

## ЛЕКЦІЯ №5

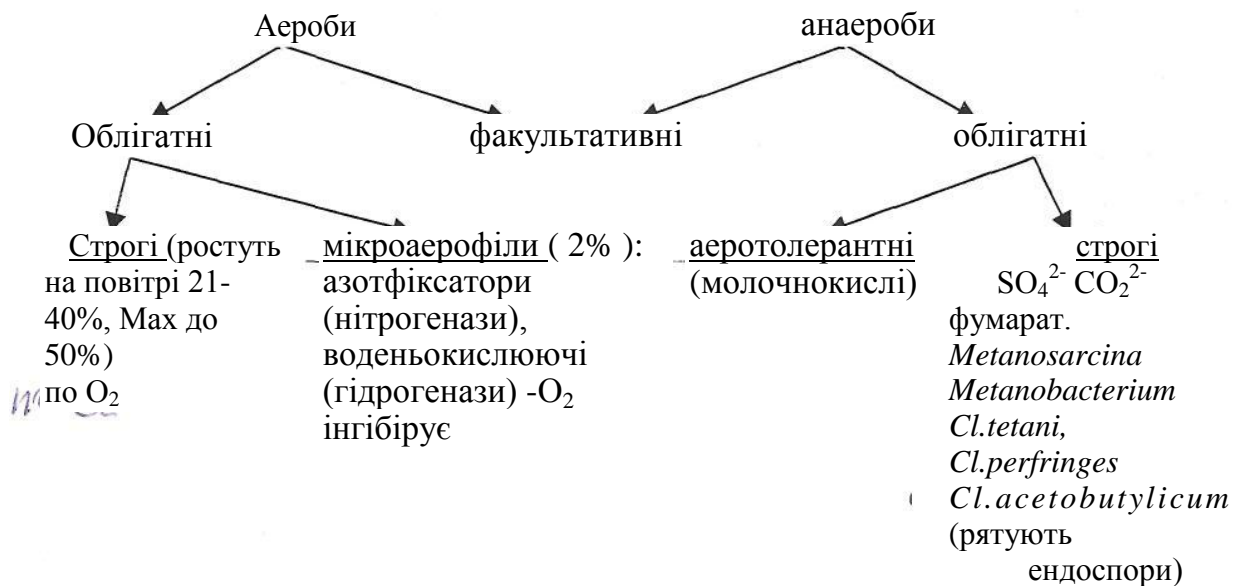
### Дія фізичних і хімічних чинників. Способи існування прокариот (способи живлення мікроорганізмів).

#### Дія кисню

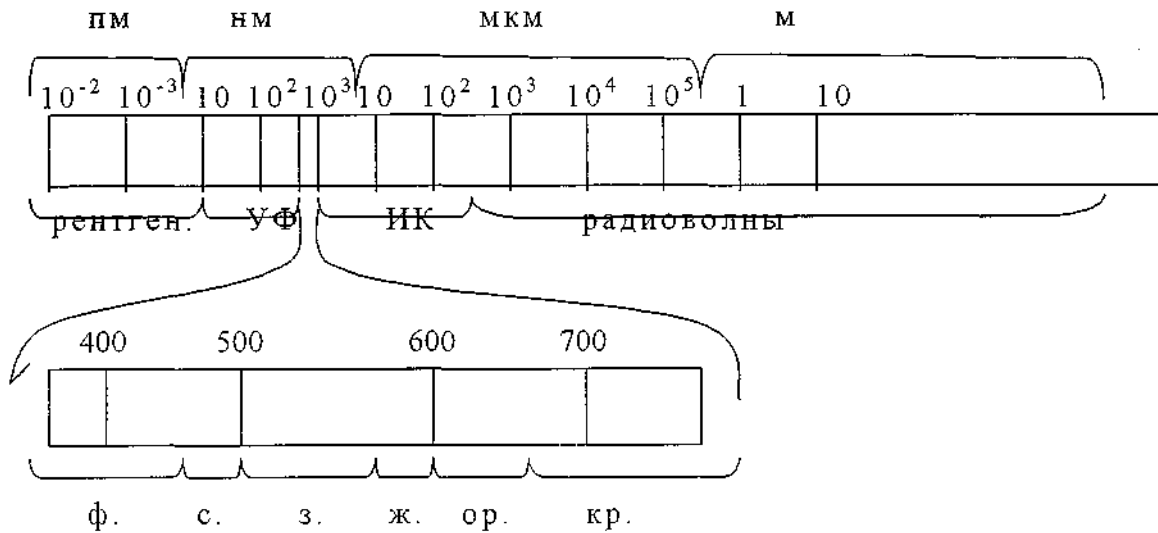
Кисень потрапляє в клітину у складі води, вуглекислого газу і органічних речовин. Необхідний і молекулярний кисень.

