Федеральное агентство по образованию

**Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования**

**Московский государственный университет прикладной биотехнологии**

**Ветеринарно-санитарный факультет**

**Кафедра Микробиологии и иммунологии**

**Курсовая работа**

**тема:**

**Характеристика возбудителей порчи мясных, молочных и яйцепродуктов**

Выполнил:

студент 4 курса 7 группы

***Кабанов Александр***

Проверила:

доц. Корнелаева Раиса Петровна

Москва 2006

Содержание

Введение

Гнилостные бактерии

Аэробные споровые палочки

Аэробные бесспоровые палочки

Спорообразующие анаэробы

Факультативно-анаэробные бесспоровые палочки

Плесневые грибы и дрожжи

Молочнокислые бактерии

Термоустойчивые молочнокислые палочки

Бактериофаги

Маслянокислые бактерии

Уксуснокислые бактерии

Энтерококки

Пропионовокислые бактерии

Список использованной литературы

Введение

Во время хранения продукты подвергаются порче вследствие попадания и развития в них микроорганизмов. Видовой состав микроорганизмов выделяемый из мясных, молочных и яйцепродуктов, рыбных и других весьма разнообразен (гнилостные бактерии, плесневые грибы, дрожжи, актиномицеты, микрококки, молочнокислые, масляно-кислые и уксуснокислые бактерии и другие). Попав в продукт и обильно размножаясь в нем, сапрофитные микроорганизмы могут обусловить возникновение различных пороков: гниение, плесневение, ослизнение мяса, горький вкус молока, прогорклый вкус масла и др.

Гнилостные бактерии

Гнилостные бактерии вызывают распад белков. В зависимости от глубины распада и образующихся конечных продуктов могут возникать различные пороки пищевых продуктов. Эти микроорганизмы широко распространены в природе. Они встречаются в почве, воде, воздухе, на пищевых продуктах, а также в кишечнике человека и животных

К гнилостным микроорганизмам относятся аэробные споровые и бесспоровые палочки, спорообразующие анаэробы, факультативно-анаэробные бесспоровые палочки.

Они являются основными возбудителями порчи молочных продуктов, вызывают распад белков (протеолиз), в результате чего могут возникать различные пороки пищевых продуктов, зависящие от глубины распада белка. Антагонистами гнилостных являются молочнокислые бактерии, поэтому гнилостный процесс распада продукта возникает там, где не идет кисломолочный процесс.

Протеолиз (протеолитические свойства) изучают посевом микроорганизмов в молоко, молочный агар, мясопептонный желатин (МПЖ) и в свернутую кровяную сыворотку.

Свернувшийся белок молока (казеин) под влиянием протеолитических ферментов может свертываться с отделением сыворотки (пептонизация) или растворяться (протеолиз).

На молочном агаре вокруг колоний протеолитических микроорганизмов образуются широкие зоны просветления молока.

В МПЖ посев производят уколом внутрь столбика среды. Посевы выращивают 5-7 сут при комнатной температуре. Микробы, обладающие протеолитическими свойствами, разжижают желатин. Микроорганизмы, не обладающие протеолитической способностью, растут в МПЖ без его разжижения.

В посевах на свернутой кровяной сыворотке протеолитические микроорганизмы также вызывают разжижение, а микробы, не обладающие этим свойством, не изменяют ее консистенцию.

При изучении протеолитических свойств определяют также способность микроорганизмов образовывать индол, сероводород, аммиак, т. е. расщеплять белки до конечных газообразных продуктов.

Гнилостные бактерии имеют очень широкое распространение. Они встречаются в почве, воде, воздухе, кишечнике человека и животных, на пищевых продуктах. К этим микроорганизмам относятся спорообразующие аэробные и анаэробные палочки, пигментообразующие и факультативно-анаэробные бесспоровые бактерии.

Аэробные споровые палочки

Гнилостные аэробные споровые палочки Вас. сеreus, Вас. mycoides, Вас. mesentericus, Вас. megatherium, Вас. subtilis, наиболее часто вызывают пороки пищевых продуктов.

Bac. cereus—палочка длиной 8-9 мкм, шириной 0,9-1,5 мкм, подвижная, образует споры. Грамположительная. Отдельные штаммы этого микроба могут образовывать капсулу.

Дифференциация B. cereus и других сапрофитных бацилл от B. anthracis.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Дифференцирующие признаки | B. anthracis | B. cereus | B. megate-  rium | B. mycoidalis | B. subtilis |
| Подвижность | - | + | + | + | + |
| Капсулообразование | + | - | - | - | - |
| Гемолиз(на кровяном агаре) | - | + | - | + | +  -- |
| Чувствительность к пенициллину (феномен ожерелья) | + | - | - | - | - |
| Чувствительность к сибиреязвенному фагу | + | - | - | - | - |
| Реакция с люминесцирующей сывороткой | + | - | - | - | - |
| Патогенность для белых мышей или морских свинок | + | +  -- | - | - | - |

Культуральные свойства

Bac. cereus—аэроб, но может развиваться и при недостатке кислорода воздуха. На МПА вырастают крупные, распластанные, серовато-беловатые колонии с изрезанными краями, некоторые штаммы образуют розовато-коричневый пигмент, на кровяном агаре—колонии с широкими, резко очерченными зонами гемолиза; на МПБ—образует нежную пленку, пристеночное кольцо, равномерное помутнение и хлопьевидный осадок на дне пробирки. Все штаммы Bac. cereus интенсивно растут при рН от 9 до 9,5; при рН 4,5—5 прекращают своё развитие. Оптимальная температура развития 30-32 С, максимальная 37—48С, минимальная 10С.

Ферментативные свойства

Bac. cereus свертывает и пептонизирует молоко, вызывает быстрое разжижение желатина, способен образовывать ацетилметилкарбинол, утилизировать цитратные соли, ферментирует мальтозу, сахарозу. Некоторые штаммы способны расщеплять лактозу, галактозу, дульцит, инулин, арабинозу, глицерин. Манит не расщепляет ни один штамм.

Устойчивость

Bac. cereus является спорообразующим микробом, поэтому обладает значительной устойчивостью к нагреванию, высушиванию, высоким концентрациям поваренной соли и сахара. Так, Bac. cereus часто обнаруживают в пастеризованном молоке (65-93С), в консервах. В мясо она попадает при убое скота и разделке туш. Особенно активно палочка цереус развивается в измельченных продуктах (котлеты, фарш, колбаса), а также в кремах. Микроб может развиваться при концентрации поваренной соли в субстрате до 10-15%, а сахара—до 30—60%. Кислая среда действует на него неблагоприятно. Наиболее чувствителен этот микроорганизм к уксусной кислоте.

Патогенность

Белые мыши гибнут при введении больших доз палочки цереус. В отличие от возбудителя сибирской язвы Bac. anthracis палочка цереус непатогенна для морских свинок и кроликов. Она может вызывать мастит у коров. Некоторые разновидности этого микроорганизма выделяют фермент лекцитиназу (фактор вирулентности).

Диагностика

Учитывая количественный фактор в патогенезе пищевых отравлений, вызываемых Bac. cereus, на первом этапе микробиологического исследования проводят микроскопию мазков (окраска мазков по Граму). Наличие в мазках грамположительных палочек толщиной 0,9 мкм позволяет поставить ориентировочный диагноз: «споровый аэроб группы Iа». По современной классификации в группу Iа входят Bac. аnthracis и Bac. cereus. При выяснении этиологии пищевых отравлений большое значение имеет дифференциация Bac. cereus и Bac. аnthracis, так как кишечная форма сибирской язвы, вызываемая Bac. аnthracis, по клиническим признакам может быть принята за пищевое отравление.

Второй этап микробиологического исследования проводят в том случае, если количество обнаруженных при микроскопии палочек достигает в 1 г продукта 10.

Затем по результатам микроскопии патологический материал высевают на кровяной агар в чашки Петри и инкубируют при 37С в течение 1 сут. Наличие широкой, резко очерченной зоны гемолиза позволяет поставить предварительный диагноз на присутствие Bac. cereus. Для окончательной идентификации производят посев выросших колоний в среду Козера и углеводную среду с маннитом. Ставят пробу на лецитиназу, ацетилметилкарбинол и проводят дифференциацию Bac. аnthracis и других представителей рода Bacillus. Bac. аnthracis отличается от Bac. cereus рядом характерных признаков: рост в бульоне и желатине, способность образовывать капсулу в организме и на средах, содержащих кровь или кровяную сыворотку.

Кроме вышеописанных методов применяют экспресс-методы дифференциации Bac. аnthracis от Bac. cereus, Bac. аnthracoides и др.:феномен «ожерелья», пробу с сибиреязвенным бактериофагом, реакцию преципитации—и проводят люминесцентную микроскопию. Можно использовать также цитопатогенный эффект фильтрата Bac. cereus на клетки культур тканей (фильтрат Bac. аnthracis такого эффекта не оказывает).

От других сапрофитных споровых аэробов Bac. cereus отличается по ряду свойств: способность образования лецитиназы, ацетилметилкарбинола, утилизация цитратных солей, ферментация маннита и рост в анаэробных условиях на среде с глюкозой. Особенно важное значение придают лецитиназе.

