

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ  
**Бийский технологический институт (филиал)**  
федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего профессионального образования  
«Алтайский государственный технический университет  
им. И.И. Ползунова»

Е.А. Скиба, Н.А. Шавыркина, М.Э. Ламберова

**ОСНОВЫ  
ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

Допущено научно-методическим советом БТИ АлтГТУ  
для внутривузовского использования в качестве  
учебного пособия для студентов направлений подготовки  
240700.62 и 260100.62

Бийск  
Издательство Алтайского государственного технического  
университета им. И.И. Ползунова  
2013

УДК 663.15  
ББК 36.87  
С42

Рецензенты: А.Н. Иркитова, к. б. н., зав. лаб. микробиологии  
Сибирского НИИ сыроделия Россельхозакадемии,  
г. Барнаул;

В.В. Елесина, к. б. н., доцент кафедры ОХЭТ  
БТИ АлтГТУ

**Скиба, Е.А.**

С42 Основы промышленной микробиологии: учебное пособие /  
Е.А. Скиба, Н.А. Шавыркина, М.Э. Ламберова; Алт. гос. техн.  
ун-т, БТИ. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2013. – 110 с.

В учебном пособии представлены конспект лекций по основам промышленной микробиологии, а также контрольные и тестовые задания. Пособие является информационно-обучающим дополнением к базовым дисциплинам «Основы промышленной микробиологии», «Основы биотехнологии», «Технология отрасли», «Пищевая микробиология», а также дипломному и курсовому проектированию, и предназначено для студентов направлений подготовки 240700.62 «Биотехнология» и 260100.62 «Продукты питания из растительного сырья» всех форм обучения.

Учебное пособие написано в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования и Стандартов дисциплин.

УДК 663.15  
ББК 36.87

Рассмотрено и одобрено на заседании научно-методического  
совета Бийского технологического института  
Протокол № 6 от 16 мая 2013 г.

© Скиба Е.А., Шавыркина Н.А.,  
Ламберова М.Э., 2013  
© БТИ АлтГТУ, 2013

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
Модуль 1. Основы получения продуктов микробного синтеза.....	7
1.1 Микроорганизмы, используемые в биотехнологических процессах.....	7
1.2 Классификация продуктов биотехнологических производств.....	8
1.3 Общая схема производства продуктов микробного синтеза.....	9
1.4 Условия культивирования микроорганизмов.....	12
1.4.1 Питание и метаболизм микроорганизмов.....	12
1.4.2 Влияние температуры на жизнедеятельность микроорганизмов.....	13
1.4.3 Влияние активной кислотности среды на жизнедеятельность микроорганизмов.....	16
1.4.4 Влияние окислительно-восстановительного потенциала на жизнедеятельность микроорганизмов.....	18
1.4.5 Активность воды.....	20
1.5 Взаимоотношения микроорганизмов.....	20
1.6 Производственная инфекция и дезинфекция.....	21
Модуль 2. Общая характеристика дрожжей.....	24
2.1 Морфология и систематика дрожжей.....	24
2.2 Строение дрожжевой клетки.....	27
2.3 Метаболизм дрожжевой клетки.....	30
2.4 Верховые и низовые дрожжи.....	32
Модуль 3. Промышленное использование дрожжей.....	34
3.1 Классификация продуктов брожения в зависимости от вида микроорганизмов, используемых в производстве.....	34
3.2 Производство этанола.....	36
3.3 Виноделие.....	39
3.4 Пивоварение.....	40
3.5 Хлебопечение.....	42
3.6 Производство хлебного кваса.....	43
3.7 Применение дрожжей в молочной промышленности.....	44
3.8 Дрожжи как источник белка.....	44
3.9 Посторонняя микрофлора бродильных производств.....	45
3.9.1 Молочнокислые бактерии.....	45
3.9.2 Уксуснокислые бактерии.....	46
3.9.3 Маслянокислые бактерии.....	46
3.9.4 Гнилостные бактерии.....	47
3.9.5 Дикие дрожжи.....	47
3.9.6 Микрофлора воды и воздуха.....	48

3.10 Дрожжи – источник производственной инфекции в небродильных производствах.....	48
Модуль 4. Общая характеристика молочнокислых бактерий .....	50
4.1 Систематика молочнокислых бактерий.....	50
4.2 Классификация молочнокислых бактерий .....	50
4.2.1 Род <i>Lactobacillus</i> .....	50
4.2.2 Род <i>Leuconostoc</i> .....	56
4.2.3 Род <i>Pediococcus</i> .....	57
4.2.4 Род <i>Streptococcus</i> .....	57
4.2.5 Разные подходы к номенклатуре молочнокислых бактерий .....	58
4.3 Распространение молочнокислых бактерий в природе.....	61
4.4 Особенности метаболизма молочнокислых бактерий .....	62
4.4.1 Условия работы и питательные потребности .....	62
4.4.2 Сбраживание углеводов .....	63
4.4.3 Выделение и хранение.....	66
Модуль 5. Промышленное использование молчнокислых бактерий.....	69
5.1 История использования .....	69
5.2 Молочная промышленность .....	69
5.3 Биологическое консервирование .....	72
5.4 Мясная и рыбная промышленность.....	76
5.5 Получение молочной кислоты.....	77
5.6 Получение декстрана .....	78
Контрольные вопросы.....	79
Тесты контроля знаний .....	86
Литература .....	108

## ВВЕДЕНИЕ

Учебное пособие предназначено для студентов направлений подготовки 240700.62 «Биотехнология» и 260100.62 «Продукты питания из растительного сырья» всех форм обучения.

Промышленная микробиология разрабатывает научные основы для решения задач практического использования микроорганизмов на службе человека. Основные разделы и подразделы промышленной микробиологии приведены в таблице 1.

В данном учебном пособии будут рассмотрены только разделы промышленной микробиологии, касающиеся пищевых производств. Особое внимание уделено применению в промышленности дрожжей и молочнокислых бактерий.

Чтобы управлять микробиологическим процессом, необходимо знать физиологию применяемых культур микроорганизмов. Это позволит контролировать процессы, протекающие в клетке, условия культивирования и влияние основных факторов окружающей среды на направленный биосинтез.

В первом разделе рассмотрены основы получения продуктов микробного синтеза: микроорганизмы, используемые в биотехнологических процессах, классификация продуктов биотехнологических производств, общая схема производства продуктов микробного синтеза, условия культивирования микроорганизмов, влияние различных факторов на жизнедеятельность микроорганизмов, виды взаимоотношений микроорганизмов.

Во втором разделе приведены общая характеристика дрожжей, их систематика и морфология, производственная классификация. Базируясь на этом, можно понять те требования, которые предъявляются к отдельным штаммам дрожжей в производственных процессах. Эти требования и микробиологическая классификация производств приводятся в третьем разделе. Раздел заканчивается рассмотрением технической вредной микрофлоры бродильных производств.

В четвёртом разделе подробно приводится современная классификация молочнокислых бактерий, имеются сравнительные таблицы, позволяющие сопоставить информацию современной литературы и использовавшуюся ранее, так как именно классификация молочнокислых бактерий вызывала споры и многократно пересматривалась.

В пятом разделе рассмотрены промышленные процессы, в которых используются молочнокислые бактерии.

Таблица 1 – Разделы промышленной микробиологии

Разделы	Подразделы
Пищевые производства	Микробиология виноделия Микробиология пива Микробиология дрожжевого производства Микробиология хлебопекарного производства Микробиология производства этилового спирта Микробиология молока и молочных продуктов Микробиология мяса и мясопродуктов Микробиология производства пищевого уксуса Микробиология квашеных овощей Микробиологические аспекты производства сахара, кофе, кондитерских изделий, морепродуктов и т.д.
Бродильные производства	Производство спиртов (этилового, бутилового, амилового и др.) для технических целей. Производство органических кислот (лимонной, молочной, масляной, глюконовой, итаконовой и др.)
Медицинская промышленность	Использование микроорганизмов при создании и модификации сложных лекарственных средств. Синтез новых антибиотиков, гормонов и интерферонов
Производство ферментных препаратов	Ферментные препараты для пищевой промышленности, для медицинской диагностики, для кормопроизводства, для синтетических моющих средств
Производство кормового белка и других биологически активных веществ	Кормовой белок из гидролизатов целлюлозосодержащего сырья, из сульфитных щелоков, из парафинов нефти. Производство аминокислот (глутамат натрия, лизин, др.), стимуляторов роста растений
Производство микробных средств защиты от вредителей	Дендробациллин для борьбы с сибирским шелкопрядом, боверин для защиты сельскохозяйственных культур, вирусные препараты
Микробная экология	Улучшение методов тестирования и мониторинга загрязнений окружающей среды. Использование микроорганизмов для переработки сельскохозяйственных, бытовых и промышленных отходов

# МОДУЛЬ 1. ОСНОВЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА

## 1.1 Микроорганизмы, используемые в биотехнологических процессах

Из более чем 100 тыс. известных микроорганизмов в промышленности применяются всего несколько сотен видов, так как промышленный штамм должен отвечать ряду строгих требований:

- 1) расти на дешёвых субстратах;
- 2) обладать высокой скоростью роста или давать высокий выход продукта за короткое время;
- 3) проявлять синтетическую активность в сторону желаемого продукта; образование побочных продуктов должно быть низким;
- 4) быть стабильным в отношении продуктивности и к требованиям условий культивирования;
- 5) быть устойчивым к фаговым и другим типам инфекций;
- 6) быть безвредным для людей и окружающей среды;
- 7) желательны термофильные, ацидофильные (или алкофильные) штаммы, поскольку с ними легче поддерживать стерильность в производстве;
- 8) интерес представляют анаэробные штаммы, так как аэробные создают трудности при культивировании – требуют аэрирования;
- 9) образуемый продукт должен иметь экономическую ценность и легко выделяться.

На практике применяются штаммы четырёх групп микроорганизмов, к ним относятся: дрожжи; бактерии; мицелиальные грибы (плесени); актиномицеты.

Термин «дрожжи» в строгом смысле не имеет таксономического значения. Это одноклеточные эукариоты, относящиеся к трём классам: *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*.

К аскомицетам относят, прежде всего, *Saccharomyces cerevisiae*, определенные штаммы которого используются в пивоварении, виноделии, производстве хлеба, этилового спирта.

Аскомицеты *Saccharomyces lipolytica* деградируют углеводороды нефти и употребляются для получения белковой массы.

Дейтеромицет *Candida utilis* используют как источник белка и витаминов и выращивают на непивцевом сырье: сульфитных щелоках, гидролизатах древесины и жидких углеводородах.

Дейтеромицет *Trichosporon cutaneum* окисляет многие органические соединения, в том числе токсичные (например, фенол), и используется при переработке стоков.

Полезные бактерии относятся к эубактериям.

Промышленное применение с давних времен имеют молочнокислые бактерии родов *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*.

Уксуснокислые бактерии родов *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* превращают этанол в уксусную кислоту.

Бактерии рода *Bacillus* используются для производства вредных для насекомых токсинов, а также для синтеза антибиотиков и аминокислот.

Бактерии рода *Corynebacterium* используются для производства аминокислот.

Мицелиальные грибы используют:

– в получении органических кислот: лимонной (*Aspergillus niger*), глюконовой (*Aspergillus niger*), итаконовой (*Aspergillus terreus*), фурмаровой (*Rhizopus chrysogenum*);

– в получении антибиотиков (пенициллина и цефаллоспорина);

– в производстве специальных видов сыров: камамбера (*Penicillium camamberti*), рокфора (*Penicillium roqueforti*);

– вызывают гидролиз в твёрдых средах: в рисовом крахмале при получении сакэ, в соевых бобах при получении темпеха, мисо.

Из актиномицетов наиболее представительными являются роды *Streptomyces* и *Micromonospora*, используемые в качестве продуцентов антибиотиков. При росте на твёрдых средах актиномицеты образуют тонкий мицелий с воздушными гифами, которые дифференцируются в цепочки конидиоспор.

В настоящее время с помощью микроорганизмов синтезируют следующие соединения: алкалоиды, аминокислоты, антибиотики, антиметаболиты, антиоксиданты, белки, витамины, гербициды, ингибиторы ферментов, инсектициды, ионофоры, коферменты, липиды, нуклеиновые кислоты, нуклеотиды и нуклеозиды, окислители, органические кислоты, пигменты, поверхностно-активные вещества, полисахариды, противоглистные агенты, противоопухолевые агенты, растворители, ростовые гормоны растений, сахара, стерины и превращенные вещества, факторы транспорта железа, фармакологические вещества, ферменты, эмульгаторы.

## 1.2 Классификация продуктов биотехнологических производств

Продуктами биотехнологических производств являются природные макромолекулы – белки, ферменты, полисахариды, полиэферы,



выделенные из клеток микроорганизмов, тканей и органов растений и животных.

По отношению к процессам роста низкомолекулярные продукты метаболизма живых клеток делятся на первичные и вторичные метаболиты (рисунок 1).

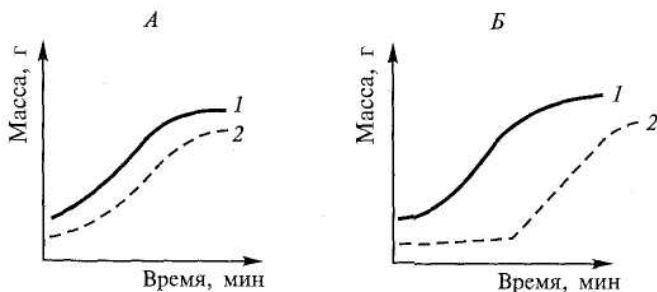


Рисунок 1 – Динамика изменения биомассы и образования первичных (А) и вторичных (Б) метаболитов в процессе роста организма:  
1 – биомасса; 2 – продукт

Первичные метаболиты – это низкомолекулярные соединения (молекулярная масса менее 1500 Да), необходимые для роста микроорганизмов. Одни из них являются строительными блоками макромолекул, другие участвуют в синтезе коферментов. Среди наиболее важных для промышленности метаболитов можно выделить аминокислоты, органические кислоты, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, растворители и витамины.

Вторичные метаболиты – это низкомолекулярные соединения, не требующиеся для роста в чистой культуре. Ко вторичным метаболитам относятся: антибиотики, алкалоиды, гормоны роста растений и токсины.

### 1.3 Общая схема производства продуктов микробного синтеза

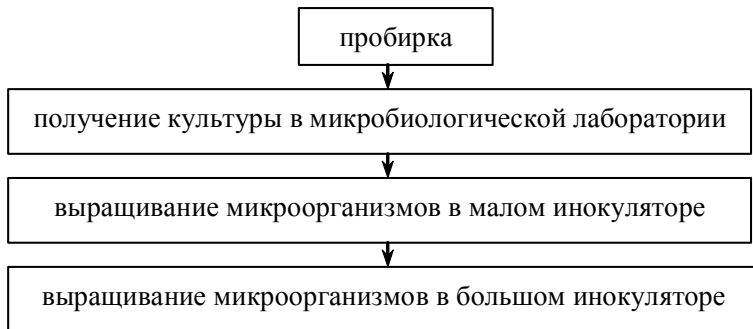
Процессы биотехнологических производств разнообразны, но все они имеют пять основных стадий:

- 1) приготовление питательной среды;
- 2) подготовка посевного материала;
- 3) культивирование микроорганизмов;
- 4) выделение целевого продукта;
- 5) очистка целевого продукта.

Принципиальная биотехнологическая схема производства продуктов микробного синтеза показана на рисунке 2.

Независимо от типа биотехнологического производства процесс начинается с **приготовления питательной среды**. Среда должна отвечать двум основным требованиям. Во-первых, она должна быть полноценной для питания и недорогой. Углерод и азот в усвояемой форме требуются для биосинтеза белка; фосфор необходим для синтеза ДНК и АТФ; микроэлементы требуются для образования ферментов, также для нормальной жизнедеятельности нужны факторы роста и витамины. Во-вторых, среда должна быть стерильной, что достигается температурной, ультрафиолетовой, ультразвуковой и другими видами обработки.

**Получение посевного материала** (инокулята) проводится по следующей схеме:



Количество стадий варьирует в зависимости от вида применяемого микроорганизма. Качество полученного посевного материала контролируют путем микроскопирования.

**Культивирование (ферментация)** представляет собой совокупность последовательных операций от внесения в заранее приготовленную питательную среду посевного материала до завершения процессов роста и биосинтеза вследствие истощения питательных веществ среды.



Рисунок 2 – Принципиальная биотехнологическая схема производства продуктов микробного синтеза

Существуют два основных типа ферментаций: получение биомассы микроорганизмов и получение метаболитов.

Для работы микробиологического производства важно найти высокопродуктивный штамм и обеспечить условия реализации его возможностей. Подбирая и поддерживая на оптимальном уровне состав среды и условия культивирования, удается в несколько раз повысить выход целевого продукта.

**Выделение и очистка целевого продукта.** По окончании ферментации, которая может длиться от нескольких часов до нескольких дней, в культуральной жидкости содержатся остатки веществ среды, продукты, синтезированные микроорганизмом и микробная биомасса. В зависимости от целей производства используют всю культуральную жидкость без разделения и очистки продуктов или разделяют биомассу и фильтрат. Если требуется разделение биомассы и культуральной жидкости, то проводят центрифугирование, фильтрование и дальнейшее концентрирование биомассы, например на фильтр-прессах. Если целевой продукт находится в составе клеток, то последние подвергают дезинтеграции, после чего извлекают продукт. Если нужный продукт (органические кислоты, аминокислоты и др.) находится в растворе, то биомасса – побочный продукт.

## **1.4 Условия культивирования микроорганизмов**

Одна из особенностей микроорганизмов – их необычайная зависимость от условий окружающей среды. Малые размеры клеток определяют тесный контакт микроорганизмов со средой, поэтому они реагируют на изменение условий среды в большей степени, чем другие живые существа. Факторы внешней среды весьма разнообразны. Решающее значение для жизнедеятельности микроорганизмов имеют набор и соотношение компонентов питательной среды. Чрезвычайно важны также физико-химические факторы: активная кислотность среды (рН), окислительно-восстановительные условия (Eh), аэрация, температура, свет и другие. Развитие микроорганизмов возможно лишь в определенных пределах каждого фактора. Для представителей различных групп микроорганизмов эти пределы часто неодинаковы. Изменение того или иного фактора существенно влияет на рост и обмен веществ микроорганизмов.

### **1.4.1 Питание и метаболизм микроорганизмов**

В зависимости от характера источника углерода и азота микроорганизмы делятся на автотрофов и гетеротрофов.

**Автотрофы** – организмы, которые для углеродного питания используют неорганические соединения.

**Гетеротрофы** – организмы, для питания которых требуются сложные органические соединения – белки, сахара, жиры, мочевины.

Обмен веществ у микроорганизмов складывается из процессов ассимиляции, или анаболизма, и диссимиляции, или катаболизма.

В результате **ассимиляции** происходит увеличение сложности соединений. Из аминокислот синтезируются белки, из моносахаридов – полисахариды. Это приводит к синтезу новых клеточных компонентов.

При **диссимиляции**, наоборот, происходит расщепление сложных соединений на более простые, низкомолекулярные соединения. Диссимиляция сопровождается выделением энергии, которая используется для поддержания жизнедеятельности клетки и ассимиляции.

#### **1.4.2 Влияние температуры на жизнедеятельность микроорганизмов**

Известно, что живые организмы могут существовать в диапазоне температур от  $-5$  до  $+95$  °C. Принято классифицировать прокариоты в соответствии с диапазоном температур их роста (таблица 2). Для каждого класса микроорганизмов характерна некоторая оптимальная температура, при которой скорость роста достигает максимума, а также верхняя и нижняя температурные границы, вне которых популяция вообще не способна к росту.

Таблица 2 – Классификация микроорганизмов в соответствии с зависимостью скорости их роста от температуры

Группа микроорганизмов	Температура, °C		
	минимум	оптимум	максимум
Термофильные	40...45	55...75	60...80
Мезофильные	10...15	30...45	35...47
Психрофильные			
облигатные	-5...+5	15...18	19...22
факультативные	-5...+5	25...30	30...35

И дрожжи, и посторонние микроорганизмы бродильных производств относят к мезофилам. В таблице 3 приведены температуры их развития.

Таблица 3 – Температурные диапазоны развития микроорганизмов, участвующих в процессах брожения и сопутствующей микрофлоры

Микроорганизмы		Температура, °С		
		минимум	оптимум	максимум
Плесневые грибы		-5...+8	20...35	35...44
Дрожжи		1...5	20...30	40...50
Бактерии	Уксуснокислые	4...5	30...34	42
	Термофильные лактобациллы	20	40...50	60
	Мезофильные молочнокислые бактерии (лейконосток)	10	18...25	37
	Кишечная палочка	10	35...37	43...45
	Споровые аэробы (гнилостные)	5...10	30...35	35...55
	Маслянокислые бактерии	0...1	35...37	42...44
	<i>Pseudomonas</i>	-2...-6	35...37	40...42

Техническая микробиология молока и молочных продуктов намного сложнее, так как в молоке могут развиваться различные группы микроорганизмов (таблица 4) при различных условиях.

Таблица 4 – Температурные диапазоны развития микроорганизмов молока и молочных продуктов

Микроорганизмы		Температура, °С		
		минимум	оптимум	максимум
1	2	3	4	5
<b>Психрофилы</b>				
Плесневые грибы	<i>Geotrichum</i>	ниже 0	Не имеет практического значения, т.к. психрофилы в молоке не могут развиваться при температуре выше 10 °С из-за конкурирующей микрофлоры	
	<i>Oospora</i>	-4...-8		
	<i>Penicillium</i>	-5		
	<i>Alternaria</i>	0...2		
Дрожжи	<i>Debariomyces</i>	-3...-10		
	<i>Pichia</i>	-3...-10		

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5
Бактерии	<i>Pseudomonas</i>	-2...-6	Не имеет практического значения, т.к. психрофилы в молоке не могут развиваться при температуре выше 10 °С из-за конкурирующей микрофлоры	
	<i>Flavobacterium</i>	-5...-8		
	<i>Bacillus subtilis</i>	0...1		
	<i>Circulans</i>	0...1		
	<i>Clostridium</i>	0...1		
	<i>Enterobacter</i>	3...5		
	<i>Klebsiella</i>	3...5		
	<i>Streptococcus</i>	3...5		
<b>Мезофилы</b>				
Плесеневые грибы		-5...+8	20...35	35...44
Дрожжи		1...5	20...30	40...50
Бактерии	<i>L. cremoris</i>	10	20...30	39
	<i>L. lactis</i>	10	28...32	43
	<i>Leuconostoc</i>	10	18...25	37
	энтерококки	15	40...45	53
	<i>L. casei, L. plantarum</i>	15	30	38
	уксуснокислые	4...5	30...34	42
	микрококки	-	20...25	38...40
	споровые	5...10	30...35	35...55
	колиформы	10	35...37	43...45
	сульфатредуцирующие споровые анаэробы	16...18	37...45	-
	шигеллы	20	37...38	40...45
	сальмонеллы	20	37...38	40...45
	энтеротоксигенные стафилококки	10...15	37	45
микобактерии туберкулёза	30	37...38	42	
бруцеллы	20	38	45	
<b>Термофилы</b>				
Бактерии	<i>S. thermophilus</i>	15	40...45	53
	<i>L. bulgaricus</i>	22	45	53
	<i>L. acidophilus</i>	20	37...38	55
	<i>L. helveticus</i>	22	40	50
	термоустойчивые лактобациллы	20	40...50	60
	<i>B. coagulans</i>	15...25	45	55...60
	<i>B. stearothermophilus</i>	35...45	55...60	65...75

### 1.4.3 Влияние активной кислотности среды на жизнедеятельность микроорганизмов

Одним из важных условий для проявления жизнедеятельности микроорганизмов является активная кислотность среды, которую выражают величиной рН – отрицательным логарифмом концентрации ионов водорода. Значение рН от 0 до 14 характеризует степень кислотности или щелочности раствора. Микроорганизмы по-разному относятся к активной кислотности среды.

Некоторые могут развиваться в широких пределах рН, другие в узкой зоне (таблица 5). Даже небольшие изменения рН заметно влияют на рост и развитие микроорганизмов. Конформация белка и его активность зависят от рН. Поэтому рН оказывает существенное влияние на процессы клеточного транспорта, скорости ферментативных реакций, а следовательно, и на скорость роста клеток. Обычно отклонение от оптимального рН на 1,5...2 единицы в любую сторону от оптимальной величины приводит к практически полному прекращению роста.

Таблица 5 – Отношение микроорганизмов к реакции среды

Микроорганизмы	Условия развития
Ацидофильные	Лучше растут в кислых условиях
Нейтрофильные	Предпочитают нейтральную реакцию среды, некоторые из них (кислотоустойчивые) способны развиваться и в кислой среде (рН 5,0...4,5)
Алкалифильные	Лучше растут при рН 9,0

На практике важно знать диапазон рН не только для целевой, но и для посторонней микрофлоры производств (таблицы 6 и 7). В обоих случаях не представлена алкалифильная микрофлора, поскольку она подавляется селективными значениями рН.