Головна функція  $O_2$  полягає в тому, що він є кінцевим акцептором електронів в дихальному ланцюзі ( $O_2$  до  $\rightarrow H_2O$ ).

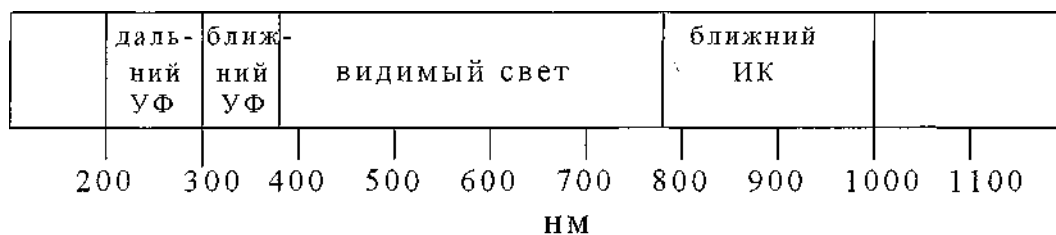
Поділ мікроорганізмів на групи в залежності від молекулярного кисню:



Ефекти, що викликаються опромінюванням, залежать від частоти ( $\nu$ ) випромінювання. Область 300–1100 нм – видиме (в основному) світло – індукує такі процеси, як фотосинтез, фототаксис, фотоактивацію ДНК, синтез деяких молекул. Для  $\lambda > 1100$  нм не зареєстровано яких-небудь біологічних ефектів. Основна дія ІК-випромінення – це збільшення швидкості руху молекул, тобто  $> mv^2/2$ .



Дія короткохвильового випромінювання веде до виникнення мутацій або смерті із-за високої фотохімічної активності цього випромінювання, яке веде до модифікації або руйнування органічних молекул, які поглинули його.



75% енергії – видиме світло

20% – ІК

5% – УФ – з  $\lambda=300-380$  нм

Нижня межа довжин хвиль визначається щільністю озонового шару.

220 нм – викликає іонізацію молекул кисню, приводячи до утворення озону.

Озон поглинає інтенсивно в інтервалі 220–300 нм. Таким чином  $\lambda < 220$  повністю поглинається киснем.

Починаючи з 300 нм і далі випромінювання індукує фотосинтетичні і фототаксичні реакції, при цьому діапазон, в якому можливі ці реакції, у прокариот значно ширше, ніж у еукариот.

Фотосинтез – у ціанобактерій і прохлорофітів в області 300–750 нм з виділенням кисню. Без кисню – захоплює ближню ІК-область: для зелених бактерій до 840 нм, пурпурних, – до 920 нм, для деяких пурпурних – до 1100 нм.

$\lambda=240$  нм – розрив ДНК.

260 нм – руйнуються пуріни та піримідини.

Світло в діапазоні від дальнього УФ до дальнього ІК впливає на різноманітні функції (рухливість, цикли розвитку, синтез каротиноїдів) всіх мікроорганізмів (і хемотрофних). 220–300 нм також активно поглинається молекулами білків і нуклеїнових кислот.

На хемотрофів світло діє в основному негативно, затримуючи ділення клітин.

УФ 260 → нм утворює димер тиміну і порушує реплікацію.

Під дією видимого світла розривається димер і відновлюється функція – фотореактивація.

Іонізуюче випромінювання (х-промені,  $\gamma$ -промені, космічні) менш специфічно діють на мікроорганізми, чим УФ, хоча в основному впливають на ДНК і викликають або бактерицидний, або мутагенний ефект.

Дуже чутливі до іонізуючого випромінювання *Pseudomonas fluorescens*; стійкі – *Micrococcus*, *Streptococcus radiodurans* (реактори); вегетативні *Bacillus* і *Clostridium* – помірно, спори дуже стійкі.

