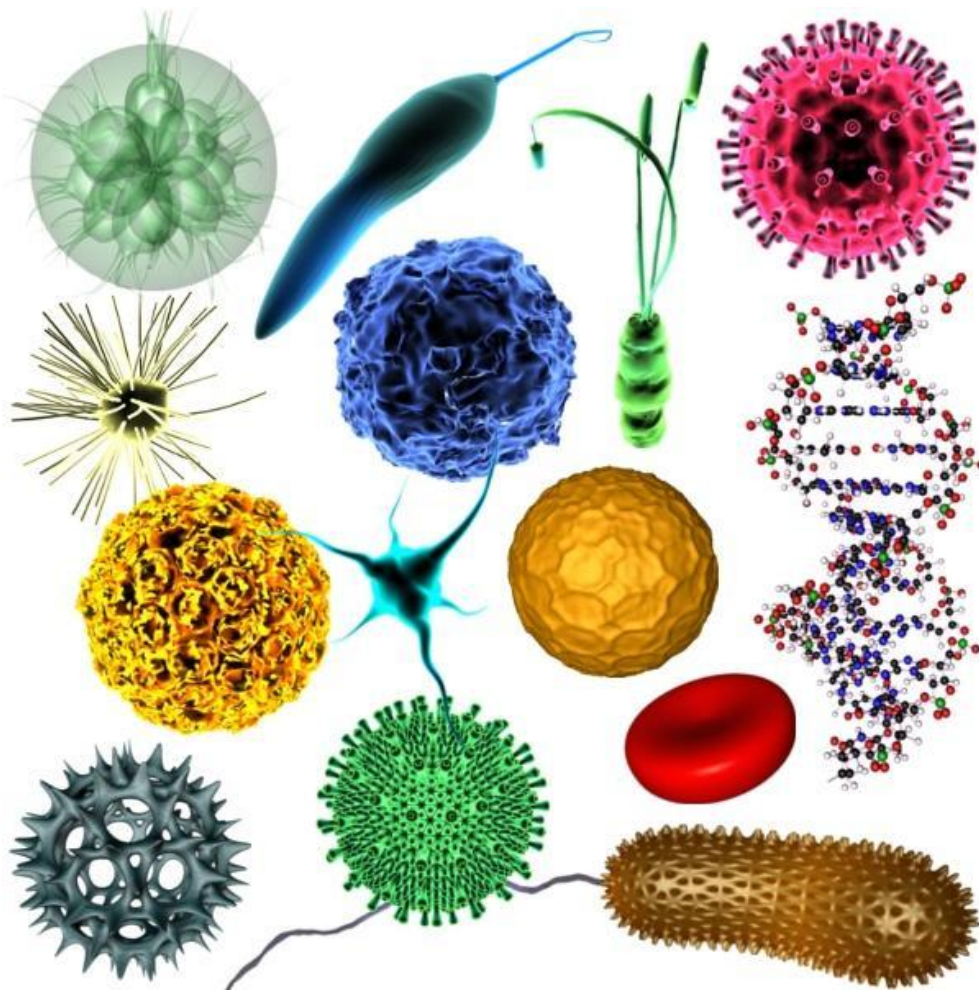




ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA



Avrelija Gojkovič Kumperger



Naslov: ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA
Izobraževalni program: ŽIVILSKO PREHRANSKI TEHNIK
Modul: ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA Z BIOTEHNOLOGIJO

Avtorica:

Avrelija Gojkovič Kumperger, univ. dipl. inž. živ. teh.

Strokovni recenzent:

Mateja Bukvič, univ. dipl. bio.

Lektorica:

Manuela Krajcer, prof. slov.

Maribor, 2010

© Avtorske pravice ima Ministrstvo za šolstvo in šport Republike Slovenije.

Gradivo je sofinancirano iz sredstev projekta Biotehniška področja, šole za življenje in razvoj (2008–2012). Operacijo delno financira Evropska unija iz Evropskega socialnega sklada ter Ministrstvo za šolstvo in šport. Operacija se izvaja v okviru operativnega programa razvoja človeških virov za obdobje 2007 – 2013, razvojne prioritete: Razvoj človeških virov in vseživljenjskega učenja, prednostna usmeritev: Izboljšanje kakovosti in učinkovitosti sistemov izobraževanja in usposabljanja. Vsebina tega dokumenta v nobenem primeru ne odraža mnenja Evropske unije. Odgovornost za vsebino dokumenta nosi avtor.

KAZALO

KAZALO	I
1 UVOD	1
1.1 RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE	1
1.2 IMENOVANJE IN KLASIFIKACIJA MIKROORGANIZMOV.....	2
2 RAZDELITEV MIKROORGANIZMOV IN NJIHOVE OSNOVNE ZNAČILNOSTI	3
2.1 VIRUSI	3
Narava in zgradba virusov	3
Razmnoževanje virusov	4
2.2 BAKTERIJE	6
Opazovanje bakterij in barvanje.....	6
Oblike bakterij.....	7
Velikost bakterij.....	8
Zgradba bakterij.....	8
Sporulacija	8
Rast in razmnoževanje bakterij	9
Presnova bakterij	9
2.3 Glive	10
Zgradba in razmnoževanje gliv	10
Raznolikost gliv.....	10
Glive, ki so povzročitelji bolezni pri človeku.....	10
Uporaba gliv	11
2.4 Alge	12
Delitev alg.....	12
Glede na obliko steljke jih delimo na	12
Alge.....	12
2.5 PARAZITOLOGIJA	13
Praživali.....	13
Delitev praživali:	13
Večcelični paraziti	13
3 PRESNOVA ALI METABOLIZEM	15
3.1 Encimi.....	15
Zgradba encimov:	15
Poimenovanje encimov:.....	16
Delovanje encimov	16
Dejavniki, ki vplivajo na aktivnost encimov:.....	16

3.2	Procesi presnove ali metabolizma.....	17
	Razgradnja ali hidroliza ogljikovih hidratov.....	17
	Razgradnja ali hidroliza beljakovin	18
	Razgradnja ali hidroliza maščob	19
4	RAST MIKROORGANIZMOV IN KONTROLA NJIHOVE RASTI.....	20
4.1	POGOJI ZA RAST MIKROORGANIZMOV	20
	Fizikalni pogoji	21
	Temperatura.....	21
	Kislost okolja	21
	Osmotski pritisk.....	21
	Kemijski pogoji.....	21
	Ogljik	21
	Dušik, fosfor, žveplo	22
	Mikroelementi (elementi v sledih)	22
	Kisik	22
	Rastni faktorji	22
4.2	Hranilne podlage ali gojišča	22
	Gojitev bakterij v laboratoriju.....	23
	Pridobivanje čistih kultur	24
	Načini gojenja mikroorganizmov:	26
4.3	Rast mikroorganizmov	27
	Krivulja rasti mikroorganizmov	27
	Določanje števila mikroorganizmov na hranilnih podlagah	28
	Metode štetja mikroorganizmov	28
	Metode, s katerimi ocenimo število mikroorganizmov.....	29
5	ZAVIRANJE RASTI MIKROORGANIZMOV V ŽIVILSKI INDUSTRIJI	30
5.1	Fizikalni postopki	30
	Toplotna obdelava	30
	Sevanje ali radiacija	31
	Ionizirajoče sevanje.....	31
	Elektromagnetno sevanje.....	32
5.2	Kemijski postopki.....	32
5.3	Biološki postopki.....	34
6	MIKROBIOLOGIJA ŽIVIL.....	35
6.1	Mikrobiologija žit, moke in izdelkov iz žita	35
6.2	Mikrobiologija margarine.....	37
6.3	Mikrobiologija sladkorja.....	37

6.4	Mikrobiologija jajc	37
	Mikrobiologija jajčnih izdelkov	38
6.5	Mikrobiologija medu	38
6.6	Mikrobiologija slaščic	39
6.7	Mikrobiologija sadja	39
6.8	Mikrobiologija vrtnin	39
6.9	Mikrobiologija piva	40
6.10	Mikrobiologija vina	40
6.11	Mikrobiologija mleka in mlečnih izdelkov	40
6.12	Mikrobiologija mesa	42
6.13	Mikrobiologija pitne vode	43
7	ZDRAVSTVENA NEOPOREČNOST ŽIVIL	45
7.1	VRSTE NADZORA ZDRAVSTVENE NEOPOROČNOSTI ŽIVIL	45
7.2	STRATEGIJA ZDRAVSTVENEGA NADZORA NAD ŽIVILO V ŽIVILSKI INDUSTRIJI	46
8	OKUŽBE IN ZASTRUPITVE Z ŽIVILI (ALIMENTARNE TOKSIKOINFEKCIJE)	47
8.1	Alimentarne infekcije	48
	Infekcije s salmonelami	48
	LEPTOSPIROZA	50
	KAMPILOBAKTERIOZA	51
	BRUCELOZA	52
	LISTERIOZA	52
	VRANIČNI PRISAD	53
	TUBERKULOZA	53
	KLOPNI MENINGOENCEFALITIS	54
	FEKALNI STREPTOKOKI	54
	ALIMENTARNE INTOKSIKACIJE	56
	STRUPI ALI TOKSINI MIKROORGANIZMOV	56
	Botulizem	56
	Clostridium perfringens	57
	Plesni, ki tvorijo mikotoksine	57
	Aflatoksini	57
	Patulin	58
	Fusarium toksini	59
	Preprečevanje okužb s plesnimi, ki izločajo mikotoksine:	59
9	Higiena v proizvodnih prostorih	60
	KAZALO SLIK	61

KAZALO TABEL	62
KAZALO SHEM	63
VIRI.....	64

1 UVOD

Mikrobiologija je veda, ki proučuje mikroorganizme. Mikroorganizmi so najmanjša živa bitja, ki v različnih življenjskih okoljih predstavljajo pomemben člen kroženja snovi v naravi. So sestavni del prehranskih verig, ki omogočajo obstoj vseh oblik življenja. Mikroorganizme najdemo med avtotrofnimi in heterotrofnimi organizmi. Nahajajo se v zemlji, zraku, vodi, kakor tudi v in na vseh ostalih organizmih (npr. rastlini, živali, človeku). Sodelujejo pri razkroju organskih snovi (beljakovin, maščob, ogljikovih hidratov) v mineralne snovi, ki jih nato rastline ponovno uporabijo. Tako je sklenjen naravni krog kroženja snovi v naravi.

Obstoj človeštva je odvisen od hrane rastlinskega in živalskega izvora. Hrana ljudi oziroma živila so dober vir hranil tudi za heterotrofne mikroorganizme. Tako jih najdemo na različnih vrstah živil (sadju, zelenjavi, mesu in mesnih izdelkih, mleku in mlečnih izdelkih, jajcih ...).

1.1 RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE

Mikrobiologija je mlada znanstvena veda. Prvi zapisi o mikroorganizmih izvirajo iz 17. stoletja. Beseda je zloženko iz treh besed (mikros – majhen, bios – življenje in logos – beseda) in nam pojasni, zakaj je bil razvoj mikrobiologije kot znanosti upočasnen. Šele z odkritjem optičnih leč (A. van Leeuwenhoek, 1675), ki so povečale do 300-krat, so postali mikroorganizmi očem vidni.

Mikrobiologija kot znanost se je razvila šele **proti koncu 19. stoletja**. Vzrok za pozen razvoj, kljub iznajdbi mikroskopa, pripisujejo nepoznavanju pomena mikroorganizmov za obstoj človeka in narave. Kot posledica proučevanja sta se razvili dve znanstveni teoriji: teorija spontane generacije in teorija o nastanku bolezni.

Teorija spontane generacije pojasnjuje, da nastajajo **mikroorganizmi iz nežive snovi**. Ta teorija je imela veliko nasprotnikov.

Najmočnejši nasprotnik je bil francoski kemik **Louis Pasteur (1822–1895)**, ki je prvi pojasnil, da so lahko »drobne strukture«, ki so prisotne v zraku, povzročitelji gnitja snovi. Dokazal je prisotnost drobnih organizmov v zraku in na vseh predmetih, ki jih je mogoče odstraniti z vročino. S poskusom s steklenico z labodjim vratom je uspel ovreči teorijo spontane generacije mikroorganizmov. Proces uničevanja mikroorganizmov danes imenujemo sterilizacija. Uvedel je tudi principe aseptičnih tehnik, da je lahko obvladal mikroorganizme pri svojih poskusih. Dokazal je, da so fermentacije ali vrenja posledica življenjske aktivnosti mikroorganizmov.

Za razvoj mikrobiološke znanosti je bil pomemben dokaz, da lahko mikroorganizmi povzročajo bolezni. Na področju **medicinske mikrobiologije** je bil pomemben **Robert Koch (1843–1910)**, ki je odkril in proučil povzročitelje tuberkuloze. Uvedel je izpopolnjene mikrobiološke tehnike in metode. Leta 1881 je našel preprost in zanesljiv način, kako izolirati, kultivirati in šteti mikroorganizme. Začel je barvati mikrobiološke preparate. Uvedel je postopek, s katerim lahko ugotovimo, ali določena vrsta mikroorganizmov povzroča določen pojav ali bolezen. Ta postopek se uporablja še danes.

Zadnji desetletji 19. stoletja imenujemo »**zlato dobo**« **mikrobiologije**. V tem času je delovalo veliko medicinskih mikrobiologov po vsem svetu. Prispevali so k razvoju diagnostike, terapije in preprečevanju nalezljivih bolezni. Tudi mikrobiologija vrenj in vsa

industrijska, zlasti **mikrobiologija živilske tehnologije**, se je v tem času pričela razvijati hitreje. V začetku razvoj ni bil tako hiter kot v **medicinski mikrobiologiji**, vendar so potrebe industrije to zahtevale, da so lahko obvladovali različna področja vrelnih industrij.

E. Hansen (1842–1909) je vpeljal v industrijo uporabo čistih kultur mikroorganizmov. Razvile so se samostojne panoge mikrobiologije (mikrobiologija mleka, vina, piva in druge).

Proti koncu 19. stoletja se je začela razvijati **najmlajša** med panogami: **mikrobiologija kmetijstva**, ki je vodila v razumevanje mikrobnih procesov v tleh in na rastlinah. **V tridesetih letih dvajsetega stoletja** je doživela razcvet še **industrijska mikrobiologija** s pridobivanjem antibiotikov in drugih kemičnih izdelkov.

V **današnjem času** se srečujemo z vedno večjo skrbjo, kam z odpadki, kako jih predelati in uporabiti. Razvija se področje **sanitarne mikrobiologije**, ki se tesno povezuje s področjem **mikrobiologije voda in higijene živil**.

1.2 IMENOVANJE IN KLASIFIKACIJA MIKROORGANIZMOV

Sistem poimenovanja, ki se danes uporablja, je leta 1735 postavil Carl Linee. Vsa imena so latinska. Vsak organizem, ki je uvrščen v ta sistem, ima dve imeni. Prvo ime je ime rodu (genusa) in se piše z veliko začetnico. Drugo ime je ime vrste (speciesa), pišemo ga z malo začetnico.