Таблица 6 – Оптимальные и предельные значения рН для развития микроорганизмов, участвующих в процессах брожения и сопутствующей микрофлоры

Микроорганизмы		Активная кислотность, ед. рН		
		минимум	оптимум	максимум
1	2	3	4	5
Ацидофильные	Плесени	1,5	4,0...6,0	9,0...11,0
	Дрожжи	3,0	4,5...6,0	7,0...8,0
	Уксуснокислые	3,2...4,2	5,5...6,0	7,0...8,0



Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5
Ацидофильные	Термофильные лактобациллы	3,5...4,2	5,5...6,0	7,0...8,0
	Мезофильные молочнокислые бактерии	4,7	5,5...6,5	7,5...8,5
Нейтрофильные	Кишечная палочка	4,5	7,0...7,2	7,8...9,0
	Споровые аэробы (гнилостные)	4,8...5,3	6,7...6,8	8,5
	Маслянокислые бактерии	5,0...5,8	6,0...7,6	8,5...9,0
	Протей	5,0	7,0...7,2	9,0
	<i>Pseudomonas</i>	5,5	6,6...7,0	8,5...9,0

Таблица 7 – Оптимальные и предельные значения pH для развития микроорганизмов молока и молочных продуктов

Микроорганизмы		Температура, °С		
		минимум	оптимум	максимум
1	2	3	4	5
Ацидофильные	Плесневые грибы	1,5	4,0...6,0	9,0...11,0
	Дрожжи	3,0	4,6...6,0	7,0...8,0
	Уксуснокислые бактерии	3,2...4,3	5,5...6,0	7,0...8,0
	Термофильные лактобациллы	3,5...4,3	5,5...6,0	7,0...8,0
	<i>L. cremoris</i>	4,8	5,5...6,0	7,5
	<i>L. lactis</i>	4,8	6,0...6,5	8,5
	<i>S. thermophilus</i>	4,8	6,5...7,0	8,5
	<i>S. faecium</i>	4,5	6,5...7,0	10,0
Нейтрофильные	Колиформы	4,5	7,0...7,2	7,8...9,0
	Споровые аэробы (гнилостные)	4,8...5,3	6,7...6,8	8,5
	<i>S. aureus</i>	4,8...5,5	7,2...7,4	–
	<i>C. perfringens</i>	5,0...5,8	6,0...7,6	8,5...9,0
	Протей	5,0	7,0...7,2	9,0
	Сальмонеллы	5,0	7,2...7,4	8,5
	<i>Pseudomonas</i>	5,5	6,6...7,0	8,5...9,0

#### 1.4.4 Влияние окислительно-восстановительного потенциала на жизнедеятельность микроорганизмов

Для развития, роста и размножения микроорганизмов требуется энергия. Способы добывания энергии у микроорганизмов различны. Большинство из них живет за счет окисления веществ кислородом воздуха. Микроорганизмы, не имеющие другого способа добывания энергии, называют **облигатными аэробами**.

Некоторые облигатные аэробные бактерии гибнут на воздухе, но могут развиваться при концентрации кислорода около 2 % (в 10 раз ниже, чем в атмосфере); они получили название *микрoаэрофилов*.

Есть микроорганизмы, которые получают энергию без участия кислорода воздуха за счет сопряженного окисления-восстановления веществ субстрата. Такие микроорганизмы называют **облигатными анаэробами**. Кислород подавляет их развитие.

Некоторые микроорганизмы способны переключаться с одного энергетического пути на другой и развиваться как в присутствии, так и в отсутствии кислорода. Они получили название *факультативных аэробов*, или название *факультативных анаэробов*. К ним относятся, например, дрожжи.

Анаэробный тип метаболизма называют также *брожением*. Примеры: спиртовое брожение дрожжей, молочнокислое брожение молочнокислых бактерий.

Аэробный тип метаболизма называют *дыханием*. Пример: размножение хлебопекарных дрожжей.

Аэробам требуется много кислорода. Для окисления 1 г глюкозы до углекислого газа и воды требуется примерно 1 г кислорода.

Однако представить необходимый кислород микроорганизму в большой концентрации нельзя, так как он является сильным окислителем, особенно при наличии катализаторов – ферментов. Могут произойти нежелательные цепные окислительные реакции в клетке, в следствие чего разрушаются биологические мембраны и образуются пероксиды и другие токсичные вещества.

Допустимая концентрация кислорода в воде, переносимая микроорганизмами, достигает 10 мг/дм<sup>3</sup>. Если насытить воду чистым кислородом, то в ней растворится до 40 мг/дм<sup>3</sup> кислорода. Такую концентрацию не выдержит ни один микроорганизм.

При огромной потребности в кислороде микроорганизмы очень быстро используют ничтожное количество растворенного кислорода, и их рост зависит от скорости поступления в раствор новых порций кислорода.

Если микроорганизмы выращивать на поверхности жидкой или твердой фазы, то он не испытает затруднений в поступлении кислорода, черпая его из воздуха. При глубинном культивировании, когда микроорганизм растёт в толще среды, он может пользоваться только кислородом, растворённым в среде.

**Степень окисления и восстановления среды** характеризуется  $gH_2$ . Символ  $gH_2$  аналогичен рН. Но рН выражает степень кислотности и щелочности, а  $gH_2$  – окислительную и восстановительную способность среды. Если для определения рН необходимо знать только концентрацию ионов  $H^+$ , то для определения  $gH_2$  – как рН раствора, так и окислительно-восстановительный потенциал  $Eh$ .

**Окислительно-восстановительный потенциал ( $Eh$ )** показывает разность потенциалов (мВ), возникающих в растворе между платиновыми и нормальным водородным электродами, составляющими гальванический элемент.

В микробиологии окислительно-восстановительный потенциал выражают через  $gH_2$ . Связь между  $gH_2$ ,  $Eh$  и рН описывается следующей формулой:

$$gH_2 = \frac{Eh}{0,029} + 2pH. \quad (1)$$

Величины  $gH_2$  от 0 до 41 характеризуют все степени насыщения водного раствора водородом и кислородом, то есть любую степень аэробности среды.

Чем меньше  $gH_2$ , тем больше восстановительная способность раствора. Наибольшая восстановительная способность водного раствора равна 0 (выделению водорода), а наименьшая примерно 41 (выделение кислорода).

Облигатные анаэробы могут существовать при  $gH_2$  не выше 12...14, а размножаться при  $gH_2$  не выше 3...5. Факультативно-аэробные формы живут в средах при  $gH_2$  от 0 до 30, но высокие значения  $gH_2$  для них нежелательны. Строгие аэробы могут осуществлять жизнедеятельность при  $gH_2$  12...15, а размножаться при  $gH_2$  12...36.

Как аэробы, так и анаэробы в определенной степени способны изменять  $gH_2$  питательной среды, на которой они растут, доводя его до наиболее подходящего для их роста значения посредством выделения восстановителей.

В основе размножения микроорганизмов лежит совокупность последовательно протекающих ферментативных реакций. Микроорганизмы начинают размножаться после того, как установится оптимальное значение  $gH_2$ , требуемое для протекания этих реакций.

Особо важное значение окислительно-восстановительный потенциал имеет в технологии продуктов брожения.

#### 1.4.5 Активность воды

Активность воды ( $a_w$ ) в каком-либо растворе определяется как отношение давления пара над раствором к давлению пара над чистой водой. Для чистой воды  $a_w = 1$ . Все без исключения дрожжи способны расти при  $a_w$ , приближающейся к 1. Большинство видов дрожжей перестает расти при  $a_w = 0,9$ . Такую активность воды имеет, например, 50%-ный раствор глюкозы или 14%-ный раствор NaCl. В таблице 8 приведены предельные значения активности воды.

Таблица 8 – Предельные значения активности воды ( $a_w$ ) для развития микроорганизмов

Микроорганизм	Активности воды ( $a_w$ )
Бактерии	0,94...0,90
Дрожжи	0,88...0,85
Плесневые грибы	0,8
Некоторые виды аспергилл	0,75...0,65

#### 1.5 Взаимоотношения микроорганизмов

В природных условиях микроорганизмы образуют сложный биоценоз – сообщество, в котором каждый микроорганизм находится в определенном отношении (стимулировании или угнетении) со стороны других микроорганизмов.

В производственных условиях чаще всего используется монокультура микроорганизмов. Вместе с тем в любом производстве есть сопутствующие микроорганизмы. Отношения микроорганизмов называются симбиозом и могут быть следующими.

**Мутуализм** – взаимовыгодный симбиоз, когда оба партнера выигрывают от ассоциации. Примеры: взаимоотношения между микроорганизмами в кефирных грибах, между микрофлорой кваса. Молочнокислые бактерии, продуцируя молочную кислоту, создают благоприятные условия для развития дрожжей. В свою очередь, дрожжи обогащают среду обитания аминокислотами и витаминами, стимулируя развитие молочнокислых бактерий. Крайней степенью мутуализма является такой, когда партнеры уже не могут существовать вне ассоциации, как, например, в кефирных грибах.

**Синергизм** – разновидность мутуализма, характеризующаяся тем, что совместная культура партнеров проявляет более высокую фи-

зиолого-биохимическую активность, чем каждый из партнеров порознь. Пример: симбиоз лактобактерий и дрожжей, неспособных сбраживать лактозу.

**Комменсализм** – когда один из партнеров питается продуктами обмена второго партнера, не принося ему никакой пользы.

**Метабиоз** – когда один партнер подготавливает благоприятные условия для последующего развития другого партнера. Пример: дрожжи, развиваясь на сахаристых средах, преобразуют сахар в этанол, далее на этой культуральной среде могут развиваться уксуснокислые бактерии, превращая этанол в уксусную кислоту, которую могут использовать плесени, разлагая ее до углекислого газа и воды.

**Антагонизм** – когда один партнер активно подавляет другого партнера. Примеры: лактобактерии, образуя молочную кислоту, снижают рН, создавая тем самым невыносимые условия для многих видов микроорганизмов, например, сенной палочки. Дрожжи образуют спирт, который не дает развиваться другим микроорганизмам.

**Паразитизм** – когда один партнер использует ресурсы второго партнера, зачастую приводя его к гибели. Классический пример – культура бактерий, заражённая вирулентным бактериофагом.

## 1.6 Производственная инфекция и дезинфекция

Под производственной инфекцией понимают загрязнение посторонними микроорганизмами, попадающими на полупродукт и готовую продукцию из сырья, полуфабрикатов, воды, воздуха. Источник инфекции может находиться на самом предприятии, если неэффективны меры борьбы с посторонней микрофлорой, нерегулярно удаляют отходы, не соблюдают правила личной гигиены и т.п.

Развиваясь на различных стадиях производства, микроорганизмы уменьшают выход готового продукта (например, спирта) или приводят к порче продукта (например, вина).

Роль переносчика микроорганизмов может играть воздух производственных помещений. В него микроорганизмы (бактерии, дрожжи, плесени) попадают вместе с пылью, которая затем оседает на поверхности продукта и оборудовании. Воздух закрытых помещений считается чистым при содержании не более 2000 микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup>. Снижение запылённости производственных цехов достигается регулярной уборкой, использованием системы вентиляции, своевременным удалением отходов и отбросов.

Производственная вода также может содержать различные микроорганизмы (железобактерии, сапрофиты, бактерии группы кишеч-

ной палочки). Поэтому в соответствии с требованиями стандарта по бактериологическим показателям в 1 мл воды должно содержаться не более 100 клеток бактерий и не более 3 бактерий группы кишечной палочки в 1 л воды.

На производстве источники инфекции возникают в труднодоступных для чистки местах производственного оборудования, в которых задерживаются остатки питательной среды. При соприкосновении с ними производственные жидкости инфицируются и сами становятся источниками инфекции.

Для уничтожения и подавления вредных микроорганизмов проводят дезинфекцию всех производственных помещений, аппаратуры и инвентаря.

**Способы дезинфекции.** В соответствии с установленными правилами на пищевых предприятиях проводят профилактические дезинфекции с целью предупреждения возникновения очагов инфекции на производстве.

Наряду с профилактическими проводят также экстренную дезинфекцию, если зафиксированы инфекционные заболевания обслуживающего персонала, присутствие вредных микроорганизмов в сырье, полуфабрикатах, вспомогательных материалах и т.д.

На пищевых предприятиях дезинфекцию оборудования, трубопроводов, инвентаря, производственных и бытовых помещений проводят механическими, физическими и химическими способами.

**Механическими способами** удаляют затвердевшие частицы, различные отложения, частично микроорганизмы с поверхностей оборудования, трубопроводов и инвентаря. Для проведения такой очистки используют сетки, метлы, скребки и т.д.

Полного удаления микроорганизмов такие способы не обеспечивают.

К **физическим способам** относятся: действие высоких температур (автоклавирование, обработка паром и горячей водой, кипячение, пастеризация), бактерицидные облучения, обеспложивающая фильтрация и ультразвук.

Большинство неспорообразующих бактерий гибнет при нагревании до 60...70 °С в течение 20...30 минут. Более устойчивы термобактерии и слизеобразующие бактерии, они не всегда погибают даже при нагревании до 80...90 °С. Споры микроорганизмов ещё более устойчивы к действию высокой температуры. Пропаривание трубопроводов острым паром убивает вегетативные и споровые формы.

Мелкое оборудование и инвентарь дезинфицируют погружением в горячую воду температурой 80...85 °С на 20...30 минут.

**Химические способы** основаны на использовании различных моющих и дезинфицирующих средств (детергентов).

При химической дезинфекции соблюдают следующую последовательность обработки оборудования и трубопроводов: механическая очистка; промывка тёплой водой; обработка дезинфицирующим раствором; пропаривание; промывка холодной водой.

Эффективность санитарной обработки зависит от многих факторов: степени загрязнённости, состава, концентрации, температуры моющих и дезинфицирующих средств, способа очистки и т.д.

Традиционные моющие средства, например, тринатрийфосфат, гидроокись натрия (каустическая сода) хорошо растворяют грязь, отмывают масла, жиры и обладают антимикробным действием. Однако они оказывают коррозионное действие на некоторые металлы, поэтому стали применять синтетические моющие средства, такие как сульфатнол, сульфохлорантин, санпор, дезмол, йодонат катапин и др.

Действие ультразвука сводится к разрыву клеток микроорганизмов под действием кавитации, кроме того, усиливается проникновение детергентов внутрь клеток.

Таким образом, тщательная борьба с производственной инфекцией обеспечивает высокий выход и качество продукции.

## МОДУЛЬ 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДРОЖЖЕЙ

### 2.1 Морфология и систематика дрожжей

Русское слово «дрожжи» имеет общий корень со словами «дрожь», «дрожать», которые применялись при описании вспенивания жидкости, зачастую сопровождающего брожение, осуществляемое дрожжами. Английское слово «*yeast*» (дрожжи) происходит от старонглийского «*gist*», «*gyst*», что означает «пена, кипеть, выделять газ».

Дрожжи, вероятно, одни из наиболее древних «домашних организмов». Тысячи лет люди использовали их для ферментации и выпечки. Археологи нашли среди руин древнеегипетских городов жернова и пекарни, а также изображение пекарей и пивоваров. Предполагается, что пиво египтяне начали варить за 6000 лет до н. э., а к 1200 году н. э. овладели технологией выпечки дрожжевого хлеба наряду с выпечкой пресного.

Изначально, для сбраживания нового хлеба люди использовали остатки старого. В результате в различных хозяйствах столетиями происходила селекция дрожжей и сформировались новые физиологические расы, не встречающиеся в природе, многие из которых даже изначально были описаны как отдельные виды. Они являются такими же продуктами человеческой деятельности, как сорта культурных растений.

В 1881 г. Эмиль Христиан Хансен выделил чистую культуру дрожжей, а в 1883 г. впервые использовал её для получения пива вместо нестабильных заквасок. В конце XIX века при его участии создаётся первая классификация дрожжей, в начале XX века появляются определители и коллекции дрожжевых культур. Во второй половине века наука о дрожжах (зимология) помимо практических вопросов начинает уделять внимание экологии дрожжей в природе, цитологии, генетике.

До середины XX века учёные наблюдали половой цикл только у аскомицетных дрожжей и рассматривали их всех как обособленную таксономическую группу сумчатых грибов. Японскому микологу Исао Банно в 1969 г. удалось индуцировать половой цикл размножения у *Rhodotorula glutinis*, которая является базидиомицетом.

Современный период изучения биологического разнообразия характеризуется интенсивным развитием филогенетической систематики, которая направлена на реконструкцию конкретных путей исторического развития организмов. В микробиологии филогенетическая систематика получила мощный импульс развития лишь в самом конце



XX века в связи со сравнительным изучением консервативных нуклеотидных последовательностей в р-РНК.

Оказалось, что группирование дрожжей на основе сходства нуклеотидных последовательностей р-РНК во многих случаях не совпадает с группированием по фенотипическим признакам. Многие традиционные признаки, используемые в классификации дрожжей, такие как характеристики вегетативного размножения, форма аскоспор, способность к сбраживанию и ассимиляции сахаров, стали считаться ненадежными, непригодными для определения филогенетического родства. Секвенирование р-РНК (р-ДНК) сейчас считается необходимым при описании новых видов дрожжей.

В большинстве пищевых бродильных производств используются дрожжи-сахаромицеты, согласно классификации аскомицетовых (сумчатых) грибов (Kurtzman С.Р., Fell J.W. eds., 1998 г.) их характеризуют следующим образом:

- класс *Hemiascomycetes*;
- порядок *Saccharomycetales*;
- семейство *Saccharomycetaceae* (ранее было *Endomycetaceae*);
- род *Saccharomyces*;
- вид *cerevisiae*.

В природе дрожжи находятся в почве, на поверхности растений, плодов, ягод. В основном дрожжи размножаются многосторонним почкованием (рисунок 3), иногда – спорообразованием и простым делением. Диплоидизация происходит в результате слияния двух гаплоидных клеток (хологамия). Вегетативно размножаются в основном диплоидные клетки.

Некоторые дрожжи размножаются, как и бактерии, простым делением, то есть образованием одной или нескольких поперечных перегородок.

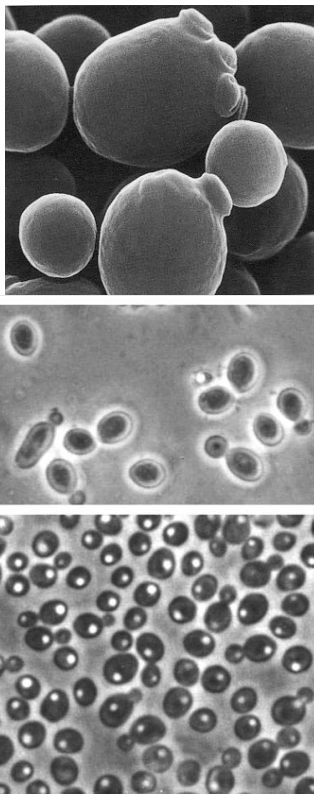


Рисунок 3 – Многостороннее почкование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Споры у дрожжей образуются только при недостатке питательных веществ в присутствии достаточного количества кислорода. Из вегетативных диплоидных клеток образуются сумки-аски, содержащие 2...4 иногда до 12 спор. Аскоспоры имеют круглую или слегка овальную форму, гладкие, бесцветные. При созревании спор сумки-аски не вскрываются и сохраняются. Они более устойчивы к неблагоприятным условиям, чем их вегетативная форма. Попадая в благоприятные условия, зрелые споры прорастают, образуя гаплоидные клетки (рисунок 4). Аскообразование легко вызвать при высеве дрожжей на агар с ацетатом.

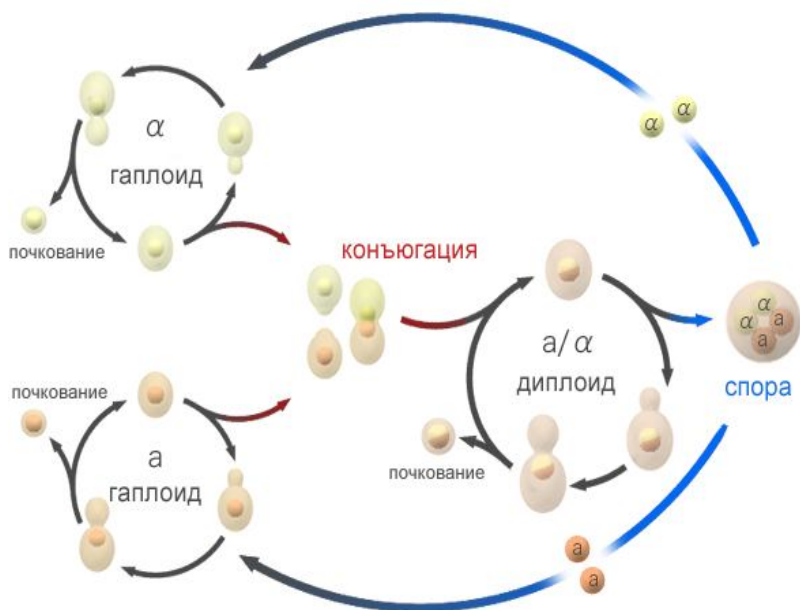


Рисунок 4 – Жизненный цикл аскомицетовых гаплоидных дрожжей

Дрожжевые клетки бывают яйцевидной, эллипсоидальной, овальной или вытянутой формы, которая, как и величина дрожжевых клеток, составляющая  $(5...7) \times (8...11)$  мкм, зависит от условий их развития. Отношение поверхности клетки к ее объему влияет на скорость массообменных процессов между клеткой и питательной средой и, следовательно, на интенсивность жизнедеятельности дрожжей.

Колонии *Saccharomyces cerevisiae* пастообразные, кремовые или коричневато-кремовые, обычно с довольно ровной, гладкой, иногда

слегка пузырчатой или покрытой точками поверхностью, с блестящими или тусклыми секторами. Край колоний цельный, иногда лопастый, изредка образуется примитивный псевдомицелий.

## 2.2 Строение дрожжевой клетки

Дрожжевые клетки являются достаточно сложными одноклеточными организмами. Почкующаяся дрожжевая клетка (рисунок 5) состоит из оболочки, протоплазмы и ядра.

**Клеточная стенка** – наружная часть оболочки – образована полисахаридами типа гемицеллюлоз, преимущественно маннаном и небольшим количеством хитина, внутренняя – белковыми веществами, фосфолипидами и липоидами. Оболочка регулирует состояние клеточного содержимого и имеет избирательную проницаемость, чем существенно отличается от обычных полупроницаемых мембран. Толщина клеточной стенки дрожжей до 400 нм.

**Цитоплазматическая мембрана** (плазмалемма) толщиной 7...8 нм расположена под клеточной стенкой и отделяет ее от цитоплазмы. Плазмалемма – основной барьер, определяющий осмотическое давление в клетке, обеспечивает избирательное движение питательных веществ из среды в клетку и вывод метаболитов из клетки. Плазмалемма состоит из бимолекулярного слоя липидов, в который включены белковые молекулы. Липиды ориентированы неполярными концами внутрь друг к другу, а полярными – наружу.

Перемещение веществ через цитоплазматическую мембрану происходит вследствие молекулярной диффузии (по градиенту концентрации) и в результате активного движения, в котором участвуют специфические ферменты, и в

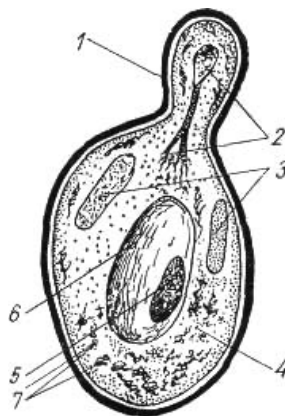


Рисунок 5 – Строение почкующейся дрожжевой клетки:

- 1 – оболочка; 2 – делящееся ядро;
- 3 – гликоген; 4 – цитоплазма;
- 5 – волютин; 6 – вакуоль;
- 7 – митохондрии

этом случае вещества могут поступать в клетку и против градиента концентрации. Например, аминокислоты легко проникают в клетку из среды, даже если их концентрация в цитоплазме в 100...200 раз выше, чем в питательной среде.

**Цитоплазма** имеет гетерогенную структуру и вязкую консистенцию. Коллоидный характер обусловлен белковыми веществами. Кроме них в цитоплазме содержатся: рибозонуклеопротеиды, липоиды, углеводы и значительное количество воды. Цитоплазма молодых клеток внешне гомогенна. При старении в ней появляются вакуоли, равномерная зернистость, жировые и липоидные гранулы. В цитоплазме с ее органоидами (хондриосомами, микросомами, вакуолями) и включениями протекают важнейшие ферментативные процессы.