## Електрика

Проходження постійного або змінного струму через суспензію клітин мікроорганізмів робить слабкий вплив на бактерії. Проте тривале пропускання постійного або змінного струму призводить до електролізу компонентів середовища. Вони здатні викликати негативні дії. Крім того йде виділення тепла, яке у свою чергу впливає на клітину. Мікроби, як колоїди заряджені «+» або «-» в основному і тому спостерігається рух в електричному полі до «-» і до «+» – електрофорез. Цей метод використовують для аналізу продуктів метаболізму мікроорганізмів.

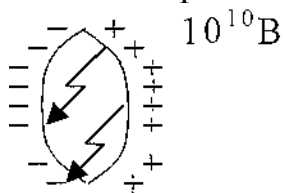
## Ультразвук

Бактерицидний ефект – вбиває мікроорганізми. Бактеріостатичний – гальмує зростання і розмноження клітин.

Низькочастотні коливання (100–10 000 Гц) діють в дуже слабкій мірі. Якщо  $\nu > 10\ 000$  кГц, то клітини розриваються. Проте спостерігаються і біохімічні, і функціональні зміни, що не призводять до загибелі: можуть вивільнятися в клітинах вітаміни, ферменти, а також з'являються не характерні мікроорганізмам ферменти: у *Saccharomyces globosus* після 30 хвилин дії УЗ  $\nu = 740$  кГц з'являється інвертаза, змінюється чутливість до антибіотиків ( $\nu = 800$  кГц), через 10 хв чутливість до пеніциліну зростає в 2–5 разів.

Механічне руйнування відбувається через **кавітацію**.

Кількість пошкоджень зменшується з дегазацією і зростає при насиченні розчину киснем, азотом, вуглекислим газом, повітрям.



Ультразвук використовують для стерилізації субстратів, де не можна застосовувати температуру, для отримання окремих клітинних компонентів, для вивчення структури і функції.

## pH середовища

Ацидофільні мікроорганізми – ті, що люблять кисле середовище. Факультативні дріжджі, гриби (pH=5–6), *Thiobacillus thiooxidans* – не ростуть в нейтральних середовищах. Багато водоростей, найпростіших (*Euglena*) є індикаторами.

Алкалофільні – ті, що люблять основне середовище (холерний вібріон *Vibrio cholerae*, гнильні бактерії). pH впливає на активність ферментів.

Від pH залежить стійкість бактерійної клітини до інших чинників середовища: так в кислому середовищі посилюється негативна дія високої температури, оскільки згортваність білків вища, ніж в нейтральному і лужному середовищі. Квашення, маринади створюють низьке pH проти гнилої.

## Вологість. Вода в клітинах

Стійкість бактерій до обезводнення різна: кількість клітин *Pseudomonas* через місяць знижується в 100 разів, *Azotobacter* завдяки цистам зберігається десятки років. Дуже стійкі актиноміцети (із-за спор), потім гриби.

Відсутність вологи не дає розвиватися мікроорганізмам. Висушування у вакуумі дає можливість тривалого зберігання.

Ліофілізація – метод отримання сухих культур мікроорганізмів шляхом висушування із заморожених культур ( $-76^{\circ}\text{C}$ ) під високим вакуумом.

Спори дуже добре переносять висушування.

Вплив води на мікроорганізми пов'язаний з поверхневим натягненням. Останнє служить показником поля поверхні води. Поверхнєве натягнення води при  $20^{\circ}\text{C}$  рівне  $7,3 \cdot 10^{-2}$  Н/м. ПАВ знижують поверхнєве натягнення, вони дуже токсичні для мікроорганізмів.

Не йде розмноження з пониженим вмістом ПАВ.

### **Гідростатичний тиск**

$p=1200$  атм на глибині 12 000 м.

Мікроорганізми, що живуть на великих глибинах, називаються баротолерантними.

Більшість бактерій ростуть при атмосферному тиску і повністю гинуть або пригноблюються при тиску в 200–600 атм.

Є відомості про наявність барофільних форм. Крісс вивчав морські бактерії і встановив, що при  $p=500$  атм бактерійні культури продукували в 3 рази більше летючих кислот, чим при нормальному тиску; бактерії, що засвоюють при 1 атм лактозу, при 100 атм втрачали цю властивість.