Образование на кровяном агаре зон гемолиза не является постоянным признаком у Bac. cereus, так как некоторые штаммы и разновидности Bac. cereus (например Var. sotto) не вызывает гемолиза эритроцитов, в то время как многие другие виды споровых аэробов обладают этим свойством.

Вас.mycoides

Вас. mycoides является разновидностью Вас. сеreus. Палочки (иногда образует цепочки) длиной 1,2—6 мкм, шириной 0,8 мкм, подвижны до начала спорообразования (признак характерен для всехгнилостных спорообразующих аэробов), образуют споры, капсул не образуют, по Граму красятся положительно (некоторые разновидности Вас. mycoides грамотрицательны).

Аэроб, на МПА вырастают корневидные колонии серо-белого цвета, напоминающие мицелий гриба Некоторые разновидности (например, Вас. mycoides roseus) образуют красный или розовато-коричневый пигмент, при росте на МПБ все разновидности Вас. mycoides образуют пленку и трудно разбивающийся осадок, бульон при этом остается прозрачным. Диапазон рН, при котором возможно размножение Вас. mycoides широк. В интервале рН от 7 до 9,5 интенсивный рост дают все без исключения штаммы этого микроорганизма. Кислая среда приостанавливает развитие. Температурный оптимум для их развития 30—32°С. Могут развиваться в широком диапазоне температур (от 10 до 45°С).

Ферментативные свойства Вас. mycoides ярко выражены: разжижает желатин, вызывает коагуляцию и пептонизацию молока. Выделяет аммиак, иногда сероводород. Индола не образует. Вызывает гемолиз эритроцитов и гидролиз крахмала, ферментирует углеводы (глюкозу, сахарозу, галактозу, лактозу, дульцит, инулин, арабинозу), но не расщепляет маннита. Расщепляет глицерин.

Вас. mesentericus.

Грубая палочка с закругленными концами длиной 1,6—6 мкм, шириной 0,5—0,8 мкм,подвижна, образует споры, капсул не образует, грамположительна. Аэроб, на МПА вырастают сочные, с морщинистой поверхностью, слизистые колонии матового цвета

(серо-белые) с волнистым краем. Отдельные штаммы Вас. mesentericus образуют серо-бурый, бурый или коричневый пигмент; вызывает слабое помутнение МПБ и образование пленки; в бульоне с кровью гемолиз отсутствует. Оптимальная реакция рН 6,5—7,5, при рН 5,0 жизнедеятельность приостанавливается.

Оптимальная температура роста 36—45°С. Разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко. При разложении белков выделяет много сероводорода. Индол не образует. Вызывает гидролиз крахмала. Не ферментирует глюкозу и лактозу.

Bac. megatherium.

Грубая палочка размером *3,5—*7X1,5—2 мкм. Располагается одиночно, попарно или цепочками, подвижна Формирует споры, капсул не образует, грамположительна. Аэроб, на МПА вырастают колонии матового цвета (серо-белые). Гладкие, блестящие, с ровными краями; вызывает помутнение МПБ с появлением незначительного осадка. Микроб чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 25—30°С.

Быстро разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко. Выделяет сероводород, аммиак, но не образует индола. Вызывает гемолиз эритроцитов и гидролизует крахмал. На средах с глюкозой и лактозой дает кислую реакцию.

Bac. subtilis

Короткая палочка с закругленными концами, размером 3—5X0,6 мкм, иногда располагается цепочками, подвижна, образует споры, капсул не образует, грамположительна.

Аэроб, при росте на МПА формируются сухие бугристые колонии матового цвета. В жидких средах на поверхности появляется морщинистая беловатая пленка, МПБ вначале мутнеет, а затем становится прозрачным. Вызывает посинение лакмусового молока. Микроб чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 37°С, но может развиваться и при температурах несколько выше 0°С.

Характеризуется высокой протеолитической активностью: разжижает желатин и свернутую кровяную сыворотку; свертывает и пептонизирует молоко; выделяет большое количество аммиака, иногда сероводород, но не образует индола. Вызывает гидролиз крахмала, разлагает глицерин; дает кислую реакцию на средах с глюкозой, лактозой, сахарозой.

Аэробные бесспоровые палочки

Наибольшее влияние на качество пищевых продуктов оказывают следующие бактерии этой группы: Bacterium prodigiosum, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas pyoceanea (aeruginosa).

Bacterium prodigiosum — очень мелкая палочка (1X 0,5 мкм), подвижная, спор и капсул не образует.

Строгий аэроб, на МПА вырастают мелкие, круглые, ярко-красные, блестящие, сочные колонии. Низкие температуры наиболее благоприятны для образования пигмента. Пигмент нерастворим в воде, но растворим в хлороформе, спирте, эфире, бензоле. При росте в жидких средах также образует красный пигмент. Развивается при рН 6,5. Оптимальная температура развития 25°С (может расти и при 20°С).

Разжижает желатин послойно, молоко свертывает и пептонизирует; образует аммиак, иногда сероводород и индол; глюкозу и лактозу не ферментирует.

Pseudomonas fluorescens –небольшая тонкая палочка размером 1—2 X 0,6 мкм, подвижная, спор и капсул не образует, грамотрицательна.

Строгий аэроб, но встречаются разновидности, которые могут развиваться и при недостатке кислорода. На МПА и других плотных питательных средах вырастают сочные, блестящие колонии, имеющие тенденцию к слиянию и образованию зеленовато-желтого пигмента,

растворимого в воде; на жидких средах они также образуют пигмент. МПБ мутнеет, иногда появляется пленка. Чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 25°С, но может развиваться и при 5-8 °С. Характеризуется высокой ферментативной активностью: разжижает желатин и кровяную сыворотку, свертывает и пептонизирует молоко, лакмусовое молоко синеет. Образует сероводород и аммиак, не образует индола; большинство из них способны расщеплять клетчатку и крахмал. Многие штаммы Pseudomonas fluorescens продуцируют ферменты липазу и лецитиназу; дают положительные реакции на каталазу, цитохромоксидазу, оксидазу. Pseudomonas fluorescens — сильные аммонификаторы. Глюкозу и лактозу не ферментируют.

Pseudomonas pyoceanea. Небольшая палочка (2—*3 X* 0,6 мкм), подвижна, спор и капсул не образует, грамотрицательна.

Аэроб, на МПА дает расплывчатые, непрозрачные, окрашенные в зеленовато-синий или бирюзово-синий цвет колонии вследствие образования пигментов, растворимых в хлороформе. Вшывает помутнение МПБ (иногда появления пленки) и образование пигментов (желтого — флюоресцина и голубого — пиоцианина).

Как и все гнилостные бактерии, чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 37°С. Быстро разжижает желатин и свернутую кровяную сыворотку, свертывает и пептонизирует молоко; лакмус синеет, образует аммиак и сероводород, не образует индола Обладает липолитической способностью; дает положительные реакции на каталазу, оксидазу, цигохромоксидазу (эти свойства присущи представителям рода Pseudomonas). Некоторые штаммы расщепляют крахмал и клетчатку. Лактозу и сахарозу не ферментирует.

Спорообразующие анаэробы

Наиболее часто вызывает порчу пищевых продуктов clostridium putrificus, Clostridium sporogenes, Closntridium perfringens.

С. putrificus. Длинная палочка (7 — 9 X 0,4 — 0,7 мкм), подвижна (иногда образует цепочки), формирует шаровидные споры, размер которых превышает диаметр вегетативной формы. Термоустойчивость спор довольно высокая; капсул не образует; по Граму красится положительно.

Анаэроб, колонии на агаре имеют вид клубка волос, непрозрачные, вязкие; вызывает помутнение. МПБ.

Протеолитические свойства ярко выражены. Разжижает желатин и кровяную сыворотку, молоко свертывает и пептонизирует, образует сероводород, аммиак, индол, вызывает почернение мозговой среды, на кровяном агаре образует зону гемолиза, обладает липолитическими свойствами; не обладает сахаролитическими свойствами.

Clostridium sporogenes. Крупная палочка с закругленными концами, размером 3 - 7 X 0,6 - 0,9 мкм, располагается отдельными клетками и в виде цепочек, подвижна, очень быстро образует споры. Споры Clostridium sporogenes сохраняют жизнеспособность после 30-минутного нагревания на водяной бане, а также после 20-минутного выдерживания в автоклаве при 120°С. Капсул не образует. По Граму красится положительно, Анаэроб, колонии на агаре мелкие, прозрачные, в дальнейшем становятся непрозрачными.

Clostridium sporogenes обладает очень сильными протеолитическими свойствами, обусловливающими гнилостный распад белков с образованием газов. Разжижает желатин и кровяную сыворотку; вызывает пептонизацию молока и почернение мозговой среды;образует сероводород; разлагает с образованием кислоты и газа галактозу, мальтозу, декстрин, левулезу, глицерин, маннит, сорбит. Оптимальная температура роста 37°С, но может расти и при 50°С.