Leta 1969 je Robert Whittaker postavil **klasifikacijo petih kraljestev**. Ta sistem temelji na razvrščanju organizmov glede na njihovo celično organizacijo in način prehrane.

Vsi organizmi so razvrščeni v naslednja kraljevstva:

1. Prokarioti ali Monera – eubakterije, arheobakterije.
2. Protista – sluzave plesni, praživali in nekatere alge.
3. Fungi – enocelične kvasovke, vecčelične plesni, gobe.
4. Rastline – nekatere alge, vsi mahovi, praproti, iglavci in cvetoče rastline.
5. Živali – spužve, črve, mrčes in vretenčarje.

Če izhajamo iz take klasifikacije, so prokariotski organizmi predhodniki evkariotskih organizmov. V tem sistemu so vsi prokariotski organizmi vključeni v kraljestvo Prokariot. Organizmi v preostalih štirih kraljestvih se med seboj razlikujejo po prehranskih potrebah, vzorcih razvoja in zgradbi bičev ali flagel. Enostavni evkariotski organizmi, večinoma enocelični, so uvrščeni v kraljestvo protistov. Protisti večinoma imajo bičke ali flagele, vsaj neko obdobje življenjskega ciklusa. V preostalih treh kraljestvih so bolj kompleksni evkariotski organizmi, ki so večinoma vecčelični.

2 RAZDELITEV MIKROORGANIZMOV IN NJIHOVE OSNOVNE ZNAČILNOSTI

Mikroorganizme delimo na osnovi oblik, ki jih vidimo z očmi in mikroskopom (morfologija), na osnovi kemične zgradbe in presnove ter na osnovi genetske sorodnosti. Z razvrstitvijo v vrste, rodove, družine, redove, razrede in debela se ukvarja sistematika. Najbolj raziskani sta vrsta in rod. Na tem temelji tudi poimenovanje. Seveda niti rastline niti živali niso v naravi razvrščeni v predalčke. Ta način uporabljamo zato, da jih v praksi lahko spoznamo.

Mikroorganizme razvrščamo med:

1. Viruse
2. Bakterije
3. Glive
4. Praživali
5. Alge

Tabela 1: Nekatere značilnosti mikroorganizmov

ZNAČILNOST	VIRUSI	BAKTERIJE	GLIVE	PRAŽIVALI
Nukleinska kislina (dedna snov)	DNK ali RNK	DNK ali RNK	DNK ali RNK	DNK ali RNK
Jedrna membrana	ne	ne	da	da
Trdna celična stena	ne	ne	da	ne
Razmnoževanje	v celici	znotraj in zunaj celice	v tkivih in okolju	v tkivih in okolju
Velikost	20–300 nm	0,2–5 µm	2–15 µm	4–45 µm

1 nm = en nanometer = 10^{-9} metra; 1 µm = en mikrometer = 10^{-6} metra

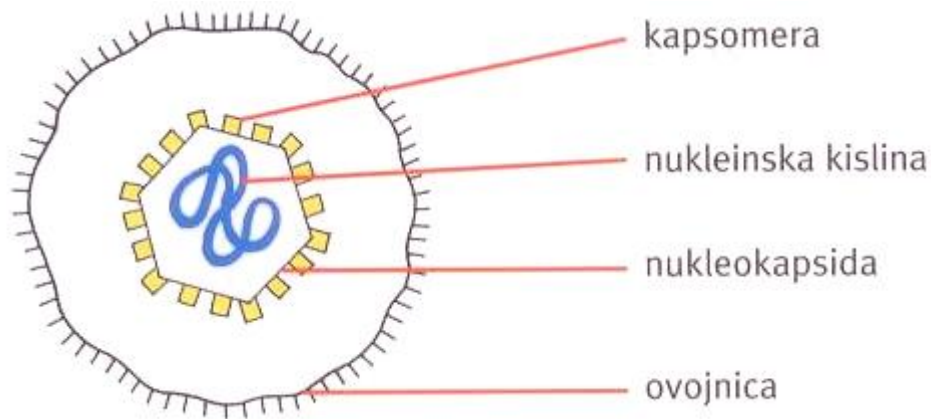
Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

2.1 VIRUSI

Virusi se zelo razlikujejo od drugih mikroorganizmov. So tako majhni, da jih vidimo le s pomočjo elektronskega mikroskopa, ki ima ločljivost 1 nm. Nimajo lastne celice. Njihova zgradba je zelo preprosta. Imajo ovoj iz beljakovin, včasih še maščobno plast. V ovoju je jedro, ki ga sestavlja le en tip nukleinske kisline (DNK ali RNK). Vsi virusi so notranji zajedalci ali paraziti, ker se lahko razmnožujejo le v gostiteljski celici. Za rast, razmnoževanje in presnovo potrebujejo živo celico bakterije, glive, rastline, živali ali človeka. Velikost virusov se giblje med 20 in 300 nm.

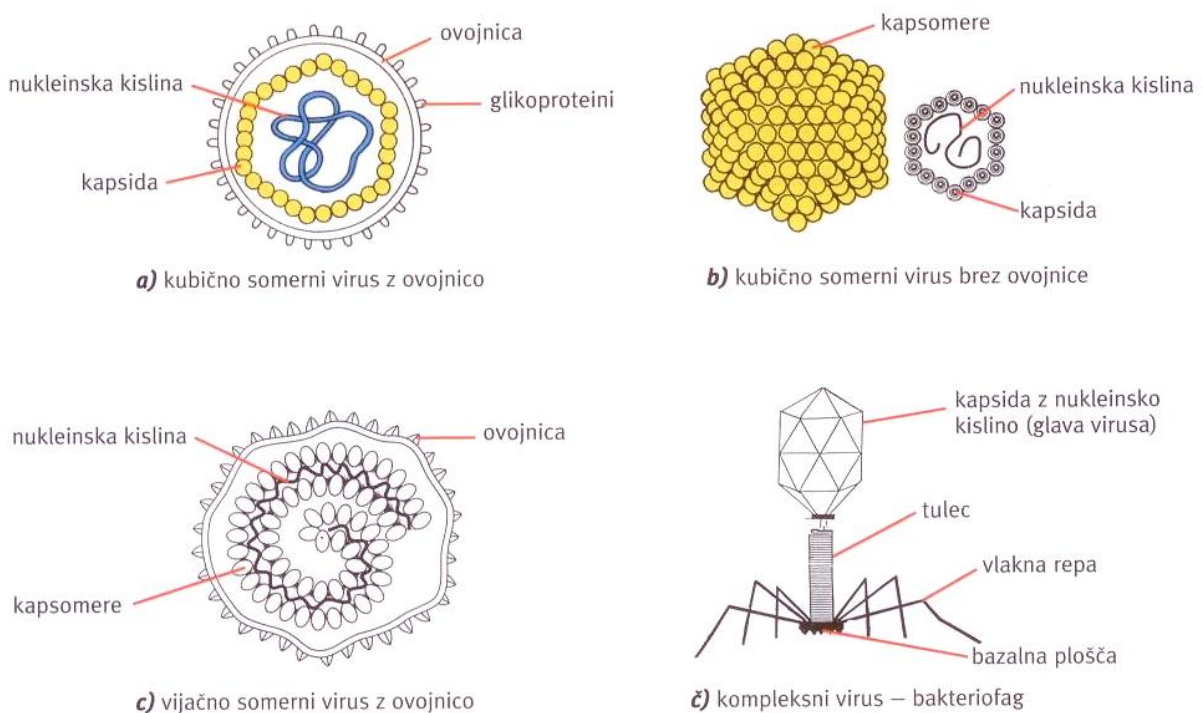
Narava in zgradba virusov

Vsi virusi so makromolekule, ki se med seboj razlikujejo. Zrel virusni delec imenujemo virion. Ima le eno vrsto nukleinskih kislin (ali DNK ali RNK), ki jo obdaja plašč iz beljakovin. Te viruse imenujemo goli virusi ali virusi brez ovojnice. Virusi z ovojnico imajo še zunanjo plast, ki vsebuje maščobe in ogljikove hidrate (lipofilni ali maščobni virusi). Virion prenaša virusno dedno snov z ene celice v drugo.



Slika 1: Osnovna zgradba virusa
Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

Po obliki so virusni delci kubično somerni, vijačno somerni ali pa so zgrajeni kompleksno. Simetrija virusa je lastnost virusnega plašča (kapside), ki obdaja dedno snov – genom. Virusni plašč je sestavljen iz več kot sto beljakovinskih podenot (kapsomer). Bakterijski virusi (bakteriofagi) so okrogli ali šestkotni in imajo kratek ali daljši podaljšek.



Slika 2: Oblike virusov
Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

Razmnoževanje virusov

Virusi so pravi zajedalci, saj za svojo rast in svoje razmnoževanje potrebujejo gostiteljevo celico. Med razmnoževanjem virusov virusni plašč razpade. Sprosti se virusna dedna snov, ki nosi navodila za nastanek novih virusov. Iz enega virusnega delca nastanejo številni potomci.

Prva stopnja – vezava virusa na celico.

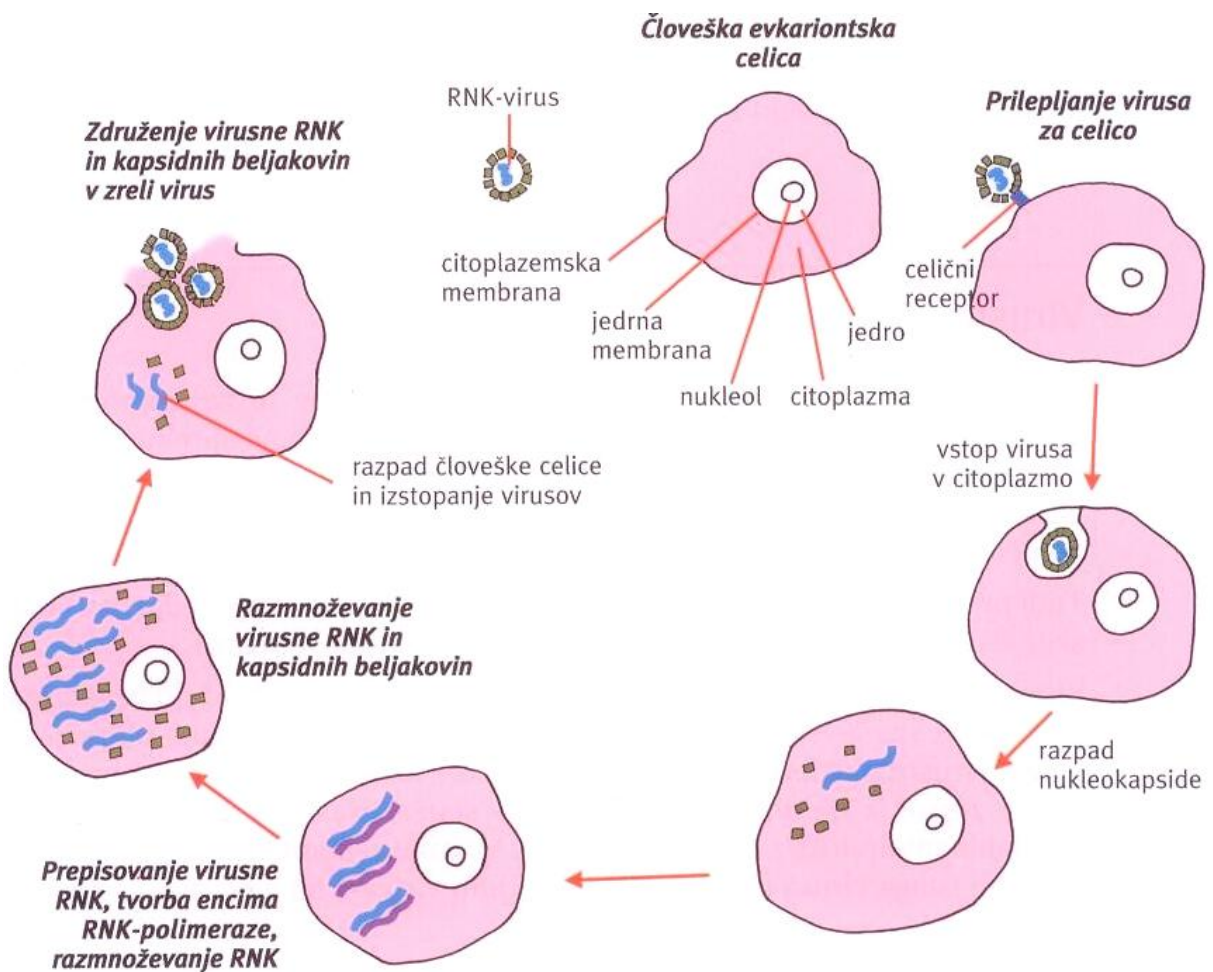
Druga stopnja – vstop virusnega delca v celico.

Tretja stopnja – ločitev beljakovinskega plašča od dedne snovi (slačenje virusa).

Četrta stopnja – virus prisili celico, da dela za njega po njegovem zapisu dedne snovi.

Peta stopnja – nastanek novih virusov.

Šesta stopnja – sproščanje virusov iz celice (celica ostane nepoškodovana ali počí).



Slika 3: Razmnoževanje virusa brez ovojnice v človeški celici

Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

Razmnoževanje virusov gostiteljske celice poškoduje tako, da povsem propadejo. Včasih so virusne okvare take, da celice preživijo. Bakterijski virusi se lahko vgradijo v bakterijsko dedno snov in se v določenih okoliščinah spet sprostijo, ne da bi poškodovali celico. Virus spremeni bakterijske lastnosti in s tem omogoča večjo strupenost oziroma škodljivost bakterije.

2.2 BAKTERIJE

Bakterije so majhni enostavni enocelični organizmi. So prokariontske celice, ker nimajo pravega celičnega jedra. Imajo jedrovino ali nukleotid. Razlikujejo se od evkariontskih celic, ki imajo pravo jedro ali nukleus in so tudi enocelične (kvasovke, alge, praživali) ali večcelične (plesni, črvi, tkiva ter organi rastlin in živali).

So mikroskopsko majhne celice s trdno celično steno. Razmnožujejo se nespolno s prečno delitvijo. So zelo raznolike. Glede na obliko, barvanje, sposobnost razgrajevanja snovi, sestavo in dedno snov uvrščamo bakterije v družine, rodove in vrste. Največkrat uporabljamo ime rodu in vrste.

Tabela 2: Primerjava prokariontske in evkariontske celice

CELIČNE SESTAVINE	PROKARIONTSKA CELICA	EVKARIONTSKA CELICA
Velikost	0,2–3 μm	2–20 μm
Celična stena	peptidoklikan – posebne kemične molekule	nima ali je sestavljena iz celuloze ali hitina
Jedrna membrana	ne	da
Jedro	jedrna snov – nukleid en kromosom	jedro – nukleusa več kromosomov
Mitohondriji	ne	da
Endoplazmatski retikulum	ne	da
Golgijev aparat	ne	da
Delitev	prečna razpolovitev	mejoza, mitoza
Fotosinetični pigment, če ga ima	kromatofore	kloroplasti

Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

Opazovanje bakterij in barvanje

Bakterije opazujemo pod svetlobnim mikroskopom, neobarvane ali obarvane, pri povečavah do 1000-krat. Človeško oko zazna predmet lahko do največ 200 μm , kar je manjšega lahko vidimo le, če je povečano pod mikroskopom.