**Митохондрии** (хондриосомы) имеют форму зернышек, палочек и нитей. Митохондриальные мембраны состоят из белков (80 %) и липидов (20 %). В состав митохондрий входят также полифосфаты, рибонуклеиновая (РНК) и дезоксирибонуклеиновая (ДНК) кислоты. Митохондрии размножаются самостоятельно, реплицируя собственную митохондриальную ДНК и продуцируя собственные белки. Питательные вещества, проникающие в клетку, адсорбируются и аккумулируются митохондриями и подвергаются быстрым превращениям из-за концентрации в этих участках соответствующих ферментов. В митохондриях полностью осуществляется цикл трикарбоновых кислот и важнейшая энергетическая реакция – окислительное фосфорилирование. Поэтому их рассматривают как основную «энергетическую станцию» клетки. Здесь происходят реакции активирования аминокислот в процессе синтеза белка, липидов и других соединений.

**Эндоплазматический ретикулум** расположен в цитоплазме дрожжевых клеток. Это система каналов, пузырьков и цистерн, связанная с цитоплазматической мембраной и ядерной стенкой – нуклеоммой. Эндоплазматический ретикулум обеспечивает транспорт различных веществ (белков, ионов, углеводов) по клетке. На эндоплазматической сети расположены рибосомы.

**Рибосомы** представляют собой включения в виде субмикроскопических зернышек, состоящих из липидов, белков и РНК, которые обеспечивают синтез белков за счет активированных аминокислот, поступающих из митохондриальной системы.

**Ядро** – небольшое шаровидное или овальное тело, окруженное цитоплазмой и нерастворимое в ней. В ядре в виде включений обособленно расположены ДНК, ее протеид, а также большое количество

РНК. ДНК служит для передачи наследственной информации, сохранения свойств микроорганизмов. В ядре осуществляется транскрипция (синтез молекул информационных РНК путем считывания информации с ДНК с помощью фермента РНК-полимеразы), а также репликация ДНК при делении клетки.

**Аппарат Гольджи** – мембранное образование, морфологически связанное с эндоплазматической сетью и нуклеоммой. Роль аппарата заключается в выводе вредных веществ из клетки, обеспечении защитных функций. В нем локализуются ферменты, катализирующие разрушение биополимеров. Мембраны аппарата Гольджи являются местом образования лизосом. Лизосомы представляют собой плотные гранулы, они защищают клетку от повреждений продуктами распада и чужеродными агентами.

**Вакуоли** – производные аппарата Гольджи – это обязательные органоиды клетки, представляют собой полости, наполненные клеточным соком и отделенные от цитоплазмы вакуолярной мембраной. Форма вакуолей изменяется вследствие движения цитоплазмы. Вакуоль в молодых клетках состоит из множества мелких полостей, в старых – из одной очень большой. Клеточный сок представляет собой водный раствор различных солей, углеводов, жиров, белков, в том числе ферментов. В вакуолях сосредотачиваются различные соединения, которые подвергаются ферментативным превращениям и образуют продукты жизнедеятельности и отбросы. Это структуры, изолирующие продукты распада и аккумулирующие чужеродные токсические вещества.

**Волютин** (метахроматин) скапливается в вакуолях в виде коллоидного раствора или гранул. Гранулы могут быть локализованы непосредственно в цитоплазме. В центре гранулы располагаются полифосфаты, связанные с РНК двухвалентными ионами магния или кальция. Оболочка гранулы состоит из сложного комплекса РНК, белка и липидов. Таким образом, волютин – источник фосфора и аккумулятор энергии.

В молодых дрожжевых клетках жира обычно нет, в зрелых он содержится лишь в немногих клетках в виде мелких капель, а в старых – в виде крупных. Гликоген – запасное питательное вещество дрожжей, накапливающееся при культивировании дрожжей на средах, богатых сахаром. При недостатке питательных веществ гликоген быстро расходуется. В молодых клетках гликогена мало, в зрелых – до 40 %.

По внешнему виду клеток можно определить физиологическое состояние дрожжей. В производственных средах одновременно при-

сутствуют молодые, зрелые, почкующиеся, старые и отмершие клетки. Наибольшей бродильной энергией обладают зрелые клетки.

### 2.3 Метаболизм дрожжевой клетки

В основе жизнедеятельности любого организма лежат процессы обмена веществ, для протекания которых требуется постоянный и непрерывный приток энергии. Большинство организмов для поддержания своей жизнедеятельности используют энергию, освобождающуюся во время диссимиляции органических веществ, в первую очередь сахара. В дрожжевой клетке диссимиляция сахара может происходить либо аэробным (дыхание), либо анаэробным (брожение) путём (рисунок 6).

Для развития, роста и размножения дрожжевая клетка нуждается в питательных веществах, растворимых в воде. Цитоплазматическая мембрана пропускает питательные вещества в клетку и препятствует их возвращению в среду. Вода свободно проникает в клетку и уходит из неё. В водных растворах с небольшой концентрацией веществ всегда устанавливается некоторый приток воды в клетку. Вода создаёт давление внутри клетки, и протоплазма оказывается плотно прижатой к эластичным внутренним стенкам клетки. При таком состоянии, называемом **тургором**, все процессы обмена в дрожжевой клетке протекают быстро. Питательные вещества под действием ферментов клетки включаются в различные продукты обмена. Основными процессами, характеризующими жизнедеятельность дрожжей, являются **ассимиляция (анаболизм)** и **диссимиляция (катаболизм)**.

При ассимиляции клетки перерабатывают питательные вещества в соединения, используемые для синтеза. Диссимиляция представляет собой процесс преобразования и распада веществ в организм, который сопровождается выделением энергии. Эта энергия используется в процессе синтеза и поддержания жизнедеятельности клеток.

Дрожжи, развиваясь на сахаросодержащих средах без доступа воздуха, осуществляют сбраживание глюкозы до этанола и углекислого газа. Процесс аэробного дыхания, при котором сахар окисляется до углекислого газа и воды, протекает в присутствии воздуха. Оба процесса являются экзотермическими. При спиртовом брожении в дрожжевых клетках энергии выделяется в 22 раза меньше, чем при дыхании.

Сбраживание глюкозы дрожжами является анаэробным процессом, хотя сами дрожжи – аэробные микроорганизмы. В анаэробных условиях брожение протекает интенсивно, но роста дрожжей практически не наблюдается. При доступе воздуха брожение ослабевает и

интенсифицируется дыхание и размножение дрожжей. При хорошей аэрации спиртовое брожение практически прекращается. При аэробном дыхании дрожжи получают необходимую энергию при меньшем расходе сахара.



Рисунок 6 – Общая схема метаболизма дрожжей

Расщепление сахаров происходит по циклу Кребса. Образующаяся при этом щавелевоуксусная кислота может реагировать с аммиаком, превращаясь в аспарагиновую кислоту, являющуюся основой белковой структуры клетки. Другой путь питательного превращения углеводов – пентозофосфатный цикл. Предполагается, что основное значение этого

цикла – снабжение живого организма пентозами, необходимыми для синтеза нуклеиновых кислот и накопления биомассы. Основная роль в синтезе белка принадлежит нуклеиновым кислотам. В их состав входят пуриновые или пиримидиновые основания, сахар (пентоза) и фосфорная кислота. Синтез белков происходит на рибосомах клеток за счет энергии, выделяющейся при диссимиляции. В улавливании и использовании этой энергии клеткой участвуют макроэргические соединения, и в первую очередь аденозинтрифосфорная кислота. Ферментативный синтез белка в живых системах начинается с процесса активирования аминокислот. Для каждой аминокислоты существует свой фермент.

Дрожжи рода *Saccharomyces* не ассимилируют нитраты, так как не имеют ферментов, способных восстанавливать их до ионов аммония. Дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae* в аэробных условиях используют глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, на 1/3 раффинозу, очень медленно используют галактозу. Способность к использованию L-сорбозы, трегалозы, мелецитозы, инулина, L-арабинозы, D-рибозы, глицерина, D-маннита, D-сорбита,  $\alpha$ -метил- $\beta$ -глюкозида и молочной кислоты варьирует. В анаэробных условиях трегалозу не используют. Не ассимилируют целлобиозу, лактозу, мелибиозу, крахмал, ксилозу, D-арабинозу, L-рамнозу, эритрит, рибит, дульцит, салицин, янтарную и лимонную кислоты, инозит. Штаммы имеют различную способность расти на средах в отсутствие витаминов. Органические кислоты меласс и глицерин ассимилируются дрожжами в присутствии моно- и диглициридов.

Некоторые виды дрожжей (не сахаромицеты) способны утилизировать полисахариды, чаще всего инулин и крахмал. Известны дрожжи, растущие на средах с углеводородами и некоторыми спиртами, в том числе метанолом и этанолом, а также органическими кислотами и другими углеродными субстратами.

В качестве источника азота дрожжи используют обычно соли аммония, аминокислоты, небольшие пептиды, реже нитраты и нитриты. Некоторые виды нуждаются в одном или более витаминах (чаще в биотине и тиамине), другие способны все необходимые для роста витамины синтезировать сами.

## 2.4 Верховые и низовые дрожжи

Штаммы *Saccharomyces c cerevisiae* подразделяют на расы низового и верхового брожения. К расам низового брожения относится большинство винных и пивных дрожжей, к расам верхового – спирто-



вые, хлебопекарные и некоторые пивные. Дрожжи низового брожения функционируют в производстве при температуре от 6 до 10 °С и ниже (до 0 °С), а верхового – обычно температуре от 14 до 25 °С.

В конце брожения низовые дрожжи оседают на дно, формируя плотный осадок, верховые всплывают на поверхность и образуют «шапку». Способность последних подниматься на поверхность обусловлена тем, что клетки после почкования остаются соединенными в небольшой цепочке; пузырьки углекислого газа поднимают их на поверхность. Оба свойства, однако, не абсолютны.

По поведению в бродящей среде дрожжи разделяют также на **хлопьевидные** и **пылевидные**. В основе этого разделения лежит различие в их флокуляционных свойствах (флокуляция – обратимая агрегация, или агглютинация, клеток).

Хлопьевидные дрожжи в конце брожения слипаются в комки (флокулы) и либо оседают на дно, либо поднимаются на поверхность. Пылевидные дрожжи в течение всего процесса брожения находятся во взвешенном состоянии. Флокулируют дрожжи как низового, так и верхового брожения. Клетки хлопьевидных дрожжей крупнее и тяжелее, чем пылевидных; последние особенно подвержены автолизу. Пылевидные дрожжи дают меньший прирост биомассы, но обладают более высокой бродильной активностью и полнее сбраживают сусло, образуют больше диацетила и высших спиртов. Хлопьевидные дрожжи лучше создают аромат напитков. Способность дрожжей к хлопьеобразованию не является стойким признаком, и штаммы могут её постепенно утрачивать.

## МОДУЛЬ 3. ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ

### 3.1 Классификация продуктов брожения в зависимости от вида микроорганизмов, используемых в производстве

В данном разделе будут рассмотрены только продукты брожения, получаемые с помощью дрожжей (таблица 9). Технология пищевых органических кислот, также относящаяся к бродильным производствам, здесь не рассматривается.

Таблица 9 – Классификация продуктов брожения в зависимости от вида микроорганизмов, используемых в производстве

Микробиологическая характеристика продукта	Название продукта	Микроорганизмы
1	2	3
Продукты питания		
Продукты, приготовляемые с использованием дрожжей и молочнокислых бактерий	Хлебный квас	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> рас М, 131-К, С-2 и др. и гетероферментативные молочнокислые бактерии
	Хлеб	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. fermenti</i>
	Кефир, кумыс, курунга и другие национальные напитки, ацидофильное дрожжевое молоко, напитки из сыворотки	Ассоциация молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей
	Моченные плоды и ягоды (биологическое консервирование)	Ассоциация молочнокислых бактерий и дрожжей

Продолжение таблицы 9

1	2	3
Продукты, приготавливаемые с использованием дрожжей верхового брожения	Спирт этиловый	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , рас XII, X, B, Ял, V-30 и др.
	Хлебопекарные дрожжи	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , штаммы 739, 743, 722 и др.
	Пиво	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (применяются в Великобритании, др. европейских странах, в США)
Продукты, приготавливаемые с использованием дрожжей низового брожения	Вино	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces bayanus</i> , <i>Schizosaccharomyces sp.</i> и др.
	Пиво	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ( <i>carlsbergensis</i> ) 776, 41, 44, S-Львовская и др. (применяются в отечественном пивоварении)
Продукты микробиологического синтеза		
Биомасса	Белково-витаминные концентраты	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , дрожжи родов <i>Candida</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Trichosporon</i>
Метаболиты дрожжей различных классов	Технический этиловый спирт	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Schizosaccharomyces sp.</i> ; Сбраживающие ксилозу: <i>Pachysolen tannophilus</i> , <i>Candida shehatae</i> , <i>Pichia stipitis</i> и др.
	Витамины	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> , <i>Saccharomyces ellipsoideus</i> и др.
	Органические кислоты	<i>Yarrowia lipolitica</i> , <i>Candida catenulata</i> , <i>Pichia membranaefaciens</i> и др.
	Полисахариды	<i>Aureobasidium pullulens</i> , <i>Cryptococcus sp.</i> , <i>Rhodotorula sp.</i> , <i>Lipomyces sp.</i> и др.
	Многоатомные спирты	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> , <i>Zygosaccharomyces bailii</i> и др.
	Ферментные препараты	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Yarrowia lipolitica</i> , <i>Kluveromyces marxianus</i> и др.

### 3.2 Производство этанола

Этанол широко применяется в химической промышленности как исходное соединение для синтеза многих веществ, как растворитель, экстрагент, антифриз и т.п. Есть мнение, что у этанола большое будущее и как топлива в двигателях внутреннего сгорания: этанол гораздо более экологически чистое топливо, чем бензин.

Сырьем для производства спирта служат разнообразные растительные материалы, содержащие в достаточном количестве сбраживаемые сахара или другие углеводы, которые можно осахарить. Наиболее широко используются: крахмалосодержащие материалы – зерно (рожь, пшеница, кукуруза, ячмень, овес, просо) и картофель – и сахаросодержащие материалы – меласса (отход сахарного и крахмало-паточного производства) и дефектная сахарная свекла. Из данных видов сырья вырабатывают этанол пищевого и медицинского назначения.

Дальнейшее увеличение производства спирта будет идти по пути увеличения мощностей предприятий, использующих непивное целлюлозосодержащее сырьё, такое как древесина, отходы сельскохозяйственных растений, биомасса быстрорастущих «энергетических» растений. Углеводы целлюлозосодержащего сырья осахаривают химическим или ферментативным способом. Получаемый этанол может быть использован в химической промышленности и как топливо.

Процесс производства спирта из крахмалистого сырья включает ряд стадий. Вначале сырьё очищают, измельчают и разваривают с целью извлечения и растворения крахмала. Поскольку крахмал не подвержен действию ферментов дрожжей, способных сбраживать только дисахариды и моносахариды, охлажденную разваренную массу обрабатывают амилолитическими ферментами солода или микробильных ферментных препаратов.

Следующая стадия – сбраживание осахаренной массы. Для этого используют естественно-чистые культуры дрожжей, последние систематически ведут на производственных заторах в специальном дрожжевом отделении.

Спиртовые дрожжи, применяемые при переработке крахмалистого сырья, должны обладать высокой броидильной активностью; быстро и полностью сбраживать сахара, а также использовать другие компоненты питательной среды в анаэробных условиях, быть устойчивыми к продуктам своего обмена (особенно к спирту), хорошо противостоять развитию инфекции.

Уже около 100 лет применяют *Saccharomyces cerevisiae*, раса XII. Эти дрожжи хорошо сбраживают глюкозу, фруктозу, сахарозу, маль-

тозу, на 1/3 раффинозу, несколько слабее галактозу. В среде накапливают до 10...11 об. % спирта. Раса XII – верхнебродящая, хорошо распределяется во всем объеме затора, пылевидная, не образует хлопьев. Оптимальная температура ее развития 30...38 °С, максимальная 38 °С, минимальная температура 5 °С. Значение рН во время брожения поддерживают в пределах 3,8...4,0. Используют также другие расы дрожжей, но не так широко. После сбраживания заторов в них остаются неиспользованными около 0,1 % галактозы, 0,4 % декстринов и 0,5 % пентоз.

Проводится селекционная работа по получению рас дрожжей с более высокими производственно ценными свойствами, в частности, способных интенсивно использовать галактозу и декстрины. В последние годы большое внимание уделяется селекции термотолерантных рас, дающих в промышленном производстве ряд преимуществ (ускорение микробиологических процессов, уменьшение расхода хладагента и др.). Разрабатываются методы получения этанола на различных субстратах с использованием иммобилизованных клеток микроорганизмов.

Этанол может быть выработан из сахаросодержащего сырья – мелассы. Меласса – побочный продукт сахарного производства, содержит около 80 % сухих веществ и 20 % воды, в сухих веществах содержится до 45...50 % сахарозы. К дрожжам, используемым для сбраживания мелассных растворов, предъявляются в основном те же требования, что и к расам для производства спирта на крахмалистых средах. Кроме того, они должны обладать способностью переносить высокие концентрации сухих веществ, содержащихся в мелассе, и более полно сбраживать раффинозу.

В производстве широкое применение нашла раса Я *Saccharomyces cerevisia*, а при использовании дрожжей после брожения в качестве хлебопекарных – раса В (венгерская). Дрожжи этих рас хорошо сбраживают сахарозу, глюкозу и фруктозу, раффинозу только на 1/3. При большом содержании раффинозы в мелассе недобор спирта может быть значительным.

Крупномасштабное получение этанола в качестве топлива осуществляется в основном в Бразилии и других странах Южной Америки. В качестве источника углеводов используется сахарный тростник и маниока, в качестве продуцента этанола – *Saccharomyces cerevisiae*.

Сырьем для получения технического спирта могут служить гидролизаты древесины и другого целлюлозосодержащего сырья. Древесина хвойных и лиственных пород содержит 40...75 % полисахаридов. Различают легко- и трудногидролизуемые полисахариды.

Легкогидролизуемые полисахариды состоят из гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Трудногидролизуемые полисахариды содержат целлюлозу с небольшой примесью гемицеллюлоз.

Растительное сырье под давлением подвергают кислотному гидролизу. Полученный гидролизат содержит 3,2...3,5 % редуцирующих сахаров, преимущественно глюкозу, в небольших количествах галактозу и маннозу, а также пентозы – ксилозу, арабинозу, рамнозу.

Для сбраживания древесных гидролизатов используют ряд рас *Saccharomyces* и *Schizosaccharomyces*. Присутствующие в гидролизате вредные примеси играют роль антисептиков – подавляют развитие посторонних микроорганизмов. Поэтому на гидролизных спиртовых заводах отсутствуют установки для размножения чистых и производственных культур дрожжей, а одни и те же дрожжи используют на протяжении многих месяцев.

Зрелая бражка по окончании брожения содержит 1,0...1,5 % этанола и побочные продукты брожения, несброженные сахара и другие органические вещества. При перегонке бражки и ректификации гидролизного спирта не удается полностью избавиться от этих примесей; гидролизный спирт (ректификат) содержит до 0,05...0,1 % метанола и несколько большее количество кислот, сложных эфиров и альдегидов, чем ректификат из пищевого сырья.

При традиционном способе получения этанола из гидролизатов древесины и отходов сельскохозяйственных растений значительная часть моносахаридов, в основном ксилозы, остается неиспользованной. Выявлены дрожжи *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis* и другие, способные сбраживать ксилозу с образованием этанола. Теоретически использование таких дрожжей может обеспечить утилизацию до 90 % сахаров, образующихся при гидролизе растительной массы.

Кроме химического гидролиза, целлюлозодержащее сырьё может быть осахарено с помощью ферментативного гидролиза. Эта технология активно разрабатывается, обсуждаются способы подготовки сырья к гидролизу, разработка ферментативных комплексов для проведения осахаривания, схемы брожения и выделения этанола из бражки.

Сульфитные щелока являются отходами целлюлозного производства. Для извлечения целлюлозы древесину обрабатывают при повышенной температуре варочным раствором, обычно представляющим смесь сернистой кислоты с водными растворами бисульфитов и моносульфитов –  $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$ ,  $\text{Mg}(\text{HSO}_3)_2$ ,  $\text{NH}_4\text{HSO}_3$  и  $\text{NaHSO}_3$ . При этом целлюлоза извлекается в неповрежденном виде, а гидролизуются только гемицеллюлозы. Лигнин, входящий в состав древесины, образует с сер-

нистой кислотой водорастворимые лигносульфонокислоты. Суммарная концентрация сахаров достигает 3,0...3,5 %, из них 62...68 % сбраживаемые, рН 1,5...1,0.

Сульфитные щелока сбраживают расами *Saccharomyces cerevisiae*, которые хорошо используют галактозу, обладают флокулирующими свойствами и сорбируются волокнами целлюлозы. Благодаря наличию в щелоках ряда антисептических веществ нет необходимости в процессе производства размножать дрожжи в специальных аппаратах. Отбродившие дрожжи вновь идут в производство.

Зрелая бражка содержит 0,5...1,0 % этилового спирта и много летучих примесей (альдегиды, эфиры, высшие спирты, метанол, фурфурол, сернистый ангидрид, сероводород). В сульфитном спирте остаются трудноотделяемые сернистые соединения, значительное количество альдегидов и эфиров, а также 2,0...8,0 % метанола. Сульфитный спирт является самым дешевым.

### 3.3 Виноделие

Микробиология виноделия призвана решить две главные задачи: первая – наиболее полно выяснить биологические и биохимические свойства организмов, превращающих виноградное сусло в вино; вторая – осуществлять контроль за деятельностью полезных микроорганизмов и посторонних, вредных, являющихся причиной производственных потерь и порчи получаемого продукта. Круг исследований включает: оценку видов и рас дрожжей рода *Saccharomyces* и других родов дрожжей, встречающихся в виноделии; определение оптимальных условий развития и биосинтеза тех или иных продуктов метаболизма с целью более эффективного использования технологии, возможностей дрожжей для повышения качества вин; определение посторонней дрожжевой флоры, являющейся возбудителем заболеваний вин; оценку возможности промышленного использования молочнокислых и уксуснокислых бактерий, способы регулирования технологических режимов для индуцирования полезных процессов и предотвращения заболеваний; методы контроля процессов, вызываемых дрожжами и бактериями; и оценку микробиологического состояния вина на различных стадиях технологии.

В основе получения вина лежит сбраживание фруктозы и глюкозы виноградного сока с образованием этилового спирта. Собранный виноград давят и получают виноградное сусло, или муст, в котором содержится от 10 до 25 % сахара.

В традиционных процессах приготовления вина сбраживание муста ведется с помощью дрожжей, присутствующих на винограде. При этом в брожении участвует множество видов дрожжей, сменяющих друг друга, таких как *Hanseniaspora*, *Brettanomyces*, *Saccharomyces*.

В современном виноделии для сбраживания в основном используют чистые культуры специальных рас сахаромикетов. При этом «дикие» дрожжи сначала убивают, пропуская через муст двуокись серы или используя другие технологические приёмы. После окончания брожения молодое вино необходимо осветлить и дать ему созреть. Эти процессы для высококачественных вин могут занимать несколько лет. В процессе созревания вина может происходить рост бактерий, которые удаляют из него яблочную кислоту, а также различные биохимические изменения, которые улучшают вкусовые качества вина.

При производстве некоторых сортов вин в качестве исходного сырья используется не виноградный сок, а уже готовое вино. Такое так называемое вторичное виноделие включает процессы дображивания и модификации вин с использованием специальных рас дрожжей. К наиболее известным продуктам вторичного виноделия относятся шампанские вина. Шампанское получают из смеси вин (купажа), в которую добавляют сахар и дрожжи, после чего выдерживают в замкнутом объеме для вторичного брожения (шампанизации). Традиционные процессы шампанизации проводятся в бутылках, на крупных заводах – в больших емкостях. При шампанизации происходит растворение и химическое связывание образующейся углекислоты, которая при открывании бутылки в результате перепада давления освобождается и придает вину неповторимую игристость.

Дрожжи вносят в производство вина двойной вклад: они ответственны за образование этанола в напитке, а также за накопление в нем множества соединений, от которых зависит его вкус и аромат. Такие соединения называются органолептическими. Часть из них образуется непосредственно в ходе брожения, часть – при химических превращениях компонентов вина в ходе его созревания.

### 3.4 Пивоварение

Пиво – слабоалкогольный напиток, который получают путем сбраживания охмеленного суслу специальными расами дрожжей. Вкус и аромат его создают экстрактивные вещества, извлеченные из солода, горькие и ароматические вещества хмеля, а также этиловый спирт, углекислый газ и другие продукты брожения. Сортовые различия пива определяются типом используемого солода, количеством и видом добавляемых неосоложенных продуктов.



Процесс производства пива включает ряд стадий: изготовление солода из ячменя, получение затора и сусла, сбраживание сусла, дображивание и созревание молодого пива, фильтрацию и розлив.