Факультативно-анаэробные бесспоровые палочки

К факультативно-анаэробным бесспоровым палочкам относятся Proteus vulgaris и Escherichia coli.

В 1885 г. Эшерих открыл микроорганизм, который получил название Escherichia coli(кишечная палочка). Этот микроорганизм является постоянным обитателем толстого отдела кишечника человека и животных. Кроме Е. coli в группу кишечных бактерий входят эпифитные и фитопатогенные виды, а также виды, экология (происхождение) которых пока не установлена.

Морфология - это короткие (длина 1-3 мкм, ширина 0,5-0,8 мкм) полиморфные подвижные и неподвижные грамотрицательные палочки, не образующие спор.

Культуральные свойства. Бактерии хорошо растут на простых питательных средах: мясопептонном бульоне (МПБ), мясопептонном агаре (МПА). На МПБ дают обильный рост при значительном помутнении среды; осадок небольшой, сероватого цвета, легко разбивающийся. Образуют пристеночное кольцо, пленка на поверхности бульона обычно отсутствует. На МПА колонии прозрачные с серовато-голубым отливом, легко сливающиеся между собой. На среде Эндо образуют плоские красные колонии средней величины. Красные колонии могут быть с темным металлическим блеском (Е. соli) или без блеска (Е.аеrogenes).Для лактозоотрицательных вариантов кишечной палочки (В.раrасоli) характерны бесцветные колонии.

Им свойственна широкая приспособительная изменчивость, в результате которой возникают разнообразные варианты, что усложняет их классификацию.

Биохимические свойства. Большинство бактерий не разжижают желатина, свертывают молоко, расщепляют пептоны с образованием аминов, аммиака, сероводорода, обладают высокой ферментативной активностью в отношении лактозы, глюкозы и других сахаров, а также спиртов. Обладают оксидазной активностью. По способности расщеплять лактозу при температуре 37°С БГКП делят на лактозоотрицательные и лактозоположительные кишечные палочки (ЛКП), или колиформные, которые нормируются по международным стандартам. Из группы ЛКП выделяются фекальные кишечные палочки (ФКП), способные ферментировать лактозу при температуре 44,5°С. К ним относится Е. соli, не растущая на цитратной среде.

Устойчивость. Бактерии групп кишечных палочек обезвреживаются обычными методами пастеризации (65 - 75 °С). При 60 С кишечная палочка погибает через 15 минут. 1% раствор фенола вызывает гибель микроба через 5-15 минут, сулема в разведении 1:1000 - через 2 мин., устойчивы к действию многих анилиновых красителей.

Род Proteus относится к семейству Enterobacteriaceae.

Морфология. Бактерии рода Proteus - полиморфные палочки размером 0,5-0,6 х 1,2-3 мкм, подвижные (перитрихи), грамотрицательные, но не образующие спор и капсул. Факультативные анаэробы.

Культуральные свойства. Микроб хорошо культивируется на питательных средах. При посеве материала, содержащего палочку протея, в конденсационную воду свежескошенного агара (метод Шукевича) через несколько часов отмечается роение микроба, ползучий рост, в виде Н-формы (поверхность МПА покрывается тонкой прозрачной пленкой). Посев по методу Шукевича широко применяют в диагностических лабораториях при выделении палочки протея из объектов внешней среды и продуктов.

На плотных углеводных средах (Эндо, Плоскирева) Р. morganii дает прозрачные, округлые, «нероящиеся» О-формы колонии. На среде Плоскирева вокруг прозрачных колоний, обладающих характерным запахом, средаокрашивается в желтоватый цвет. Более старого возраста колонии нередко мутнеют, а их центр окрашивается в бурый цвет. Температурные границы роста 10-43°С, имеются данные об их развитии при 5°С и даже при 0°С.

Биохимические свойства. Бактерии рода Proteus сбраживают глюкозу мальтозу, сахарозу с выделением кислоты и газа, но не ферментируют лактозу и маннит, расщепляют мочевину, оксидазоотрицательные, каталазоположительные, Pr. vulgaris и Pr. mirabilis обладают протеолитической способностью, разжижают желатин; выделяют Н2S Рr.. vulgaris в отличие от Рr. mirabilis образует индол, сбраживает мальтозу.

Устойчивость. Бактерии из рода Proteus погибают при 60 °С в течение 1 ч, при 80 ° С - за 5 мин. Устойчивы к низким температурам, так при хранении мороженого мяса при -13°С они могут выживать длительное время (около 6 месяцев), переносят трехкратное попеременное замораживание и оттаивание. 1% раствор фенола вызывает гибель протея через 30 мин. Эти бактерии устойчивы к ряду антибиотиков и антисептиков. Устойчивы к высоким концентрациям хлористого натрия (до 16 %), при рН мяса 5,8-6,2 палочка протея может размножаться.

Токсинообразование. Многие штаммы рода Proteus выделяют в субстратах термостабильные токсические вещества Некоторые исследователи объясняют это тем, что ряд этих штаммов содержит высокоактивные ферменты группы декарбоксилаз, способствующие накоплению токсических аминов. S-формы этих микроорганизмов продуцируют термостабильные глюцидо-липоидно-полипептидные эндотоксин, сходные с аналогичными субстанциями других грамотрицательных бактерий. Многие штаммы протеев обладают гемолитической активностью.

Антигенная структура. Антигенная структура отдельных штаммов рода Proteus характеризуется большим разнообразием и напоминает антигенную структуру сальмонелл. Принадлежность выделенных штаммов Proteus к определенной груше устанавливают по реакции агглютинации со специфическими О- и Н-сыворотками.

Плесневые грибы и дрожжи

Плесневые грибы. Плесневые грибы постоянно обитают в воздухе, почве, навозе, на поверхности различных предметов, стен сырых помещений и пр. От бактерий они отличаются более сложным строением и способом размножения.

К плесневым грибам относятся организмы, вегетативное тело которых представляет собой мицелий (грибницу), состоящий из переплетающихся тонких нитей — гиф. Различают низшие и высшие совершенные и несовершенные грибы. Гифы низших грибов не имеют перегородок (несептированные), гифы высших — многоклеточные (септированные). У некоторых плесневых грибов мицелий совсем отсутствует или развит слабо.

Плесневые грибы, у которых мицелий не септирован, называются фикомицетами, а те у которых септирован — микомицетами. Независимо от того, септирован или не септирован мицелий, клетка имеет оболочку, протоплазму (с различными включениями: гликоген, волютин и др.) и одно или несколько ядер.

От мицелия отрастают воздушные гифы — спорангиеносцы или конидиеносцы. У низших грибов спорангиеносцы заканчиваются спорангиями с эндогенно-развивающимися в них спорами. У микомицетов и у некоторых фикомицетов от мицелия отходят конидиеносцы с экзогенно-развивающимися на них спорами (конидиями). У грибов со слаборазвитым мицелием конидии образуются в результате перешнуровывания (оидии или артроспоры) и почкования клеток.

Плесневые грибы на поверхности субстрата дают ползучие, стелюпщеся, бархатистые, пушистые, войлокообразные колонии, которые сливаются в сплошной налет. Плесневые грибы имеют характерный, очень часто неприятный запах.

Наиболее благоприятные условия для их развития — свободный доступ кислорода и кислая реакция среды. Они могут развиваться и при влажности окружающей среды 10—15%, рН 1,5—11, температуре до —1ГС, высоком осмотическом давлении, а отдельные виды плесневых грибов — и при ограниченном доступе кислорода. Плесневые грибы обладают ферментативной активностью (протеолитической, липолитической и др.). Они являются возбудителями пороков пищевых продуктов, так как вызывают глубокий распад белков и белковых веществ, разлагают жиры до жирных кислот, альдегидов и кетонов. При их развитии происходит плесневение и ослизнение мяса, сопровождающиеся химическими превращениями, которые обусловливают изменения его запаха и вкуса. При этом снижается товарный вид мяса. Плесневые грибы могут вызвать плесневение масла, кисломолочных продуктов при продолжительном их хранении; сухого молока - при повышенной влажности; изъязвление корки сыра, образование комков и «пуговиц» в сгущенном молоке с сахаром и пр.

При классификации грибов (грибы — это растительные организмы, лишенные хлорофилла) за основу приняты общность характера их полового размножения и филогенетические отношения внутри всей групп грибов в целом, а также морфологические и физиологические свойства. Классифицируют грибы по классам, подклассам, порядкам, семействам, родам и видам.

При хранении мяса, мясных и яйцепродуктов, молока молока и молочных продуктов, рыбы и рыбных продуктов размножаются плесневые грибы (некоторые развиваются даже при —10°С), относящиеся к следующим классам: фикомицетов (Phycomicetes), характеризующихся хорошо развитым многоядерным одноклеточным мицелием (мукоровые грибы); сумчатых грибов (или аскомицетов — Аscomicetes) с хорошо выраженным септированным мицелием — род Aspergillus и род Penicillium; высших несовершенных грибов (Fungi imperfecti), мицелий у которых большей частью септирован (многоклеточный). К высшим несовершенным грибам относят гроздевидную плесень Cladosporium, молочную плесень Oidium lactis и др.