Obarvane razmaze bakterijskih kultur opazujemo pod svetlobnim mikroskopom z imerzijo. To pomeni, da med obarvani razmaz na objektnim steklom in imerzijski objektiv (povečava 100-krat) nanese kapljico imerzijskega olja, ki ima isti lomni količnik kot steklo. S tem preprečimo lomljenje svetlobnih žarkov, ki gredo skozi barvni razmaz. Z imerzijo lahko bakterije s svetlobnim mikroskopom opazujemo povečane tudi do dva tisočkrat.

Bakterije obarvamo zaradi lažjega opazovanja. **Barvila**, ki jih uporabljamo, so **bazična** ali **kisla**. **Tehnike barvanja** pa **pozitivne** (obarvamo bakterijo) ali **negativne** (obarvamo okolico bakterije). Največ se uporabljajo bazična barvila: metilensko modrilo (modro), metilvijolično (vijolično), gencianvijolično (vijoličnomodro), bazični fuksin (rdeče) in safranin (oranžnordeče).

Največkrat barvamo z dvema ali več barvili.

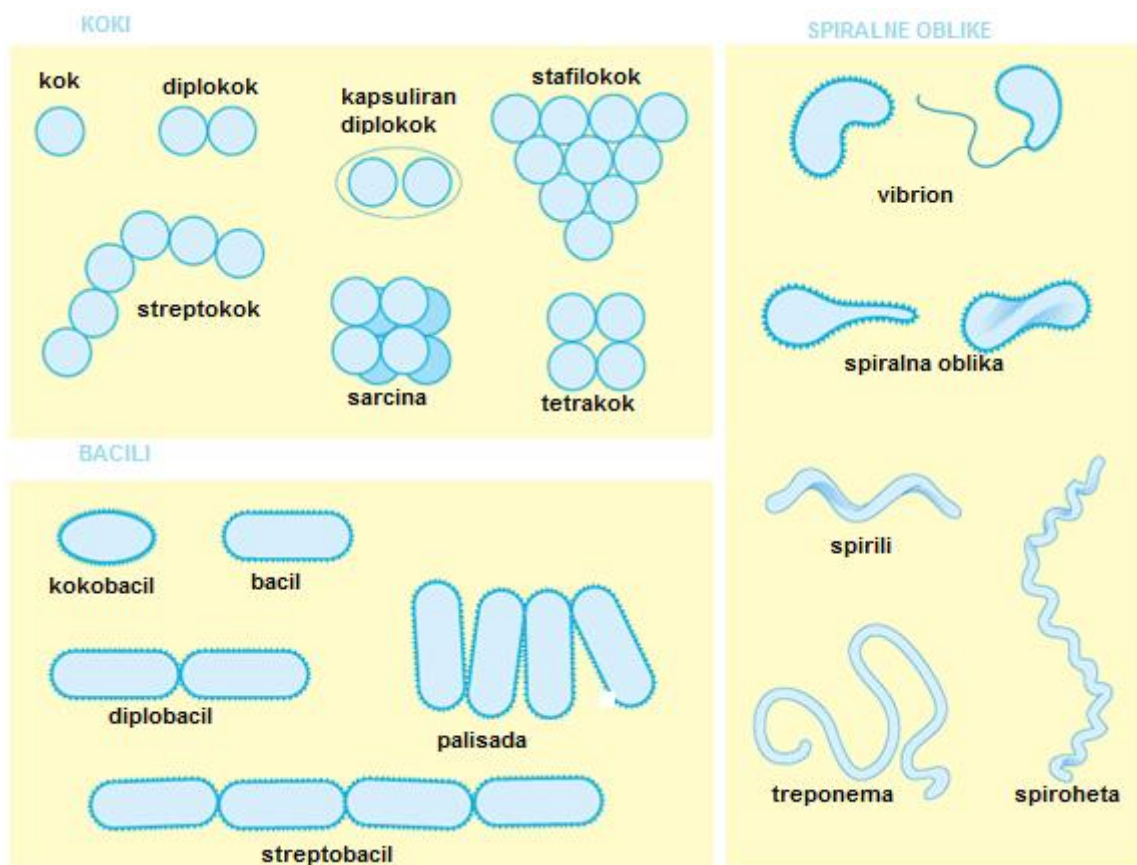
Za **enostavno barvanje** uporabimo samo **eno barvilo**, npr. metilensko modrilo. Razlikujemo le obliko bakterij.

Pri **sestavljenu barvanju** uporabimo **dva ali več barvil**. Najpogosteje se uporablja **barvanje po Gramu** (metilvijolično, lugol, etanol, fuksin ali safranin). Na osnovi tega barvanja razlikujemo po Gramu pozitivne (obarvajo se modrovijolično) in po Gramu negativne (obarvajo se rdeče) bakterije. Sposobnost sprejemanja barve je odvisna od zgradbe celične stene bakterije.

Pri **bakterijah**, ki imajo v celični steni **veliko maščob in voskov**, moramo uporabiti **barvanje po Ziehlju in Neelsenu**, kjer moramo barvilo karbolfuksin segreti do vrenja, da se posebna skupina bakterij (mikobakterije) obarva rdeče na modrem ozadju.

Oblike bakterij

Večina bakterij je monomorfnih (imajo lahko le eno obliko), nekatere pa so pleomorfne (imajo lahko več oblik). Njihove oblike so zelo različne. Značilne bakterije imajo **tri osnovne oblike**: okrogle – koki, paličaste – bacili in svedraste (spiralne) – spirohete. Na sliki vidimo različne bakterije.



Slika 4: Osnovne oblike bakterij

Vir: http://hr.wikipedia.org/wiki/Datoteka:Dijagram_morfologije_bakterija.png

Koki so lahko okrogle ali jajčaste oblike, urejeni v grozde ali skupine (stafilokoki), verižice (streptokoki), v pare (diplokoki), po štiri skupaj (tetrade) ali po osem (sarcine).

Bacili so lahko tanki ali dolgi, kratki ali debeli, vretenasti ali oglati, pa tudi razvejani. Bacili ali palčke so lahko razporejeni v verižicah (streptobacili), razmetani v obliki kitajskih črk ali zloženi v palisadah. Včasih so zelo kratke palčke, podobne podolgovatim kokom in jih imenujemo kokobacili.

Spiralne bakterije so samo rahlo ukrivljene ali zavite, podobne vejici (vibrio), imajo le dva ali tri zavoje in so podobni črki S (spirili) ali pa so zelo tanke in dolge nitke s spiralnimi zavoji, podobne svedru (spirohete ali spiralne bakterije).

Velikost bakterij

Značilni koki so veliki približno 1 μm , bacili so dolgi od 2–5 μm in široki od 0,5–1,0 μm . Spiralne bakterije so dolge od 5–20 μm , široke pa od 0,1–0,2 μm . Posamezne celice v kulturi so različno velike, vendar ima bakterijska vrsta značilno povprečno velikost.

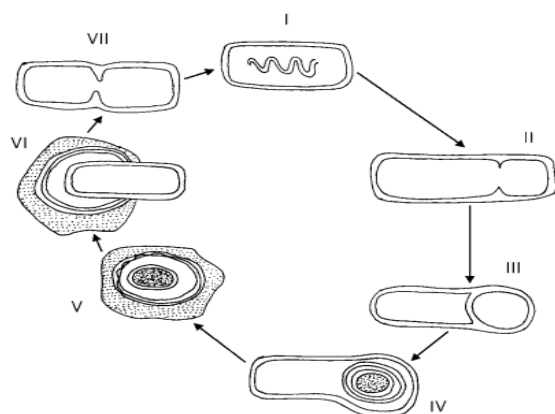
Zgradba bakterij

Tipične bakterije imajo citoplazmo, v kateri je jedru podobna dedna snov – največkrat krožni kromosom v obliki klobčiča (jedrovina ali nukleotid) in ribosomi, citoplazemsko membrano in debelo celično steno. Nekatere bakterije imajo na površini sluzni ovoj, gibljive bakterije pa tudi bičke ali flagele. Veliko bakterij, predvsem pa po Gramu negativne, imajo še drobne lasaste izrastke na površini, ki jim omogoča prilepljanje na celice gostiteljice.

Celična stena je pomemben del celice. Daje ji stalno obliko. Je trdna in jo težko strgamo. Sestavljajo jo tudi molekule, ki jih nikjer v naravi ne najdemo. Bakterijska celična stena je tako trdna, da največkrat obdrži obliko tudi, če nanjo delujejo močni fizikalni ali kemični vplivi.

Sporulacija

Mnoge **paličaste bakterije** imajo sposobnost, da se v zanje **neugodnih okoliščinah spremenijo v sporo**. To **imenujemo sporulacija**. Spora je mirujoča oblika bakterije, ki se ne deli. Ovoj spore je sestavljen iz petih plasti, zato je zelo odporen na fizikalne (visoke temperature, povišan pritisk ...) in kemične vplive (razkužila, čistila ...). V notranjosti ima ves za življenje potreben material. V okolju preživijo spore zelo dolgo, tudi več let. Ko spet pridejo v ugodno okolje, skalijo. Iz njih ponovno zraste dejavna oblika (vegetativna oblika). Bakterije se spremenijo v sporo (sporulirajo) le v okolju, ne v tkivih.



- I – bakterija
- II – nastanek pregrade
- III – nastanek spore
- IV – spora v bakteriji
- V – spora v okolju

Slika 5: Bakterijska sporulacija

Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

Ker so spore zelo odporne proti sušenju, toploti in razkužilom, lahko v okolju, na predmetih in v raztopinah preživijo dolgo, tudi več let. Zato je pomembno, da se pri konzerviranju živil upošteva stroge varnostne ukrepe.

Rast in razmnoževanje bakterij

Ko bakterija zraste do običajne velikosti, se kromosom začne deliti s podvojevanjem DNK. Nato se naredi pregrada, ki razdeli celico tako, da vsaka od polovic dobi po en enak nastali kromosom. Celici se kasneje popolnoma ločita. **Delitev bakterijske celice imenujemo tudi prečna razpolovitev.** Nekatere celice ostanejo skupaj v parih, verižicah, skupkih ali vlaknih. Življenjska doba celic je do delitve (generacijski čas) različno dolga. Povprečen generacijski čas za bakterije je različen, najkrajši je 20–30 minut, najdaljši pa več kot 24 ur. Veliko posameznih bakterij skupaj sestavlja bakterijsko populacijo. Število bakterijskih celic v populaciji lahko že v nekaj urah hitro naraste, npr. od 10^5 na 10^{10} . Bakterijska populacija raste v značilni krivulji, ki jo imenujemo rastna krivulja.

Presnova bakterij

Glavne presnovne poti bakterij so podobne potem presnove, ki so značilne za rastlinske in živalske celice. Pri bakterijah presnova poteka hitro, saj sprejemajo hrano skozi vso površino, ki je v primerjavi s prostornino celice velika.

2.3 Glive

So evkariontski organizmi, ki živijo kot zajedavke in gniloživke. So heterotrofne, gniloživke se hranijo z mrtvo organsko snovjo. **Živijo v zemlji in vodah**, zato jih **imenujemo** tudi **saprofitne glive**. Več sto gliv zajeda rastline, nekatere pa tudi živali in človeka in tako dobijo hrano za rast. To so parazitske glive.

Glive človeku tudi koristijo, saj so nekatere cenjena hrana, ob pomoči drugih pa pridobivamo hrano in zdravila.

Zgradba in razmnoževanje gliv

Glive so zgrajene kot druge evkariontske celice. Imajo trdno celično steno, ki obdaja plazemsko membrano. Glive so lahko v obliki posameznih celic ali dolgih niti – hif.

Glive se razmnožujejo večinoma nespolno z mitozo, z brstenjem – kvasovke, s sporami – plesni, ki pa se zaradi svoje vloge razlikujejo od bakterijskih spor. Spolno se razmnožujejo tako, da se združi citoplazma dveh celic in nato jedrna snov. Tako nastale zigote izdelujejo spore, te pa se nato razmnožujejo nespolno. Ko pridejo glivne spore v ugodno okolje, vzbrstijo v dolge vlaknate hife. Splet hif imenujemo micelij. Oblike micelijev in spor so značilne za posamezno vrsto plesni.

Raznolikost gliv

Ločimo :

- kvasovke
- plesni

Kvasovke so enocelične in se razmnožujejo nespolno z brstenjem. Celica naredi izrastek in se pozneje razpolovi. Nekatere celice se ne razdvojijo, pač pa tvorijo podolgovate oblike (hife) in *pseudomicelij*.

Plesni so večcelični evkariontski mikroorganizmi. Imenujemo jih tudi **nitaste** ali filamentozne **glive**. Sestavljene so iz *razvejanih niti*, ki tvorijo *micelij*. Micelij večinoma vsebuje pregrade – to velja za višje glive. Nižje glive teh pregrad nimajo. Plesni se razmnožujejo s sporami, ki nastanejo nespolno ali s spolno delitvijo celic.

Dimorfne glive lahko menjajo rast in se pojavljajo v obliki kvasovk ali tvorijo micelij, to pa je odvisno od okoliščin rasti. Veliko gliv, ki so človekovemu zdravju škodljive je dimorfnih.

Glive, ki so povzročitelji bolezni pri človeku

Glive najdemo v normalni mikrobni populaciji človeških sluznic.

Glive, ki povzročajo bolezni pri človeku imenujemo **mikoze**. Pogosteje se pojavljajo pri ljudeh, ki imajo zmanjšano odpornost (imunski sistem) organizma. Površinske in kožne okužbe povzročajo dolgotrajne spremembe na koži, lasišču in nohtih. Pri nas so najpogostejše kožne okužbe, ki jih povzročajo kožne glive. Okužimo se s stikom ali prek okuženih površin ali predmetov, zlasti v javnih kopališčih in zimskih kopalnih bazenih.

Sistemske okužbe zajemajo enega ali več organov. Povzročijo jih največkrat glive, ki živijo v okolju, v zemlji ali na razpadajočih organskih ostankih. Okužba nastane z vdihovanjem zraka in prahu, okuženega s sporami gliv, in skoraj vedno zajame pljuča.

Nekatere plesni se razmnožujejo v hrani, zlasti žitu, kjer izločajo strupe, škodljive za človeka.

Uporaba gliv

Uporabnost gliv je zelo raznolika:

Uporabljamo jih v živilski industriji (proizvodnja alkoholnih pijač, kisanje zelje in repe, v slaščičarstvu in pekarstvu ...), v farmacevtski industriji (proizvodnja antibiotikov), kemični industriji (proizvodnja različnih organskih kislin) ...