Пивные дрожжи, используемые в пивоваренной промышленности, обладают высокой флокуляционной способностью, медленно и полно оседают при осветлении молодого пива в конце главного брожения и готового – в конце дображивания. Они активно сбраживают глюкозу и фруктозу, медленнее – мальтозу и еще медленнее – трисахарид мальтотриозу. Декстрины не сбраживаются и играют важную роль в создании полноты и вкуса пива. Пивные дрожжи в незначительном количестве накапливают высшие спирты, диацетил и сернистые соединения, а также обеспечивают насыщенность пива углекислотой. В настоящее время в России в пивоваренной промышленности применяют главным образом дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* низового брожения (наиболее широко используют расы 776, 41, 44, S-Львовская, 11, 8а (М), а также расы Р и F).

При производстве пива могут развиваться посторонние виды дрожжей. Они ухудшают процесс брожения и осветления пива, вызывают его помутнение, придают посторонний вкус и запах. Описано около 30 видов «диких» дрожжей, инфицирующих пиво. Некоторые исследователи считают, что многочисленные «виды» в большинстве случаев являются мутантами культурных дрожжей, ими предложено рассматривать такие «виды» как синонимы *Sacch. cerevisiae*.

В пивоварении различают два типа брожения: верховое (теплое) и низовое (холодное). Вызывающие их дрожжи различаются рядом свойств и ранее рассматривались как различные виды: верховые *S. cerevisiae* и низовые *S. cerevisiae (carlsbergensis)*. Дрожжи низового брожения функционируют при температуре от 6 до 10 °С, в то время как верховое брожение протекает при 14...25 °С. Для максимального превращения сахара в этанол необходимо, чтобы дрожжи оставались суспендированными в бродящей жидкости. С другой стороны, флокуляция дрожжей после того, как брожение закончилось или достигло желаемой стадии, очень облегчает удаление дрожжей из напитка. Другими словами, дрожжи должны флокулировать только на определенной стадии брожения. Хотя важность процесса флокуляции в изготовлении алкогольных напитков была оценена уже более ста лет назад, физиологический механизм этого явления был изучен лишь в последние десятилетия. В слипании клеток участвуют присутствующие в растворе ионы двухвалентного кальция, взаимодействующие с карбоксильными и фосфодиэфирными группами на поверхности клеточных стенок дрожжей.

### 3.5 Хлебопечение

Производство хлеба включает сложный цикл микробиологических и биохимических процессов, происходящих в тесте с момента смешивания муки с водой и заканчивающихся выпечкой. В сортах муки, используемой для выпечки пшеничного и ржаного хлеба, входят компоненты, необходимые для развития многих микроорганизмов. Кроме крахмала в муке содержится до 0,7...1,8 % (в пересчете на сухое вещество) сбраживаемых сахаров – глюкозы, фруктозы, мальтозы, сахарозы, раффинозы, существенно влияющих на первые стадии брожения теста.

Важнейшую роль в брожении теста играют дрожжи и молочнокислые бактерии, для которых имеются все необходимые условия: влажность 40...50 %, незначительное содержание молекулярного кислорода и наличие питательных веществ. Микробиологические процессы и связанные с ними биохимические изменения в тесте определяют пористость, окраску, прочность среза и сохранение свежести хлеба, придают ему вкус и аромат.

Все дрожжи, которые используются в хлебопечении, относятся к виду *Saccharomyces cerevisiae* и исторически происходят от штаммов пивных дрожжей. В конце XIX века развилась целая отрасль по производству прессованных или сухих пекарских дрожжей. Современное производство пекарских дрожжей имеет ряд существенных особенностей по сравнению с бродильной промышленностью. Основная цель такого производства – получение дрожжей, которые с высокой скоростью вырабатывают в тесте углекислый газ за счет брожения в анаэробных условиях. Однако производить их надо при хорошей аэрации, чтобы добиться большего выхода дрожжевой биомассы (эффект Пастера). Полученные дрожжи должны не только обладать высокой бродильной активностью в тесте, но и хорошо храниться, не теряя своих качеств в замороженном или высушенном состоянии.

Питательная среда, основой которой обычно служит меласса, подается постепенно или порциями. Если добавить сразу много сахара, то метаболизм дрожжей переключится на бродильный (эффект Кребтри), и выход биомассы уменьшится. По завершении роста дрожжи концентрируют центрифугированием и фильтруют. Образующийся на фильтре осадок можно превращать в брикеты прессованных дрожжей. Сухие дрожжи получают высушиванием массы в специальных распылительных сушилках.

Для получения хлебопекарных дрожжей используют быстрорастущие расы верхового брожения. Они должны иметь крупные клетки

(не менее  $7,0 \times 11,0$  мкм), хорошо сбраживать сахара при высокой концентрации сухих веществ в тесте, быть солеустойчивыми и устойчивыми к вредным примесям мелассы, иметь высокую скорость генерации ( $\mu = 0,2 \text{ ч}^{-1}$ ), обладать высокой подъемной силой и мальтазной активностью. Подъемная сила отражает активность бродильных ферментов клетки, ее зимазного комплекса, а мальтазная активность свидетельствует о скорости сбраживания мальтозы.

Ржаное тесто часто готовят на густых заквасках, обеспечивающих его разрыхление и кислотонакопление. Их изготавливают с помощью чистых культур гомо- и гетероферментативных молочнокислых бактерий и дрожжей.

Жидкие закваски – полуфабрикат, при получении которого на осажаренных заварках или жидких водно-мучных смесях при температуре  $28 \dots 30$  °С непрерывно-поточным способом одновременно размножаются мезофильные гетероферментативные молочнокислые бактерии и дрожжи, попавшие туда спонтанно (например, с мукой) или внесенные специально. При использовании жидких заквасок в тесте протекает не только спиртовое, но и активное молочнокислое брожение, при этом рН теста снижается до  $4,7 \dots 4,8$ .

Осажаренная и охлажденная до  $50$  °С мучная заварка заквашивается бактериями *Lactobacillus delbrueckii* (рН  $3,7 \dots 3,9$ ). На закисшем заторе при  $28$  °С в другой емкости культивируют дрожжи, используемые для разрыхления теста.

### 3.6 Производство хлебного кваса

Хлебный квас – национальный русский напиток – является продуктом незаконченного спиртового и молочнокислого брожения. Сырьём для производства кваса служат ржаной и ячменный солод, ржаная мука, вода, сахар. Ржаной солод и ржаную муку запаривают и вводят ячменный солод, который гидролизует крахмал, белки и частично некрахмальные полисахариды. После фильтрации сусло сгущают, упаривают при температуре  $105 \dots 115$  °С, при этом образуются меланоидины, придающие квасу характерную окраску.

В квасоварении применяют сушеные квасные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* расы М, 131-К, С-2, винные, Штейберг 6, Киевские низового брожения, Днепропетровские 6 и хлебопекарные. Также применяют молочнокислые гетероферментативные бактерии рас 11 и 13.

В процессе спиртового брожения в квасе накапливается  $0,3 \dots 0,5$  % (по объёму) спирта и углекислого газа. Кроме того, образуются продукты гетероферментативного молочнокислого брожения –

молочная и уксусная кислоты, этиловый спирт, углекислый газ, летучие ароматические вещества (диацетил и этилацетат), которые создают специфический аромат и вкус кваса. В готовом квасе при хранении количество спирта не должно превышать 1,2 % (по объёму).

### 3.7 Применение дрожжей в молочной промышленности

В свежесвыдоенном молоке дрожжи появляются через несколько часов. 90 % из них относятся к роду *Candida*, также представлены роды *Pichia*, *Rhodotorula*, но они являются посторонней микрофлорой в молочной промышленности.

Дрожжи – необходимый компонент заквасок, используемых для получения кефира, кумыса, курунги и других национальных напитков.

Особенно важны дрожжи, сбраживающие лактозу с образованием спирта – *Clueveromyces lactis*, *Clueveromyces fragilis* и *Candida pseudotropicalis*. Спиртовое брожение лежит в основе получения напитков из сыворотки.

*Saccharomyces cerevisiae* используются в составе заквасок для получения ацидофильного дрожжевого молока, напитков из сыворотки.

Во всех остальных случаях дрожжи играют отрицательную роль в молочной промышленности (см. п. 4.2).

### 3.8 Дрожжи как источник белка

В конце XIX века в Германии была разработана технология производства хлебопекарных дрожжей, во время Первой мировой войны дрожжи стали использоваться в качестве пищевой добавки в производстве супов и колбас, а также начала развиваться технология производства кормовых дрожжей.

До сих пор культивирование пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (*carlsbergensis*) остается важным резервом пищевого белка и витаминов. Организм человека усваивает свыше 90 % всех питательных веществ, содержащихся в них. В составе этих дрожжей обнаружено 14 витаминов, особенно они богаты витаминами группы В.

При переработке биомассы в пищевой белок ее тщательно очищают. Сначала разрушают стенки дрожжевых клеток путем механической, щелочной, кислотной или ферментативной обработки с последующей экстракцией гомогенной дрожжевой массы подходящим органическим растворителем. Затем щелочным раствором растворяют белки, и белковый раствор отделяют от клеточной массы диализом. Очищенные от низкомолекулярных примесей белки осаждают и ис-

пользуют в качестве белковых добавок в различные пищевые продукты – сосиски, колбасы, паштеты, мясные начинки. Также сухой белок можно текстурировать.

Для кормовых целей можно применять дрожжи других родов. Дрожжи родов *Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Trichosporon* в качестве источника углерода для роста способны использовать неразветвленные углеводороды с числом от 10 до 30 углеродных атомов в молекуле. В основном они представлены жидкими фракциями углеводородов нефти с температурой кипения от 200 до 320 °С. Первоначально проект возник из необходимости утилизировать парафины, остающиеся в количестве от 10 до 15 % после очистки газойля. В питательную среду добавляют макро- и микроэлементы, витамины и аминокислоты. В России завод по производству кормовых дрожжей на парафинах нефти был построен в 1971 г. (его продуктивность составила около 1 млн т в год). Высушенная белковая масса гранулируется и используется как белково-витаминный концентрат в кормопроизводстве.

Хорошим субстратом для выращивания кормовых дрожжей родов *Torula*, *Kluyveromyces* является молочная сыворотка. В 1 т молочной сыворотки содержится около 10 кг белка и 50 кг лактозы. Методом ультрафильтрации белки отделяют, а раствор лактозы используют для культивирования дрожжей.

В качестве источников углерода дрожжевые клетки могут использовать и низшие спирты – метанол и этанол, получаемые из природного газа или растительных отходов. При этом дрожжевая масса содержит больше белков (56...62 % от сухой массы) и меньше вредных примесей (производных бензола, D-аминокислот, аномальных липидов, токсинов, канцерогенов), чем кормовые дрожжи, выращенные на парафинах нефти.

Для выращивания дрожжей на гидролизатах растительного сырья используются *Candida arborea* и *Candida utilis*, они применяются для пищевых целей и используются в качестве белковых добавок к различным продуктам. Например, в США на основе *Candida utilis* производят торутеин, который добавляют в продукты питания, после чего они считаются диетическими, с высоким содержанием протеина.

### **3.9 Посторонняя микрофлора бродильных производств**

#### **3.9.1 Молочнокислые бактерии**

Молочнокислые бактерии: кокки или палочки грамположительные, неподвижные, неспорообразующие, гетероферментативные. Молочнокислые бактерии, как и другие бесспорные бактерии, погибают

при температуре 70...75 °С. Оптимальная температура роста для мезофильных видов – 20...30 °С, для термофильных – 49...51 °С. Наиболее часто встречаются молочнокислые бактерии родов *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermenti*) и *Leunconostoc* (*L. mesenteroides*, *L. dextranicum*, *L. agglutinans*).

Палочки являются кислотообразующими, повышают кислотность суслу в процессе культивирования и снижают генеративную активность дрожжей.

Лейконостоки *Leunconostoc mesenteroides* и *Leunconostoc dextranicum* синтезируют декстран, что приводит к сгущению приточной мелассы и затрудняет ее поступление в дрожжерастильные аппараты. *Leunconostoc mesenteroides* имеют слизистую капсулу, поэтому устойчивы к высокой температуре и кислотам. В жидких средах погибают при 110...120 °С в течение 20 минут.

*Leunconostoc agglutinans* обладают способностью прилипать к дрожжам и склеивать (агглютинировать) их клетки в комки, которые оседают на дно аппаратов. Размножение дрожжей почти прекращается.

### **3.9.2 Уксуснокислые бактерии**

Уксуснокислые бактерии *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianum*, *Acetobacter oxydans* имеют форму палочек длиной 1...3 мкм, часто соединены в цепочки, грамотрицательные, бесспорные, аэробные организмы, развиваются в тех же условиях, что и дрожжи. Оптимальная температура 20...35 °С. Окисляют этанол в уксусную кислоту, пропанол – в пропионовую, бутанол – в масляную кислоту. Некоторые виды способны окислять глюкозу, ксилозу и арабинозу в глюконовую, ксилоновую и арабановую кислоты соответственно. *Acetobacter aceti* выдерживают 10...11%-ную концентрацию этанола. При накоплении в сусле 0,01 % уксусной кислоты задерживается, а при 0,2 % подавляется развитие жизнедеятельности дрожжей. Обнаруживают уксуснокислые бактерии окраской препарата йодом – бактерии приобретают золотисто-желтый цвет.

### **3.9.3 Маслянокислые бактерии**

Маслянокислые бактерии *Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium saccharobutyricum* – грамположительные, облигатные (строгие) анаэробные, имеющие подвижные крупные споробразующие палочки длиной 10 мкм. Споры цилиндрической или эллипсоидальной формы. Оптимальная температура роста бактерий 30...40 °С, при рН ниже 4,9 они не развиваются. Наряду с масляной кислотой они образуют уксусную, капроновую, молочную, каприловую и другие кислоты, а также спирты: этанол и бутанол. Маслянокислые бактерии, метаболизирующие масляную кислоту, опасны для бро-

дильных производств. Даже в очень малых концентрациях (0,0005 %) они подавляют развитие дрожжей. Обнаруживают маслянокислые бактерии окраской препарата люголем в голубой цвет.

### 3.9.4 Гнилостные бактерии

Гнилостные бактерии вызывают распад белковых веществ и проявляют свою деятельность как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Аэробы минерализуют белок до углекислого газа, аммиака, сероводорода, воды, минеральных солей. При метаболизме анаэробов накапливаются органические дурнопахнущие и ядовитые вещества.

**К факультативным анаэробам** относятся грамотрицательные, неспорообразующие бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, представленное родами *Escherichia* (кишечная палочка – *E. coli*), *Proteus* (*P. vulgaris* и др.) и *Enterobacter* (*Enb. aerogenes* и др.), а также грамположительные неспорообразующие кокки семейства *Micrococcus*. К облигатным анаэробам относятся *Clostridium putrificum*, *Clostridium sporogenes*. Все они вызывают разложение белков, что приводит к быстрой порче прессованных дрожжей (разжижению) и появлению неприятно пахнущих продуктов гниения (сероводорода, индола, скатола и др.).

**К аэробам** относятся грамотрицательные, неспорообразующие палочки рода *Pseudomonas* (синегнойная палочка – *P. aeruginosa* и другие виды) и грамположительные, спорообразующие почвенные бактерии рода *Bacillus* (сенная палочка *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. megatherium*, *B. mycoides* и др.).

Бактерии рода *Bacillus* подвижны, их споры отличаются высокой термоустойчивостью (оптимальная температура 36...50 °С). Являются также нитритообразующими бактериями, редуцирующими нитраты в нитриты, содержание которых в концентрации 0,0005 % задерживает размножение дрожжей, а при увеличении концентрации до 0,02 % накопление биомассы снижается на 40...50 %. Стойкость дрожжей при хранении под влиянием нитритообразующих бактерий снижается, они вызывают разложение дрожжевых клеток и разжижение прессованных дрожжей.

### 3.9.5 Дикie дрожжи

Дикie дрожжи родов *Candida* (*C. parapsilosis*, *C. claussoni*, *C. tropicalis*, *C. mycoderma*, *C. Gillermondii* и др.), *Torula* (*T. nigra* и др.), *Rodotorula* (*R. rubra* и др.), *Torilopsis sp.* представляют значительную опасность для бродильных производств. Дикie дрожжи конкурируют с культурными, развиваясь быстрее, потребляя большое количество сахара с малым выходом этанола. Многие из них превращают сахар в органические кислоты и окисляют этанол. Несовершенные дрожжи вызывают агглютинацию дрожжевых клеток.

Основной источник посторонней микрофлоры на производстве – сырье. Также это могут быть плохопромытые аппаратура и трубопроводы, а также вода и воздух.

### **3.9.6 Микрофлора воды и воздуха**

Микрофлора воды и воздуха представлена различными бактериями. Особенно заражена ими вода из открытых водоемов и прудов. В ней чаще всего находятся микроорганизмы следующих видов: *Escherichia coli*, *Escherichia freundii*, *Klebsiella aerogenes*, *Actobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Pseudomonas nonliguefaciens*.

В воздухе часто встречаются бактерии родов *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. megatherium*, *B. mycoides* и др.), *Sarcina* (*Sarcina lutea*), споры плесневых грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus*, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и редко – молочнокислые бактерии.

### **3.10 Дрожжи – источник производственной инфекции в небродильных производствах**

Дрожжи могут наносить существенный урон ряду отраслей пищевой промышленности. Необходимо помнить, что питательными веществами для дрожжей являются сахара.

Порчу хлебопекарных изделий могут вызывать неосмофильные и осмофильные виды дрожжей. Неосмофильные дрожжи обуславливают три вида порчи. Аспорогенные дрожжи при попадании в тесто могут понизить качество хлеба и придать ему нежелательный запах. *Saccharomyces cerevisiae* и другие бродящие дрожжи, заражая хлеб после выпечки, вызывают появление сильного запаха («фруктового», «ацетонового» и др.). Виды дрожжей, образующие гифы, могут давать на поверхности хлеба хорошо видимый рост. На темных сортах хлеба возможно появление белого налета «меловой плесени», порчу чаще всего вызывают *Hyphopichia burtonii*.

Осмофильные дрожжи (*Zygosacch. rouhii*, *Zygosacch. bisporus*) опасны для кондитерских хлебопекарных изделий, при изготовлении которых компоненты с высоким содержанием сахара (джемы, мармелад, фруктовые наливки и др.) могут портиться (забраживать).

При производстве сахара *Kluveromyces marxianus* вызывают разложение сахарозы, ослизнение соков и сиропов, образуют органические кислоты, ухудшают качество полупродуктов и готовой продукции.

*Kluveromyces marxianus* ассимилируют сахарозу, способны расти при температуре 50 °С и концентрации сахарозы до 75 %.



В сахаре-сырце кристаллы сахарозы окружены плёнкой из мелассы. В плёнке могут обитать осмофильные дрожжи *Zygosacch. bisporus*, *Zygosacch. rouxi*, *Zygosacch. bailii*, *Torulasporea delbrutckii*.

Дрожжи – основные возбудители порчи плодово-ягодных соков и безалкогольных напитков. Развитию дрожжей способствует ряд факторов: наличие хорошо сбраживаемых сахаров, азотсодержащих соединений, низкое рН среды и относительно анаэробные условия, действующие подавлению конкурентных видов бактерий. Особенности таких видов дрожжей: психротропность (0 °С), осмофильность, способность адаптироваться к консервирующим веществам. В соках развиваются представители родов *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Candida*.

Развитие дрожжей отрицательно отражается на качестве напитков: уменьшается содержание сахара, частично он сбраживается в спирт. Продукты жизнедеятельности дрожжей ухудшают вкус напитков, а образующийся в результате брожения углекислый газ может вызвать разрыв бутылок.

В молочной промышленности дрожжи, инфицируя сливки, сметану, кисломолочные продукты, вызывают вспенивание и дрожжевой привкус, попадая в сыр, вызывают вспучивание и вкусовые дефекты (сладкий, фруктовый, дрожжевой привкус).

*Candida lipolitica* вызывает гидролиз маргарина, мыльный и дрожжевой вкус и запах. *Candida lactiscondensi* вызывает бомбаж и мыльный вкус и запах гущенного молока.

## МОДУЛЬ 4. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Молочнокислые бактерии, как правило, неподвижны, не образуют спор, положительно окрашиваются по Граму, не восстанавливают нитраты в нитриты, не образуют пигментов, обладают небольшой протеолитической активностью. Цитохромы и каталазу не образуют, но некоторые продуцируют пероксидазу, разлагающую  $H_2O_2$ .

### 4.1 Систематика молочнокислых бактерий

Молочнокислые бактерии делят на две большие группы – гомоферментативные и гетероферментативные. Гомоферментативные в результате брожения образуют, главным образом, молочную кислоту и лишь ничтожные количества других продуктов (летучих кислот, этилового спирта и углекислоты). Гетероферментативные, помимо молочной кислоты, образуют углекислый газ, уксусную кислоту и (или) этиловый спирт, используя на это до 50 % сбраживаемых гексоз.

### 4.2 Классификация молочнокислых бактерий

Все молочнокислые бактерии относят к родам *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactococcus* и *Pediococcus*.

#### 4.2.1 Род *Lactobacillus*

Род *Lactobacillus* объединяет палочковидные бактерии, форма которых весьма разнообразна – от коротких коккообразных до длинных нитевидных (рисунок 7). Род, в соответствии с предложением Орла-Йенсена (1919, 1943 гг.), подразделяется на три подрода: *Streptobacterium*, *Thermobacterium* и *Betabacterium*. Они различаются рядом признаков (таблица 10). Например, термобактерии, в противоположность стрепто- и бетабактериям, растут при 45 °С и не растут при 15 °С, колонии чаще шероховатые, клетки длинные, нитевидные. Бетабактерии в отличие от двух других подродов образуют газ на средах с углеводами. Среди представителей рода *Lactobacillus* есть гомо- и гетероферментативные виды (см. таблицу 10).

Широкое применение молочнокислых бактерий привело к более тщательному изучению их свойств, и современные методы исследований позволили накопить новые сведения и детализировать таксономические признаки (таблицы 11, 12, 13).

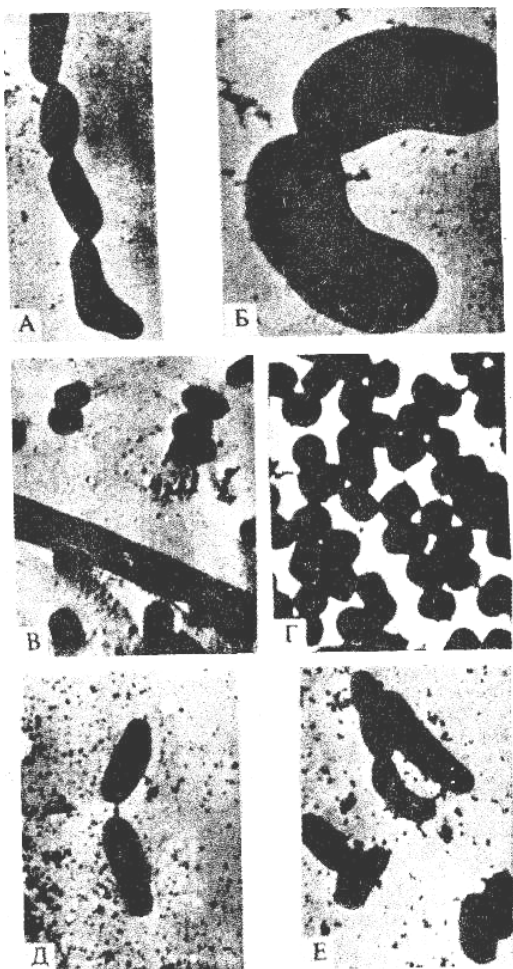


Рисунок 7 – Электронно-микроскопические фотографии клеток, выращенных в жидкой среде:

А – *Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis*  $\times 7500$ ;

Б – *Lactobacillus curvatus*  $\times 24\ 000$ ;

В – *Lactobacillus brevis*  $\times 7800$ ; Г – *Lactobacillus cellobiosus*  $\times 7800$ ;

Д, Е – *Lactobacillus coprophilus*  $\times 7800$

Таблица 10 – Классификация бактерий рода *Lactobacillus* (по Sharpe, 1979)

Но- мер при- знака	I Гомоферментативные		II Гетероферментативные	
1 <sup>a</sup>	–		+	
2	–		+	
3	+		–	
	<i>Thermo- bacterium</i>	<i>Strepto- bacterium</i>	<i>Betabacterium</i>	
4 <sup>a</sup>	+	b	Эти признаки различны у разных видов	
5 <sup>a</sup>	–	+		
6 <sup>a</sup>	–	+	+	
7 <sup>a</sup>	–	+	+	
			Все образуют DL-молочную кислоту из глюкозы	
			II а	II б
				Ацидофиль- ные, устойчи- вые к этанолу, не сбражива- ющие больш- шинство уг- леводо- в
	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. hilgardii</i>
	<i>L. helveticus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. cellobiosus</i>	<i>L. trihodes</i>
	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. xylosus</i>	<i>L. brevis</i>	<i>L. fructivorans</i>
	<i>L. lactis</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. buchneri</i>	<i>L. desidiosus</i>
	<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. coryniformis</i>	<i>L. viridescens</i>	<i>L. heterohiochii</i>
	<i>L. salivarius</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>L. confusus</i>	
	<i>L. jensenii</i>			
	анаэробы			
	<i>L. ruminis</i>	<i>L. yama- nashiensis</i>		
	<i>L. vitulinus</i>			
(–) – признак отрицателен; (+) – признак положителен; а – признак, который следует использовать на начальных этапах идентификации; б – признак варьирует; 1 – образование CO <sub>2</sub> из глюкозы; 2 – для роста нужен тиамин; 3 – имеется альдолаза; 4 – рост при 45 °С; 5 – рост при 15 °С; 6 – сбраживание рибозы; 7 – образование CO <sub>2</sub> из глюконата				

Таблица 11 – Виды лактобацилл группы I (*Thermobacterium* по Орла-Йенсену)

Вид	Подвид	Практическое использование
1. <i>L. delbrueckii</i>	<i>deibrueckii</i>	Хлеб из кислого теста
	<i>bulgaricus</i>	Производство йогурта и других кисломолочных напитков
	<i>lactis</i>	Производство сыров с высокой температурой второго нагревания (швейцарский, советский и др.)
2. <i>L. acidophilus</i>		Производство ацидофильных молочных продуктов для детского, диетического и лечебного питания (ацидофильное молоко, нарин, биолакт)
3. <i>L. amylophilum</i> *	-	-
4. <i>L. amylovorum</i>	-	-
5. <i>L. animalis</i>	-	-
6. <i>L. crispatis</i>	-	Пробиотический кисломолочный продукт «FysiQ» (Кампина, Нидерланды)
7. <i>L. farciminis</i> *	-	-
8. <i>L. gasseri</i>	-	-
9. <i>L. helveticus</i>		Производство сыров с высокой температурой второго нагревания (швейцарский, советский и др.)
10. <i>L. jensenii</i>	-	-
11. <i>L. ruminis</i>	-	-
12. <i>L. salivarius</i>	<i>salivarius</i>	-
	<i>salicinicus</i>	-
13. <i>L. sharpeae</i> *	-	-
14. <i>L. vitulinum</i>	-	-
15. <i>L. yamanashiensis</i> *		-

Все виды гомоферментативные, за исключением отмеченных звездочкой, термофильные (растут при 45 °С, но не при 15 °С). Виды *L. amylophilum*, *L. farciminis*, *L. sharpeae* и *L. yamanashiensis* растут при 15 °С, но не при 45 °С.

