной водой. В процессе уборки, транспортировки и хранения урожая возможно обсеменение продукции выделениями больных людей, животных и бактерионосителей; с загрязненной почвой тары, инвентаря, транспортных средств; болезнетворные микроорганизмы могут попадать на плоды и овощи с пылью, мухами и т. д.

Большую опасность представляет полив овощей сточными водами или выращивание их на полях орошения. Несмотря на высокую активность процессов самоочищения почвы на таких полях, полив сточными водами, даже обеззараженными, следует прекращать не позднее 3–4 недель до уборки овощей.

Сроки выживания возбудителей кишечных инфекционных заболеваний (сальмонелл, шигелл, холерных вибрионов) на поверхности плодов и овощей зависят от свойств возбудителя и вида растения. Например, выделяемый кислый клеточный сок плодов и ягод подавляет

развитие энтеробактерий. Против болезнетворных микроорганизмов активно действуют фитонциды, которые синтезируют лук, чеснок, земляника, цитрусовые.

Хранение плодоовощной продукции при пониженной температуре не только не действует губительно на патогены, но и существенно удлиняет сроки выживания их на плодах и овощах, поскольку холода патогены не боятся. Так, если на огурцах при комнатной температуре дизентерийные шигеллы *Shigella dysenteriae* выживают в среднем 2–4 суток, то при установленных для хранения этого вида овощей пониженных температурах (10–13 °С) шигеллы сохраняют жизнеспособность в течение 9–14 суток, т. е. практически в течение всего срока хранения. В процессе хранения овощей при низких температурах могут возрастать концентрация и вирулентность иерсиний — возбудителей острых инфекционных кишечных заболеваний. Плоды и овощи, подлежащие замораживанию, не должны содержать болезнетворных микроорганизмов.

С почвой на хранящиеся и перерабатываемые продукты растениеводства могут попадать споры *Clostridium botulinum*, что приводит к возникновению интоксикаций при использовании в пищу приготовленных из них консервов. Почва служит также источником бацилл сибирской язвы, хотя кишечная форма этого заболевания встречается значительно реже, чем кожная. Через плоды и овощи могут передаваться яйца гельминтов и цисты энтамеб *Entamoeba histolytica* — возбудителей амебной дизентерии, передающихся чаще через овощи, выращиваемые на полях орошения.

Перед переработкой или употреблением в свежем виде плоды и овощи необходимо тщательно мыть. В производственных условиях это осуществляют в соответствии с санитарно-технологическими нормативами и инструкциями. В домашних условиях перед употреблением необходимо промывать плоды и овощи только проточной водой, желательнее с мылом, или *бланшировать*, т. е. кратковременно погружать в кипящую воду.

Большое эпидемиологическое значение приобретают места хранения овощей и плодов — плодоовощные базы, овощехранилища, так как в процессе хранения наблюдается увеличение обсемененности плодоовощной продукции, инвентаря, оборудования хранилищ энтеробактериями, гнилостными бактериями, плесневыми грибами. Контаминация возрастает по мере хранения от осени к весне.

В передаче инфекций существенную роль играют грызуны — прежде всего крысы и мыши. Однако возрастание обсемененности овощей болезнетворными микроорганизмами регулярно наблюдается даже

Таблица 3.3. Микробиологические показатели доброкачественности плодовоощной продукции