2.4 Alge

So fotosintetizirajoči evkarionti zelo različnih oblik. Razmnožujejo se spolno in nespolno. Ponavadi so enocelične. Celične stene večine alg so v glavnem iz celuloze. Živijo v sladki in slani vodi, v tleh in v združbi z rastlinami. Potrebujejo svetlobo in zrak za pridelavo hrane in za rast. Proizvajajo kisik in ogljikove hidrate, ki jih uporabljajo drugi organizmi, tudi živali. Pomembne so za ohranjanje ravnotežja v naravi.

Delitev alg

Alge lahko sistematiziramo na več načinov. Lahko jih delimo po morfoloških značilnosti (oblika steljke) ali pa na podlagi biokemijskih lastnosti (prisotnosti ali odsotnosti barvil). Pri nekaterih algah opazimo posebno obliko vedenja, ki spominja na vedenje živali, zato jih nekateri znanstveniki uvrščajo med živali, spet drugi k rastlinam (npr. *Dinoflagellata* oz. *Dinophyta*, *Euglenophyta*).

Glede na obliko steljke jih delimo na:

Bičkasta stopnja – celica ima enega ali več bičkov, taka celica je lahko samostojna, lahko pa se več takih celic poveže. Predstavniki so navadno enocelični organizmi (npr. *Euglena*, *Chlamidomonas*), ki lahko tvorijo tudi kolonije.

Kroglasta stopnja – celica nima več bička oz. bičkov. Celica je lahko samostojna, lahko pa se povežejo. Predstavniki te skupine so navadno enocelični do kolonijski organizmi, ki pa nimajo bičkov in zato ne morejo aktivno plavati. Celična stena je samo ena.

Nitasta stopnja – taka steljka je vedno večcelična, posamezne celice v steljki nimajo bičkov. Alge so zgrajene iz podolgovatih, nebičkastih celic, ki lahko tvorijo dolge nitke (*Spirogyra*). Celice so lahko samostojne.

Tkivno steljčna stopnja: pojavlja se samo pri visoko razvitih rjavih algah (*Phaeophyceae*). Pri steljki že opazimo delno tkivno diferenciacijo.

Cevasta stopnja – steljko gradi samo ena, mnogojedna (t.i. polienergidna) makroskopska celica (vidna s prostim očesom), (primer morski dežniček).

Alge

Vse druge alge so evkarionti in vršijo fotosintezo v kloroplasti.

Alge kot prehrambno sredstvo

Alge so kot hrano najbolj razširjene na Japonskem. Najbolj so znane kot sestavina za suši (makezushi), kot dodatek pri juhah, za dekoracijo oz. kot začimba. Tri najbolj znane vrste predelanih alg so: nori (v obliki lista papirja), kombu in wakame. Alge se uporabljajo tudi kot prehransko dopolnilo (največ vrste iz rodov *Spirulina* in *Chlorella*).

2.5 PARAZITOLOGIJA

Parazitologija je veda o zajedalcih ali parazitih.

Praživali

So enocelični mikroorganizmi velikosti od 4 do 45 μm . Uvrščamo jih med enocelične parazite. Poleg že znanih celičnih struktur imajo še posebne organele, ki opravljajo različne naloge. Premikajo se z bički, migetalkami ali panožicami.

Nekatere živijo v naravi v sladkih in morskih vodah, druge pa kot zajedavci človeka in živali povzročajo bolezni.

Delitev praživali:

- Bičkarji
- Korenonožci
- Migetalkarji
- Trosovc

Bičkarji imajo vretenasto ali hruškasto telo z enim ali več bički. Nekateri imajo še valujočo mrenico. Med tistimi, ki ogrožajo človekovo zdravje, so povzročitelji spolne bolezni ali tripanosomioze (*Trypanosoma sp.*), lišmenioze (*Leishmania sp.*) in trihomonioze (*Trichomonas sp.*).

Korenonožci imajo ovalno telo, ki spreminja obliko, gibljejo se s panožicami. Za človeka patogena je npr. *Entamoeba histolytica*. Razmnožuje se z delitvijo na dvoje.

Migetalkarji imajo migetalko in številne organele, ki opravljajo naloge preprostih ust, želodca in ledvic. Kot človekov zajedavec je zanimiv le *Balantidium coli*.

Med **trosovc** uvrščamo povzročitelje malarije, ki pripadajo rodu Plasmodium. So notranji zajedavci. Najdemo jih predvsem v krvi in jetrih. Nimajo organelov za premikanje. Razmnožujejo se spolno s trosi (sporogonija), pa tudi nespolno (shizogonija). K trosovcem prištevamo še povzročitelje toksoplazmoze *Toxoplasma gondii*.

Večcelični paraziti

Človeški zajedavci so tudi večcelične živali iz debela nečlenarjev. Človekovo zdravje prizadenejo živali iz razreda metljajev (*Trematoda*), trakulj (*Cestoda*) in glist (*Nematoda*).

Trakulje imajo plosko telo, zgrajeno iz trdnega, gobastega parenhima. Trakulje so dvospolniki (hermafroditi). Telo tvorijo glava in številni členki. Dolžina trakulj je lahko različna, od nekaj milimetrov pa do nekaj metrov. Na glavi imajo organe za pritrditev (kaveljce in priseske) na gostiteljevo črevo. Trakulje živijo v dveh gostiteljih, v enem kot ličinka, ki se razvije iz jajčeca, v drugem pa kot odrasla žival, ki se razvije iz ličinke. Vse trakulje proizvajajo veliko jajčec.

Metljaji imajo plosko telo z enim ali več priseski. Razvojni krog metljajev je zelo zapleten in vezan na različne vmesne gostitelje. Iz jajčec, ki so z iztrebki prišla v okolje, se razvije prva ličinka v vodnem polžu. Ta ličinka se preobrazi v drugo in tretjo ličinko, ki živi prosto zunaj polža, ter pride v telo končnega gostitelja s travo ali vodo. Iz ličinke, ki potuje po telesu iz prebavil v krvni obtok, zraste v jetrih odrasla žival. Z odlaganjem jajčec in njihovim izločanjem v okolje je krog sklenjen. Če ličinka ne najde končnega gostitelja, propade. Prvotni gostitelj metljajev je govedo, vendar se lahko okuži tudi človek.

Gliste so vodne, kopenske ali pa zajedajo človeka, živali, pa tudi rastline. Spola sta ločena. Samci so nekaj manjši od samic. Gliste, ki povzročajo bolezni, so velike od nekaj milimetrov do nekaj decimetrov. Samice odlagajo številna jajčeca.

Navadna človeška glista (*Ascaris lumbricoides*) živi vse življenje v enem gostitelju. V jajčecu se razvije v okolju prva ličinka, ki se nato levi v drugo. Ta pride v prebavila, kjer se razvoj nadaljuje; med večkratnimi levitvami ličinka potuje po telesu, dokler ne pride v prebavila, kjer odrasla žival odlaga jajčeca, ki pridejo v okolje z iztrebki gostitelja (človeka). Tak življenjski krog imenujemo neposreden.

3 PRESNOVA ALI METABOLIZEM

Presnova ali metabolizem so biokemijske reakcije, ki potekajo v živem organizmu. Je izravnavanje količine energije, ker se pri nekaterih reakcijah porablja, pri drugih pa energija nastaja.

Glede na porabo energije presnovne reakcije razdelimo v dve skupini:

Katabolne ali razgradne reakcije. Pri teh reakcijah iz večjih molekul (beljakovin, maščob, ogljikovih hidratov) nastajajo manjše (aminokislina, maščobne kisline in glicerol, enostavni sladkorji). Pri tem se energije sprošča.

Anabolne ali izgradne reakcije. Pri teh iz enostavnih molekul (aminokislina, maščobne kisline in glicerol, enostavni sladkorji) nastanejo sestavljene molekule (beljakovine, maščobe, ogljikovi hidrati). Pri teh reakcijah se energija porablja.

Vsi organizmi, tudi mikroorganizmi, vplivajo na svoje okolje in ga spreminjajo. Mikroorganizmi povzročajo predvsem kemične spremembe v okolju, v katerem živijo. Iz okolja porabljajo hranilne snovi in izločajo vanj presnovne produkte. Molekule hranilnih snovi so prevelike, da bi lahko vstopile v celico mikroorganizma. Zato izločajo v okolje eksoencime, ki pomagajo razgraditi hranilne snovi.

3.1 Encimi

So biokatalizatorji, ki pospešujejo kemijske reakcije v živi celici. Po kemijski zgradbi so beljakovine. Aktivni so pri temperaturah od 37 do 50 °C. Temperature, ki so višje od 70 °C jih uničijo. Nizke temperature pa upočasnijo njihovo delovanje. Kisel ali bazičen pH ter alkohol onemogočajo delovanje encimov.

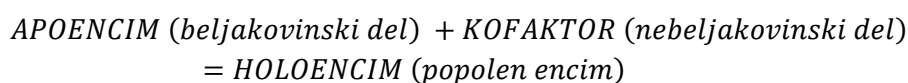
Encimi delujejo ne okolje in ga spreminjajo. V reakcijah, kjer nastopajo se ne porabljajo, niso sestavni del produkta in po končani reakciji nespremenjeni vstopajo v novo reakcijo.

Zgradba encimov:

Večina encimov je zgrajenih iz dveh delov. En del je **beljakovinski – apoencim**, drugi del pa **nebeljakovinski – kofaktor**. **Celoten encim** se imenuje **holoencim**. Encim preneha delovati, če mu odstranimo kofaktor. Kofaktor je lahko kovinski ion ali kompleksna organska spojina, ki jo imenujemo koencim.

Nekateri kofaktorji so ioni kovin (Fe, Cu, Mg, Mn, Zn, Ca, Co ...). Ti pomagajo pospešiti ali katalizirati reakcijo tako, da ustvarijo most med encimom in substratom.

Nekateri encimi so sestavljeni samo iz beljakovine.



KOFAKTOR – kompleksna organska spojina ali kovinski ion

Poimenovanje encimov:

Imena encimov imajo ponavadi končnico – AZA. Npr: hidrolaza, lipaza, amilaza ...

Poimenujemo jih glede na:

- **tip reakcije:** oksidaze (sodelujejo pri oksidacijah), reduktaze (sodelujejo pri redukcijah), hidrolaze (sodelujejo pri reakcijah razgradnje – hidrolize) ...
- **tip substrata:** lipaze (sodelujejo pri razgradnji maščob ali lipidov), proteaze (sodelujejo pri razgradnji beljakovin ali proteinov) ...

Delovanje encimov

Encimi so specifični. Delujejo na določene snovi ali substrate, ki so običajno veliko manjši od encima. Delujejo po sistemu **ključ – ključavnica**.

Po mestu delovanja jih razdelimo:

- eksoencimi – delujejo zunaj celice,
- endoencimi – delujejo znotraj celice,
- ektoencimi – vezani so na celično steno in delujejo navzven.

Dejavniki, ki vplivajo na aktivnost encimov:

Količina substrata. Substrat je snov na katero deluje encim. Z naraščajočo količino substrata narašča aktivnost encima. Če se količina substrata še naprej veča, aktivnost encima ne narašča več.

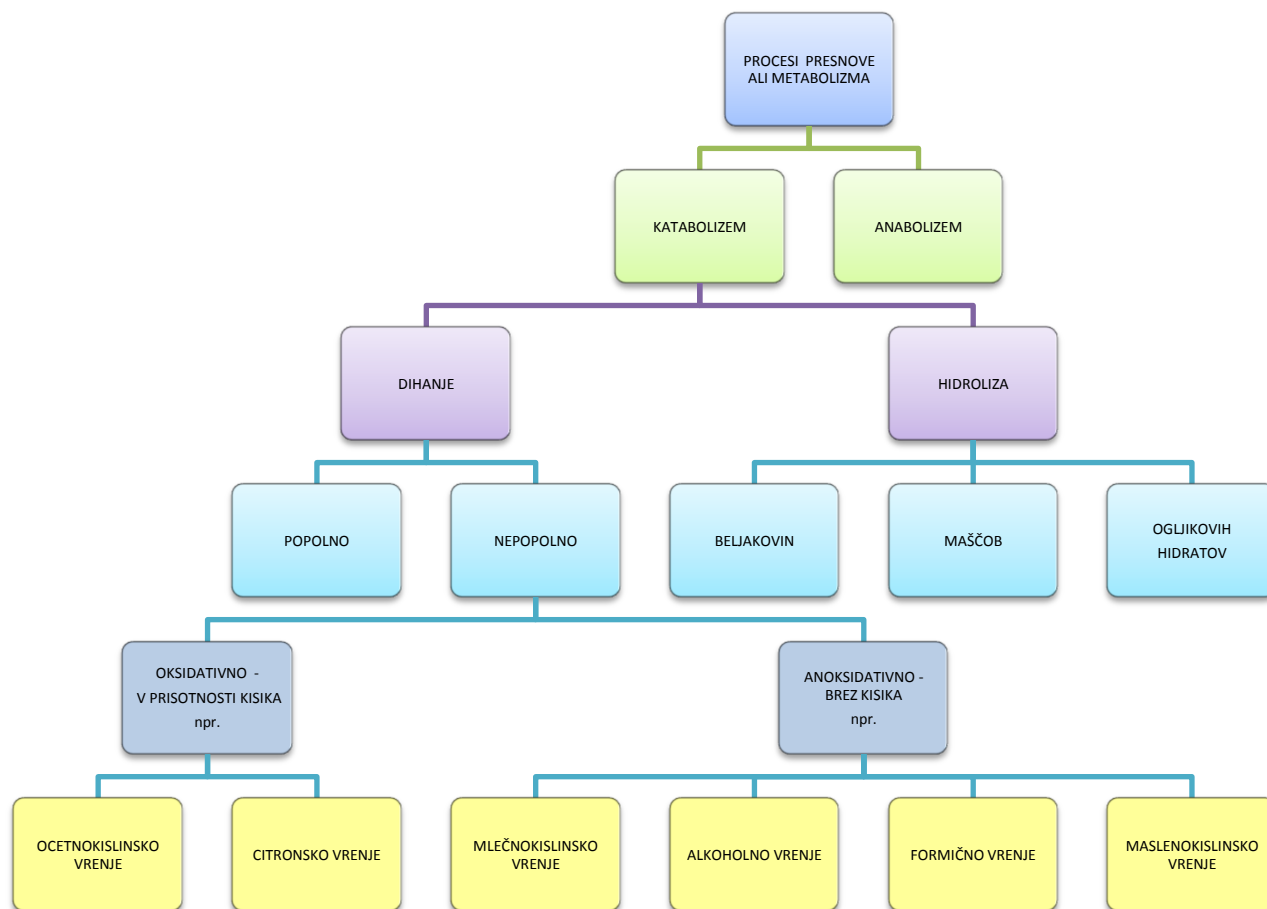
Temperatura. Vsak encim ima idealno temperaturno območje delovanja, minimalno in maksimalno. Aktivnost encimov narašča z naraščanjem temperature, vendar le do idealne oziroma optimalne temperature delovanja.

Kislost okolja ali pH stopnja. Večina encimov ima svojo optimalno vrednost pH, pri kateri je njihova aktivnost največja. Vrednosti pH, ki so večje ali manjše od idealne, zmanjšujejo delovanje encimov.