Фикомицеты (Мукоровые грибы). Класс Phycomicetes, порядок Mucorales, семейство Мисоrасеае. В семействе Мисоrасеае насчитывают более 300 видов грибов. Из этого семейства в мясе чаще развиваются плесени трех родов: Мuсоr, Thamnidium, Rhizopus*.* На масле и других молочных продуктах эти грибы встречаются реже.

Мицелий состоит из одной разветвленной клетки, от которой отходят воздушные гифы — спорангиеносцы, простые или ветвистые, заканчивающиеся крупными, шаровидными спорангиями, наполненными большим количеством спор. Плесневые грибы рода Thamnidium формируют спорангии двух видов. Кроме крупного спорангия, растущего на верхушке спорангиеносца, на боковых ветвях его располагаются спорангии (спорангиоли) значительно меньшего размера с небольшим количеством спор. Плесени рода Rhizopus посредством столонов (стелющиеся нити) прикрепляются к субстрату толстыми корневидными образованиями — ризоидами, напоминающими корневые волоски. При развитии волосков образуется узел, из которого отходят спорангиеносцы, заканчивающиеся спорангиями, содержащими большое количество спор. Стволы спорангиев, расположенные пучком, расширяются на конце и образуют апофизу (образование апофизы служит характерным признаком для плесневых грибов рода Rhizopus).

Плесени семейства Мuсоrасеае растут на субстрате вначале в виде паутинного, а затем пушистого налета серовато-дымчатого цвета, иногда сильно поднимающегося над субстратом.

Мucor и Rhizopus прекращают рост при температуре —5-8°С, а Thamnidium при —8°С.

Сумчатые плесневые грибы (аскомицеты). К ним относятся род Рenicillium и род Аspergillus.

Реnicillium*—* кистевик, имеет ветвящийся, бесцветный, септированный мицелий. Сначала над субстратом вырастают белые, расходящиеся от центра нити, которые, разрастаясь, образуют отдельные колонии. Реnicillium обычно очень быстро формирует споры, в результате чего поверхность продукта становится порошистой, серовато-голубовато-зеленоватого цвета. При микроскопировании плесени видны воздушные конидиеносцы, имеющие вид мутовки (веточки). На верхушках веточек образуются длинные цепочки конидий (спор), которые в сочетании с веточкой образуют кисточку. Этот плесневый гриб развивается на продуктах, находящихся в сырых, плохо вентилируемых помещениях. Хорошо развивается при температуре, близкой к 0°С.

Аspergillusпо внешнему виду сходен с Реnicillium. Мицелий септированн в большинстве случаев бесцветный. Цвет плесени, как и у Реnicillium, определяется главным образом цветом конидий. При просмотре под микроскопом или под лупой у Аspergillus видны неветвящиеся конидиеносцы, заканчивающиеся верхушкой, на которой расположены в один или два слоя клетки (стеригмы), от которых отходят длинные цепочки конидий шаровидной формы, в большинстве зеленого или серовато-сине-зеленого реже желто-зеленого или другого цвета. Этот гриб вызывает порчу мясных и молочных продуктов.

Высшие несовершенные грибы. Их классификация основана на строении конидиальных спороношений, а также форме конидий, окраске, числе. Цикл развития этих грибов недостаточно изучен, полового размножения у них не установлено. На этом основании их выделили в группу несовершенных грибов. Мицелий их септирован.

К несовершенным плесневым грибам относятся гроздевидная (Сladosporium), молочная (Oidium lactis) плесени, Воtrytis, Аlternaria, Рhoma.

Сladosporium. Мицелий и конидиеносцы имеют коричневый, оливковый или черный цвет. На воздушных нитях мицелия формируются гроздевидные споры. Из-за темной окраски мицелия, конидиеносцев и конидий на поверхности субстрата образуются черные,

Бархатистые пятна. Хорошо растет при низких температурах и обладает высокой протеолитической активностью. Попадая на мясо, эта плесень может проникать в толщу мышечной ткани.

Плесень этого рода вызывает так называемое внутреннее плесневение масла (образование черных точек) при наличии небольших пустот, так как эта плесень развивается при ограниченном доступе воздуха Может вызвать порчу сыра, яичных продуктов и др.

Oidium lactis. Мицелий белый септированный. Споры — оидии отделяются непосредственно от конца мицелия в виде прямоугольных или овальных клеток, напоминающих дрожжевые. Растет молочная плесень при доступе кислорода в кислой среде. Ряд исследователей относят эти микроорганизмы к несовершенным грибам, близко стоящим к дрожжам. Молочная плесень в виде пушистого белого налета появляется на молочных продуктах (сметане, твороге, простокваше), снижает их кислотность, вследствие чего происходит порча продуктов. При низких температурах могут попадать и развиваться на продукте трудно различаемые между собой и сходные с Oidium lactis плесневые грибы Monilia (Candida) и Oospora (leotrichum).

Некоторые относят эти плесневые грибы к дрожжам. У этих грибов или дрожжеподобных организмов мицелий преимущественно белый, войлокообразный, бархатистый. Мицелий и поднимающиеся над ним ветви распадаются на простые или разветвленные цепочки конидий различной формы (шаровидные, яйцевидные, цилиндрические).

Воtrytis. Мицелий, стелющийся по поверхности субстрата, имеет войлокообразный вид. Конидиеносцы, древовидно ветвящиеся, коричневого или оливкового цвета. На конечных веточках конидиеносцев располагаются стеригмы, на которых развивается по одной конидии. Конидии бесцветные или дымчатые, собраны в маленькие пучки — головки. Этот плесневый гриб размножается на продуктах при хранении в холодильнике. Может развиваться при 5°С и ниже.

Аlternaria. От мицелия гриба отходят короткие конидиеносцы, имеющие грушевидную или заостренную форму конидии, с продольными и поперечными, перегородками, окрашенные в оливковый или бурый цвет. Конидиеносцы короткие, простые, реже ветвистые, окрашены в оливковый или черный цвет*.* Плесени этого вида могут развиваться на охлажденном и замороженном мясе, на масле и других продуктах.

Рhoma. Этот плесневый гриб наружного мицелия не образует. Он в основном развивается внутри гниющего субстрата Органами размножения у него служат пикниды — очень короткие конидиеносцы с конидиями, которые окружены оболочкой, состоящей из переплетенных гиф.

Дрожжи — одноклеточные организмы округлой, овальной или удлиненной формы с двуконтурная оболочкой и дифференцированным ядром. Цитоплазма дрожжевых клеток гомогенная или тонкозернистая, в ней обнаруживают 1—*2* вакуоли и различные включения, играющие роль резервных веществ (гликоген, волютин, капельки жира). Размножение дрожжей происходит путем почкования, но для многих видов характерно спорообразование. В дрожжевой клетке может образовываться от 4 до *12* спор. Дрожжевую клетку в этом случае рассматривают как аскус (сумка), а споры как аскошоры. У некоторых видов дрожжей (Saccharomyces octospora) наблюдают половой процесс. Дрожжи — факультативные анаэробы, лучше развиваются в кислой среде, оптимальная температура развития 20—30°С. но многие из них способны развиваться и при —10°С. Вегетативные формы дрожжей погибают при 60—65°С, а споры — при 70— 75°С. Они широко распространены в природе: в почве, на растениях, в кормах, в воздухе, — откуда попадают на пищевые продукты.

Различные виды и разновидности дрожжей сбраживают большинство углеводов (глюкоза, мальтоза, сахароза, лактоза, декстроза). Некоторые дрожжи (род Муcoderma) не сбраживают углеводы и они получили название - пленчатых дрожжей. Их клетки имеют вытянутую форму. На жидких питательных средах образуют беловато-серую, морщинистую пленку, поднимающуюся вверх по стенке сосуда. Эти дрожжи широко распространены в природе и вызывают порчу различных продуктов. Дрожжи Torula amare вызывают прогоркание масла. Клетки этих дрожжей округлой формы. При росте на субстрате образуют розовый или черный пигмент.

Дрожжи, попадая на мясо и развиваясь в нем, используют молочную кислоту, изменяют рН мяса, а также портят его товарный вид. При воздействии дрожжей на жиры образуются свободные жирные кислоты, что ведет к прогорканию продукта. Липолитической способностью обладают многие из дрожжей, растущих на мясе. Из масла часто выделяют роды Candida и Torulopsis. Гнилостной порчи продуктов эти микроорганизмы не вызывают, но в результате плесневения и ослизнения мяса при развитии на нем дрожжей сокращаются сроки его хранения в охлажденном и замороженном состоянии.

Представителей рода Debarymrcens выделяют из мяса, колбас и других продуктов. Характерной особенностью этих дрожжей является их способность развиваться в средах с 24%. NаС1 и возможность использовать белковые вещества мясных сред, Единичные клетки могут остаться в консервируемом продукте при нарушении процесса тепловой обработки. Они также могут обнаруживаться в готовых консервах, если тара оказалась негерметичной.