По степеням гомологии ДНК/ДНК выделяются 2 подгруппы, первая объединяет подвиды *L. delbrueckii* (*deibrueckii*, *bulgaricus* и *lactis*) с коэффициентом подобия свыше 80 %, а вторая – виды *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. crispatus* и *L. helveticus*.

Таблица 12 – Виды лактобацилл группы II (*Streptobacterium* по Орла-Йенсену)

Вид	Подвид	Практическое использование
1. <i>L. agilis</i>	-	-
2. <i>L. alimentaris</i>	-	-
3. <i>L. bavaricus</i>	-	-
4. <i>L. casei</i>	<i>casei</i>	Сыры с низкой температурой второго нагревания, кисломолочные напитки
	<i>pseudoplantarum</i>	
	<i>rhamnosus</i>	Пробиотические кисломолочные продукты
	<i>tolerans</i>	-
5. <i>L. coryniformis</i>	<i>coryniformis</i>	-
	<i>torquens</i>	-
6. <i>L. curvatus</i>	-	-
7. <i>L. homohiochii</i>	-	-
8. <i>L. maltaromicus</i>	-	-
9. <i>L. murinus</i>	-	-
10. <i>L. plantarum</i>		Сыры, хлеб из кислого теста, ферментированные оливы, квашеная капуста, ферментированные растительные соки
11. <i>L. sake</i>	-	Ферментированные растительные соки

В зависимости от условий культивирования осуществляют брожение по гомоферментативному или по гетероферментативному пути.

Почти все виды являются мезофилами (растут при 15 °С и не растут при 45 °С). Исключение представляют вид *L. agilis* и подвид *L. casei subsp. rhamnosus* (не растут при 15 °С, но способны расти при 45 °С).

В отличие от термобактерий ферментируют рибозу и образуют CO<sub>2</sub> из глюконата.

Клетки мельче, чем у термобактерий, часто располагаются в виде почек. Наличие цепочек характерно для отдельных видов лактобацилл, интенсивность образования цепочек зависит от фазы роста и pH среды.

*L. bavaricus*, *L. curvatus* и *L. sake* образуют родственную группу с коэффициентом ДНК/ДНК-гомологии 50 %.

Внутри вида *L. casei* подвиды *casei*, *pseudopantarum* и *tolerans* образуют группу с коэффициентом ДНК/ДНК гомологии 80...100 %.

Штаммы вида *L. plantarum* распадаются на 2 группы – большинство проявляют ДНК/ДНК гомологию на уровне 80...100 %, а примерно четвертая часть штаммов – только на уровне 30...70 %.

Таблица 13 – Виды лактобацилл группы III (*Streptobacterium* по Орла-Йенсену)

Вид	Подвид	Практическое использование
1. <i>L. bifementas</i>	-	-
2. <i>L. brevis</i>	-	Хлеб из кислого теста, квашеные овощи (пикули), ферментированные растительные соки
3. <i>L. buchneri</i>	-	-
4. <i>L. colinoides</i>	-	-
5. <i>L. confusus</i>	-	-
6. <i>L. divergens</i>	-	-
7. <i>L. fermentum</i>	-	Некоторые виды сыров с высокой температурой второго нагревания
8. <i>L. fructivorans</i>	-	-
9. <i>L. fructosus</i>	-	-
10. <i>L. halotolerans</i>	-	-
11. <i>L. hilgardii</i>	-	-
12. <i>L. kandleri</i>	-	-
13. <i>L. kefir</i>	-	-
14. <i>L. minor</i>	-	-
15. <i>L. reuteri</i>	-	Пробиотические препараты и кисломолочные продукты
16. <i>L. sanfrancisco</i>	-	Хлеб из кислого теста
17. <i>L. vacci-nostersus</i>	-	-
18. <i>L. viridescens</i>	-	-

Всегда сбраживают углеводы по гетероферментативному пути. *L. bifementas* сбраживает глюкозу гомоферментативно до *L-лактата*, который при определенном pH может далее распадаться до ацетата, CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>. Все, за исключением *L. fermentum*, *L. reuteri* и *L. confusus*, являются мезофилами и пробиотиками. Все сбраживают глюкозу с образованием смеси DL-изомеров лактата.

Слабая ДНК/ДНК-гомология по отношению друг к другу.

Ряд видов отличаются от большинства лактобактерий по типу пептидогликана, составляющего каркас клеточной стенки. Из всех лактобацилл бетабактерии имеют наиболее мелкие и тонкие клетки.

#### 4.2.2 Род *Leuconostoc*

В таблицах 14 и 15 отражены основные таксономические признаки лейконостоков.

Таблица 14 – Лейконостоки (род *Leuconostoc*)

Вид	Подвид	Синоним
<i>L. mesenteroides</i> (в молочной промышленности)	<i>dextranicum</i>	-
	<i>cremoris</i>	-
	<i>mesenteroides</i>	<i>S. citrovorus</i>
<i>L. lactis</i>	-	-
<i>L. amelibiosum</i>	-	-
<i>L. carnosum</i>	-	-
<i>L. citreum</i>	-	-
<i>L. gelidum</i> (в сахарной промышленности)	-	-
<i>L. oenos</i> (в винной промышленности)	-	<i>L. gracile</i>
<i>L. paramesenteroides</i>	-	-
<i>L. pseudomesenteroides</i>	-	<i>S. paracitrovorus</i>

Таблица 15 – Дифференциация подвидов *Leuconostoc mesenteroides*

Признак		Подвид <i>L. mesenteroides</i>		
		<i>cremoris</i>	<i>dextranicum</i>	<i>mesenteroides</i>
Ферментация	L-арабинозы	-	-	+
	фруктозы	-	+	+
	мальтозы	±	+	+
	мелибиозы	±	+	+
	салицина	-	±	±
	сахарозы	-	-	+
	трегалозы	-	+	+
Образование декстрана из сахарозы			-	+
Гидролиз эскулина			-	±
Рост при 37 °С			-	+



Род *Leuconostoc* объединяет гетероферментативные кокковидные бактерии, которые бывают овальными или яйцевидными. Род включает виды *Leuc. cremoris*, *Leuc. dextranicum*, *Leuc. lactis*, *Leuc. mesenteroides*, *Leuc. oenos*. Лейконостоки по форме клеток иногда сложно отличить от гетероферментативных лактобацилл (бетабактерии). В таких случаях следует помнить, что их представители (не бетабактерии) часто сбраживают трегалозу, не образуют NH<sub>3</sub> из аргинина, продуцируют D(-)-молочную кислоту из глюкозы.

#### 4.2.3 Род *Pediococcus*

К роду *Pediococcus* относят гомоферментативные кокковидные бактерии. Деление их клеток идет в двух плоскостях, в результате чего часто образуются тетрады или гроздья. Род включает виды: *P. acidilactici*, *P. damnosus*, *P. dextranicum*, *P. halophilus* (таблица 16).

Таблица 16 – Свойства, дифференцирующие виды *Pediococcus* (d – замедленная реакция)

Свойства		<i>P. acidilactici</i>	<i>P. damnosus</i>	<i>P. dextranicum</i>	<i>P. halophilus</i>	<i>P. inopinatus</i>	<i>P. parvulus</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. urinaequi</i>
Рост при, °С	35	+	-	+	+	+	+	+	+
	40	+	-	+	-	-	-	+	+
	50	+	-	+	-	-	-	-	-
Рост при, рН	4,2	+	+	+	-	-	+	+	-
	7,5	+	+	+	+	d	+	+	+
	8,5	d	+	-	+	-	-	d	+
Рост с NaCl, %	4,0	+	-	+	d	+	+	+	+
	6,5	+	-	-	+	d	+	+	+
	18,0	-	-	-	+	-	-	-	-
Гидролиз аргинина		+	-	-	-	-	-	+	-
Кислота из декстрина		-	-	+	-	d	-	-	+
Кислота из крахмала		-	-	+	-	-	-	-	-

#### 4.2.4 Род *Streptococcus*

Род *Streptococcus* объединяет гомоферментативные бактерии, сферической или овальной формы, делящиеся в одной плоскости и располагающиеся парами или цепочками. Стрептококки разделяют на фекальные, молочные, стрептококки ротовой полости (оральные) и пиогенные (таблица 17).

Таблица 17 – Группы стрептококков

Фекальные (энтерококки)	Молочные	Оральные	Пиогенные
<i>S. avium</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>S. milleri</i>	<i>S. acidominimus</i>
<i>S. bovis</i> <i>S. durans</i>	<i>S. lactis</i> <i>S. lactis subsp. diacetylactis</i>	<i>S. mitior</i> <i>S. mutans</i>	<i>S. agalactiae</i> <i>S. anginosus</i>
<i>S. equinus</i>	<i>S. raffinolactis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. disgalactiae</i>
<i>S. faecalis</i> (с разновидностями <i>S. faecalis subsp. liquefaciens</i> и <i>S. faecalis subsp. zymogenes</i> )	<i>S. thermophilus</i>	<i>S. sangius</i>	<i>S. equi</i>
<i>S. faecium</i>			<i>S. equisimilis</i>
<i>S. faecium subsp. casseliflavus</i>			<i>S. pyogenes</i>
			<i>S. uberis</i>
			<i>S. zooepidemicus</i>

#### 4.2.5 Разные подходы к номенклатуре молочнокислых бактерий

В производственной технологической документации и в научной литературе, различающейся по времени издания, встречаются разные названия (синонимы) одних и тех же молочнокислых бактерий и их группировки (таблицы 18...23).

Таблица 18 – Лактококки (род *Lactococcus*)

Вид*	Подвид ( <i>subspecies</i> )	Биовариант ( <i>biovariant</i> )
<i>L. lactis</i>	<i>lactis</i> (молочный)	<i>Diacetylactis</i> (диацетильный)
	<i>cremoris</i> (сливочный)	-
	<i>hordniae</i>	-
<i>L. garviae</i>	-	-
<i>L. piscium</i>	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	-
<i>L. raffinolactis</i>	-	-
*Жирным шрифтом отмечены виды, используемые в молочной промышленности		

Таблица 19 – Кокковидные лактобактерии

Группа	Характеристика
Лактококки род <i>Lactococcus</i> (стрептококки серологической группы N)	Гомоферментативное сбраживание глюкозы с образованием L(+)-молочной кислоты. Не растут при 45 °С, в бульоне с 6,5%-ной соли или pH 9,6. Растут при 10 °С, в молоке с 0,3%-ной метиленовой сини. Клетки овальные, делятся в одной плоскости, образуя одиночные клетки, пары (диплококки) и цепочки клеток, $d < 2,0$ мкм
Лейкоиостоки род <i>Leuconostoc</i>	Гетероферментативное сбраживание глюкозы с образованием D(-)-молочной кислоты, уксусной кислоты, этанола и углекислого газа. Клетки овальные, делятся в одной плоскости, образуя одиночные клетки, пары (диплококки) и цепочки клеток. Аргинин не гидролизуют. Хорошо растут при добавлении дрожжевого экстракта
Педиококки род <i>Pediococcus</i>	Гомоферментативное сбраживание глюкозы с образованием L(+)-, D(-)- или DL-молочной кислоты. Клетки делятся в двух плоскостях, образуя тетрады. Клетки сферические (не овальные), одиночные клетки встречаются редко, цепочек не образуют, $d = 1,0 \dots 2,0$ мкм
Энтерококки род <i>Enterococcus</i> (стрептококки серологической группы D)	Гомоферментативное сбраживание глюкозы с образованием L(+)-молочной кислоты. Клетки делятся в одной плоскости, образуя пары и короткие цепочки. Растут при 10 и при 45 °С, в присутствии 6,5 % соли, при pH 9,6 и в молоке с 0,3%-ной метиленовой сини
Термофильный стрептококк <i>S. thermophilus</i>	Гомоферментативное сбраживание глюкозы с образованием L(+)-молочной кислоты. Клетки делятся в одной плоскости, образуя цепочки клеток. Растет при 45 °С; не растет при 10 °С, нет роста в бульоне с 2,0...3,0%-ной соли или pH 9,2 и в молоке с 0,3%-ной метиленовой сини

Таблица 20 – Синонимы названий лактококков, используемых в молочной промышленности

Новое название	Старое название
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Streptococcus lactis</i>
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i> ( <i>Streptococcus acetoinicus</i> )

Таблица 21 – Дифференциация молочного, сливочного и диацетильного подвидов *Lactococcus lactis*

Признак		Подвид <i>L. lactis</i>		
		<i>lactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>diacetylactis</i>
Температура роста, °С	оптимальная	30	25	30
	пределы	10...43	10...39	10...43
Устойчивость к 4,0 % соли	+	-	+	Устойчивость к 4,0%-ной соли
Устойчивость к рН 9,2	+	-	+	Устойчивость к рН 9,2
Сбраживание цитрата	-	-	+	Сбраживание цитрата
Предельная кислотность в молоке, °Т		110...120	110...115	70...80
Ферментация мальтозы		+	+	-
NH <sub>3</sub> из аргинина		+	-	+
Микроскопический мазок		диплококки	цепочки	диплококки
Характер сгустка		ровный, плотный, колющийся	ровный, плотный, сметанообразный	ровный, плотный, с пузырьками газа
Вкус и аромат сгустка		чистый, кисло-молочный	чистый, кисло-молочный	чистый, кисло-молочный с ароматом диацетила

Таблица 22 – Виды энтерококков (*p. Enterococcus*)

Вид	Биовариант
1	2
<i>E. avium</i>	-
<i>E. casseliflavus</i>	-
<i>E. cecorum</i>	-

Продолжение таблицы 22

1	2
<i>E. dispar</i>	-
<i>E. durans</i>	-
<i>E. faecalis</i>	<i>liquefaciens</i> (маммококк)
	<i>zymogenes</i>
<i>E. faecium</i>	<i>bovis</i>
<i>E. gallinarum</i>	
<i>E. hirae</i>	
<i>E. maloduratus</i>	
<i>E. mundtii</i>	
<i>E. pseudoavium</i>	
<i>E. raffinosus</i>	
<i>E. saccharolyticus</i>	
<i>E. seriolicida</i>	
<i>E. solitarius</i>	

Таблица 23 – Различия между лактококками, энтерококками и термофильным стрептококком

Признак		<i>L. lactis</i>	<i>L. cremoris</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>S. bovis</i>	<i>S. thermophilus</i>
Температура роста, °С	оптимальная	30	25	37	35	40...45
	пределы	10...43	10...39	10...35	22...45	20...53
NaCl, %	4,0	+	-	+	+	-
	6,5	-	-	+	-	-
рН	9,2	+	-	+	-	-
	9,6	-	-	+	-	-
Предельная кислотность		110...120	110...115	100...110	100...110	110...120

### 4.3 Распространение молочнокислых бактерий в природе

Молочнокислые бактерии – одна из широко распространенных в природе групп микроорганизмов – содержатся в филлосфере (на листь-

ях, цветах, стеблях растений, овощах и фруктах). Среда обитания молочнокислых бактерий – почва, где они в наибольшем количестве концентрируются в верхних горизонтах, аккумулируются они и в ризосфере дикорастущих и особенно культурных растений.

Обитают молочнокислые бактерии в желудочно-кишечном тракте человека и животных. В большом количестве они содержатся в толстом кишечнике. Особенно богат ими кишечник долгожителей (старше 90 лет).

В природе необходимые для своей жизнедеятельности питательные вещества молочнокислые бактерии находят у живых (выделениях корней и надземных органов) и отмерших растений; в продуктах метаболизма почвенных и ризосферных микроорганизмов; в пищеварительном тракте человека и животных, используя его выделения и обитающих в нем микроорганизмов. Необходимо подчеркнуть, что молочнокислые бактерии обитают почти во всех растительных и животных материалах, которые человек вовлекал в сферу своей хозяйственной деятельности и которые содержат достаточное количество сбраживаемых углеводов, продукты распада белков, витамины.

#### **4.4 Особенности метаболизма молочнокислых бактерий**

##### **4.4.1 Условия работы и питательные потребности**

Многие виды молочнокислых бактерий растут не только в анаэробных условиях, но и при доступе молекулярного кислорода. Однако в присутствии  $O_2$  у них не происходит переключения с брожения на аэробное дыхание и не изменяется способ синтеза АТФ (только путем субстратного фосфорилирования). Поэтому молочнокислые бактерии относят к категории аэротолерантных анаэробов.

Характерное свойство молочнокислых бактерий – высокая спиртоустойчивость: некоторые виды могут расти на средах с 15,0...18,0 % этилового спирта, а единичные – даже при 24,0 %. Способность расти в средах с низким значением рН также свойственна этим микроорганизмам: многие растут при рН от 5,5 до 8,8, некоторые при рН 2,9...3,2. Это дает им возможность преобладать в кислых субстратах. Границы температур, в которых возможна жизнедеятельность молочнокислых бактерий, довольно широки. Для многих видов оптимальная температура 30...40 °С, но имеются и термофилы, растущие при 50 °С и выше. Некоторые молочнокислые бактерии способны расти при сравнительно низкой температуре (до 3 °С).

По потребности в питательных веществах молочнокислые бактерии относятся к наиболее сложным микроорганизмам. Из соединений

углерода могут использовать незначительное количество веществ, служащих бактериям источником энергии (моно- и дисахариды, органические кислоты).

Молочнокислые бактерии, как правило, нуждаются в сложных органических соединениях азота. Они растут на средах с подобранными смесями аминокислот, ферментативными или кислотными гидролизатами белков – мяса, лактальбумина, казеина, различных сортов муки. Потребность в наборе и количестве отдельных аминокислот варьирует у различных видов. Большинству необходимы аргинин, цистеин, глутаминовая кислота, лейцин, фенилаланин, триптофан, тирозин, валин. Только некоторые молочнокислые бактерии (стрептококки) могут расти на средах, содержащих аммонийные соли в качестве единственных источников азота.

Большинству молочнокислых бактерий необходимы витамины (рибофлавин, тиамин, пантотеновая, никотиновая, фолиевая кислоты, пиридоксаль и др.). Этим в значительной мере объясняется влияние на рост бактерий добавок к средам различных растительных экстрактов (картофель, морковь, кукуруза и др.), дрожжевого автолизата и других витаминсодержащих соединений. Выраженная потребность отдельных штаммов молочнокислых бактерий в определенных витаминах и аминокислотах используется для определения этих соединений в разнообразных средах до восьми витаминов и до восемнадцати аминокислот.

Рост молочнокислых бактерий стимулируют и некоторые пептиды, пурины (аденин, гипоксантин, гуанин) и пиримидины (урацил, тимин и др.), жирные кислоты (уксусная, олеиновая), а также лимонная кислота (часто вводится в среды для выращивания бактерий).

#### **4.4.2 Сбраживание углеводов**

Гомоферментативные молочнокислые бактерии сбраживают глюкозу по фруктозобисфосфатному пути, или пути Эмбдена–Мейергофа–Парнаса (ЭМП) (рисунок 9), сходному со спиртовым. Пировуват, однако, не декарбоксилируется до ацетальдегида, как при спиртовом брожении, а используется непосредственно как акцептор электронов (водорода). Образование D(-)-молочной кислоты определяется наличием у молочнокислых бактерий D-лактатдегидрогеназы, L(+)-молочной кислоты – наличием L-лактатдегидрогеназы, а DL-молочной кислоты – синтезом двух лактатдегидрогеназ различной стереоспецифичности.

У гетероферментативных бактерий отсутствуют такие ферменты ЭМП-пути, как фруктозо-1,6-бис-фосфатальдолаза и триозофосфатизомераза.

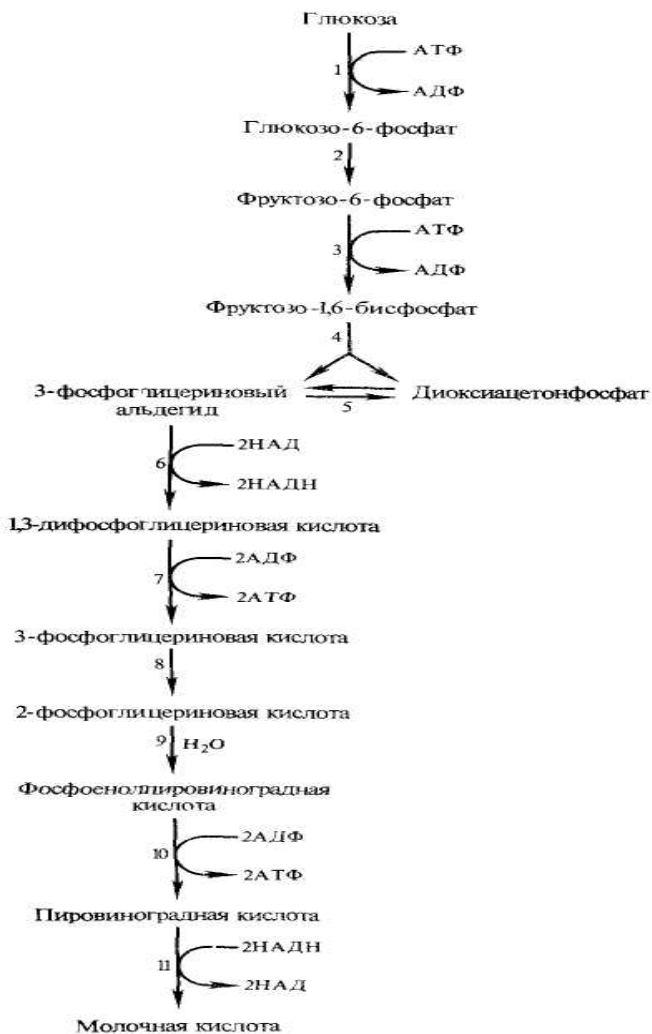


Рисунок 9 – Гомоферментативное молочнокислое брожение:  
 1 – гексокиназа; 2 – глюкозофосфатизомераза;  
 3 – фосфофруктокиназа; 4 – фруктозобисфосфатальдолоза;  
 5 – триозофосфатизомераза; 6 – дегидрогеназа 3-  
 фосфоглицеринового альдегида; 7 – 3-фосфоглицераткиназа; 8 – фос-  
 фоглицеромутаза;  
 9 – енолаза; 10 – пируваткиназа; 11 – лактатдегидрогеназа



Начальное превращение глюкозы идет по пентозофосфатному пути до образования рибулозо-5-фосфата. Под действием эпимеразы последний превращается в ксилулозо-5-фосфат, который в реакции, катализируемой пентозофосфаткетотазой, расщепляется на 3-фосфоглицериновый альдегид и ацетилфосфат. Дальнейшее превращение 3-фосфоглицеринового альдегида происходит, как при гомоферментативном молочнокислом брожении (рисунки 9, 10). Из ацетилфосфата у одних бактерий образуется ацетат (реакция сопровождается синтезом АТФ), у других – восстанавливается до этанола через промежуточное образование ацетил-КоА и ацетальдегида. При гомоферментативном брожении на один моль сброженной глюкозы образуется два моля АТФ, при гетероферментативном – один моль АТФ.