Zaviralci ali inhibitorji encimov. To so snovi, ki zavirajo delovanje encimov. Delujejo na različne načine, zato poznamo več vrst zaviralcev:

- Tekmovalni ali konkurenčni zaviralci – vežejo se na encim, namesto substrata in preprečujejo delovanje encima.
- Netekmovalni ali nekonkurenčni zaviralci – zaviralec povzroči spremembo oblike encima. Zaradi spremenjene oblike, se delovanje encima zmanjša. Sprememba oblike je lahko povratna ali nepovratna. Če je sprememba oblike nepovratna pomeni, da je delovanje encima trajno onemogočeno.

3.2 Procesi presnove ali metabolizma



Shema 1: Procesi presnove ali metabolizma

Vir: Lasten

Razgradnja ali hidroliza ogljikovih hidratov

Sestavljene ogljikove hidrate kot so škrob, celuloza in pektin razgrajujejo le redki mikroorganizmi s svojimi encimi.

Razgradnja škroba poteka s pomočjo nekaterih plesni (*Penicillium*, *Aspergillus*) in bakterij rodov *Bacillus* in *Aspergillus*. Ti mikroorganizmi proizvajajo encime iz skupine hidrolaz. To vrsto kvara zaznamo s spremembo barve, vonja in teksture.

Razgradnja celuloze poteka s pomočjo nekaterih plesni (*Penicillium*, *Aspergillus*) in redkih bakterij (*Bacillus*, *Aspergillus*), ki proizvajajo encim celulazo. Celuloza daje rastlinam obliko in trdnost. Je težko razgradljiva.

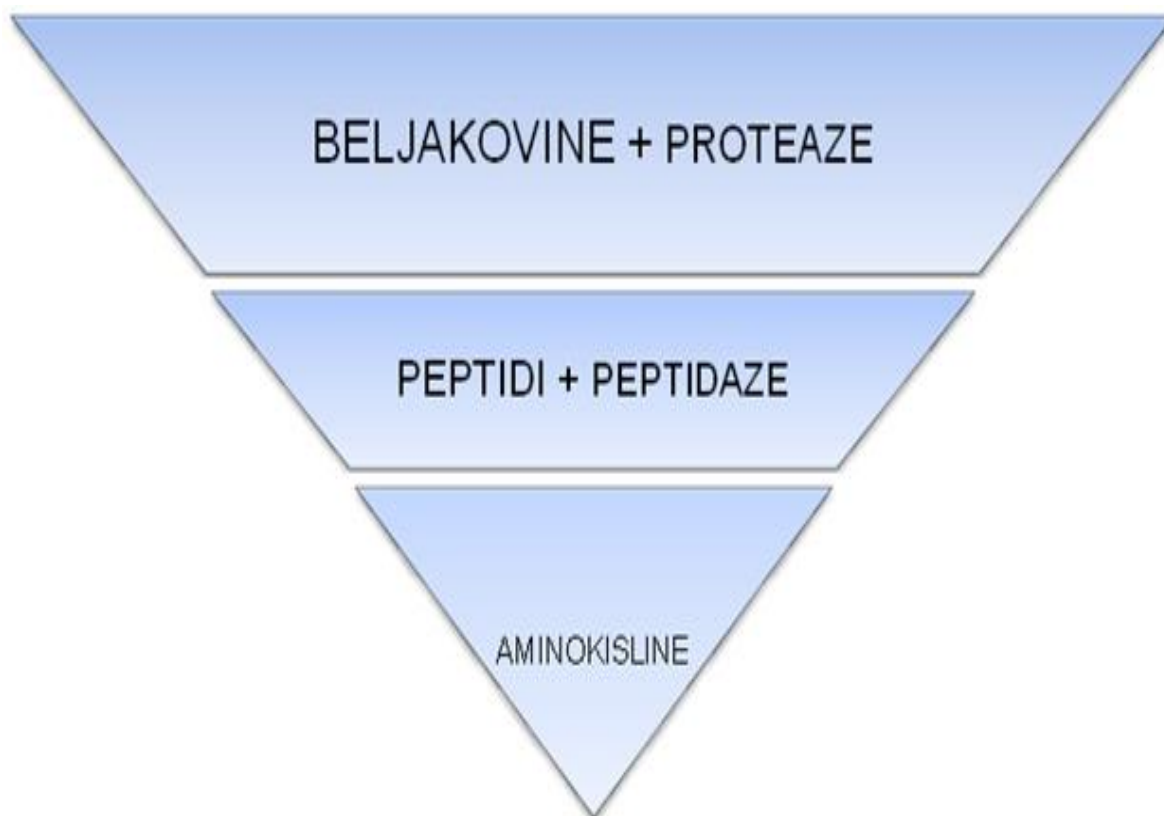
Pektine v celičnih stenah rastlin razgrajujejo mnoge plesni, kvasovke in nekatere bakterije, pri čemer uničijo oporno tkivo in ga mehčajo (mehka gniloba).

Ogljikove hidrate z nižjo molekularno težo, zlasti sladkorje, izkoriščajo kot hrano vse vrste mikroorganizmov. Živila, ki vsebujejo veliko sladkorjev kvarijo mikroorganizmi, ki ne potrebujejo kisika za svojo rast. Kvar se kaže s kisanjem, tvorbo plina, tvorbo alkohola, neprijetno dišečih kislin, kot je na primer maslena kislina. Kvasovke prevrevajo sladkor do etanola in ogljikovega dioksida, etanol pa naprej oksidirajo oacetnokislinske bakterije do očetne kisline. Klostridiji (bakterije) prevrevajo glukozo do maslene kisline, acetata in plina (CO_2 , H_2).

Razgradnja ali hidroliza beljakovin

Razgradnjo beljakovin povzročajo hidrolaze, ki se imenujejo proteaze in peptidaze. Razgradnjo beljakovin imenujemo tudi **gnitje**.

Beljakovinska živila se pokvarijo tem hitreje, čim višja je njihova vsebnost aminokislin, nizkomolekularnih peptidov in topnih dušikovih spojin. Ko mikroorganizmi izčrpajo te snovi, se šele prične razgradnja beljakovin s proteazami.



Shema 2: Razgradnja beljakovin

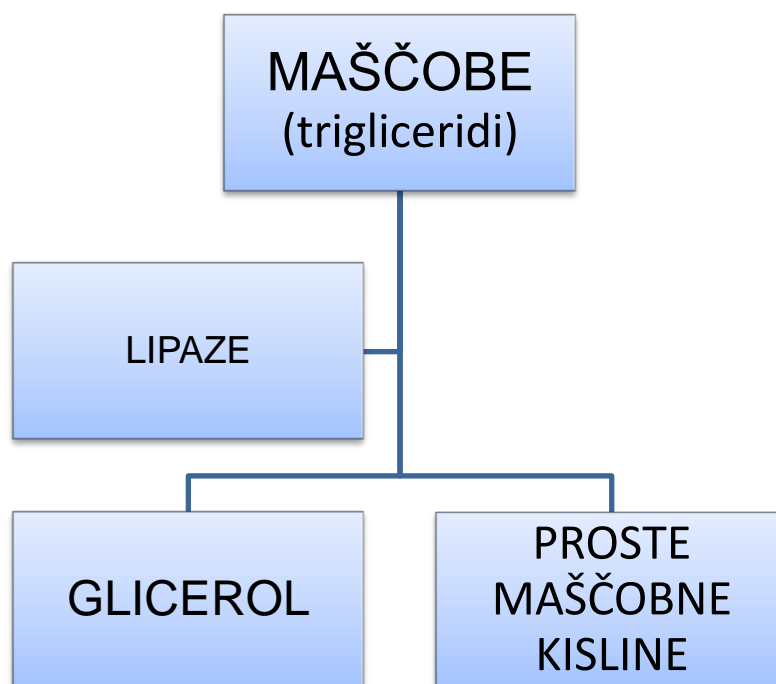
Vir: Lasten

Pri tej razgradnji se tvorijo produkti kot so: sečnina, amonijak, H_2S , ogljikov dioksid, biogeni amini ... Neprijetno spremenijo organoleptične lastnosti (vonj, okus, barvo, teksturo).

Razgradnja beljakovin poteče s pomočjo bakterij (*Pseudomonas*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*) in gliv (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*).

Razgradnja ali hidroliza maščob

Maščobe so trigliceridi, ki jih mnoge plesni, kvasovke in bakterije s pomočjo encimov esteraz razgrajujejo. Najbolj razširjena esteraza je lipaza.



Shema 3: Razgradnja maščob

Vir: Lasten

Proste maščobne kisline (maslena, kapronska, kaprilna in kaprinska), ki nastanejo z razgradnjo maščob, povzročijo žarek priokus in kislost maščobnih živil. Razgradnja maščob poteka hidrolitično, zato mora biti v živilu prisotna tudi vlaga. Vse spojine, ki nastanejo z oksidativno razgradnjo maščob, so senzorično dejavne snovi, ki neugodno vplivajo na organoleptične lastnosti živil. Le pri zorenju salam in nekaterih sirov imajo v majhnih odmerkih pozitivno vlogo pri nastanku posebnega vonja.

4 RAST MIKROORGANIZMOV IN KONTROLA NJIHOVE RASTI

Rast mikroorganizmov pomeni, da se večja njihovo število in ne ena sama celica. Mikroorganizmi rastejo v svojem naravnem okolju, kateremu so prilagojeni.

Mikroorganizmi uporabljajo za rast različna hranila. Ločimo dve glavni skupini mikroorganizmov glede na hranila, ki jih izkoriščajo:

Avtotrofi – živijo na anorganskih snoveh in imajo sposobnost, da sami izdelajo vse potrebne sestavine iz preprostih anorganskih spojin. To pomeni, da za pridobitev energije, za rast in graditev celice izkoriščajo enostavne anorganske snovi iz okolja (CO_2 , voda, sulfate, nitrate, fosfate idr. spojine).

Heterotrofi – potrebujejo za svoj obstoj že pripravljene organske spojine. Z razgradnjo makromolekul (beljakovine, maščobe, ogljikovi hidrati) dobijo aminokislino, maščobne kisline ter disaharide in monosaharide. Te nato prenesejo v celico, da dobijo potrebno energijo, ki jo potrebujejo za rast in razvoj.

V laboratoriju jih gojimo za različne namene:

- Sistematizacijo (določanje vrste, rodu ...).
- Za proučevanje njihovih fizioloških in morfoloških lastnosti.
- Za pridobivanje metabolnih produktov (vzgoja kultur v biotehnologiji).
- Za uporabo v proizvodnji (živilski, kemijski, farmacevtski industriji, rudarstvu, odpadne vode, kmetijstvu ...).

4.1 POGOJI ZA RAST MIKROORGANIZMOV

Mikrobna populacija se lahko v kratkem času namnoži. V kolikor poznamo pogoje, ki jih mikroorganizmi potrebujejo za rast, lahko predvidimo, kako hitro se bodo določene vrste razmnoževale v določenih razmerah v okolju. Določimo lahko tudi način kontrole zdravju škodljivih (patogenih) mikroorganizmov ter mikroorganizmov, ki kvarijo živila. Hkrati lahko spodbujamo rast koristnih mikroorganizmov.

Mikroorganizmi potrebujejo za rast določene pogoje. Te pogoje delimo v dve skupini:

1. Fizikalni pogoji – temperatura, pH, osmotski pritisk.
2. Kemijski pogoji – voda, hrana (viri ogljika in dušika, minerali), prisotnost kisika in rastni faktorji.

Fizikalni pogoji

Temperatura

Večina mikroorganizmov živi v določenem temperaturnem območju, ki je omejeno z minimalno in maksimalno temperaturo rasti. Optimalna temperatura rasti je med minimalno in maksimalno temperaturo.

Minimalna in maksimalna temperatura sta vrednosti, pri kateri določena vrsta mikroorganizmov še normalno raste pri najnižji in najvišji vrednosti tega območja. Optimalna temperatura je temperatura, pri kateri določena vrsta mikroorganizmov najbolje raste. Glede na to, v katerem temperaturnem območju posamezni mikroorganizmi najbolje delujejo ali rastejo, jih razdelimo na: psihrofile, mezofile in termofile.

Kislost okolja

Večina bakterij živi v območju pH, ki je blizu nevtralnemu. Območje pH, v katerem živijo, je omejeno z minimalnim in maksimalnim pH.

Minimalni pH je najnižja vrednost pH v okolju, pri katerem mikroorganizmi določene vrste še lahko rastejo. Maksimalni pH je najvišja vrednost pH v okolju, pri katerem mikroorganizmi določene vrste še lahko živijo.

Večina bakterij najbolje raste pri vrednosti pH med 6,5 in 7,5. S povišano ali znižano kislinsko stopnjo lahko zaščitimo živila pred njihovim delovanjem (kislo zelje, v kis vložena zelenjava, nekatere vrste sirov ...). Izjema so bakterije, ki rastejo v kislem okolju. Plesni in kvasovke živijo v širšem območju pH kot bakterije. Optimalni pH plesni in kvasovk je nižji kot pri bakterijah, večina jih živi v pH območju od 4,5 do 5,5. Mikroorganizmi težko rastejo tudi v bazičnem okolju, vendar za podaljšanje obstojnosti živil ne zvišujemo pH nad 7.

Osmotski pritisk

Mikroorganizmi večino hranilnih snovi dobijo iz vodnih raztopin, ki jih obdajajo. Za rast nujno potrebujejo vodo. V njihovih celicah je od 80 do 90 % vode. Visok osmotski pritisk povzroči, da se iz njih izloči prosta voda, kar povzroči plazmolizo in krčenje celic. Celična stena se ne spremeni. Takšno delovanje raztopine soli ali sladkorja na mikroorganizme nam omogoča, da to lastnost uporabimo za podaljšanje obstojnosti živil. Soljene ribe, med in sladkano kondenzirano mleko so dalj časa obstojni zaradi povečanega osmotskega pritiska.

Nekatere bakterije so se prilagodile življenju v **okolju z visoko koncentracijo soli**, imenujemo jih **halofilne bakterije**. Našli so jih v vodah Mrtvega morja.

Kemijski pogoji

Ogljik

Za rast mikroorganizmov je poleg količine vode pomemben tudi vir ogljika. Potreben je za izgradnjo vseh organskih snovi, ki gradijo celico. To so beljakovine, maščobe in ogljikovi hidrati. Predstavlja četrtno teže suhe snovi celice.

Dušik, fosfor, žveplo

Ti trije elementi so potrebni za izgradnjo celičnega materiala, predvsem za izgradnjo beljakovin ter DNK in RNK. Fosfor je pomemben za nastanek molekul ATP, v katerem se nalaga kemijska energija. Dušik, fosfor in žveplo skupaj predstavljajo 18 % teže suhe snovi celice. Od tega je dušika 15 %. Dušik je potreben za izgradnjo aminokislin. Mnoge bakterije ga dobijo z razgradnjo beljakovin. Žveplo je potrebno za izgradnjo aminokislin, ki vsebujejo žveplo in vitamine (biotin, tiamin). Fosfor je potreben za nastanek DNK, RNK, ATP.