Комплекс: високий тиск + низька температура – знижують швидкість руйнування органічних речовин на великих глибинах.

### **Осмотичний тиск**

Концентрація речовин, розчинених в зовнішньому по відношенню до мікроорганізмів середовищі, визначає осмотичний тиск середовища, який має велике значення для процесів життєдіяльності мікроорганізмів. Перехід води в клітину можливий, якщо осмотичний тиск в клітині більший, ніж тиск зовнішнього розчину.

Нормальний тиск в клітині 3–6 атм, що відповідає тиску в місці існування (0,5–5 атм).

У меді, варенні, в зацукрованих середовищах осмотичний тиск досягає 100 атм. Є мікроорганізми, які пристосувалися жити в цьому середовищі: у грибів (дріжджі)  $p=50-142$  атм – осмотолерантні.

Xeromyces – осмофільні; галофіли – солелюбні. У них в ЦПМ ліпіди пов'язані з ефіром, тоді як у інших з жирними кислотами.

## Хімічні чинники

Дія хімічних чинників залежить від природи речовин і чинників середовища.

По характеру дії ділять на декілька груп:

- 1) ПАВ – жирні кислоти, мила, детергенти, що викликають пошкодження клітинних стінок;
- 2) Фенол, крезол, нітрохлорбензол і їх похідні – руйнують не тільки стінки, але і діють на білки цитоплазми;
- 3) Акрідіни (типу дибензопіридину) – володіють спорідненістю до нуклеїнових кислот і порушують процеси клітинного поділу;
- 4) Формальдегід (40% розчин формаліну) – викликає денатурацію білків;
- 5) Солі важких металів – призводять до коагуляції, а тому обумовлюють загибель мікроорганізмів і вірусів (найбільш діючі, Hg, Cr, Pb, Zn).

Для ряду речовин не виявлений механізм дії на клітини бактерій. Розчини токсичних речовин застосовують як дезинфікуючі речовини в медицині, харчовій промисловості, в с/г для протравлення насіння та ґрунту.

## Температура

Стерилізація – обезспоражування – знищення всіх форм життя в середовищі.

У мікробіології стерилізують посуд, середовища, інструмент. Розрізняють термічну стерилізацію і холодну.

- Термічна:
- прожарення в полум'ї;
  - сухожарова (гарячим повітрям);
  - автоклавування (121°C при 1 атм) – спори у більшості видів не витримують і 5 хвилин, і лише у деяких гинуть через 20 хв;
  - дробова стерилізація (3–4 рази по 15–20 хвилин).

Сусло, дріжджовий автолізат } 15–20 хвилин

МПБ і МПА } при 0,5 атм

Солі – 1,5 атм протягом 30 хвилин.

Пастеризація – знищення мікроорганізмів в рідинних продуктах (молоко, вино, пиво) – протягом 15–30 хвилин нагрівання до 75 °С.

По відношенню до температури мікроорганізми ділять на:

1. психрофіли – -10 °С – 20 °С:
  - облигатні (не ростуть при температурі >20 °С);
  - факультативні.
2. мезофіли – 10–45 °С. Оптимум 30–40 °С.

3. термофіли ділять на 4 підгрупи:

- термотолерантні (від +10 °С до +60 °С, оптимум 35–40 °С)
- факультативні (від 20 °С до 65 °С, оптимум 20–40 °С)
- облігатні (до 70 °С, не ростуть нижче 40 °С – *Bacillus, Clostridium*)
- екстремальні (вище 70 °С, оптимум 70–75 °С, мінімум – 40 °С: р. *Thermus* – грам-від'ємні, спор немає, витримують нагрівання до 85 °С).

Гіпотези, які пояснюють термофільність:

- 1) ліпіди мембран у термофілів мають вищу точку плавлення, тобто складаються з насичених жирних кислот;
- 2) конформація білків при зміні температури;
- 3) структури клітини (клітинна стінка, мембрани, рибосоми) більш термостійкі.

**ОВП середовища** – характерна кількість окислених і відновлених форм: E= +120 мВ } аероби  
+30 мВ  
E= - 30 – 180 мВ – факультативні анаероби  
E= -220 – 240 – 360 мВ – облігатні анаероби.