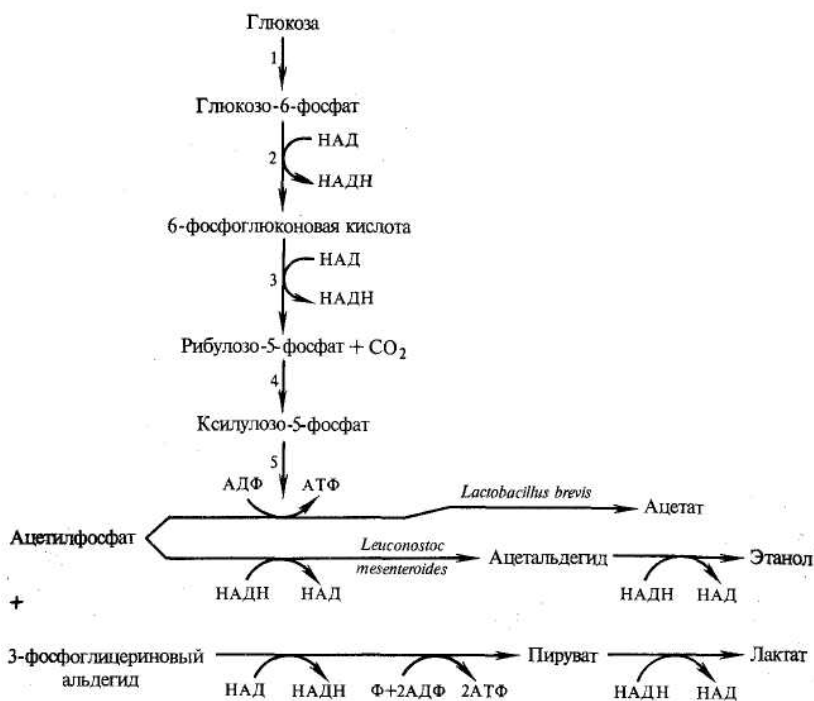


Рисунок 10 – Гетероферментативное молочнокислое брожение:

1 – гексокиназа; 2 – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа;

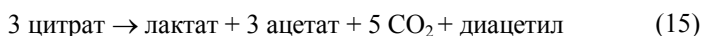
3 – 6-фосфоглюконат-дегидрогеназа;

4 – рибулозо-5-фосфат-эпимераза; 5 – фосфокетотаз

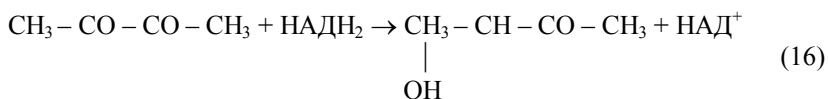
Кроме глюкозы, молочнокислые бактерии сбраживают и другие сахара. Так, многие гомо- и гетероферментативные виды (*L. plantarum*, *L. brevis* и др.) интенсивно используют пентозы, иногда даже активнее, чем глюкозу. Пентозы превращаются в D-ксилоулозо-6-фосфат, затем расщепляющийся при участии фосфокетолазы – ключевого фермента гетероферментативного брожения – на ацетилфосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид, дающие в итоге молочную и уксусную кислоты.

Гетероферментативные молочнокислые бактерии сбраживают фруктозу, поскольку у них имеется маннитдегидрогеназа, осуществляющая восстановление фруктозы до маннита. Продукты сбраживания фруктозы – лактат, ацетат, маннит и углекислый газ.

Суммарное стехиометрическое уравнение:



Гомоферментативные (*S. lactis subsp. diacetylactis* и др.) и гетероферментативные (*Leuc. dextranicum* и др.) молочнокислые бактерии сбраживают лимонную кислоту с образованием, помимо других продуктов, диацетила – ароматического вещества, обуславливающего характерный приятный запах сливочного масла. В реакции, катализируемой цитрат-лиазой – ключевым ферментом брожения цитрата, последний распадается на ацетат и оксалоацетат (см. рисунок 9). Ацетат выделяется во внешнюю среду, а оксалоацетат декарбоксилируется с образованием пирувата. Диацетил синтезируется в результате реакции ацетил-КоА с «активным ацетальдегидом» (комплекс фермент – оксипропионилтиаминпирофосфат). При восстановлении диацетила ацетоиндегидрогеназой образуется ацетоин по уравнению:



#### 4.4.3 Выделение и хранение

Сложные питательные потребности самих молочнокислых бактерий создают значительные трудности при их выделении и особенно количественном учете в различных природных и производственных субстратах. К тому же многие представители этой группы бактерий растут очень медленно и «заглушаются» сопутствующими микроорганизмами. Достаточно сложно и хранение чистых культур, так как они легко теряют свою активность и производственно ценные свойства.

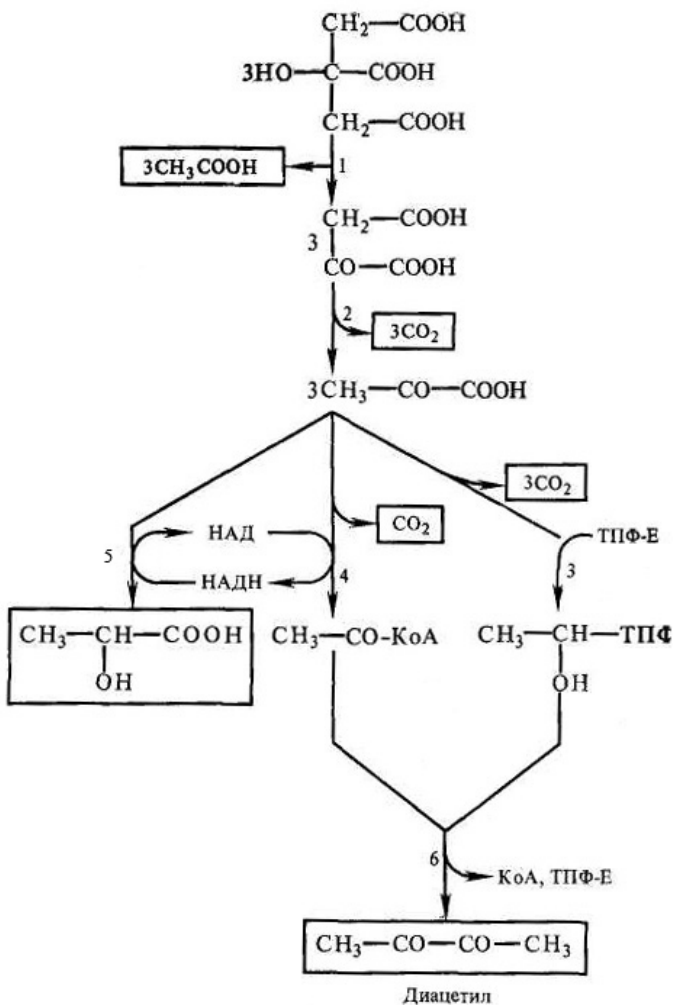


Рисунок 11 – Образование молочнокислыми бактериями диацетила из цитрата:

- 1 – цитрат-лиаза; 2 – оксалоацетатдекарбоксилаза; 3 – неофактеризованный фермент; 4 – пируватдегидрогеназный комплекс; 5 – лактатдегидрогеназа; 6 – диацетилсинтаза; ТПФ-Е – фермент, содержащий тиаминпирофосфат

Для выделения молочнокислых бактерий используют среды, обеспечивающие в должной мере их питательные потребности и угнетающие рост посторонних микроорганизмов. Последнее достигается применением различных веществ, например: азида натрия, ацетата таллия, сорбиновой и уксусной кислоты, этилового спирта, а также снижением pH среды. Выделение молочнокислых бактерий (особенно, когда они преобладающие в субстрате), учет и культивирование их успешно осуществляют, например, на среде МРС следующего состава (%): дрожжевой экстракт – 0,5; мясной экстракт – 1,0; пептон – 1,0; глюкоза – 2,0; лимоннокислый аммоний – 0,2; уксуснокислый натрий – 0,5; твин-80 – 0,1;  $K_2HPO_4$  – 0,2;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  – 0,02;  $MnSO_4 \times 4H_2O$  – 0,05; pH 6,2...6,6. Готовят среду МРС на гидролизованном молоке, разведенном в два раза дистиллированной водой. Применяют также среду МРС-1: на 1 л среды (в отличие от среды МРС) добавляют 0,2 г цистеина, 50 мл дрожжевого автолизата и 100 мл печеночного экстракта.

Молочнокислые бактерии можно выделять также на среде другого состава (%): растительный (капустный, морковный) отвар – 10; дрожжевой автолизат – 1,0; пептон – 1,0; глюкоза – 2,0; этиловый спирт – 8,0...16,0 (подавляет рост посторонних им микроорганизмов). Спирт следует вносить в засеянную испытуемым субстратом жидкую среду через 18...24 ч культивирования. Из жидкой среды производят высеивание на агаризованную среду того же состава, но без спирта, в которую добавляют 4,0 % измельченного мела. Молочнокислые бактерии, при росте на данной среде, образуют вокруг колоний зоны просветления, обусловленные превращением нерастворимого углекислого кальция в растворимый лактат кальция. Известны и многие другие среды.

Выделение некоторых молочнокислых бактерий следует проводить в атмосфере, содержащей 90,0 %  $H_2$  и 10,0 %  $CO_2$ .

Для длительного хранения молочнокислые бактерии замораживают при температуре жидкого азота; при посеве уколом в столбик, например, полужидкой среды МРС-1, содержащей до 0,25 % глюкозы или посева в другие среды (молоко с мелом и др.), а также на питательных средах того или иного состава, к которым добавляют 8,0...12,0 % этилового спирта.

## **МОДУЛЬ 5. ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ**

### **5.1 История использования**

Многие направления практического использования молочнокислых бактерий возникли в глубокой древности, когда человек стихийно начал применять их в повседневной жизни. Первые научные исследования этих микроорганизмов были проведены Л. Пастером; результаты их опубликованы в 1857 г. С тех пор молочнокислые бактерии постоянно привлекают к себе внимание исследователей. На основе их использования создаются и развиваются крупные отрасли народного хозяйства. Успешно разрабатываются также способы борьбы с теми молочнокислыми бактериями, которые наносят урон пищевой и бродильной промышленности.

### **5.2 Молочная промышленность**

Свежее молоко при обычных условиях получения содержит микроорганизмы (несколько тысяч в 1 мл), источником которых могут быть вымя, кожа животных, посуда и аппаратура, воздух и обслуживающий персонал. При плохих санитарных условиях количество бактерий в молоке может достигать сотен тысяч и миллионов в 1 мл.

В молоке, полученном при соблюдении санитарных правил, преобладают микрококки и небольшое количество энтерококков. Загрязненное молоко обсеменено энтеробактериями, молочнокислыми и гнилостными бактериями. Длительное хранение молока при температуре выше 10 °С ведет к смене развития в нем определенных групп микроорганизмов, которая очерчивается несколькими фазами.

Бактерицидная фаза характеризуется тем, что после дойки в молоке не отмечается размножение бактерий, благодаря действию таких веществ, как лактенин 1 и лактенин 2. Продлить эту фазу можно путем немедленного охлаждения молока после доения.

Фаза смешанной микрофлоры характеризуется развитием всех групп микроорганизмов, имеющих в молоке. К концу фазы молочнокислые бактерии преобладают над остальными микроорганизмами.

Фаза молочнокислых бактерий определяется преимущественным развитием данных микроорганизмов, вызывающих сквашивание молока. При его хранении молочнокислые стрептококки отмирают, а количество молочнокислых палочек постепенно увеличивается.

Фаза дрожжей и мицелиальных грибов наступает при развитии этих микроорганизмов в молоке, имеющем высокую кислотность.

Последняя постепенно снижается, благодаря жизнедеятельности грибов, что создает благоприятные условия для развития гнилостных микроорганизмов, разлагающих белки молока.

Для сохранения молока применяют тепловую обработку, включающую пастеризацию или стерилизацию. Пастеризацию проводят при различных режимах, например, при 63...65 °С в течение 30 минут, при 74...76 °С в течение 15...20 с и при 85...87 °С без выдержки. Эффективный способ повышения стойкости молока – стерилизация, обычно осуществляемая при 105...115 °С в течение около 30 минут.

Молочнокислородное брожение играет ведущую роль при получении многих кисломолочных продуктов, масла, сыра.

Для обеспечения активного брожения применяют жидкие или сухие закваски, в состав которых входят чистые культуры определенных видов молочнокислых бактерий. Подбирая компоненты заквасок, необходимо учитывать специфические свойства приготавливаемого продукта: характер взаимоотношения между компонентами заквасок; устойчивость молочнокислых бактерий к присутствующим в молоке естественным ингибиторам, обуславливающим его бактерицидность; устойчивость к антибиотикам и ряду дезинфицирующих веществ, находящихся в молоке.

Важно, чтобы молочнокислые бактерии заквасок были устойчивы к бактериофагам. Фаги стрептококков молочной группы широко распространены в сборном сыром молоке, пастеризованном молоке, сыворотке сырного чана, пахте. В производственных заквасках обнаружены фаги, активные в отношении лактобацилл (например, *L. helveticus*, *L. lactis*), используемых при приготовлении сыров, а также йогурта. Естественным источником бактериофагов являются почва и растения, а в молоко они попадают из кормов, с кожи и вымени животных и т.д. В производственных условиях инактивация фага достигается нагреванием молока при 90 °С не менее 30 минут. Чередование заквасок, включающих неродственные по фагочувствительности штаммы, – обоснованное мероприятие по борьбе с накоплением фага в производстве.

Приготовление кисломолочных изделий основывается на использовании специфических для каждого изделия заквасок. Так, например, при получении простокваши обыкновенной применяют *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis*. Эти виды, а также *Lactococcus lactis subsp. cremoris* вводят в закваски и для получения сметаны. Творог изготавливают с применением *L. lactis subsp. lactis*, *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis*; для ускоренного

получения продукта используют равные количества и термофильных *S. thermophilus* и мезофильных стрептококков; сквашивание ведут при 38...40 °С.

На использовании термофильных стрептококков и лактобацилл (*Lactobacillus dilbrueckii subsp. bulgaricus*) основано приготовление напитков «Южный», «Снежок», ряженки, варенца. Йогурт также изготавливают с применением этих бактерий.

Ацидофильное молоко и ацидофильную пасту получают сквашиванием пастеризованного молока *Lactobacillus acidophilus*. Ряд продуктов – кефир, кумыс, чал, курунга и др. – готовят с использованием многокомпонентных заквасок, в которые кроме молочнокислых бактерий вводят дрожжи, а часто и уксуснокислые бактерии. В кумысе выявляют обычно *L. dilbrueckii subsp. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Saccharomyces lactis*, *Sacch. cartilagenosus*, *Acetobacter aceti*.

Для производства кефира в качестве закваски используют «кефирные грибки», а также искусственные закваски. Считают, что тело грибка представляет собой переплетение нитевидных грамположительных бактерий; на поверхности грибка, в уплотненном слое, находятся дрожжи и молочнокислые стрептококки, а во внутреннем рыхлом ячеистом слое – уксуснокислые бактерии. В состав подобранных для кефира заквасок вводят молочнокислые бактерии, дрожжи и уксуснокислые бактерии; последние способствуют созданию густой консистенции закваски и кефира, а также специфического вкуса.

В закваски для приготовления кисломолочного масла вводят *L. lactis subsp. lactis*, *L. lactis subsp. cremoris* как кислотообразователи, а *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetilactis* как продуцент ароматических веществ (диацетила, ацетоина); последние иногда накапливаются до 10...30 мг/л молока. При получении масла поточным способом при 30 °С хорошие результаты дает применение закваски, состоящей из *L. dilbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus* и *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetilactis*, а также закваски, включающей *S. thermophilus* и *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetilactis*.

Созревание сыров происходит под воздействием сычужного фермента и протеаз молочнокислых бактерий, которые уже с момента прессования сырной массы являются основными среди микроорганизмов, входящих в сыры. Установлена ведущая роль молочнокислых бактерий в протеолитическом расщеплении белков в процессе созревания сыров. Они играют также некоторую роль в созревании сыра, расщепляя жир молока. Имеется прямая зависимость между степенью созревания сыра, его вкусом, ароматом и содержанием в нем свобод-

ных аминокислот, накапливаемых протеолитически активными молочнокислыми бактериями. Считают, что ведущая роль в образовании характерного вкуса и запаха сыра все же принадлежит продуктам превращения аминокислот. Лейцин и валин могут служить предшественниками 3-метилбутанола и 2-метилпропаноата – соединений, придающих специфический вкус сыру чеддер. Определенная роль в создании вкуса сыра принадлежит органическим (в том числе летучим) кислотам, образуемым молочнокислыми бактериями. Газообразующие штаммы последних (не только пропионовокислые бактерии) создают в некоторых сырах рисунок – глазки. Роль молочнокислых бактерий в сыре сводится и к подавлению развития нежелательных микроорганизмов (маслянокислых бактерий). Для сырных заквасок подбирают протеолитически активные штаммы молочнокислых бактерий, состав последних определяется технологией приготовления сыра.

### **5.3 Биологическое консервирование**

Применение молочнокислых бактерий в бродильных производствах было рассмотрено ранее.

Молочнокислое брожение используется человеком для консервирования различных растительных продуктов питания – квашения. Этот способ их хранения обладает рядом достоинств: в продукты, как правило, не вводятся химические консерванты и они не подвергаются большому термическому воздействию. Сохранение продукта достигается благодаря развитию в нем молочнокислых бактерий. Вещества, образующиеся в процессе их жизнедеятельности (особенно молочная кислота), оказывают подавляющее воздействие на микроорганизмы – потенциальные возбудители порчи (гнилостные, маслянокислые и др.). Квашенные овощи и фрукты приобретают приятные органолептические свойства и оказывают полезное воздействие на организм человека.

Молочнокислое брожение находит широкое применение и для биологического консервирования различных кормовых растительных материалов – силосования. В настоящее время в нашей стране оно приобрело крупные, по сути, промышленные масштабы.

Силосование – сложный микробиологический процесс. С растительной массой в силосохранилище попадает огромное количество разнообразных микроорганизмов. Во время силосования на отмерших растениях многие из них начинают бурно размножаться. Питательной средой для микроорганизмов при этом служат главным образом соки растений. Одна из основных задач техники силосования – создание



условий для жизнедеятельности молочнокислых бактерий и подавления вредных микроорганизмов.

После закладки растительной массы в силосные сооружения и плотной утрамбовки аэробные бактерии начинают быстро отмирать. Активно размножаются бактерии, способные к росту в анаэробных условиях, – представители энтеробактерий, *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* и *Lactobacillus*. В первые дни после закладки в силосе из группы молочнокислых бактерий доминируют кокки (педиококки, *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. faecalis subsp. liquefaciens*, *Leuc. mesenteroides*). Появляются в этот период и молочнокислые палочки – *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentii*, *L. plantarum*. Особо важную роль играют стрептококки; они способны конкурировать с грамотрицательными бактериями в начальный период силосования.

В период силосования от 8 до 15 сут доминирующие в начале брожения стрептококки вытесняются, увеличивается количество педиококков, лейконостоков и гомоферментативных, а позже гетероферментативных лактобацилл. В основной и конечной стадиях брожения силосов ведущую роль играют палочковидные молочнокислые бактерии (*L. brevis*, *L. plantarum*) и педиококки.

Постепенное уменьшение общего числа бактерий, начинающееся после 15 сут силосования, охватывает период приблизительно в 60 сут. Количество микроорганизмов за это время снижается до 1 млн в 1 г (в период 1...8 сут при 22...40 °С может достигать миллиарда).

Направленность микробиологических процессов в растительной массе, заложенной в силосные сооружения, определяется рядом факторов. В силосе с небольшим количеством сахара рост молочнокислых бактерий прекращается в более ранние сроки, чем в силосе с высоким содержанием сахара. Внесение дополнительных питательных веществ (мелассы, сахарной муки, муки и солода) в силосную массу, состоящую из малосахаристых растительных материалов, для направленного стимулирования развития этих микроорганизмов давно успешно используется в практике.

В последние годы большое внимание уделяется приготовлению сенажа. Биологическому консервированию в силосных сооружениях при этом подвергается измельченная растительная масса, предварительно подсушенная (подвяленная) чаще всего до 55,0...65,0%-ной влажности. Относительная сухость, создаваемая в сенаже, замедляет развитие молочнокислых бактерий, а также оказывает губительное влияние на рост нежелательных микроорганизмов.

Применение заквасок чистых культур молочнокислых бактерий особенно результативно при силосовании относительно трудносилилируемых растений.

Штаммы молочнокислых бактерий, селекционированные для силосования, размножают в производственных условиях, готовят из них высушенные препараты и вносят вместе с небольшим количеством воды в измельченную растительную массу в момент закладки ее в силосное сооружение.

Для силосования используют штаммы (*L. plantarum*, *L. casei*, *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* и др.), обладающие значительной ферментативной активностью. Хорошие результаты достигаются при использовании препаратов, в состав которых входит *S. faecium* совместно с лактобациллами. При кормлении животных силосом, приготовленным на этих бактериях, лучше подавляется рост вредных микроорганизмов в кишечном тракте, возрастают привесы.

За рубежом предложено несколько патентных препаратов, в состав которых, помимо молочнокислых бактерий, включены другие микроорганизмы и ферменты. Сообщается об эффективном использовании их при силосовании.

Квашение капусты осуществляется в присутствии поваренной соли. Ее добавляют к нарезанной капусте в количестве 1,5 %. Добавка соли позволяет извлечь сок из растительных тканей, подавить развитие нежелательных микроорганизмов и этим способствует жизнедеятельности молочнокислых бактерий.

В подготовленной для квашения капусте через несколько часов при самопроизвольном брожении развиваются энтеробактерии и другие виды, способствующие образованию ряда продуктов (муравьиной, уксусной кислот, небольшого количества молочной и янтарной кислот, этанола и газообразных соединений), придающих ей специфический запах. Вскоре начинают быстро размножаться молочнокислые гетероферментативные кокки (*Leuc. mesenteroides* и др.); они становятся преобладающими к концу 2–3-х суток брожения. Именно эти организмы считают ответственными за запах доброкачественного продукта. Кроме молочной кислоты, кокки образуют уксусную кислоту, этиловый спирт, эфиры, CO<sub>2</sub>, маннит; присутствие последнего придает капусте горьковатый привкус.

Через 4...6 сут брожения кокковые формы сменяются в основном гомоферментативными молочнокислыми палочками (*L. plantarum* и др.), которые накапливают до 1,5...2,0 % кислоты и доводят процесс молочнокислого брожения до конца. *L. plantarum* используют маннит и этим устраняют горький привкус капусты.

Применение заквасок молочнокислых бактерий при квашении капусты, так же как и при силосовании кормов, дает положительные результаты. При удачном подборе заквасок и правильном их применении улучшаются органолептические свойства капусты, при длительном хранении в ней лучше сохраняются питательные вещества и витамины. Закваску равномерно разбрызгивают по шинкованной капусте во время ее загрузки в емкости. Брожение проводят при 22...24 °С в течение 3–4 сут до накопления 0,6 % молочной кислоты, затем капусту герметизируют и хранят при низкой температуре (лучше – 4...1 °С).

Соление огурцов – один из наиболее широко распространенных приемов их консервирования. Отобранные овощи заливают рассолом (6,0...8,0 % поваренной соли, в зависимости от размеров огурцов) и добавляют различные специи. Залитые рассолом огурцы в бочках оставляют на специальных площадках для прохождения предварительной ферментации (как правило, при 20...25 °С на 24...48 сут). Ферментация считается законченной после накопления в рассоле 0,3...0,4 % молочной кислоты. После предварительного брожения бочки с огурцами хранят при низкой температуре в холодильниках, ледниковых буртах или в траншеях со льдом и т.д., где в течение 40...45 сут происходит дальнейшее накопление молочной кислоты (до 1,0 %). Кроме молочной кислоты, готовые соленые огурцы содержат уксусную кислоту и спирт, следы глицерина и маннита, небольшие количества ароматических веществ. Использование при засолке огурцов заквасок молочнокислых бактерий дает положительные результаты, но еще не широко применяют на практике.