Mikroelementi (elementi v sledih)

So snovi, ki jih celica potrebuje za normalno delovanje, vendar v zelo majhnih količinah (železo, baker, cink, molibden ...). Običajno so vgrajeni v encime.

Kisik

Veliko oblik življenja ga potrebuje za aerobno dihanje. Molekule kisika se združijo z vodikom, ki se izloči iz organskih snovi, pri tem nastanejo molekule vode. Pri tem procesu se sprošča energija.

Organizme, ki **uporabljajo molekularni kisik**, imenujemo **aerobni organizmi**. **Obligatno aerobni** so tisti, ki za življenje **nujno potrebujejo kisik**. Lahko živijo le v okolju, kjer je dovolj kisika. Zato so se razvili organizmi, ki sicer potrebujejo kisik, vendar lahko rastejo tudi, če kisik ni prisoten. Imenujejo jih **fakultativno aerobni**. Ko pridejo v okolje brez kisika, lahko namesto aerobnega dihanja uporabijo fermentacijo ali anaerobno dihanje. **Obligatno anaerobni** so mikroorganizmi, ki niso sposobni uporabiti molekularnega kisika za reakcije pridobivanja energije. V njihovih celicah nastane vodikov peroksid, ki poškoduje njihove celice, če uporabijo molekularni kisik. Aerobni mikroorganizmi imajo encime, ki razgradijo vodikov peroksid. **Anaerobni mikroorganizmi** teh encimov nimajo, zato se v njihovih celicah nabira vodikov peroksid, ki celice poškoduje. **Mikroaerofilni** mikroorganizmi so tisti, ki lahko kisik prenašajo in imajo encime, ki nastali vodikov peroksid razgradijo.

Rastni faktorji

Organski rastni faktorji so esencialne organske snovi, ki jih organizem sam ne more narediti. Dobiti jih mora iz okolja. Organski rastni faktorji so za nekatere bakterije aminokislino, purini in pirimidini. Nekaterim bakterijam manjkajo encimi za izgradnjo nekaterih vitaminov, zato so ti vitamini zanje rastni faktorji.

4.2 Hranilne podlage ali gojišča

Hranilne podlage so hranilne snovi, pripravljene za gojenje mikroorganizmov v laboratorijskih razmerah. Gojišča so vse snovi, na ali v katerih lahko rastejo mikroorganizmi. Med gojišča lahko uvrstimo tudi vsa živila, ker na ali v vsakem živilu lahko zraste vsaj ena vrsta mikroorganizmov. Ko se trudimo podaljšati obstojnost živil, poskušamo v živilu vzpostaviti razmere, ki onemogočajo rast mikroorganizmom. Mikroorganizmi za rast potrebujejo določene pogoje, ki so odvisni od vrste, ki jo želimo gojiti.

Da bodo mikroorganizmi na določenem gojišču rasti, mora le-to izpolnjevati določene pogoje:

- vsebovati mora hranilne snovi (v določenem razmerju), kot jih potrebuje določena vrsta mikroorganizmov,
- vsebovati mora dovolj proste vode,
- imeti mora primeren pH (ne sme se spremeniti v času rasti mikroorganizmov),
- imeti mora primeren redoks potencial.

Pred uporabo hranilne podlage mora biti ta popolnoma sterilna. Ne sme vsebovati živih mikroorganizmov. Na njej morajo rasti samo mikroorganizmi, ki jih mi sami cepimo ali jih prenesemo nanjo. Kultura mikroorganizmov, ki raste na tej podlagi mora imeti zagotovljeno primerno temperaturo. Pravimo, da gojišča **inkubiramo**, to pomeni, da jih **za določen čas postavimo v termostat ali inkubator**, ki vzdržuje primerno in enakomerno **temperaturo**.

Gojitev bakterij v laboratoriju

Za uporabo v laboratoriju je na voljo zelo veliko različnih vrst hranilnih podlag. Ločimo jih glede na poreklo, trdnost in namen uporabe.

Poreklo ali izvor podlag:

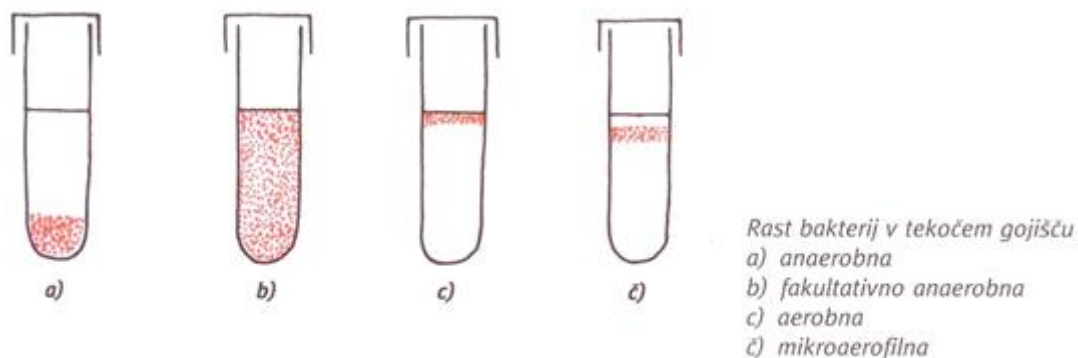
- naravne – rastlinske in naravne,
- sintetične ali umetne.

Trdnost (konsistenca) podlag:

- trdne – agar,
- tekoče – bujon.

Za gojitev bakterij uporabljamo trdna ali tekoča gojišča. Vir dušika je v obliki beljakovin in aminokislin, mesni izvleček, kvasni izvleček, kuhinjska sol, natrijevi in kalijeve fosfati in voda. Za trdnost gojišč dodajamo agar – agar, ki je pridobljen iz morskih alg.

V tekočih ali poltrdnih gojiščih rastejo bakterije razpršeno, kar vidimo s prostim očesom **kot motnost**, ali se usedajo na dno, kar vidimo **kot usedlino**. Če bakterije potrebujejo veliko zraka (aerobne), rastejo le na površini tekočega gojišča. Nekatere bakterije potrebujejo manj zraka oziroma kisika (mikroaerofilne) in rastejo v obliki prstanu podobne motnosti v zgornji tretjini gojišča v epruveti, drugim spet zrak škoduje in se razmnožujejo le na dnu epruvete (anaerobne). Fakultativno anaerobne bakterije uporabljajo obe presnovni poti, oksidativno in fermentativno, ter zato povzročijo enakomerno motnost v tekočem gojišču.



Slika 6: Rast bakterij v tekočem gojišču

Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

Na trdnih gojiščih pa lahko s prostim očesom opazujemo **drobne skupke bakterij**, ki jih imenujemo **bakterijske kolonije**. Večino bakterij gojimo v običajni atmosferi. Anaerobne bakterije moramo gojiti v posebnih posodah ali termostatih v atmosferi brez kisika.

Namen uporabe podlage:

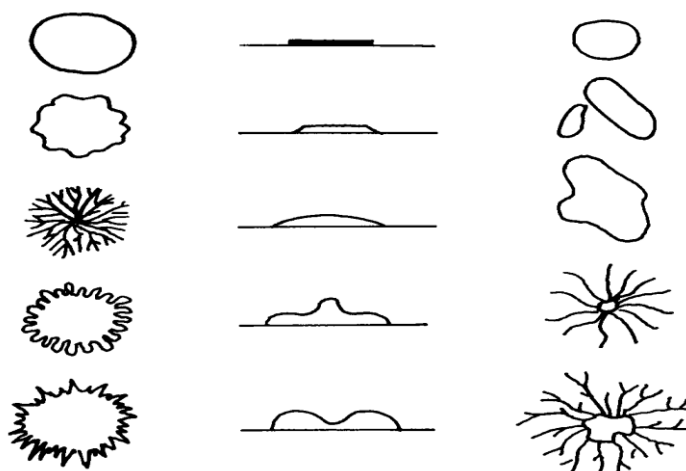
- selektivne podlage – vzpodbujajo rast želenih in zavirajo rast drugih vrst;
- diferencialne podlage – omogočajo lažje ločevanje kolonij določene vrste mikroorganizmov od drugih, ki tudi rastejo na isti podlagi;
- obogatitvene podlage – omogočajo povečanje števila celic ene vrste organizmov v vzorcu.

Pridobivanje čistih kultur

Vzorci običajno vsebujejo različne vrste mikroorganizmov. Če jih prenesemo na površino trdnih hranilnih podlag, bodo zrasle kolonije iz vseh celic v vzorcu. Kolonija teoretično zraste iz ene vegetativne celice ali ene spore.

Kolonije različnih vrst mikroorganizmov se med seboj ločijo tako, da lahko tudi po njihovem videzu ločujemo različne vrste mikroorganizmov.

Med seboj jih ločimo po barvi, površini, prečnem prerezu in robu:



Slika 7: Oblike mikrobioloških kultur

Vir: Mikrobiologija z epidemiologijo (2004)

- barva – rumeni in rdeči toni, fluorescenca;
- površina – kovinsko svetleča do puhasta (gladka, razbrazdana);
- prečni prerez – ploska kolonija:
 - dvignjene kolonija,
 - konveksna kolonija,
 - dvignjena sredina,
 - ugreznjene sredina.
- rob – gladek, valovit, korenast, s poglobitvami, nažagan, žarkast (nitast).

Kulture, v katerih so celice različnih vrst mikroorganizmov, imenujemo **mešane kulture**. **Čiste kulture** so tiste, v katerih so celice ene same vrste mikroorganizmov, ki so zrasle iz ene same celice z razmnoževanjem. Za bakteriološko delo običajno potrebujemo čiste kulture, ki jih dobimo z različnimi načini izolacije ali osamitve.

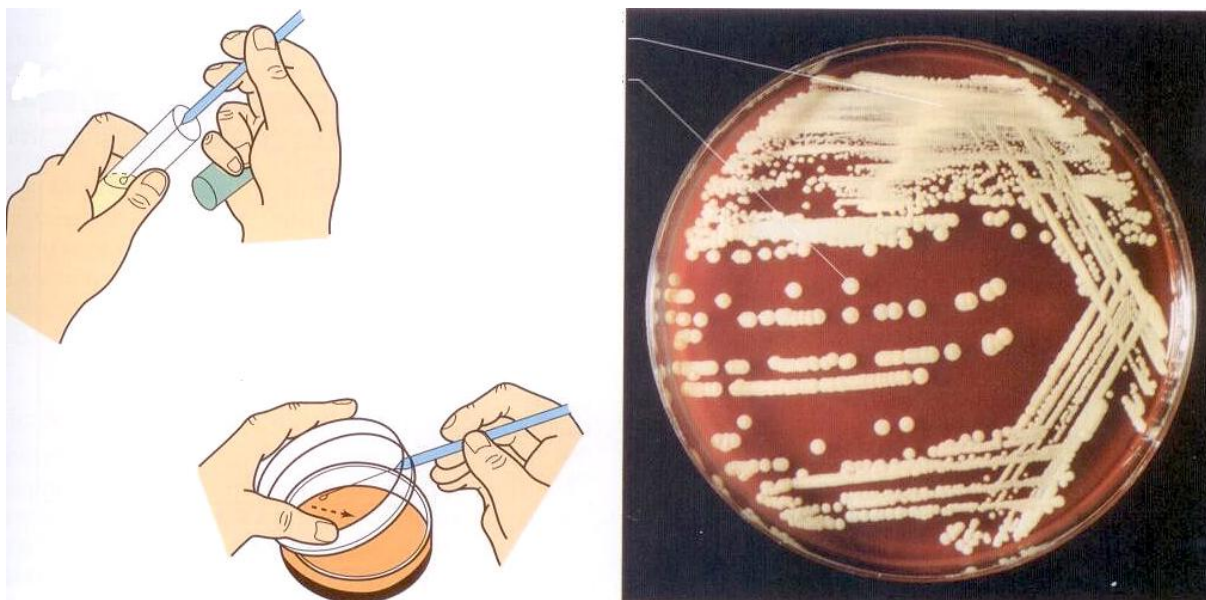
Izolacija čiste kulture s cepilno zanko je najpogostejši način. Sterilno cepilno zanko pomočimo v raztopino vzorca in jo prenesemo na sterilno hranilno podlago v petrijevko in inkubiramo pri ustrezni temperaturi določen čas. Po inkubaciji zrastejo kolonije.

Posamične, ločene kolonije lahko prenesemo s sterilno cepilno zanko na drugo sterilno podlago. Po ponovni inkubaciji dobimo čisto kulturo; torej samo celice zrasle iz ene kolonije oziroma iz ene celice.



Slika 8: Izolacija čiste kulture s cepilno zanko

Vir: <http://i.treehugger.com/images/2007/10/24/petri%20dish.jpg>



Slika 9: Izolacija čiste kulture s cepilno zanko iz tekočega gojišča na trdno gojišče
Vir: Biology of Microorganisms (Brock 2000)

Uporabljamo še druge načine za pridobivanje čistih kultur. Ti načini so: uporaba mikromanipulatorja, metoda razredčevanja in Lindnerjeva metoda viseče kapljice.

Kulture, ki so se razvile na hranilnih podlagah, hranimo na temnem in hladnem mestu (v hladilniku), saj s tem preprečimo nadaljne razmnoževanje mikroorganizmov. Izroditvev in izumiranje kultur preprečimo z precepljanjem na sveže podlage. Precepljamo lahko enkrat na teden ali enkrat na mesec. Kulture iz posamezne vrste mikroorganizmov lahko ohranimo tudi v obliki trajnih kultur. Te ohranijo svoje življenjske sposobnosti več let.

Trajne kulture pripravimo na več načinov:

- z zamrzovanjem – čiste kulture na hitro zamrznemo (pri temperaturi od $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-95\text{ }^{\circ}\text{C}$) v ustrezni raztopini sladkorjev,
- z liofilizacijo – suspenzijo mikroorganizmov hitro zamrznemo pri temperaturi od $-54\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-72\text{ }^{\circ}\text{C}$ in v vakuumu odstranimo vodo,
- z dehidracijo,
- kulturo lahko ohranimo na sterilnem pesku ali glini.

Načini gojenja mikroorganizmov:

- površinski način – mikroorganizmi se razvijajo na površini hranilnih podlag,
- submerzni način – mikroorganizmi se razvijajo potopljeni v tekočih hranilnih podlagah. Submerzno gojenje mikroorganizmov je lahko neprekinjeno ali kontinuirano.

Neprekinjeno gojenje, pri katerem v podlago nenehno dotekajo sveže hranilne snovi in se odstranjujejo metabolni produkti. Takšno gojenje je mogoče v posebnih posodah (kemostati). Tak sistem gojenja se uporablja predvsem za gojenje bakterij in kvasovk.