Актииомицеты (Асtinomycetalis), или лучистые грибы, — довольно распространенная группа микроорганизмов, сходных с бактериями и низшими грибами. Актиномицеты — организмы с нитевидным строением, их мицелий не септирован (не разделен перегородками). Споры формируются на ветках воздушного мицелия. Ширина и толщина мицелия, как и у бактерий, не превышает 0,5— 1,2 мкм. Они грамположительны, хорошо окрашиваются анилиновыми красками. Размножаются при посредстве воздушных спор, формирующихся на ветках воздушного мицелия. Размножение также возможно путем распада протоплазмы на отдельные клетки (оидии).

Актиномицеты обычно развиваются на плотных питательных средах, образуя небольшие, округлые, плотные, почти роговидные, прочно врастающие в среду колонии. Воздушные споры придают колониям актиномицетов характерный вид (они как бы посыпаны мелом). Определенные виды способны образовывать пигменты (синие, розовые, желтые и др.). Некоторые разновидности являются продуцентами антибиотиков. Большинство видов хорошо развивается при 25—30°С, для патогенных же видов температурный оптимум составляет 37—40°С. Актиномицеты широко распространены в природе — одни из наиболее многочисленных гнилостных микроорганизмов. Они способны вызывать гниение белковых субстратов, гидролиз жира. Так, причиной неприятного, землистого запаха могут быть развивающиеся на мясе актиномицеты, которые хорошо растут при-2...-3°С.

Микрококки

Семейство Мcrососсасеае включает роды: Micrococcus, Staphylococcus, Sarcina.

Кокки этого семейства обычно имеют форму почти правильного шара. Деление кокка в трех перпендикулярных плоскостях приводит к образованию кубовидных скоплений (род Sarcina). Иногда встречаются клетки, соединенные попарно.

Большинство Micrососсасеае — аэробы и факультативные анаэробы. Существует небольшое число видов, относящихся к облигатным анаэробам. Наряду с сапрофитными встречаются патогенные вида (Staphylococcus aureus и др.), которые могут вызвать различные патологические процессы в организме человека и животного, а также быть причиной пищевых отравлений. Сапрофитные микроорганизмы семейства Мicrососсасеае широко распространены в природе, попав на пищевые продукты, могут вызывать различные пороки: горький вкус молока и сыра, загустевание молока, прогорклый вкус масла, образование коричневых пятен на сыре и др.

Род Micrococcus — строгие аэробы в отличие от рода Staphylococcus. При росте на МПА образуют средней величины, круглые, окрашенные в белый, желтый или розовый цвет колонии. Встречаются также различные оттенки от красного до оранжевого цвета, особенно часто среди сапрофитных микрококков М. roseus. М. flavus. Пигменты, образуемые микрококками, нерастворимы в воде. Оптимальная температура развития 20 — 25°С. Многие виды микрококков могут развиваться при *5 —* 8°С. В противоположность им токсигенные стафилококки являются мезофилами, Отдельные виды микрококков выдерживают нагревание до 63— 65°С в течение 30 мин и кратковременную пастеризацию при высокой температуре.

Микрококки обладают высокой устойчивостью к соли и сахару. Некоторые разновидности микрококков (М.radiodurans) обладают исключительной стойкостью к ионизирующему облучению.

Микрококки относятся к пептонизирующим микроорганизмам. При развитии в молоке они сбраживают лактозу, повышая кислотность молока до 40 — 45°Т, и одновременно выделяют сычужный фермент; это приводит к образованию сгустка в молоке и появлению пороков молока и молочных продуктов (преждевременное свертывание, загустевание сгущенного молока с сахаром, горький вкус). Некоторые виды микрококков разлагают жир и вызывают прогорклый вкус продукта.

Молочнокислые бактерии

Молочнокислые бактерии широко распространены в природе. В определенных условиях они могут вызвать порчу многих пищевых продуктов.

По морфологическим признакам их делят на стрептококки и палочки. В каждой группе имеются гомо- и- гетероферментативные бактерии.

Молочнокислые стрептококки. Молочнокислые стрептококки относятся к семейству Streptососсасеае, родам Lactococcus и Leuconostoc. К гомоферментативным относятся молочный (Laс. lacnis) и сливочный (Lac. cremoris) стрептококки. Гетероферментативными являются ароматобразующие стрептококки, или цитроворусы, способные продуцировать ароматические вещества (диацетил, ацетоин) и усваивать соли лимонной кислоты — цитраты. В эту группу входят Lac. diacetylactis, Leu. cremoris, Leu. dextranicum

Промежуточное положение между гомо- и гетероферментативными стрептококками занимает термофильный стрептококк Str. thermophilus, поэтому его иногда называют среднегетерогенным видом.

Молочнокислые стрептококки представляют собой шаровидные или овальные клетки размером до 1—*2* мкм в диаметре, располагающиеся в виде коротких цепочек или попарно; неподвижны, спор и капсул не образуют, по Граму красятся положительно В молодых культурах некоторые штаммы сливочного стрептококка образуют слизистую капсулу. Клетки ароматобразующих стрептококков несколько мельче, чем клетки Lac. lactis и Lac. cremoris , а клетки термофильного стрептококка крупнее, чем сливочного.

Молочнокислые стрептококки, так же как и палочки, по отношению к кислороду являются факультативными анаэробами, т. е. растут не только в анаэробных условиях, но и при доступе молекулярного кислорода. Однако в присутствии кислорода у них не изменяется тип дыхания, так как не проявляется аэробное дыхание, а продолжается процесс брожения.

Поэтому молочнокислые бактерии можно отнести к категории аэротолерантных (воздухотерпимых) анаэробов.

Температурные границы жизнедеятельности этих микроорганизмов довольно широки. Для мезофильных видов оптимальная температура 25—30 °С, но имеются и термофилы, растущие при 38 — 43 °С. Минимальной температурой развития для мезофильных молочнокислых бактерий является 10 ° С, для термофилов — 20-22 °С. Имеются данные, что некоторые молочнокислые бактерии способны расти при очень низких плюсовых температурах (до 3 °С).

По потребности в питательных веществах молочнокислые бактерии относятся к наиболее сложным микроорганизмам. В качестве источника углерода они могут использовать моно- и дисахариды, органические кислоты.

На обычных питательных средах они не развиваются, а растут на средах с добавлением аминокислот, гидролизатов белков мяса, лактальбумина, казеина, различных видов муки. Большинству видов молочнокислых бактерий необходимы аминокислот: аргинин, цистеин, глутаминовая кислота, лейцин, фенилаланин, триптофан, тирозин, валин. Только некоторые виды молочнокислых стрептококков могут расти на средах, содержащих аммонийные соли в качестве единственных источников азота,

Большинству молочнокислых бактерий необходимы витамины — рибофлавин (В2), тиамин (В1), пантотеновая (Вз), никотиновая (РР), фолиевая (Вс) кислоты, пиридоксин (В6) и др. Этим объясняется положительное влияние на рост микроорганизмов добавок к питательным средам различных питательных экстрактов (кукурузы, моркови, картофеля), дрожжевого автолизата и других витаминсодержащих соединений. Рост молочнокислых бактерий стимулируют и некоторые пептиды, пурины (аденин, гуанин, гипоксантин), пиримидины (урацил, тимин и др.), жирные кислоты (уксусная, олеиновая), а также лимонная кислота.

Молочнокислые бактерии культивируют на обезжиренном стерильном молоке или на плотных и жидких искусственных питательных средах с использованием гидролизованного молока и других питательных веществ, получаемых из молока.

При развитии молочнокислых стрептококков в молоке они вызывают его свертывание (за исключением Leu. demons), т. е. образование ровного, без обильного отделения сыворотки плотного сгустка, имеющего приятные кисломолочные вкус и запах. Ароматобразующие стрептококки образуют сгусток, в котором можно обнаружить в небольшом количестве пузырьки углекислого газа. На питательной среде (агар с гидролизованным молоком и мелом) молочнокислые стрептококки образуют мелкие (0,5—1 мм) каплевидные колонии с ровным краем, с зонами просветления мела. Колонии в толще пигательной среды (глубинные колонии) имеют форму лодочки или зерна чечевицы. Lac. diacetilactis на 3%-ном агаре; может образовывать глубинные колонии в виде паучков или комочков ваты, напоминающие колонии молочнокислых палочек.

Молочнокислые бактерии растут в средах с низким значением рН от 5,5 до 8,8, некоторые — при рН 2,9—3,2. Характерным свойством молочнокислых бактерий является высокая спиртоустойчивостъ. Они могут развиваться на питательных средах, содержащих 15—18 *%* этилового спирта, реже — при 24 %.

Биохимические свойства молочнокислых бактерий изучают по энергии кислотообразования, предельной кислотности, способности сбраживать соли лимонной кислоты, по качеству сгустка, возможной протеолитической активности бактерий и др.

Энергию кислотообразования определяют по времени образования сгустка молока (кислотность около 58—60 °Т) при внесении 0,5 см молодой (12—20-часовой) культуры в 10 см3 стерильного обезжиренного молока и выращивании посевов при оптимальной температуре.