Квашение яблок также основано на применении молочнокислого брожения. Яблоки в емкостях рекомендуется заливать рассолом, содержащим до 1,5 % поваренной соли, 3,0 % сахара, 1,0 % ячменного или ржаного солода (в виде солодового сусла), 0,25 % сухой горчицы. В благоприятных температурных условиях (12...19 °С) предварительная ферментация проходит в течение 8...10 сут, при этом в рассолах накапливается 0,3...0,4 % молочной кислоты. Затем яблоки помещают в погреб или холодильник, где молочнокислое брожение продолжается до образования 0,6...1,5 % молочной кислоты. Хорошие результаты дает использование в этом процессе молочнокислых бактерий *L. plantarum* и холодостойкой шампанской расы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Закваски добавляют в количестве 0,5 %. Соленые яблоки, приготовленные в производственных условиях с применением чистых культур микроорганизмов, имеют значительно лучшие показатели, чем засоленные без заквасок.

При засолке яблок, помидоров, свеклы, маслин и других овощей спонтанное молочнокислое брожение протекает с участием тех же видов микроорганизмов, о которых упоминалось выше при описании процессов заквашивания других растительных продуктов.

Молочнокислые бактерии развиваются при так называемом «моком» способе обработки кофе. Определенную роль они играют и в процессе замачивания зерна при производстве кукурузного крахмала. Молочнокислое брожение протекает также при получении кваса.

Процессы брожения играют важную роль при производстве таких продуктов питания, как корейское «кимчи», получаемого при сбраживании китайской капусты, редиса и других овощей; индийского «идли» – кислых лепешек из риса и неочищенного черного горошка, филиппинских «путо» – кислых рисовых лепешек, нигерийского «оги» – кислой каши из кукурузы, сорго или проса, «гари» – крапчатого крахмалистого продукта из корней маниока и других национальных пищевых продуктов.

#### **5.4 Мясная и рыбная промышленность**

Молочнокислые бактерии находятся в мясных продуктах, как прошедших термическую обработку, так и охлажденных. Посолочные ингредиенты, в частности поваренная соль, не подавляют рост тех из них, которые обладают устойчивостью к высокой концентрации соли (16,0...24,0 % NaCl).

Важна роль молочнокислых бактерий при приготовлении сырокопченых («ферментативных») колбас. Бактерии придают им специфический букет, резко подавляют рост гнилостных микроорганизмов, оказывают благоприятное влияние на консистенцию, связанность и цвет фарша. Количество молочнокислых бактерий возрастает во время созревания колбас. В хорошо высушенной колбасе содержатся почти исключительно лактобациллы. В свиных копченых мясных продуктах (бекон, окорок, грудинка, корейка) после посола также преобладают молочнокислые бактерии; большое число их обнаружено в заливочных рассолах, используемых для сокращенных и длительных посолов окороков.

Селекционированы штаммы педиококков, стрептококков и лактобацилл, применяемые как компоненты заквасок для сухих и сырокопченых колбас. Бактериальная закваска (*L. lactis subsp. lactis* и *L. plantarum*) рекомендована к применению при посоле окороков.

Молочнокислые бактерии играют роль в созревании посоленной рыбы. Сельдевые после посола в процессе хранения приобретают но-

вый букет и новые вкусовые качества, очевидно, благодаря развитию гетероферментативных ароматообразующих кокков.

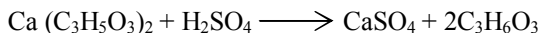
*Leuc. mesenteroides*, *L. plantarum*, *Pediococcus sp.* используют для приготовления национального блюда жителей Филиппин, включающего мясо, рыбу, а также рис. Микробиологические процессы в рыбных силосах (измельченная рыба, солодовая и зерновая мука) близки к процессам, протекающим в силосах из зеленых кормов.

## 5.5 Получение молочной кислоты

Молочная кислота широко применяется в ряде отраслей народного хозяйства и медицины. Преимущество микробиологического способа получения ее перед химическим состоит в возможности направленного синтеза определенного изомера кислоты, например, изомера L(+). Разделение смеси изомеров молочной кислоты, производимой на основе химического синтеза, технически сложно и существенно удорожает производство.

При производстве молочной кислоты применяют разные виды молочнокислых бактерий, что обусловлено составом сбраживаемого сырья. В России пищевую молочную кислоту получают с помощью *L. delbrueckii* на среде, составленной из нескольких компонентов: кормовая или рафинадная патока, солодовые ростки и фосфорнокислый аммоний. Процесс проходит при 49...50 °С. Для получения молочной кислоты с помощью *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* возможно использовать молочную сыворотку, а при применении *L. brevis* сырье, содержащее пентозы, – гидролизаты кукурузных кочерыжек, стеблей соломы и др.

Молочную кислоту в промышленных условиях получают методом анаэробной глубинной ферментации. Концентрация сахара в среде должна быть 5...20 %, температура 44...50 °С, pH 6,3...6,5. Во время ферментации pH среды поддерживают, добавляя мел. Через 6...7 сут культивирования в среде остается 0,5...0,1 % сахаров и 11...14 % лактата кальция. Из 100 г сахаров получают 80...90 г лактата. Осадок мела и коллоиды отделяют фильтрацией. Фильтрат упаривают до концентрации 27...30 %, затем охлаждают до 25...30 °С и выдерживают в кристаллизаторах 36...48 ч. Кристаллы лактата отделяют центрифугированием. Молочную кислоту из лактата получают при помощи серной кислоты. Реакция идет при 60...70 °С в соответствии с уравнением:



Для отделения ионов железа молочную кислоту (сырец) при температуре 65 °С обрабатывают желтой кровяной солью. Тяжелые металлы осаждают сульфатом натрия. Молочную кислоту обрабатывают активированным углем, фильтруют и фасуют. Конечный продукт – в виде жидкого концентрата молочной кислоты.

Молочную кислоту применяют для приготовления джемов, в которых она способствует хорошей консистенции. Молочная кислота как регулятор pH, улучшитель вкуса применяется в производстве многих сыров, квашении капусты, в сухом концентрате кваса. В хлебобулочном производстве молочная кислота и лактаты увеличивают объем мякиша и улучшают корку хлеба при использовании муки низкого качества. Способность лактатов удерживать влагу применяют в производстве колбас, сыров, детского питания. Молочную кислоту также используют для ускорения получения молочно-белкового сгустка при производстве творога.

## 5.6 Получение декстрана

Декстран (глюкан), образуемый в большом количестве *Leuc. mesenteroides*, применяются в пищевой промышленности в качестве стабилизатора при приготовлении сахарных сиропов, кондитерских изделий, мороженого и др. В медицинской практике используют препарат полиглюкан – средномолекулярную фракцию частично гидролизованного декстрана, растворенную в изотоническом растворе NaCl. Для получения декстрана применяют селекционированные штаммы *Leuc. mesenteroides*. Технологический процесс проводят при выращивании бактерий на очищенных средах с сахарозой. Найдены штаммы *L. Breviis* – активные продуценты D-глюкозоизомеразы.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

### Модуль 1. Основы получения продуктов Микробного синтеза

1. Какие требования предъявляют к промышленным штаммам микроорганизмов?
2. Какие группы микроорганизмов применяют на практике?
3. Охарактеризуйте дрожжи. В каких производствах они применяются?
4. Охарактеризуйте мицелиальные грибы. В каких производствах они применяются?
5. Охарактеризуйте бактерии. В каких производствах они применяются?
6. Охарактеризуйте актиномицеты. В каких производствах они применяются?
7. Перечислите соединения, синтезируемые микроорганизмами в промышленном масштабе.
8. Что такое первичные метаболиты?
9. Что такое вторичные метаболиты?
10. Перечислите основные стадии биотехнологических производств.
11. Охарактеризуйте стадию приготовления питательной среды.
12. Охарактеризуйте стадию получения посевного материала.
13. Охарактеризуйте стадию культивирования.
14. Охарактеризуйте стадии выделения и очистки целевого продукта.
15. Приведите принципиальную биотехнологическую схему производства продуктов микробиологического синтеза. Дайте пояснения.
16. Перечислите основные факторы, влияющие на жизнедеятельность микроорганизмов.
17. На какие группы делятся микроорганизмы, в зависимости от источника углерода или азота?
18. Какой процесс называют ассимиляцией, диссимиляцией?
19. Как классифицируют микроорганизмы в соответствии с диапазоном температур их роста? Приведите температурные интервалы для каждой группы.
20. Приведите температурные диапазоны для развития микроорганизмов, участвующих в процессах брожения, и сопутствующей микрофлоры.

21. Какой величиной выражают кислотность среды? В каких пределах она может изменяться?

22. На какие группы делятся микроорганизмы по отношению к реакции среды?

23. Какие промышленные микроорганизмы и сопутствующая микрофлора, участвующие в процессах брожения, являются ацидофильными? Нейтрофильными?

24. Какие организмы называют облигатными аэробами, микроаэрофилами, облигатными анаэробами? Дайте определение факультативных аэробов (анаэробов).

25. Как называют анаэробный тип метаболизма? Приведите примеры. Как называют аэробный тип метаболизма? Приведите примеры.

26. Какова максимальная концентрация водорода в среде, переносимая микроорганизмами? Какова концентрация насыщения воды кислородом? Какие негативные процессы протекают в клетке в случае превышения допустимой концентрации?

27. Какой показатель характеризует степень окисления и восстановления среды? В каких пределах он может изменяться?

28. Что такое окислительно-восстановительный потенциал? Как он связан со степенью окисления среды?

29. В каких пределах  $\text{pH}_2$  могут существовать и развиваться облигатные анаэробы, факультативно-аэробные формы, строгие аэробы?

30. Как определяется активность воды?

31. Охарактеризуйте мутуализм как тип взаимоотношений между микроорганизмами.

32. Охарактеризуйте синергизм как тип взаимоотношений между микроорганизмами.

33. Охарактеризуйте комменсализм как тип взаимоотношений между микроорганизмами.

34. Охарактеризуйте метабиоз как тип взаимоотношений между микроорганизмами.

35. Охарактеризуйте антагонизм как тип взаимоотношений между микроорганизмами.

36. Охарактеризуйте паразитизм как тип взаимоотношений между микроорганизмами.

37. Что такое производственная инфекция и каковы источники ее попадания на производство?

38. Какова роль воздуха в возникновении очагов инфекции на производстве? Перечислите требования к воде и воздуху производственных помещений.



39. Перечислите основные виды дезинфекции, применяемые на пищевых предприятиях.
40. Охарактеризуйте механические способы дезинфекции.
41. Охарактеризуйте физические способы дезинфекции.
42. Охарактеризуйте химические способы дезинфекции.

## **Модуль 2. Общая характеристика дрожжей**

43. Как характеризуются дрожжи, согласно классификации аскомицетовых (сумчатых) грибов?
44. Перечислите способы размножения дрожжей.
45. Как и в каких условиях происходит спорообразование у дрожжей?
46. Охарактеризуйте всевозможные формы клеток и их размеры. Дайте описание колоний *Saccharomyces cerevisiae*.
47. Каково строение клеточной стенки дрожжевой клетки?
48. Опишите строение цитоплазматической мембраны дрожжей.
49. Дайте характеристику цитоплазмы дрожжевой клетки.
50. Опишите строение митохондрий дрожжевой клетки.
51. Охарактеризуйте эндоплазматический ретикулум дрожжевой клетки.
52. Каково строение рибосом дрожжей?
53. Дайте описание строения и функций ядра клетки.
54. Охарактеризуйте строение и функции аппарата Гольджи дрожжевой клетки.
55. Что такое вакуоли и каковы их функции в клетке?
56. Дайте характеристику запасных клеточных веществ (волютина, гликогена).
57. Опишите процессы, происходящие при аэробном и анаэробном культивировании дрожжей.
58. Каким образом происходит питательное превращение углеводов в клетке?
59. Перечислите углеводы, которые способны метаболизировать дрожжи рода *Saccharomyces*. Каково отношение данного рода к нитратам?
60. Какие дрожжи относят к расам низового брожения? При какой температуре они функционируют в производстве?
61. Какие дрожжи относят к расам верхового брожения? При какой температуре они функционируют в производстве?
62. Как подразделяются дрожжи по характеру поведения в бродильной среде? Дайте их описания.

### Модуль 3. Промышленное использование дрожжей

63. Какие продукты питания получают с помощью брожения? Перечислите используемые при этом микроорганизмы.
64. Перечислите продукты микробного синтеза, получаемые с помощью процессов брожения, назовите продуценты.
65. Перечислите и охарактеризуйте виды сырья, используемые для производства пищевого и технического спирта.
66. Перечислите и охарактеризуйте стадии производства спирта.
67. Каким требованиям должны отвечать спиртовые дрожжи, используемые при сбраживании крахмалистого сырья? Охарактеризуйте производственную расу *Saccaromyces cerevisiae* XII.
68. Каким требованиям должны отвечать спиртовые дрожжи, используемые при сбраживании крахмалистого сырья? Охарактеризуйте дрожжи рас Я и В *Saccaromyces cerevisiae*.
69. Опишите производство технического спирта из растительных гидролизатов. Какие дрожжи используют в этих производствах?
70. Охарактеризуйте технический спирт, получаемый из сульфитных шелоков. Какие расы дрожжей для этого используют?
71. Что является сырьем для производства красного и белого вина?
72. Охарактеризуйте процесс приготовления вина.
73. Что такое вторичное виноделие? Опишите процесс производства шампанского.
74. Что такое пиво и какие стадии включает процесс его производства?
75. Перечислите технологические характеристики пивных дрожжей. Какие расы дрожжей используют в пивоварении?
76. Охарактеризуйте два типа брожения в пивоварении.
77. Какие микроорганизмы играют роль в брожении теста? Каковы для них благоприятные условия и питательные вещества в тесте?
78. К какому виду относятся хлебопекарные дрожжи? Назовите отличительные особенности хлебопекарных дрожжей по сравнению с используемыми в бродильной промышленности.
79. Опишите стадии производства хлебопекарных дрожжей.
80. Перечислите требования, предъявляемые к хлебопекарным дрожжам.
81. Опишите технологию получения жидких заквасок для хлебопекарной промышленности.
82. Какой напиток называется хлебным квасом и как его производят?

83. Какие микроорганизмы используются для производства хлебного кваса?

84. Какие вещества образуются в процессе брожения при производстве хлебного кваса?

85. Какие роды дрожжей присутствуют в свежесывороточном молоке?

86. Для производства каких кисломолочных напитков используют дрожжи? Перечислите виды дрожжей.

87. Перечислите преимущества дрожжевого белка.

88. Опишите технологию выделения и очистки дрожжевого белка.

89. Опишите технологию культивирования дрожжей на углеводородах нефти.

90. Охарактеризуйте особенности выращивания дрожжей при использовании в качестве источника углерода молочной сыворотки, низших спиртов и гидролизатов растительного сырья.

91. Охарактеризуйте наиболее часто встречающиеся виды молочнокислых бактерий – вредителей бродильных производств.

92. Конкретизируйте вредное влияние отдельных видов молочнокислых микроорганизмов на бродильные производства.

93. Дайте характеристику уксуснокислых бактерий. Какой вред они причиняют бродильным производствам и как их обнаруживают?

94. Дайте характеристику маслянокислых бактерий. Какой вред они причиняют бродильным производствам и как их обнаруживают?

95. Дайте характеристику метаболизма гнилостных бактерий.

96. Дайте характеристику гнилостных факультативных анаэробов. Какой вред они причиняют бродильным производствам?

97. Дайте характеристику гнилостных аэробов. Какой вред они причиняют бродильным производствам?

98. В чем заключается вредное влияние штаммов диких дрожжей и как они попадают на производство?

99. Какие виды дрожжей вызывают порчу хлебопекарных изделий и как она проявляется?

100. Какой вред сахарному производству наносят некоторые виды дрожжей?

101. Перечислите основных возбудителей порчи плодово-ягодных соков и безалкогольных напитков. Опишите вред, причиняемый ими.

102. Какой вред наносят дрожжи молочной и маргариновой промышленности?

#### **Модуль 4. Общая характеристика Молочнокислых бактерий**

103. Дайте общую характеристику молочнокислых бактерий. На какие две группы они делятся, в чем различие между ними?
104. Дайте характеристику роду *Lactobacillus*: виды, признаки.
105. Дайте характеристику роду *Leuconostoc*: виды, признаки.
106. Дайте характеристику роду *Pediococcus*: виды, признаки.
107. Дайте характеристику роду *Streptococcus*: виды, признаки.
108. В каких субстратах распространены молочнокислые микроорганизмы?
109. Охарактеризуйте молочнокислые бактерии по отношению к молекулярному кислороду, к содержанию этилового спирта в среде.
110. Дайте характеристику питательных потребностей молочнокислых бактерий.
111. Какой путь метаболизма глюкозы характерен для гомоферментативных форм молочнокислых бактерий? Приведите схему.
112. Какой путь метаболизма глюкозы характерен для гетероферментативных форм молочнокислых бактерий? Приведите схему.
113. Какие сахара способны сбраживать молочнокислые микроорганизмы?
114. Как образуется диацетил молочнокислыми микроорганизмами?
115. Охарактеризуйте среды, используемые для хранения молочнокислых бактерий.

#### **Модуль 5. Промышленное использование молочнокислых бактерий**

116. Как изменяется микрофлора сырого молока?
117. Дайте характеристику заквасок, применяемых в молочной промышленности.
118. Какие микроорганизмы используют для приготовления кисломолочных продуктов: напитков, масла, сыров?
119. Охарактеризуйте роль молочнокислых бактерий в производстве хлебопродуктов.
120. Какую роль играют молочнокислые бактерии при силосовании кормов?
121. Как молочнокислые микроорганизмы используются для биологического консервирования?

122. Охарактеризуйте роль молочнокислых бактерий при производстве хлебного кваса.

123. Как используют молочнокислые бактерии при производстве этилового спирта?

124. Как используют молочнокислые бактерии в мясной и рыбной промышленности?

125. Каким образом производят молочную кислоту?

126. Какие микроорганизмы используют для получения декстрана? Где он применяется?

## ТЕСТЫ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Каким требованиям должен отвечать промышленный штамм?

- а) размер клеток должен быть менее 5 мкм;
- б) желательнее, чтобы он был термофильным, ацидофильным (алкалофильным);
- в) клетки микроорганизмов должны быть неподвижны;
- г) должны расти на дешевых субстратах;
- д) быть устойчивы к фаговым и другим типам инфекций;
- е) расти только на пищевом сырье.

2. Установить соответствие:

Микроорганизм	Промышленное использование
1. Аскомицеты <i>Saccharomyces lipolytica</i> 2. Дейтеромицеты <i>Trichosporon citaneum</i> 3. Мицелиальные грибы 4. Бактерии родов <i>Acetobacter</i> , <i>Gluconacetobacter</i> 5. Бактерии рода <i>Bacillus</i> 6. Бактерии рода <i>Corynebacterium</i> 7. Актиномицеты 8. Бактерии родов <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i>	А. Для производства антибиотиков Б. Деградируют углеводороды, используются для получения белковой массы В. Для производства аминокислот Г. Для производства вредных для насекомых токсинов Д. Для получения уксуса Е. Для производства молочных продуктов Ж. Для получения органических кислот З. Вызывают гидролиз в твердых средах (рисовый крахмал, соевые бобы)

3. Какие группы микроорганизмов применяются в промышленных производствах?

- а) вирусы;
- б) дрожжи;
- в) фаги;

- г) мицелиальные грибы;
- д) бактерии;
- е) простейшие;
- ж) актиномицеты.

4. Первичные метаболиты – это:

- а) низкомолекулярные соединения, отвечающие за синтез АТФ в клетке;
- б) высокомолекулярные вещества, относящиеся к запасным веществам клетки;
- в) низкомолекулярные соединения, необходимые для роста микроорганизмов;
- г) вещества, выделяемые микроорганизмами во внешнюю среду.

5. Вторичные метаболиты – это:

- а) низкомолекулярные соединения, не требующиеся для роста в чистой культуре;
- б) вещества, синтезируемые микроорганизмами в период логарифмической фазы роста;
- в) ферментные компоненты клетки;
- г) вещества, отвечающие за фиксацию углекислого газа в клетках микроорганизмов.

6. Установить соответствие:

1. Первичные метаболиты	А. Гормоны роста
2. Вторичные метаболиты	Б. Органические кислоты
	В. Аминокислоты
	Г. Алкалоиды
	Д. АТФ
	Е. Витамины
	Ж. Токсины
	З. Антибиотики

7. Указать порядок стадий биотехнологических процессов:

- а) культивирование микроорганизмов;
- б) очистка целевого продукта;
- в) приготовление питательной среды;

- г) выделение целевого продукта;
- д) подготовка посевного материала.

8. Установить соответствие между элементами питательных сред и их функциями:

Элемент среды	Функция
1. С, N	А. Для синтеза ферментов
2. Р	Б. Для синтеза ДНК и АТФ
3. Микроэлементы	В. Для повышения проницаемости клеточной мембраны Г. Для биосинтеза белка

9. Установить последовательность стадий получения инокулята:

- а) выращивание микроорганизмов в большом инокуляторе;
- б) выращивание микроорганизмов в малом инокуляторе;
- в) пробирка;
- г) получение культуры в микробиологической лаборатории.

10. Культивирование (ферментация) представляет собой:

- а) получение посевного материала с целью дальнейшего использования;
- б) извлечение ферментов, выделяемых микроорганизмами из питательной среды;
- в) последовательность операций от внесения инокулята в подготовленную питательную среду до завершения процессов биосинтеза вследствие исчерпания питательных веществ;
- г) последовательность технологических операций от приготовления питательной среды, засева ее инокулятом до выделения и очистки готового продукта;
- д) получение чистой культуры микроорганизмов.

11. Процесс дезинтеграции проводят:

- а) для диспергирования биомассы в культуральной жидкости;
- б) для извлечения целевого продукта из клеток;
- в) для разделения смеси на биомассу и фильтрват;
- г) для очистки целевого продукта.



12. Автотрофы – это:

- а) организмы, которые для углеродного питания используют неорганические вещества;
- б) организмы, которые для углеродного питания используют только углекислый газ;
- в) организмы, которые для углеродного питания используют органические вещества;
- г) организмы, способные переключаться с органических источников углерода на неорганические.

13. Гетеротрофы – это:

- а) организмы, которые для углеродного питания используют неорганические вещества;
- б) организмы, получающие энергию за счет окислительно-восстановительных реакций;
- в) организмы, способные переключаться с органических источников углерода на неорганические;
- г) организмы, которые для углеродного питания используют органические вещества.

14. Установить соответствие:

1. Ассимиляция 2. Диссимиляция	А. Разрушение веществ и запасание энергии Б. Образование комплексных соединений в клетке В. Процесс переноса электронов в окислительно-восстановительных реакциях в клетке Г. Синтез клеточных компонентов
-----------------------------------	---

15. Установить соответствие:

Группа микроорганизмов	Оптимальная температура, °С
1. Термофилы	А. 25...30
2. Мезофилы	Б. 30...45
3. Психрофилы облигатные	В. 15...18
4. Психрофилы факультативные	Г. 55...75

16. Установить соответствие:

Вид микроорганизмов	Оптимальная температура развития, °С
1. Плесневые грибы	А. 35...37
2. Дрожжи	Б. 20...30
3. Уксуснокислые бактерии	В. 30...35
4. Термофильные лактобациллы	Г. 40...50
5. Мезофильные молочнокислые бактерии (лейконостоки)	Д. 30...34
6. Кишечная палочка	Е. 18...25
7. Споровые аэробы (гнилостные)	Ж. 20...35
8. Маслянокислые	
9. Псевдомонады	

17. Установить соответствие:

Группа микроорганизмов	Условия развития
1. Ацидофильные	А. Лучше растут при рН = 9,0
2. Нейтрофильные	Б. Лучше растут в кислых средах
3. Алкалофильные	В. Предпочитают среды с рН = 7,0

18. Установить соответствие:

Характеристика условий среды	Вид микроорганизмов
1. Ацидофильные	А. Протей
2. Нейтрофильные	Б. Плесени
	В. Мезофильные молочнокислые бактерии
	Г. Кишечная палочка
	Д. Маслянокислые бактерии
	Е. Уксуснокислые бактерии
	Ж. Дрожжи
	З. Споровые аэробы (гнилостные)
	И. Термофильные лактобациллы

19. Установить соответствие:

Группа микроорганизмов	Способ получения энергии
1. Obligатные аэробы 2. Obligатные анаэробы 3. Микроаэрофилы 4. Факультативные анаэробы	А. За счет окисления веществ кислородом воздуха Б. За счет сопряженного окисления-восстановления веществ субстрата без доступа кислорода В. Способны развиваться как в присутствии, так и в отсутствии кислорода Г. Не способны расти на воздухе, но могут развиваться при концентрации кислорода около 2 %

20. Символом  $\text{pH}_2$  обозначают:

- а) кислотность среды;
- б) степень доступности воды для микроорганизмов;
- в) степень окисления и восстановления среды;
- г) количество водорода, необходимое микроорганизму для утилизации 1 моль субстрата;
- д) переносчик протонов водорода в клетке микроорганизмов.