4.3 Rast mikroorganizmov

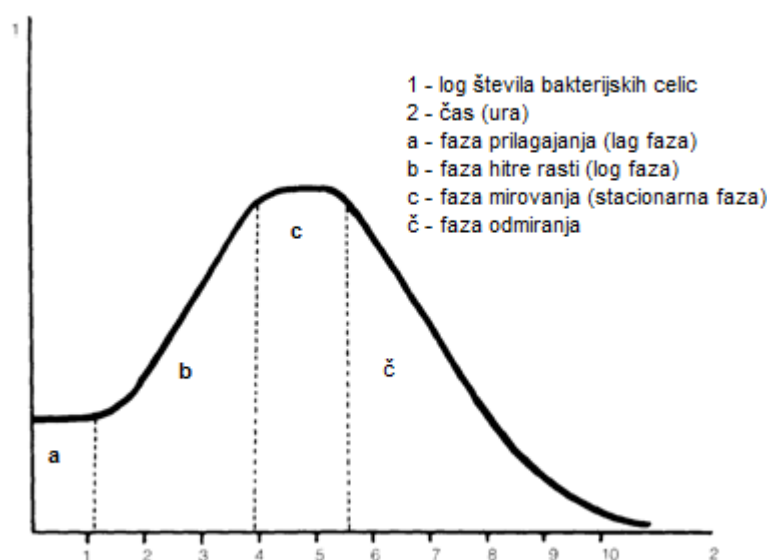
Rast mikroorganizmov pomeni večanje njihovega števila celic in ne rast ene celice. Generacijski čas je čas, ki poteče od nastanka mikroorganizemske celice do razvoja njene hčerinske celice. To je čas, v katerem se populacija podvoji. Je različen za različne organizme. Večina bakterij ima čas od 1 ure do 3 ur. Nekatere bakterije imajo generacijski čas 24 ur, druge pa 30 minut.

Glede na temperaturo rasti delimo mikroorganizme v:

- **Psihofilne** mikroorganizme – (imajo radi hladno) najbolj se razmnožujejo pri 15 °C, rastejo pa med 0 in 30°C.
- **Mezofilne** mikroorganizme – najugodnejša temperatura je 35–37°C (patogeni mikroorganizmi), razmnožujejo se med 26 in 53 °C.
- **Termofilne** mikroorganizme – (ljubijo toploto) za rast potrebujejo 55 °C, izjemno rastejo nekatere bakterije pri 90 °C (ob gejziri – toplih vrelih na Islandiji).

Krivulja rasti mikroorganizmov

Prikazuje gibanje števila mikroorganizmov v odvisnosti od časa. Zaradi velikega števila mikroorganizmov, ki se razmnožijo v relativno kratkem času, v diagramih uporabljamo za prikaz števila mikroorganizmov \log_{10} aritmetičnih števil celic. Hitrost razmnoževanja in metabolna aktivnost mikroorganizmov sta odvisna od količine hranilnih snovi, temperature, pH, aktivnosti vode in količine metabolnih produktov, ki jih mikroorganizmi sami izločajo v okolje, v katerem živijo.



Slika 10: Krivulja rasti mikroorganizmov

Vir: Mikrobiologija (2001)

a. Faza prilagajanja – v tej fazi se mikroorganizmi prilagajajo novemu okolju. Število se rahlo zmanjša.

b. Faza rasti s konstantno hitrostjo ali log faza – celice se začnejo deliti in med to fazo je razmnoževanje najhitrejše, generacijski čas pa doseže minimum. Najboljši generacijski čas je gensko pogojen za vsak organizem. Generacijski čas se ne spreminja, zato je krivulja linearna. Med to fazo so mikroorganizmi zelo občutljivi na zunanje vplive (sevanje, antibiotike ...).

c. Stacionarna faza – hitrost razmnoževanje se upočasni. Število odmrlih mikroorganizmov je enako številu nastalih mikroorganizmov. Do zmanjšanja pride zaradi pomanjkanja hranilnih snovi. Hkrati pa se kopičijo metabolni produkti mikroorganizmov, ki spremenijo življenjsko okolje (spremeni se pH). Lahko pride do spremembe temperature ...

č. Faza odmiranja – število odmrlih mikroorganizmov je večje od števila novonastalih mikroorganizmov. Število mikroorganizmov močno upada. Ko so porabljene vse hranilne snovi, preživi le peščica mikroorganizmov. Sčasoma propadejo vsi in podlaga je sterilna.

Določanje števila mikroorganizmov na hranilnih podlagah

Metode štetja mikroorganizmov

Poznamo več načinov za določanje števila mikroorganizmov. Pri nekaterih metodah merimo število živih celic, pri drugih pa težo celotne populacije, ki je neposredno sorazmerna s številom celic. Število celic ali mikroorganizmov običajno izražamo kot število celic v 1 mL tekočega vzorca ali v 1 g živila. Bakterijske populacije so zelo velike, zato večina metod temelji na neposrednem ali posrednem štetju majhnih vzorcev. Velikost celotne populacije potem izračunamo.

Težava pri teh metodah je, da ne moremo prešteti milijon celic v mililitru tekočine ali gramu živila, zato štejemo mikroorganizme oz. celice neposredno v seriji razredčitev. Dobljeno število pomnožimo z razredčitvijo.

Štetje na ploščah – je najbolj uporabljena metoda štetja celic. Pri tej metodi štejemo žive celice. Vzorec cepimo na hranilno podlago v petrijevko in v 48 urah inkubacije lahko preštejemo kolonije. Vzorec je potrebno razredčiti, preden ga cepimo na trdno gojišče.

Serija razredčitev – naprej naredimo matično raztopino, ki je lahko tekoč vzorec. V primeru trdnega vzorca, pa ga moramo zdrobiti ali zmleti in zmešati s sterilno destilirano vodo, da dobimo desetkratno razredčitev. Za izhodišče vzamemo nerazredčen tekoči vzorec ali desetkratno razredčitev trdnega vzorca. Razredčitve delamo tako, da damo 1 mL vzorca in 9 mL sterilne destilirane vode. To ponavljamo do razredčitve 1 : 10000 ali 1 : 1000000. Po 0,1 mililiter iz vsake razredčitve cepimo na hranilno podlago v petrijevko in preštejemo kulture po inkubaciji.

Razlite plošče in razmazane plošče – štetje naredimo na razlitih in razmazanih ploščah. Za razlite plošče stopimo agar, v sterilno petrijevko nalijemo raztopljeno sterilno podlago in dobro mešamo. Hranilna podlaga se strdi. Po inkubaciji preštejemo kolonije na površini. Upoštevati je treba desetkrat manjšo količino razlitega vzorca.

Membranska filtracija je način štetja mikroorganizmov v bistrih tekočih vzorcih, kot so: bistri sokovi, pivo, vino, vodovodna voda ... Sto ali več mililitrov vzorca gre skozi membranski filter, ki ima dovolj majhne pore, da se mikroorganizmi zadržijo na membrani filtra. Ta filter prenesemo na hranilno podlago in kolonije zrastejo na površine filtra. Metodo uporabljamo tudi za štetje koliformnih bakterij, ki so pokazatelj fekalnih okužb živil in vode.

Metoda »Most probable number« ali MPN metoda (**metoda najverjetnejšega števila**). Temelji na opazovanju rasti mikroorganizmov (kot motnosti) in opazovanju presnovne dejavnosti mikroorganizmov (preko pokazateljev v tekočih gojiščih). Izvedemo jo tako, da določeno število epruвет s tekočim gojiščem nacepimo in inkubiramo. S pomočjo verjetnostnega računa lahko iz števila pozivnih epruвет v primerjavi s številom vseh cepljenih epruвет izračunamo najbolj verjetno število mikroorganizmov v vzorcu. Pozitivne so tiste epruвете, v katerih ugotovimo rast mikroorganizmov.

Direktno štetje pod mikroskopom – za takšno štetje uporabljamo objektne ploščice s števnimi komorami. Te ploščice imajo vrisana polja oziroma kvadrat, ki je razdeljen na manjše enako velike kvadrate. Na označen kvadrat razmažemo vzorec in ga pokrijemo s krovnim stekelcem. Z mikroskopom ugotovimo povprečno število bakterij v kvadratih, ki jih vidimo. Število celic v razliki količini vzorca izračunamo. Preštujemo žive in mrtve mikroorganizme. Prednost metode je, da nimamo inkubacije in da zelo hitro dobimo rezultate.

Metode, s katerimi ocenimo število mikroorganizmov

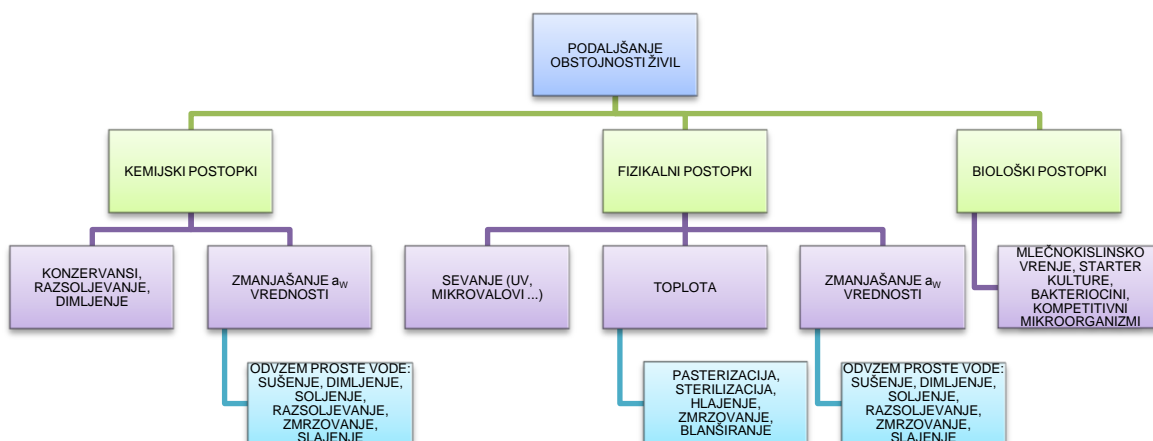
Motnost. Za nekatere vrste eksperimentalnega dela je ocenitev motnosti praktičen in enostaven način za spremljanje rasti mikroorganizmov. Ta metoda je fotometrična. S spektrofotometrom merimo količino prepuščene svetlobe, ki jo je absorbiral motni vzorec. Bolj kot je vzorec moten, več svetlobe absorbira. Predvidevamo, da motnost v vzorcu povzročijo mikroorganizmi. Količina absorbirane svetlobe je neposredno odvisna od števila mikroorganizmov.

Presnovno ali metabolno delovanje. Z merjenjem količine določenega presnovnega produkta lahko ocenimo število mikroorganizmov (celic), ki ta produkt izločajo. Predvidevamo, da je količina presnovnega produkta sorazmerna ali enaka številu celic.

Teža suhe snovi. Uporabljamo jo za merjenje rasti nitastih mikroorganizmov, kot so na primer plesni. Za te organizme druge metode niso zanesljive. Plesen odstranimo s hranilne podlage in jo posušimo ter stehtamo. Če tako ocenjujemo količino bakterij, jih od hranilne podlage ločimo s centrifugiranjem.

5 ZAVIRANJE RASTI MIKROORGANIZMOV V ŽIVILSKI INDUSTRIJI

S temi postopki uničujemo mikroorganizme ali nadziramo njihovo rast in posledica tega delovanja je podaljšana obstojnost živil.



Shema 4: Postopki za podaljšanje obstojnosti živil
Vir: Mikrobiologija (2001)

Postopki, ki jih uporabljamo v živilski industriji, so fizikalni, kemijski, biološki ter kombinirani. Namen teh postopkov je zaviranje metabolnih procesov, ki povzročajo kvarjenje živil. Pogosto z omenjenimi postopki znižamo kakovost živil. Pri živilu namreč ni pomembna samo njegova obstojnost, ampak so zelo pomembne tudi njegove senzorične lastnosti (vonj, okus ...). Močno se zmanjšata tudi hranilna in biološka vrednost živila.

Da izdelamo živila, ki so zdravstveno neoporečna, dovolj dolgo obstojna in imajo primerne senzorične lastnosti, moramo kombinirati različne postopke podaljšanja obstojnosti živil. Samo tako lahko ohranimo najbolj optimalno kakovost živila in primerno podaljšamo obstojnost živila.

5.1 Fizikalni postopki

Toplotna obdelava

Glavni namen je uničenje mikroorganizmov ali inaktivacija encimov v živilu, ki so glavni povzročitelji kvarjenja živil. Zelo pomembna dejavnika sta tudi embalažni material in način pakiranja. Postopke toplotne obdelave uporabljamo v kombinaciji z drugimi postopki (npr. pasterizacija in kisanje, blanširanje in zamrzovanje).

Sterilizacija lahko uporabljamo tudi samostojno. Sterilizacija pomeni uničenje vseh življenjskih oblik mikroorganizmov in njihovih spor.

Pasterizacija je postopek toplotne obdelave, s katerim uničimo vse vegetativne oblike mikroorganizmov v živilu, ne uničimo pa bakterijskih spor. Zato imajo ta živila krajši čas obstojnosti kot ta, ki smo jih sterilizirali.

Blanširanje je postopek toplotne obdelave, s katerim preprečimo delovanje encimov v živilu in zmanjšamo število mikroorganizmov na njegovi površini. Ta postopek traja zelo kratek čas. Živilo segrevamo nekaj sekund (s pomočjo pare ali vrele vode), da se njegove senzorične lastnosti in hranilna vrednost čim manj spremenijo.

Zamrzovanje se lahko uporablja kot samostojen postopek konzerviranja ali v kombinaciji z drugimi postopki (npr. blanširanjem). Med zamrzovanjem, skladiščenjem in tajanjem živila niso brez mikroorganizmov. Med zamrzovanjem odmrje le določeno število mikroorganizmov, ki so v živilu. Posebej odporne so bakterijske spore in nekateri virusi. Kvasovke in plesni so bolj odporne na zamrzovanje kot bakterije.

Sevanje ali radiacija

Ionizirajoče sevanje

V živilski industriji ga uporabljajo (β - in γ -žarki). **β -žarki** so elektroni, ki imajo zaradi delovanja električnega polja zelo veliko energijo. Kako globoko prodrejo v živilo, je odvisno od njihove energije. V živilo prodrejo do največ 5 cm globoko. **γ -žarki** so visokoenergetski fotoni, imajo kratko valovno dolžino (10 pm). Nastanejo pri sevanju radioaktivnih snovi. Delujejo predvsem na površini živila. γ -žarke uporabljamo za obsevanje pakiranih živil, za pasterizacijo in za uničenje patogenih mikroorganizmov. V živilski industriji jih uporabljamo predvsem za zniževanje števila mikroorganizmov v živilih, ki jih ne moremo obdelati z drugimi postopki, ne da bi spremenili njihove senzorične lastnosti (v svežem sadju, zelenjavi, začimbah, mesu, žitih) in za zaviranje kaljenja (krompirja, čebule) ter za zaviranja zorenja (svežih gob, svežega sadja in zelenjave). Uporabni so tudi za uničevanje mrčesa predvsem v sadju in žitu.