Кислотность молока по Тернеру определяют титрованием децинормальным раствором едкого натра при индикаторе фенолфталеине, Для титрования берут 10 см3 молока, разбавленного 20 см3 воды (можно брать в 2 раза меньше). Объем щелочи (в см3 ), пошедшей на нейтрализацию кислоты, умножают на 10 (20) и получают таким образом кислотность молока (1 °Т соответствует 9 мг молочной, кислоты в 100 см3 молока).

Протеолитическую активность бактерий изучают на мясо-пептонной желатине, молоке или определяют с помощью специальных биохимических исследований и судят о ней по общему количеству образовавшихся водорастворимых продуктов распада белка, образовании аммиака, сероводорода, индола, которые характеризуют глубокий распад белковых веществ.

Способность сбраживать соли лимонной кислоты (цитраты) определяют посевом бактерий на плотную среду с цитратом кальция. Появление зон просветления вокруг колоний свидетельствует об образовании водорастворимых продуктов брожения при наличии фермента цитритазы.

Активность образования ароматических веществ устанавливают по количеству образовавшихся летучих соединений (методом возгонки) и четырехуглеродных соединений (диацетила и ацетоина).

Молочнокислые стрептококки обладают различной ферментативной активностью.

Lac. lactis является активным кислотообразователем, Активные штаммы свертывают молоко за 4—7 ч, Предельная кислотность при его развитии достигает 120 °Т. Восстанавливает и свертывает лакмусовое молоко, не образует ацетоина, разлагает аргинин с образованием аммиака. Не развивается в среде, содержащей 6,5 *% NaSi*, и в щелочной среде при рН 9,5. Многие штаммы продуцируют антибиотик низин, который является полипептидом с молекулярной массой 3500. Он подавляет большинство стрептококков (но не энтерококков), стафилококков, микрококков, некоторые виды бацилл, лактобактерий, клостридий, актиномицетов. При этом в отношении грамотрицательных бактерий низин бактерицидным действием не обладает.

Lac. cremoris в отличие от молочного стрептококка не сбраживает мальтозу и декстрин, лишен способности дезаминировать аргинин. Не растет на средах, содержащих 4 *%* КаС1, а также при температуре 39—40 °С. При пониженных температурах культивирования (15—20 °С) некоторые штаммы образуют значительное количество летучих кислот, восстанавливают и свертывают (иногда только частично) лакмусовое молоко. Имеются слизеобразующие штаммы, формирующие сгустки молока. Их используют в заквасках для производства сметаны.

Энергия кислотообразования у Lac. cremoris слабее, чем у Lac. lactis, и составляет 6—8 ч, а предельная кислотность — 110-115°Т.

Ароматобразующие стрептококки содержат фермент цитритазу, которая расщепляет цитраты с образованием диоксида углерода (ССЬ) и ароматических веществ — ацетоина и диацетила. Сравнительно слабый кислотообразователь, но образует диацетил в значительном количестве. Имеет слабую энергию кислотообразования (более 16 ч), предельная кислотность в молоке достигает 70—100 °Т. Сгусток молока часто содержит пузырьки газа (СО2). Запах сгустка специфический, обусловлен накоплением диацетила. Восстанавливает и свертывает лакмусовое молоко, сначала оно становится розовым, затем быстро обесцвечивается. Многие штаммы разлагают аргинин с выделением аммиака, устойчивы к содержанию в среде *4* % NaCl. Leu. dextranicum является также слабым кислотообразователем. Он свертывает молоко при оптимальной температуре через 2 — 3 сут. Предельная кислотность составляет 70 — 80 °Т. Для развития Leu. dextranicum и Leu. cremoris большое значение имеет марганец, добавление которого в молоко стимулирует их рост и ароматообразование.

Str. thermophilus по энергии кислотообразования превосходит все молочнокислые стрептококки, достигая уровня термофильных лактобактерий. Он сквашивает молоко через 3,5 — 6 ч, предельная кислотность составляет 1 10 — 1 15° Т.

Термофильный стрептококк не растет на средах с пенициллина 0,01 МЕ/см3 и стрептомицина 5 мкг/см3 используют в качестве тест-культуры при выявлении антибиотиков в молоке. Чувствителен к действию специфических бактериофагов. Более интенсивный рост термофильных стрептококков наблюдается при добавлении к питательным средам основных аминокислот — валина, лейцина, изолейцина, лизина, аргинина, метионина, гистидина и пролина. Str. thermophilus обладает относительно высокой термоустойчивостью. Он выдерживает температуру 75 °С в течение 15 мин и 65 °С в течение 30 мин, вследствие чего составляет значительную часть остаточной микрофлоры в молоке после пастеризации.

В жидкой среде, содержащей глюкозу и 4 % №С1, термофильный стрептококк кислоту не образует, а при содержании 2 *%* МаС1 молочную кислоту синтезируют отдельные штаммы. При наличии в среде 0,1 *%* метиленового голубого Str. thermophilus не развивается, он не восстанавливает лакмусовое молоко. Некоторые штаммы образуют диацетил, в небольшом количестве синтезируют ацетоин.

Молочнокислые палочки . Молочнокислые палочки (лактобактерии) относят к семейству Lactobacteriaceaе, роду Lactobacterium, включающему три подрода: Thermobacterium, Streptobacterium и Betabacterium. Термо- и стрептобактерии являются гомоферментативными, а бета- бактерии — гетероферментативными молочнокислыми палочками.

К термобактериям относятся 8 видов палочек, среди которых наиболее часто применяют L. helveticum, L. acidophilum, L. bulgaricum, L.lactis. Подрод стрептобактерии включает 7 видов, среди которых в молочной промышленности используют L. plantarum и L.rhamnosus. В подрод бета-бактерий входят 11 видов палочек, наиболее изученными среди них являются L. brevis, L. buchneri, L. fermentum и др.

Лактобактерии представляют собой палочки, одиночные или соединенные попарно, размером (4.. .10) х (0,5.. .0,6) мкм. Они неподвижны, спор и капсул не образуют, по Граму красятся положительно. Клетки стрептобактерии мельче, чем клетки термобактерий, и часто располагаются в виде цепочек. Бета-бактерии имеют наиболее мелкие и тонкие клетки.

Молочнокислые палочки являются факультативными анаэробами или микроаэрофилами. По отношению к температуре стрептобактерии и бета-бактерии являются мезофилами, термобактерии — термофилами. На обычных средах они не растут, их выращивают на средах с молоком. При развитии в молоке вызывают образование однородного плотного сгустка с приятными кисломолочными запахом и вкусом.

На плотной питательной среде лактобактерии формируют мелкие гладкие блестящие колонии со сферической поверхностью серо-белого цвета. Колонии лактобактерий разных видов почти не различаются. Однако в некоторых случаях наблюдаются волокнистые, врастающие в субстрат колонии R-формы в отличие от гладких колоний, относящихся к S-формам. Глубинные колонии термобактерий могут быть темными, желтовато-бурыми, иногда с короткими отходящими нитями. В отличие от глубинных колоний поверхностные колонии более крупные, локонообразные или зернистые. Глубинные колонии стрептобактерий имеют лодочкообразную форму, иногда с выростом.

Температурные границы роста для термобактерий составляют 20 - 55 °С, для мезофилов — 15-38 °С. Оптимальной температурой развития для L. helveticum является 40 °С, для L. bulgaricum, L. lactis- 45°С, L. acidophilum— 37-38 °С. Для мезофилов оптимальной является температура 30 °С.

Лактобактерии обладают слабой протеолитической активностью и поэтому не растут в субстратах, где единственным источником азота является белок, т. е. где отсутствуют различные аминокислоты.

В то же время имеются молочнокислые бактерии, которые могут расщеплять белки.

Молочнокислые бактерии не восстанавливают нитраты в нитриты, не образуют пигментов. Цитохромы и пероксидазу не образуют, но некоторые продуцируют каталазу, разлагающую пероксид водорода (Н2О2). Лактобактерии обладают хорошо выраженными сахаролитическими свойствами. Кроме глюкозы и лактозы они сбраживают и другие сахара. Так, многие гомо- и гетероферментативные виды (L. plantarum и L. brevis и др.) интенсивно используют пентозы, иногда даже активнее, чем глюкозу.

Гетероферментативные молочнокислые бактерии сбраживают фруктозу, поскольку у них имеется маннитдегидрогеназа, осуществляющая восстановление фруктозы до маннита. Продуктами сбраживания фруктозы также являются лактаты, ацетаты и углекислый газ.

Термофильные молочнокислые палочки являются активными кислотообразователями, они сквашивают молоко через 4—5 ч, предельная кислотность достигает 200—350° Т,

L. helveticum является самым активным кислотообразователем, предельная кислотность молока при его развитии достигает 350 °Т. Эта палочка сбраживает мальтозу и декстрин, не сбраживает сахарозу, раффинозу, салицин. Некоторые штаммы развиваются в субстратах, содержащих до 5 % поваренной соли.

Штаммы L. helveticum можно выделить из сычуга телят или кислого сырого молока.