Индекс, группа продуктов	Микробиологические показатели				Примечание	
	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г, см ³), в которой не допускаются		Дрожжи, КОЕ/г, не более		Грибы (плесневые), КОЕ/г, не более
		БГКП	патогенные, в том числе сальмонеллы			
Овощи и картофель свежие, свежемороженые и продукты их переработки						
Овощи свежие цельные бланшированные быстрозамороженные	$1 \cdot 10^4$	1,0	25	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$ <i>L. monocytogenes</i> в 25 г не допускаются	
Овощи свежие цельные небланшированные быстрозамороженные	$1 \cdot 10^{5*}$	0,01	25	$5 \cdot 10^2$	*Для овощей резаных, в том числе смесей — $5 \cdot 10^3$	
Овощи зеленые и листовые быстрозамороженные	$5 \cdot 10^5$	0,01	25	$5 \cdot 10^2$	В бланшированных <i>L. monocytogenes</i> в 25 г не допускаются	
Плоды, ягоды, виноград быстрозамороженные и продукты их переработки						
Плоды семечковых и косточковых гладких, быстрозамороженные	$5 \cdot 10^4$	0,1	25	$2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$	
Ягоды свежие в вакуумной упаковке и быстрозамороженные, целые	$5 \cdot 10^4$	0,1	25	$2 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^2$	

КМАФАнМ — количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов.

при отсутствии грызунов. Таким образом, первичным резервуаром многих возбудителей инфекций являются почва и растения. Учитывая этот факт и то, что в результате процессов метаболизма грызунов плодовоощная продукция может вторично обсеменяться различными возбудителями, в плодо- и овощехранилищах актуальна санитарно-гигиеническая процедура - *дератизация* - уничтожение грызунов специальными средствами.

Кроме дератизации, необходимо проводить и другие мероприятия, направленные на уменьшение роста зараженности продукции патогенными микроорганизмами и сокращение потерь из-за ее порчи. Зараженная продукция должна подвергаться санитарной обработке. Перед загрузкой пол камер хранилищ моют и очищают от всех остатков, стены и потолок белят или применяют краски с фунгицидными препаратами. Очистку воздуха от микроорганизмов и запахов проводят прежде всего с помощью хорошей вентиляции, специальных фильтров, в отдельных случаях применяют активированный уголь.

Санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами (СанПиН 2.3.2.1078-01) установлены микробиологические показатели, которые определяют доброкачественность плодовоощной продукции в микробиологическом отношении (табл. 3.3).

В заключение следует отметить, что правильное хранение и переработка плодов, овощей и зерна позволяют обеспечивать население необходимыми растительными продуктами, которые составляют большую часть пищевого рациона человека. Роль микроорганизмов в процессах хранения и переработки растениеводческой продукции неоспорима и первостепенна. Микроорганизмы, попадая на растительные продукты, нередко делают их недоброкачественными, способны вызывать отравления, кишечные инфекционные заболевания, иногда с летальным исходом. Поэтому при закладке зерна, плодов и овощей на хранение и их переработке необходимо строго соблюдать соответствующие санитарно-гигиенические инструкции, правила личной гигиены и своевременно проводить санитарно-микробиологический контроль хранящейся и перерабатываемой продукции растениеводства.

Литература

- Авакян А. А., Кац Л. Н., Павлова И. Б. Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных. М., 1972.
Байрак В. А., Беляев В. М., Гительсон С. С. Практикум по ветеринарной микробиологии. М., 1980.