21. Активность воды – это:

- а) количество молекул воды, вступающих в химические реакции в клетках микроорганизмов;
- б) давление воды на внутреннюю поверхность клеточной стенки микроорганизма;
- в) отношение давления пара над раствором к давлению пара над чистой водой;
- г) общее количество воды в субстрате.

22. Установить соответствие:

Вид взаимоотношений микроорганизмов	Характеристика взаимоотношений
1. Мутуализм 2. Синергизм 3. Комменсализм	А. Один партнер подготавливает благоприятные условия для развития другого

<p>4. Метабиоз 5. Антагонизм 6. Паразитизм</p>	<p>Б. Совместная культура партнеров проявляет более высокую физиолого-биохимическую активность, чем каждый из партнеров в отдельности В. Один партнер использует ресурсы второго, зачастую приводя его к гибели Г. Взаимовыгодный симбиоз, когда оба партнера выигрывают от ассоциации Д. Один партнер активно подавляет другого Е. Один из партнеров питается продуктами обмена другого, не принося ему никакой пользы</p>
--	---

23. Клетки дрожжей могут быть следующей формы:

- а) круглой;
- б) многогранной;
- в) яйцевидной;
- г) эллипсоидной;
- д) булавовидной;
- е) овальной;
- ж) вытянутой.

24. Колонии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* характеризуются следующими параметрами:

- а) красные с металлическим блеском, с гладкой поверхностью и ризоидным краем, с зонами просветления вокруг колоний на питательной среде с мелом;
- б) пастообразные, коричнево-кремовые с черным центром, с блестящими секторами, всегда образуют псевдомицелий;
- в) желтые или белые с пузырчатой поверхностью, с гладким краем, никогда не образуют псевдомицелий;
- г) пастообразные, кремовые или коричневато-кремовые, с ровной, гладкой, иногда пузырчатой поверхностью, с блестящими или тусклыми секторами, край цельный, иногда лопастный, изредка образуется примитивный псевдомицелий.

25. Установить соответствие:

Органоид клетки	Строение
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Клеточная стенка</li> <li>2. Цитоплазматическая мембрана</li> <li>3. Цитоплазма</li> <li>4. Митохондрии</li> <li>5. Эндоплазматический ретикулум</li> <li>6. Рибосомы</li> <li>7. Ядро</li> <li>8. Аппарат Гольджи</li> <li>9. Вакуоли</li> <li>10. Воллютин</li> </ol>	<p>А. Производные аппарата Гольджи, полости, наполненные клеточным соком</p> <p>Б. Имеют форму зернышек, палочек, нитей, мембрана их состоит из белков и липидов, в состав входят полифосфаты, РНК, ДНК</p> <p>В. Шаровидное или овальное тело, в состав входит ДНК, ее протеид, большое количество РНК</p> <p>Г. Скапливается в вакуолях в виде коллоидного раствора или гранул, состоящих из полифосфатов с ионами кальция и магния</p> <p>Д. Наружная часть образована полисахаридами (маннан и хитин), внутренняя – белками, фосфолипидами, липидами</p> <p>Е. Имеет гетерогенную структуру и вязкую консистенцию</p> <p>Ж. Состоит из бимолекулярного слоя липидов, в который включены белковые молекулы</p> <p>З. Мембранное образование, морфологически связанное с эндоплазматической сетью и нуклеоммой</p> <p>И. Система каналов, пузырьков, цистерн, связанная с цитоплазматической мембраной и ядерной стенкой</p> <p>К. Включения в виде субмикроскопических зернышек, состоящих из липидов, белков и РНК</p>

26. Установить соответствие:

Органоид клетки	Функция
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Клеточная стенка</li> <li>2. Цитоплазма</li> <li>3. Цитоплазматическая мембрана</li> </ol>	<p>А. Барьер, определяющий осмотическое давление в клетке, обеспечивает избирательное движение питательных веществ и метаболитов</p>

<p>4. Митохондрии 5. Эндоплазматический ретикулум 6. Рибосомы 7. Ядро 8. Аппарат Гольджи 9. Вакуоли 10. Волютин</p>	<p>Б. Обеспечивает синтез белков В. Обеспечивает среду для протекания ферментативных процессов в клетке Г. Источник фосфора и аккумулятор энергии Д. Регулирует состояние клеточного содержимого, форму клетки, имеет избирательную проницаемость Е. Обеспечивает транспорт различных веществ по клетке Ж. Изолируют продукты распада и аккумулируют гетерогенные токсические вещества З. Отвечает за хранение и передачу наследственной информации И. Отвечает за осуществление в клетке цикла трикарбоновых кислот и окислительное фосфорилирование с запасанием энергии в виде молекул АТФ К. Служит местом локализации ферментов, катализирующих разрушение биополимеров, и образования лизосом</p>
---	---

27. Тургором называют:

- а) давление воды внутри клетки, плотно прижимающее цитоплазму к клеточной стенке;
- б) состояние клетки, при котором все жизненные процессы в ней замедляются или прекращаются совсем;
- в) совокупность всех процессов протекающих в клетке;
- г) комплекс ферментов дрожжевой клетки;
- д) процесс деления клетки.

28. В анаэробных условиях основными конечными продуктами конверсии глюкозы клетками дрожжей являются:

- а) углекислый газ, аммиак, пируват, прирост биомассы;
- б) углекислый газ, лактат, этиловый спирт, вода;
- в) углекислый газ, этиловый спирт, вода;

- г) глицерин, уксусная кислота, этиловый спирт;
- д) этиловый спирт, бутиловый спирт, ацетон.

29. В аэробных условиях основными конечными продуктами конверсии глюкозы клетками дрожжей являются:

- а) углекислый газ, вода, прирост биомассы;
- б) углекислый газ, этиловый спирт, вода;
- в) цитрат, глутаровая кислота, щавелевая кислота;
- г) ацетальдегид, ацетоин, глицерин;
- д) углекислый газ, вода, уксусная кислота.

30. Установить соответствие:

Процесс	Характеристика процесса
1. Анаэробное сбраживание глюкозы дрожжами	А. Интенсивно идет размножение дрожжей
2. Аэробное дыхание дрожжевых клеток на глюкозосодержащей среде	Б. Процесс является экзотермическим В. Выделение энергии максимально Г. В процессе образуется этанол и углекислый газ Д. В процессе образуется углекислый газ и вода Е. Размножения дрожжей практически не происходит

31. Дрожжи способны утилизировать:

- а) глюкозу;
- б) янтарную, лимонную кислоты;
- в) фруктозу;
- г) сахарозу;
- д) D-арабинозу, L-рамнозу;
- е) инозит;
- ж) сахарозу;
- з) мальтозу;
- и) раффинозу.

32. Установить соответствие:

Расы дрожжей	Характеристика расы и процесса брожения
1. Дрожжи низового брожения 2. Дрожжи верхового брожения	А. В конце брожения оседают на дно, формируя плотный осадок Б. Большинство винных и пивных дрожжей В. Спиртовые, хлебопекарные, некоторые пивные дрожжи Г. Функционируют при температуре от 6 до 10 °С Д. Всплывают на поверхность, образуя шапку Е. Функционируют при температуре от 14 до 25 °С

33. Установить соответствие:

Разновидность дрожжей	Характеристика
1. Хлопьевидные дрожжи 2. Пылевидные дрожжи	А. Клетки крупные, тяжелые Б. Клетки особенно подвержены автолизу В. Клетки в течение всего процесса брожения находятся в подвешенном состоянии Г. Клетки способны флокулировать Д. Дают меньший прирост биомассы, но обладают более высокой бродильной активностью Е. В конце брожения слипаются в комки и либо оседают на дно, либо поднимаются на поверхность Ж. Лучше создают аромат напитков



34. С помощью микроорганизмов можно получать следующие пищевые продукты:

- а) квас, пиво;
- б) сахарозу;
- в) вино;
- г) этиловый спирт;
- д) шоколад;
- е) кисломолочные напитки.

35. С помощью микроорганизмов можно получать следующие продукты микробиологического синтеза:

- а) полиэтилен;
- б) органические кислоты;
- в) резиноподобную массу;
- г) ферменты;
- д) полисахариды;
- е) белково-витаминные концентраты.

36. Сырьем для производства спирта может служить:

- а) зерно;
- б) бутиловый спирт;
- в) меласса;
- г) гидролизаты древесины;
- д) пластмассы;
- е) природный каучук;
- ж) картофель;
- з) сульфитные шелока.

37. Обозначить порядок стадий производства спирта из крахмалистого сырья:

- а) сбраживание осахаренной массы;
- б) обработка массы ферментным препаратом;
- в) разваривание сырья;
- г) измельчение сырья.

38. Отметьте свойства, характеризующие спиртовую расу дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* XII:

- а) верховое брожение;
- б) низовое брожение;
- в) оптимальная температура развития 5...10 °С;
- г) оптимальная температура развития 30...38 °С;
- д) оптимальное значение рН 6,5...7,5;
- е) оптимальное значение рН 3,8...4,0;
- ж) сбраживают раффинозу на 2/3;
- з) сбраживают раффинозу на 1/3.

39. К дрожжам, используемым для сбраживания мелассных растворов, предъявляют следующие специфические требования:

- а) должны сбраживать глюкозу;
- б) должны быть устойчивы к антибиотикам;
- в) обладать способностью переносить высокие концентрации сухих веществ;
- г) должны быть верхнебродящими;
- д) должны быть иммобилизованы на инертном носителе;
- е) должны наиболее полно сбраживать раффинозу.

40. Присутствующие в гидролизатах вредные примеси выполняют следующую функцию:

- а) сдерживают активное спиртовое брожение;
- б) проводят инверсию сброженных сахаров;
- в) играют роль антисептиков;
- г) подавляют рост посторонней микрофлоры;
- д) повышают концентрацию сухих веществ в среде;
- е) являются питательными веществами.

41. После раздавливания ягод винограда получают исходный субстрат для брожения, который называют:

- а) виноградное сусло;
- б) закваска;
- в) бражка;
- г) муст;
- д) барда.

42. Исходным сырьем для вторичного виноделия может служить:

- а) виноградное сусло;
- б) готовое вино;
- в) безалкогольные напитки, полученные путем брожения;
- г) пиво;
- д) плодово-ягодные соки;
- е) купаж.

43. Расположите стадии производства пива в технологическом порядке:

- а) сбраживание сусла;
- б) получение охмеленного сусла;
- в) созревание молодого пива;
- г) изготовление солода из ячменя;
- д) фильтрация и розлив;
- е) дображивание.

44. К хлебопекарным дрожжам предъявляют следующие требования:

- а) должны иметь мелкие клетки;
- б) должны быть солеустойчивыми;
- в) не должны сбраживать сахара в отсутствие кислорода;
- г) должны иметь высокую скорость генерации;
- д) у них должна отсутствовать мальтазная активность;
- е) должны обладать высокой подъемной силой;
- ж) должны иметь крупные клетки;
- з) должны обладать высокой мальтазной активностью.

45. К технологическим особенностям производства кваса относят следующие характеристики:

- а) это продукт незаконченного спиртового и молочнокислого брожения;
- б) это продукт незаконченного спиртового брожения;
- в) сырьем служат: меласса, виноградный сок, солод, ржаная мука, вода;
- г) сырьем служат: ржаной и ячменный солод, ржаная мука, вода, сахар;

д) после фильтрации сусло упаривают при температуре 105...115 °С, при этом образуются меланоидины, придающие квасу характерную окраску;

е) после фильтрации сусло упаривают при температуре 100...103 °С, при этом происходит деградация белков с образованием характерных вкусовых веществ;

ж) в готовом квасе количество этилового спирта не должно превышать 0,3 % об.;

з) в готовом квасе количество этилового спирта не должно превышать 1,2 % об.

46. Для выращивания дрожжей как источника белка в качестве сырья обычно используют:

- а) гидролизаты растительного сырья;
- б) выжимки плодов и ягод;
- в) неразветвленные углеводороды нефти;
- г) чистые растворы глюкозы;
- д) измельченную целлюлозу;
- е) фракции жирных кислот;
- ж) молочную сыворотку;
- з) низшие спирты – метанол, этанол.

47. Молочнокислые бактерии могут приносить следующий вред в бродильных производствах:

- а) выделяют антибиотики, что приводит к гибели дрожжей;
- б) повышают кислотность сусла, вследствие чего снижается генеративная активность дрожжей;
- в) синтезируют декстран, что приводит к загущению мелассы и затрудняет ее утилизацию дрожжами;
- г) выделяют в питательную среду ферменты, лизирующие клеточные стенки дрожжей;
- д) склеивают клетки дрожжей, вследствие чего они оседают на дно и практически не размножаются.

48. Уксуснокислые бактерии могут приносить следующий вред в бродильных производствах:

- а) способны поглощать клетки дрожжей;
- б) образуют уксусную кислоту, которая подавляет рост дрожжей;
- в) конкурируют с дрожжами за глюкозу, что приводит к снижению выхода спирта или биомассы;
- г) окисляют спирты в соответствующие кислоты, снижая выход целевого продукта;
- д) не могут нанести вреда бродильным производствам вследствие слабой активности.

49. Установить соответствие:

Вид микроорганизма-вредителя	Характер причиняемого вреда
1. Бактерии рода <i>Bacillus</i> 2. Гнилостные бактерии аэробы 3. Гнилостные анаэробные бактерии 4. Маслянокислые бактерии 5. Дикие дрожжи	А. Конкурируют с производственной культурой, развиваясь быстрее, потребляя большое количество сахара с малым выходом этанола. Некоторые виды превращают сахар в органические кислоты и окисляют этанол Б. Вызывают распад белков с образованием углекислого газа, аммиака, сероводорода, воды, минеральных солей В. Образуют масляную кислоту, которая в самых незначительных количествах (0,0005 %) подавляет развитие дрожжей Г. Разлагают белки с образованием органических дурнопахнущих и ядовитых веществ Д. Редуцируют нитраты в нитриты, которые в концентрации 0,02 % снижают выход биомассы на 40...50 %, при хранении вызывают разложение дрожжевых клеток и разжижение прессованных дрожжей

50. Установить соответствие:

Вид дрожжей – источника производственной инфекции	Характер причиняемого вреда
1. <i>Candida lipolitica</i> 2. <i>Saccharomyces, Hanseniaspora, Candida</i> 3. Осмофильные дрожжи ( <i>Zygosaccharomyces</i> ) 4. <i>Kluveromyces</i> 5. Неосмофильные дрожжи ( <i>Saccharomyces, Hyphopichia</i> )	А. Конкурируют с производственной культурой, развиваясь быстрее, потребляя большое количество сахара с малым выходом этанола. Некоторые виды превращают сахар в органические кислоты и окисляют этанол Б. Вызывают распад белков с образованием углекислого газа, аммиака, сероводорода, воды, минеральных солей В. Образуют масляную кислоту, которая в самых незначительных количествах (0,0005 %) подавляет развитие дрожжей Г. Разлагают белки с образованием органических дурно пахнущих и ядовитых веществ Д. Редуцируют нитраты в нитриты, которые в концентрации 0,02 % снижают выход биомассы на 40...50 %, при хранении вызывают разложение дрожжевых клеток и разжижение прессованных дрожжей

51. Источником производственной инфекции может стать:

- а) персонал;
- б) лаборатория;
- в) воздух;
- г) дезинфицирующие растворы;
- д) вода;
- е) оборудование.

52. По требованиям стандарта по бактериологическим показателям вода должна удовлетворять следующим условиям:

- а) в 1 мл должно содержаться не более 100 клеток бактерий и не более 3 бактерий кишечной палочки;
- б) в 1 л должно содержаться не более 100 клеток бактерий и не более 3 бактерий кишечной палочки;
- в) в 1 мл должно содержаться не более 1000 клеток бактерий и не более 30 бактерий кишечной палочки;
- г) в 1 л должно содержаться не более 100 клеток бактерий и не более 3 бактерий кишечной палочки.

53. Установить соответствие:

Способы дезинфекции	Характер действия
1. Механические 2. Физические 3. Химические	А. Воздействие высоких температур (автоклавирование, обработка паром и горячей водой, кипячение, пастеризация); бактерицидные облучения, обеспложивающая фильтрация и ультразвук Б. Основаны на использовании различных детергентов В. Удаляют затвердевшие частицы, частично микроорганизмы с поверхностей, оборудования, трубопроводов и инвентаря

54. Общими признаками молочнокислых бактерий являются:

- а) подвижность;
- б) отрицательная окраска по Граму;
- в) цитохромы и каталазу не образуют;
- г) не восстанавливают нитриты в нитраты;
- д) положительно окрашиваются по Граму;
- е) неподвижны;
- ж) образуют пигменты.

55. Все молочнокислые бактерии относятся к родам:

- а) *Streptococcus*;
- б) *Saccharomyces*;
- в) *Gluconacetobacter*;

- г) *Pediococcus*;
- д) *Leuconostoc*;
- е) *Artrobacter*;
- ж) *Lactobacillus*.

56. Род *Lactobacillus* подразделяется на следующие подроды:

- а) *Streptobacterium*;
- б) *Clostridium*;
- в) *Thermobacterium*;
- г) *Pseudomonas*;
- д) *Betabacterium*.

57. Стрептококки делятся на группы:

- а) оральные;
- б) глобальные;
- в) молочные;
- г) почвенные;
- д) пиогенные;
- е) фекальные;
- ж) термальные.

58. Установить соответствие:

Род молочнокислых бактерий	Путь ферментации
1. <i>Lactobacillus</i> 2. <i>Leuconostoc</i> 3. <i>Streptococcus</i> 4. <i>Pediococcus</i>	А. Гомоферментативный Б. Гетероферментативный

59. Молочнокислые бактерии имеют следующие характеристики (выбрать из каждой пары):

- а) относятся к облигатным анаэробам;
- б) относятся к факультативным анаэробам;
- в) высоко спиртоустойчивы;



- г) чувствительны даже к малым количествам спирта;
- д) наиболее интенсивно растут и развиваются при pH более 8;
- е) растут и развиваются при низких значениях pH;
- ж) способны в качестве источника углерода использовать незначительное количество веществ (моно-, дисахара, органические кислоты);
- з) способны усваивать широкий круг веществ (органические спирты, кислоты, полисахариды);
- и) являются ауксотрофными по многим витаминам;
- к) не нуждаются в дополнительном внесении витаминов в питательную среду и способны синтезировать их сами.

60. Установить соответствие:

Фаза развития микроорганизмов в молоке в процессе хранения	Характеристика процессов в течение фазы
1. Бактерицидная 2. Фаза смешанной микрофлоры 3. Фаза молочнокислых бактерий 4. Фаза дрожжей и мицелиальных грибов	А. Наступает при развитии этих микроорганизмов в молоке, имеющем высокую кислотность. Кислотность постепенно снижается, благодаря жизнедеятельности микроорганизмов, что создает благоприятные условия для развития гнилостных микробов Б. Характеризуется развитием всех групп микроорганизмов, имеющих в молоке. К концу фазы молочнокислые бактерии преобладают над всеми остальными микроорганизмами В. Не отмечается размножение бактерий Г. Определяется развитием микроорганизмов, вызывающих сквашивание молока. Постепенно кокковые формы отмирают, количество палочек увеличивается

61. Установить соответствие:

Кисломолочный продукт	Компоненты закваски
<p>1. Простокваша обыкновенная                  2. Сметана                  3. Творог                  4. Йогурт                  5. Кумыс                  6. Кефир</p>	<p>А. Термофильные стрептококки и лактобациллы (<i>Lactobacillus dilbrueckii subsp. bulgaricus</i>)                  Б. <i>L. dilbrueckii subsp. bulgaricus</i>, <i>S. thermophilus</i>, <i>Saccharomyces lactis</i>, <i>Sacch. cartilaginosus</i>, <i>Acetobacter aceti</i>                  В. Нитевидные грамположительные бактерии; на поверхности их в уплотненном слое, находятся дрожжи и молочнокислые лактококки, а во внутреннем рыхлом ячеистом слое – уксуснокислые бактерии                  Г. <i>L. lactis subsp. lactis</i>, <i>L. lactis subsp. lactis</i> biovar. <i>diacetilactis</i>; для ускоренного получения продукта используют равные количества и термофильных <i>S. Thermophilus</i> и мезофильных стрептококков                  Д. <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>, <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> biovar. <i>diacetilactis</i>, <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>                  Е. <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>, <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> biovar. <i>diacetilacti</i></p>

62. Силосование – это:

- а) процесс усиления молочнокислого брожения при производстве кисломолочных продуктов;
- б) использование заквасок молочнокислых микроорганизмов при производстве мясных и рыбных продуктов;

в) метод биологического консервирования плодов и овощей путем добавления заквасок молочнокислых микроорганизмов и уксусной кислоты;

г) метод биологического консервирования растительной массы с добавлением специальных заквасок молочнокислых бактерий (или без) для повышения биологической ценности кормов.

63. Установить соответствие:

Вид молочнокислого брожения	Продукты брожения
1. Гомоферментативное 2. Гетероферментативное	А. Уксусная кислота, лимонная кислота, молочная кислота Б. Молочная кислота В. Молочная кислота, уксусная кислота, этиловый спирт, углекислый газ Г. Рибулозо-5-фосфат, ацетил-КоА, пируват

64. К разновидностям биологического консервирования с помощью молочнокислых микроорганизмов относят:

- а) квашение плодов (например, яблок, капусты);
- б) маринование плодов (например, огурцов, помидоров);
- в) силосование;
- г) приготовление мясных и рыбных консервов.

65. Для получения молочной кислоты используют следующие виды микроорганизмов и питательных сред, установить соответствие:

Вид микроорганизмов	Питательная среда
1. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> 2. <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> 3. <i>Lactobacillus brevis</i>	А. Гидролизаты растительных отходов (кукурузных кочерыжек, соломы) Б. Молочная сыворотка В. Кормовая или рафинадная патока, солодовые ростки, фосфорнокислый аммоний

## ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова, С.В. Использование дрожжей в промышленности / С.В. Борисова, О.А. Решетник, З.Ш. Мингалеева. – СПб.: ГИОРД, 2008. – 216 с.
2. Каган, Я.Р. Курсы повышения квалификации для микробиологов молочной отрасли / Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия. – Барнаул: АЗБУКА, 2010. – 265 с.
3. Промышленная микробиология / под ред. Н.С. Егорова. – М.: Высшая школа, 1989. – 503 с.
4. Елинов, Н.П. Основы биотехнологии. Для студентов институтов, аспирантов и практических работников / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – 600 с.: ил.
5. Воробьева, Л.И. Техническая микробиология: учебное пособие / Л.И. Воробьева. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. – 168 с.
6. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / 3-е издание, перераб. и доп. / К.К. Горбатова. – СПб.: ГИОРД, 2003 – 352 с.: ил.
7. Крусь, Г.Н. Технология молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусь [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1988. – 367 с.
8. Ламберова, М.Э. Оценка эффективности культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: учебное пособие / М.Э. Ламберова, Ю.А. Кошелев, Т.И. Войнаровская. – Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2007. – 69 с.
9. Пашенко, Л.П. Биотехнологические основы производства хлебобулочных изделий / Л.П. Пашенко. – М.: Колос, 2002. – 368 с.: ил. – (Серия «Учебники и учеб. пособия для студентов вузов»).
10. Технология спирта / В.Л. Яровенко [и др.]; под ред. проф. В.Л. Яровенко. – М.: Колос, 1999. – 464 с.: ил.
11. Фараджева, Е.Д. Общая технология бродильных производств / Е.Д. Фараджева, В.А. Федоров. – М.: Колос, 2002. – 408 с.: ил. (Серия «Учебники и учеб. пособия для студентов вузов»).
12. Банникова, Л.А. Микробиологические основы молочного дела / Л.А. Банникова, Н.С. Королёва, В.Ф. Семенихина. – М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.
13. Полищук, П.К. Лабораторный практикум по микробиологии молока и молочных продуктов / П.К. Полищук, Э.С. Дербинова, Н.Н. Казанцева. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 200 с.

14. Аникеев, В.В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / В.В. Аникеев, К.А. Лукомская. – М.: Просвещение, 1983. – 128 с.

15. ГОСТ 9225-84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа.

*Учебное издание*

**Скиба** Екатерина Анатольевна  
**Шавыркина** Надежда Александровна  
**Ламберова** Марина Эдуардовна

**ОСНОВЫ  
ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

Учебное пособие

Редактор Мальгина И.В.  
Технический редактор Глядищева Е.Е.

Подписано в печать 05.12.2013. Формат 60×84 1/16  
Усл. п. л. – 6,4. Уч.-изд. л. – 6,9  
Печать – ризография, множительно-копировальный  
аппарат «RISO EZ300»

Тираж 30 экз. Заказ 2013-97  
Издательство Алтайского государственного  
технического университета  
656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46

Оригинал-макет подготовлен ИИО БТИ АлтГТУ  
Отпечатано в ИИО БТИ АлтГТУ  
659305, г. Бийск, ул. Трофимова, 27