L. bulgaricum доводит предельную кислотность молока до 200-300°Т. Штаммы болгарской палочки образуют ацетальдегид — ароматическое вещество, придающее специфические вкус и запах, и антибиотические вещества, подавляющие нежелательную микрофлору кишечника. Болгарская палочка чувствительна ко многим антибиотикам, устойчива к бактериофагу.

Штаммы L. bulgaricum выделяют, как правило, из сырого молока. L. acidophylum является кишечным микробом, который можно выделить ю содержимого пищеварительного тракта человека и различных животных. Ацидофильная палочка способна после культивирования в молоке вновь приживаться в кишечнике человека и подавлять там развитие патогенных и нежелательных микроорганизмов (сальмонеллы, шигеллы, стафилококки, эшерихии и др.). Антагонистическое действие L. acidophylum обусловлено продуцируемыми антибиотиками — ацидофилином и лактоцидином.

Ацидофильные бактерии устойчивы к щелочной реакции (рН 8,3), наличию в среде фенола (0,25—0,4 %), желчи (20 *%),* КаСl (2 %). Предельная кислотность ацидофильной палочки достигает 200—250 °Т. L. acidophylum сбраживает сахарозу, мальтозу, салицин, часто раффинозу, декстрин. Имеются слизеобразующие штаммы ацидофильной палочки.

L. lactis по своим свойствам и поведению в закваске проявляет большое сходство с L.bulgaricum. Сбраживают глюкозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, галактозу, раффинозу, декстрин и салицин. Предельная кислотность молока, сквашенного L. lactis, достигает 120—180 °Т.

В результате жизнедеятельности термоустойчивых палочек происходит интенсивное кислотообразование, обуславливающее порок творога, сметаны, обыкновенной простокваши - излишне кислотный вкус. Могут вызывать тягучесть и нечистый, неприятный вкус.

Стрептобактерии обладают менее выраженной кислотообразующей способностью. Они сквашивают молоко через 2—3 сут., предельная кислотность составляет 180 °Т.

Стрептобактерии L. plantarum, L. rhamnosus способны усваивать кроме лактозы также соли молочной кислоты, т. е. лактаты. Они растут в гидролизованном молоке, содержащем 6 % МаС1 и 20—40 % желчи, восстанавливают и свертывают лакмусовое молоко и не образуют аммиак из аргинина. Обладают высокой протеолитической активностью (в 2 раза выше, чем у мезофильных молочнокислых стрептококков), содержание свободных аминокислот в молоке повышают с 10 до 60 мг%. L. rhamnosum в отличие от L. plantarum образует СО2 го цитрата натрия.

L. plantarum продуцирует антибиотик лактолин, действующий угнетающе на кишечную микрофлору и маслянокислые бактерии.

Стрептобактерии обладают хорошо выраженными сахаролитическими свойствами. Они сбраживают фруктозу., галактозу, маннит, маннозу, раффинозу, рибозу, салицин, сорбит, трегалозу, эскулин и др. Глюкозу сбраживают без образования газа.

Термоустойчивые молочнокислые палочки

Эти микроорганизмы могут выдерживать кратковременное нагревание в молоке при температуре 85-90 °С, иногда выше, что является важным отличительным признаком этих бактерий от других видов термофильных молочнокислых палочек.

Клетки представляют собой средних размеров или крупные палочки, располагаются одиночно или цепочками, часто с выраженными зернами в цитоплазме. По Граму красятся положительно, спор и капсул не образуют, неподвижны.

Термоустойчивые бактерии являются факультативными анаэробами, на обычных средах не растут. Хорошо растут в обезжиренном молоке, а также на агаре с гидролизованным молоком.

В отличие от термофильных лактобактерий, используемых в молочной промышленности, термоустойчивые палочки на агаре с гидролизованным молоком образуют поверхностные колонии более крупные, локонообразные или зернистые, с темным центром. Глубинные колонии мелкие, темные или желтовато-бурые, иногда с короткими отходящими нитями. Растут при температуре от 20 до 65 °С, оптимум 45-55 °С.

Термоустойчивые палочки свертывают молоко в течение 8-10 ч, предельная кислотность достигает 150-220 °Т. При сквашивании молока образуется ровный слизистый или неслизистый сгусток, без газа. Растут в среде с содержанием 2-3 % КаС1, 30-40 % желчи. Устойчивы к действию дезинфицирующих средств, применяемых в молочной промышленности, что затрудняет борьбу с ними. Обладают антагонистической активностью по отношению к кишечным палочкам.

В результате жизнедеятельности термоустойчивых палочек происходит интенсивное кислотообразование, обусловливающее порок творога, сметаны, обыкновенной простокваши - излишне кислый вкус. Могут вызывать тягучесть и нечистый неприятный вкус.

Термоустойчивые молочнокислые бактерии обнаруживают в сыром молоке, в молоке, пастеризованном при 74-76 °С с выдержкой 15-20 с и при 80-85 °С с выдержкой 5-10 мин; на оборудовании, в кисломолочных продуктах и в заквасках.

Для контроля пастеризованного молока и сливок на наличие термоустоичивых палочек готовят разведения исследуемых проб в стерильном растворе хлористого натрия. Полученные разведения пастеризованного молока или сливок засевают в стерильное обезжиренное молоко (до 6-го разведения). Посевы помещают в термостат с температурой 42 °С и выдерживают 3 сут.

Из образовавшихся сгустков готовят бактериоскопические препараты, микроскопируют их и устанавливают наличие или отсутствие в них термоустойчивых палочек.

Для обнаружения термоустойчивых молочнокислых палочек на технологическом оборудовании стерильным тампоном, смоченным стерильным раствором хлористого натрия, протирают исследуемый участок оборудования. Тампон опускают в пробирку со стерильным молоком и выдерживают 16-24 ч при 42°С. После культивирования просматривают микроскопические препараты, приготовленные из молока, и устанавливают наличие термоустойчивых молочнокислых палочек.

Бактериофаги

Представляют собой разнообразно устроенные ДНК- или РНК-содержащие вирусы, являющиеся внутриклеточными паразитами бактерий. Они вызывают лизис (растворение) бактерий, используемых при производстве молочных продуктов, в результате чего увеличиваются сроки выработки продукта, ухудшается его качество.

При производстве кисломолочных продуктов наибольшее значение имеют фаги, поражающие мезофильные молочнокислые стрептококки: Lac. lactis, Lac.diacetylactis, Lac. cremoris. Обнаружены бактериофаги, поражающие Str. thermophilus и молочнокислые палочки. Однако среди этих микроорганизмов бактериофаги встречаются очень редко.

При попадании фаговой частицы в культуру бактерий она адсорбируется на бактериальной клетке и при помощи протеолитического фермента разрыхляет клеточную стенку, Затем белковая оболочка фага сокращается и ДНК впрыскивается в цитоплазму бактериальной клетки. В клетке начинается синтез ДНК фага и его белка. Одновременно подавляется бактериальная генетическая система, В дальнейшем образуются вегетативные фаговые частицы, а через 30—60 мин стенка бактериальной клетки набухает и прорывается, при этом освобождается до 100 новых частиц, которые могут инфицировать 100 новых бактериальных клеток. Так продолжается до тех пор, пока не лизируются все чувствительные клетки бактерий.

Благоприятные условия для размножения фагов находятся в диапазоне температур от 8 до 46 °С. Основными условиями, способствующие размножению бактериофага, являются непрерывное ведение технологического процесса, кислая реакция среды, добавление СаС1 ь разбрызгивание сыворотки, перемешивание.

Основными условиями, подавляющими развитие бактериофага, служат внесение в молоко сычужного фермента, обработка оборудования УФ-лучами, раствором хлорной извести или другими моюще-дезинфицирующими растворами.

Различают две разновидности фагов: вирулентные и умеренные. При инфекции вирулентными фагами их цикл размножения завершается лизисом бактериальной клетки и выходом фаговых частиц. Умеренные фаги в бактериальной клетке не размножаются, в виде профагов встраиваются в генетический аппарат клетки, не принося ей вреда. При этом возможно одновременное деление клетки-хозяина и профага. Вновь образовавшиеся клетки бактерий также не лизируются, и это состояние сожительства клетки и профага может сохраняться на протяжении многих поколений бактерий.

Клетки бактерий, а также их культуры, содержащие профаг, называют лизогенными. Профаг в клетке хозяина может погибнуть или под влиянием внешних индуцирующих воздействий может вновь стать вирулентным, способным размножаться.

Лизогенные штаммы молочнокислых бактерий является основным источником попадания профагов в производственные закваски, которые в дальнейшем размножаются в микрофлоре полуфабрикатов, продуктов, оборудования, молочной сыворотки и др.

Большое практическое значение имеет специфичность фагов, т. е. способность их размножаться в определенных видах бактерий. Такие фаги и клетки бактерий называют гомологичными.

Что касается специфичности бактериофагов к определенным штаммам бактерий, то они могут лизировать один, и даже восемь штаммов одного вида микробов. Установлена также различная фагочувствительность штаммов бактерий, которые могут лизироваться одним или несколькими штаммами бактериофагов. В связи с этим в лабораториях, разрабатывающих закваски, определяют чувствительность заквасочных штаммов к бактериофагу.