Содержание

Предисловие	3	6. Поступление питательных веществ в клетку	54
D Общая микробиология (В. К. Шильникова)	5	7. Метаболизм бактерий	57
Введение в общую микробиологию	5	7.1. Анаболизм (энергопотребляющие процессы)	58
1. Прокариоты и другие микроскопические существа	8	7.2. Типы питания бактерий	59
1.1. Прокариоты, или бактерии	9	7.3. Катаболизм (энергодающие процессы). Сравнительная характеристика процессов брожения и дыхания	63
1.2. Вирусы, вириды, прионы	9	8. Роль микроорганизмов в превращениях соединений углерода	73
2. Действие факторов внешней среды на микроорганизмы	13	8.1. Цикл углерода в биосфере	73
2.1. Вода как основной фактор в жизнедеятельности микроорганизмов	14	8.2. Спиртовое брожение	75
2.2. Влияние температуры на микроорганизмы	17	8.3. Молочнокислое брожение	80
2.3. Микроорганизмы и реакция среды (рН)	19	8.4. Брожения, вызываемые бактериями рода <i>Clostridium</i>	85
2.4. Микроорганизмы и кислород	22	8.5. Разложение целлюлозы в анаэробных (брожение) и аэробных (окисление) условиях	89
3. Классификация бактерий	24	8.6. Окисление этилового спирта в уксусную кислоту	94
3.1. Принципы классификации бактерий	24	9. Роль микроорганизмов в превращениях соединений азота в почве	96
3.2. Основные группы бактерий, выполняющих важные функции в природе	28	9.1. Круговорот азота в биосфере	96
4. Строение клетки бактерий	34	9.2. Минерализация азотсодержащих органических соединений (аммонификация, гниение)	99
4.1. Капсула	34	9.3. Нитрификация	103
4.2. Клеточная стенка	35	9.4. Имобилизация азота	107
4.3. Цитоплазматическая мембрана и мезосомы	38	9.5. Денитрификация	108
4.4. Цитоплазма	39	9.6. Биологическая фиксация молекулярного азота	111
4.5. Геном клетки	41	Ю. Участие микроорганизмов в превращениях фосфора, серы и железа в природе	120
5. Движение, размножение и спорообразование бактерий	44	10.1. Превращения фосфора	120
5.1. Движение бактерий	44	10.2. Круговорот серы	125
5.2. Рост, развитие и размножение бактерий	47	10.3. Трансформация соединений железа	129
5.3. Споробразование у бактерий	48	Литература	133
		Микробиологические процессы при хранении и переработке плодоовощной продукции (А. А. Ванькова)	136
		11. Эпифитные микроорганизмы плодов и овощей	136
		11.1. Свойства эпифитных микроорганизмов	136
		11.2. Микроорганизмы свежих фруктов и овощей	138

12. Микробиологические процессы при хранении плодовоовощной продукции	141	20. Кишечные инфекционные заболевания и пищевые отравления, возникающие при употреблении недоброкачественной продукции растениеводства и других продуктов питания	232
12.1. Биологические принципы консервирования	141	20.1. Кишечные инфекционные заболевания	232
12.2. Биологические основы хранения плодов и овощей	144	20.2. Пищевые отравления	243
12.3. Бактериальные и грибные болезни плодов и овощей при хранении	148	21. Распространение микроорганизмов в природе	249
13. Микробиологические процессы при переработке плодов и овощей	157	21.1. Микроорганизмы воздуха	249
13.1. Термическое консервирование плодов и овощей	158	21.2. Микроорганизмы природных водоемов	252
13.2. Микроорганизмы охлажденных и замороженных плодов и овощей	163	21.3. Микроорганизмы почвы	255
13.3. Микроорганизмы сушеных плодов и овощей	166	22. Санитарная микробиология плодов и овощей	258
13.4. Маринование и спиртование плодов и овощей	169	Литература	261
13.5. Радуризация плодов и овощей	171	Предметный указатель	263
13.6. Химические консерванты плодов и овощей	173		
13.7. Консервирование на основе молочнокислого брожения	176		
13.8. Микробиологические основы виноделия	186		
13.9. Болезни вина	202		
Литература	207		
Основы санитарно-микробиологического контроля хранения растениеводческой продукции (Г. В. Годова)			
14. Принципы санитарно-микробиологических исследований	209		
15. Методы санитарно-микробиологических исследований	210		
15.1. Прямое обнаружение патогенов	211		
15.2. Методы косвенной индикации патогенов	211		
16. Основные группы санитарно-показательных микроорганизмов	213		
17. Условно-патогенные микроорганизмы	221		
18. Микроорганизмы тела человека	221		
19. Учение об инфекции	225		
19.1. Патогенность и вирулентность микроорганизмов	225		
19.2. Факторы патогенности бактерий	227		
19.3. Классификация патогенных для человека микроорганизмов	230		
19.4. Основные источники инфекции	231		
19.5. Пути передачи инфекции	232		