Фаги устойчивы к воздействию высоких температур. Они выдерживают режимы пастеризации молока при 75 °С в течение 15с.

Они хорошо переносят замораживание и длительное хранение (годами) при низких температурах в высушенных субстратах. 1%-ный раствор фенола не оказывает на них заметного действия, 1%-ный раствор формалина инактивирует фаг через несколько минут. Фаги обладают высокой чувствительностью к кислотам. Ультрафиолетовые лучи и ионизирующая радиация вызывают их инактивацию, а в более низких дозах—мутации.

Бактериофаги имеют широкое распространение. Их можно встретить в почве, фекалиях и сточных водах. Поэтому первичное загрязнение молока происходит обычно на ферме. Другими источниками загрязнения являются воздух, зараженная фагами вода, а также недостаточно вымытые и продезинфицированные емкости.

Маслянокислые бактерии

К маслянокислым бактериям относят Clostridium saaccharobutyricum, Clostrydium pasteurianum. Это палочки цилиндрической формы, длиной от 4—5 до 7—12 мкм и толщиной 0,5—1,5 мкм (рис.32). Подвижны, образуют споры, капсул не образуют. Грамположителъны. Перед образованием спор в них накапливается гранулеза (крахмалоподобное вещество), которое окрашивается йодом в синий цвет. Спора чаще всего располагается в центре клетки, и ее диаметр превышает размер вегетативной формы клетки. Клетки приобретают форму веретена (клостридии); иногда спора располагается на конце клетки, форма которой приобретает вид ракетки (плектридии). Споры выносят кипячение в течение 1—*2* мин и не погибают при пастеризации. Относятся к анаэробам. Оптимальная температура развития 30—35°С, минимальная 8—10°С, максимальная 45°С. Отличительные признаки этих бактерий: бурное газообразование при их развитии, неприятный запах масляной кислоты. Маслянокислые бактерии сбраживают молочный сахар и расщешмют соли молочной кислоты. При этом образуется масляная, уксусная, пропионовая, муравьиная кислота и небольшое количество спирта (этилового, бутилового, пропилового).

Маслянокислые бактерии способны усваивать белковый, аминокислотный и аммонийный азот, а некоторые даже азот воздуха. Они чувствительны к кислой реакции среды.

Clostridium saaccharobutyricum. Это строгий анаэроб, оптимальная температура развития 30—40°С.

Сбраживает многие углеводы (гексозы, пентозы, дисахариды, крахмал) и близкие к ним соединения с выделением водорода, углекислота и масляной кислоты.

Clostrydium pasteurianum. Он способен усваивать атмосферный азот. По многим признакам сходен с Clostridium saaccharobutyricum, но отличается тем, что не сбраживает крахмала.

При развитии их в молочнокислых продуктах появляется неприятный острый запах масляной кислоты, наблюдается бурное выделение газа, что обусловливает прогоркание продукта. Маслянокислые бактерии часто являются причиной порчи различных консервов (мясных, рыбных, овощных и др.) и длительно хранящихся молочных продуктах (сыр, творог, сливки и др.), так как в них постепенно снижается кислотность в результате разложения белков. Могут вызывать позднее вспучивание сыра

Уксуснокислые бактерии (Acetobacter) - палочки, не образующие спор, подвижны (встречаются и неподвижные), располагаются одиночно или цепочками. Строгие аэробы. Оптимальная температура развития 30°С. Колонии вырастают только на поверхности питательной среды. На жидких подкисленных средах эти бактерии образуют пленку (на поверхности свернувшегося молока появляется оранжевое кольцо). При доступе воздуха они легко окисляют спирт в уксусную кислоту, поэтому при развитии их в простокваше, твороге, сметане возникает неприятный запах и привкус уксусной кислоты, а также ослизнение.

Энтерококки

Энтерококками называют молочнокислые стрептококки кишечного происхождения, т.е. они являются представителями нормальной микрофлоры кишечника человека и животного и выделяются в окружающую среду в довольно значительных количествах (в 1 г фекалий до 10 —109 жизнеспособных особей), но примерно в 10 раз меньше, чем бактерий группы кишечных палочек (БГКП).

Энтерококки наряду с БПСП являются постоянными обитателями кишечника человека и животных, в большом количестве выделяются во внешнюю среду, поэтому обнаружение их в пищевых продуктах, воде, почве и др. объектах свидетельствует о фекальном загрязнении объекта,

Энтерококки относятся к роду Streptococcus.

Морфология. Энтерококки представляют собой грамположительные, попарно расположенные кокка, несколько вытянутые в длину, наружные концы их заострены. В жидких средах встречаются короткие цепочки кокков. Энтерококки не образуют спор и капсул. Им свойственен значительный полиморфизм, т.е. клетки различаются по размерам и по форме (круглые, длинные, иногда вытянутые настолько, что напоминают коккобактерии). Величина отдельных кокков колеблется от 0,5 до 1,2 мкм. В отличие от стрептококков у энтерококков есть штаммы, обладающие подвижностью. Среди Str. bovis также встречаются подвижные штаммы.

Энтерококки наряду с БГКП являются постоянными обитателями кишечника человека и теплокровных животных, в большом количестве выделяются во внешнюю среду*,* поэтому обнаружение их в пищевых продуктах, воде, почве и др. объектах внешней среды свидетельствует о фекальном загрязнении объекта.

Культуральные свойства. Энтерококки растут на МПА, МПБ, но лучший рост отмечен на средах, содержащих углеводы и факторы роста (дрожжевой экстракт, диализат). В жидких средах наблюдают диффузное помутнение с образованием вначале аморфного, затем ослизняющегося осадка. На плотных средах энтерококки растут в виде мелких, прозрачных голубоватых колоний. При обильном посеве образуют сплошной рост в отличие от стрептококков, которые при густом посеве дают изолированные колонии. На кровяном агаре Ent. liguefaciens вызывает гемолиз эритроцитов; Ent. faecalis образует вокруг колоний зеленоватобурую зону т.к. гемоглобин превращается в метагемоглобин. Оптимальная температура роста 37 °С, пределы 10-45 °С. Для выявления энтерококков используют молочную среду с полимиксином (Г.П. Калина). Типичные колонии энтерококков на этой среде - колонии округлой формы с ровными краями, диаметром 1,5-2мм, имеют красноватую окраску с зоной протеолиза на светлоголубом фоне.

Биохимические свойства. Энтерококки ферментируют лактозу, маннит, глицерин, а сорбит, арабинозу, сахарозу не постоянно и не все штаммы энтерококков. Желатин разжижают и пептонизируют молоко только var. liguefaciens; var. zimogenes не постоянно, но не обладают каталазой активностью (в отличие от других грамположительных кокков). По антигенной структуре они однородны и относятся к группе Д по классификации Ленсфильд.

Энтерококки устойчивы к действию низких температур, активного хлора, некоторых антибиотиков, красителей и др. Дифференциацию Ent. faecalis от Ent. faecium проводят по способности ферментировать глицерин: Ent. faecalis расщепляет глицерин в аэробных и анаэробных условиях, а Ent. faecium только в аэробных. Для дифференциации энтерококков рекомендовано свыше 30 тестов.

Пропионовокислые бактерии

Пропионовокислые бактерии характеризуются полиморфизмом -прямые, изогнутые, ветвящиеся и даже кокковидные неподвижные палочки, спор и капсул не образуют, грамположительные. Их свойства близки к свойствам молочнокислых бактерий. Оптимальная температура развитии бактерий 30-35°С. Они являются возбудителями пропионовокислого брожения, при котором молочный сахар, молочная кислота и ее соли превращаются в пропионовую кислоту и побочные продукты - уксусную кислоту, диоксид углерода и воду. В процессе размножения бактерии способны синтезировать витамин В.

Список использованной литературы

- Корнелаева Р. П., Степаненко П.П., Павлова Е. В., Санитарная микробиология сырья и продуктов животного происхождения.—М.: 2006.—407с.

- М.А. Сидоров, Р.П. Корнелаева «Микробиология мяса и мясопродуктов» 3е издание. Москва «Колос» 1998—134стр.

* Билетова Н. В., Корнелаева Р. П., Кострикина Л.Г. и др. Под ред. Любашенкои С.Я. Санитарная микробиология.—М.: Пищевая пром-сть, 1980.—352 с.
* Степаненко П. П. Микробиология молока и молочных продуктов.—М.: Лира, 2002.—413с.
* Макаров В.А. и др. «Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства». М.: Агропромиздат. 1991.
* Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов. - М.: Пищевая промышленность, 1980. -256 с.
* Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Санитарные правила и нормы (САНПиН 2.3.2.560-96). - М., 1997.

- Загаевский И.С. Жмурко Т.В. «Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии переаботки продуктов животноводства». М.: Колос. 1983.

-П.П. Степаненко «Микробиология молока и молочных продуктов» Москва 1999—стр120.

-Ю.Г. Костенко, М.П. Бутко, В.М. Ковбасенко второе издание «Руководство по ВСЭ и гигиене производства мяса и мясных продуктов» РИФ «Антиква» Москва—1994—153-155стр