Žarki delujejo tako, da poškodujejo sestavne dele DNK – dedni material in ovirajo delovanje membran v celicah. Mikroorganizmi so različno občutljivi na žarčenje. Grampozitivne bakterije (enterokoki, stafilokoki) in plesni so bolj odporne na sevanje kot gramnegativne paličaste bakterije (*Pseudomonada*, vibrioni). Še bolj odporne so kvasovke, ki jim sledijo bakterijske spore (*Bacillus*, *Clostridium*) in virusi.

Z odmerkom sevanja 10 kGy (Gray) uničimo vse gramnegativne bakterije in plesni, večino grampozitivnih bakterij in kvasovk. Ne uničimo bakterijskih spor in virusov. Živila, ki vsebujejo odmerek sevanja do 10 kGy, naj ne bi bila nevarna za zdravje ljudi.

Odmerek obsevanja je odvisen od vrste živila in od temperature, pri kateri sevanje poteka. Če je obsevanje premočno, lahko pride do sprememb senzoričnih lastnosti, teksture (zmehčanja obsevanega sadja in zelenjave) in barve. Zraven tega pa lahko pride do nastanka toksičnih ali strupenih snovi. Živila, ki vsebujejo veliko maščob (mleko ...), ni priporočljivo konzervirati s sevanjem. Nastanejo tudi presnovni produkti beljakovin in maščob, ki spremenijo senzorične lastnosti živila (vonj, okus, barva ...).

Elektromagnetno sevanje

UV – ultravijolični žarki. Izvor je živosrebrna nitka, ki seva UV-žarke z valovno dolžino 254 nm. Najbolj učinkoviti so žarki z valovno dolžino okrog 260 nm. Delujejo na nukleinske kisline v mikroorganizmih. Mikroorganizmi so različno občutljivi na UV-žarke. UV-žarki se uporabljajo za zmanjšanje števila mikroorganizmov v vodi, na embalaži, na površini sadja in zelenjave ter na površini trdih sirov. Uporabljajo se tudi za zmanjševanje števila mikroorganizmov v zraku v živilski industriji (hladilnicah ...), trgovinah z živili ...

Živil ne smemo neprestano obsevati z UV-žarki, ker lahko pride do sprememb senzoričnih lastnosti in zmanjšanja biološke vrednosti.

Mikrovalovi posredno segrejejo živilo. Mikrovalovi so elektromagnetni valovi s frekvencami od 300 MHz do 300 GHz in valovno dolžino od 1m do 10 mm. Mikrovalovi prodirajo v živilo in z menjavo polarnosti povzročajo gibanje molekul s stalnim dipolom (voda, aminokisline, beljakovine). Te molekule se gibajo in tako prenašajo svojo kinetično energijo. Električna energija mikrovalov se skoraj popolnoma pretvori v kinetično energijo molekul in s tem v toplotno energijo. Več vode in beljakovin živilo vsebuje, boljša je pretvorba energije. Mikrovalovi so bolj uporabni za kuhanje kot za odtajevanje.

Energija radiofrekventnih valov, ki imajo nizko frekvenco od 1 do 800 MHz, povzročijo denaturacijo beljakovin in trganje bioloških membran v mikroorganizmih. Ob obsevanju s temi valovi se živilo ne segreje. Z njimi lahko preprečimo delovanje mikroorganizmov in hkrati zelo malo vplivamo na kakovost živila. Postopek uporabimo vedno v kombinaciji s kakšnim drugim postopkom konzerviranja živil. Lahko jih uporabimo tudi za odtajanje živil.

Ultravisok pritisk

To je pritisk 3000 barov in več. Tako visok tlak prepreči delovanje mikroorganizmov in njihovih encimov. Stopnja inaktivacije mikroorganizmov je odvisna od vodne aktivnosti, kislosti okolja in temperature živila. Pritisk uniči celične membrane, zato mikroorganizmi odmrejo. Uporabljajo ga v kombinaciji z visoko temperaturo.

Ultrazvok

To je valovanje, podobno zvočnemu, vendar na višji frekvenci. Človeško uho ga ne zazna. Vibracije povzročijo poškodbe mikroorganizmov. S kratkim delovanjem ultrazvoka, visokega pritiska in visoke temperature so izrazito povečali smrtnost mikroorganizmov pri pasterizaciji in sterilizaciji tekočih živil.

5.2 Kemijski postopki

Vodna aktivnost a_w je pojem, ki izraža razliko med absolutno količino vode v živilu in količino proste vode v živilu. V vsakem živilu je določena količina vode. Del te vode je kemijsko vezan na kemijske snovi v živilu (beljakovine, maščobe, ogljikove hidrate ...), del vode pa je prost. Mikroorganizmi v živilu potrebujejo za življenje določeno količino proste vode, ker kemijsko vezane vode iz živila ne morejo uporabiti. Destilirana voda ima vodno aktivnost 1. Pri nekaterih postopkih konzerviranja se zmanjša količina proste vode, ki je nujno potrebna za življenje mikroorganizmov. Taki postopki so: sušenje, soljenje, slajenje, dimljenje, zamrzovanje in liofilizacija.

Kislost okolja ali pH. Večina surovih živil ima pH vrednost med 5,6 in 6,6. V nekaterih postopkih konzerviranja živil znižamo vrednost pH in zato zaviramo razvoj mikroorganizmov. V živilu jo lahko znižamo z dodajanjem organskih kislin (citronske, jabolčne, očetne, vinske kisline) ali z mikrobiološko fermentacijo (vrenjem). Zniževanje pH kot postopek za podaljšanje obstojnosti živil se kombinira z drugimi postopki konzerviranja živil (toplotno obdelavo, soljenjem ...).

Redoks potencial ali E_h je merilo pripravljenosti neke snovi za oddajanje elektronov. Meri se količina oddanih elektronov. Proces oksidacije je oddajanje elektronov, redukcija pa je sprejemanje elektronov. Redoks potencial se v živilih lahko močno zniža zaradi dodajanja askorbinske kisline idr., rasti mikroorganizmov ter embalaže, ki ne prepušča plinov. Plin ozon (O_3) ima veliko moč oksidacije. Mikroorganizmi v stiku z njim odmrejo, ker pride do oksidacije aminokislin in nukleinskih kislin v mikroorganizmu. Posebno so na ozon občutljive gramnegativne bakterije. Kvasovke in plesni so bolj odporne. V živilski industriji lahko ozon uporabljamo za sterilizacijo začimb (velika površina, ni mogoče uporabiti toplotne obdelave, ker se spremenijo organoleptične lastnosti), za neoporečnost zraka v hladilnicah in za razkuževanje embalaže.

Konzervansi. Uporaba konzervansov je smotrna le v primerih, ko ne moremo uporabljati fizikalnih postopkov za podaljšanje obstojnosti živil in to zaradi sprememb organoleptičnih lastnosti in hranilne vrednosti živil. Nekateri konzervansi delujejo le na glive (plesni in kvasovke), drugi delujejo le na bakterije, redki pa učinkujejo na oboje. Večinoma so konzervansi kisline, ki morajo prodreti v mikroorganizem, da lahko delujejo. Zavirajo delovanje različnih encimov ali poškodujejo mikroorganizem. Pri uporabi konzervansov moramo upoštevati naslednje:

- Uporabimo jih le tedaj, kadar ne moremo uporabiti fizikalnih postopkov ali naravnih konzervansov kot so: sol, sladkor, naravne kisline in estri, ki so zdravju neškodljivi.
- Uporabimo jih le pri konzerviranju mikrobiološko neoporečnih surovin z nizkim začetnim številom mikroorganizmov (skupno število bakterij $< 1000/g$, kvasovke $< 100/g$, plesni $100/g$), ker le redko delujejo uničujoče na mikroorganizme.
- Izbrati moramo takšne konzervanse in v takih odmerkih, da ne škodujejo zdravju potrošnika, čeprav bi jih ta s hrano dnevno užival. Dobro moramo poznati presnovo izbranih konzervansov v prebavnem traktu.
- Odločimo se za tistega, ki ima čim širše območje delovanja. Če je območje preozko, se ustvari mikrobna populacija, ki je odporna na konzervans.
- Konzervans mora biti odporen na spontane kemične spremembe v živilu.
- Dodajanje konzervansov mora biti povezano z najvišjo možno stopnjo higiene živilskih obratov.

Le redke snovi niso škodljive tako, da jih lahko uporabljamo za konzerviranje živil. Mednje spadajo predvsem mlečna, očetna in citronska kislina. Zraven teh še uporabljajo sorbinsko kislino in njene soli (sorbate), benzojevo kislino in njene soli (benzoati), mravljično kislino in njene soli (formiati), propionsko kislino in njene soli (propionati), žveplov dioksid, natrijev nitrit in natamicin (antibiotik) ...

5.3 Biološki postopki

Mlečnokislinsko vrenje ali fermentacijo uporabljamo za izdelavo različnih živil (mlečni izdelki, kisle zelje in repa). Mlečnokislinske bakterije pretvorijo mlečni sladkor v mlečno kislino. Ta potem deluje kot konzervans, ker zniža pH živila. Dodajamo jih tudi pri izdelavi mesnih izdelkov (fermentirane trajne ali presne klobase), v katerih močno pospešijo zorenje oziroma sušenje klobas. Dodajamo jih tudi testom za nekatere vrste kruha.

V naravi so izredno redke čiste kulture mikroorganizmov. Ponavadi živi v sožitju ali simbiozi več različnih vrst mikroorganizmov. Tudi v živilih so lahko čiste ali mešane kulture. V mešanih kulturah vsak mikroorganizem vpliva na druge posredno ali neposredno. Neposredno vpliva s svojo življenjsko dejavnostjo in posredno s snovmi, ki jih izloča v okolje, v katerem živi. Mikroorganizmi lahko živijo v sožitju ali pa ne. **Sožitje ali simbioza** je način skupnega življenja, pri katerem mikroorganizmi spodbudno delujejo en na drugega, se dopolnjujejo. Kadar ne živijo v sožitju, ena vrsta mikroorganizmov deluje na drugo tako, da izloča snovi – **bakteriocine**, s katero se zaustavi rast in razmnoževanje druge vrste mikroorganizmov.

6 MIKROBIOLOGIJA ŽIVIL

6.1 Mikrobiologija žit, moke in izdelkov iz žita

Žita se okužijo iz zraka in s tal, moka in mlevski izdelki pa tudi z opreme in naprav med predelavo in skladiščenjem. Tako kot vsa živila je tudi za žita, moko in mlevske izdelke najpomembnejši vzrok za okužbe človek – posredno ali neposredno.

Mikrobiološka kakovost žit je odvisna od okužbe le-teh z mikroorganizmi med rastjo in skladiščenjem (bakterije, glive).

– Med rastjo so pogoste okužbe s številnimi škodljivimi mikroorganizmi:

- rje,
- sneti (koruzna ali smrdljiva snet – naselijo zrnje),
- plesni (snežna plesen),
- rženi rožiči (strupeni – *Claviceps purpurea*, rod *Fusarium*).

– Med skladiščenjem so pogoste okužbe:

- s plesnimi, ki izločajo mikotoksine (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ...);
- z bakterijami, ki fermentirajo ogljikove hidrate (družine *Lactobacillaceae*, *Bacillaceae*, *Micrococcaceae*).

Število mikroorganizmov na žitih zmanjšamo s pranjem, ščetkanjem, luščenjem, ustreznim ravnanjem v dobi rasti in skladiščenjem (suha in zračna skladišča, količina vode v zraku ne sme biti več kot 13–14 %, relativna vlaga zraka 70 %, temperatura 10 °C).

Mikrobiološka kakovost moke je odvisna od mikrobiološke kakovosti žit in skladiščenja moke (vlaga v moki manj kot 13 % in ne več kot 15 %, temperatura skladiščenja 8 °C in ne več kot 18 °C, relativna vlažnost zraka 75 % in ne več kot 80 %).

Kvarjenje se kaže kot:

- plesnivost (*Penicillium*, *Aspergillus* ...),
- kislina fermentacija (mlečnokislinske bakterije),
- alkoholno vrenje (kvasovke),
- očetno vrenje (očetnokislinske bakterije).

Kruh se pogosto okuži po peki, med transportom, med skladiščenjem in prodajo. Med pečenjem se mikroorganizmi uničijo. Prisotnost patogenih mikroorganizmov in kvarljivcev povzroča naslednje okužbe kruha.

Nitkavost kruha:

- higiensko oporečen,
- sladkast, neprijeten vonj,
- sredica mehka, rumeno rjava z madeži in lepljiva (hidroliza škroba in beljakovin),
- povzročitelji sporogene bakterije rodu *Bacillus*.

Vzrok za nitkavost kruha so lahko okužena moka, pribor, noži, počasno ohlajanje, premalo kisel pH, topla in vlažna atmosfera. Tej obliki kvarjenja je podvržen domač – bel kruh, predvsem debeli hlebci, kjer temperatura v sredini med pečenjem ne preseže 100 °C. Ta kvar preprečujemo z dobro moko, čisto opremo, hitrim ohlajanjem, pH 5, konzervansi, z zamrzovanjem kruha.

Rdeč – krvav kruh

Vzrok so bakterije rodu *Serratia* (iz škrobnih živil – rdeč pigment) in plesni rodu *Oidium* (rdeče sredice črnega kruha). Tak kruh je higiensko oporečen, senzorično neustrezen, pojavlja se redko.

Kredast kruh

Vzrok so *Trichosporon variable* in *Endomycopsis fibuliger*. Bele kredaste pege na površini. Tak kruh je higiensko oporečen, senzorično neustrezen.

Plesnivost kruha

Povzročitelji so različne glive – plesni (*Rhizopus nigicans* – bel bombažni micelij in črne pike, *Penicillium expansum* – čopičasta plesen z modro zelenim micelijem, *Aspergillus niger* – glavičasta plesen zeleno rjavo črno ali rumeno obarvan micelij, *Mucor* – siva plesen in *Cladosporium* – temno zelena plesen zidov pekarn). Tak kruh je higiensko oporečen, ker vsebuje mikotoksine. Razvije se zaradi neustrezne vlage in temperature. Pogosto gre za naknadno okužbo (v skladišču, ob transportu ...).

Preprečevanje plesnivosti kruha:

- ustrezna higiena pri ohlajanju, skladiščenju in transportu,
- filtracija zraka,
- skladiščenje v hladnem in temnem prostoru,
- uporaba mikostatikov (Na in Ca propionat),
- uporaba acetata, očetne in propionske kisline.

Okužbe s kvasovkami

Povzročajo jo kvasovka *Hyphopichia burtonii*. So nezaželene, ker povzročajo neprijeten vonj in okus kruha. Na površini kruha hitro rastejo in spominjajo na plesni, kredastega izgleda. So bolj odporne na konzervanse in razkužila kot plesni. V testo pride z okuženih površin (strojev za rezanje kruha, tekočih trakov ...).

6.2 Mikrobiologija margarine

Kvarjenje margarine je pogosto, ker vsebuje večje količine vode in je bolj občutljiva kot rastlinska mast. Predvsem v toplih dneh, zaradi neustreznega shranjevanja (zrak, svetloba in temperatura). Kvar se kaže kot spremenjen vonj in okus zaradi hidrolize maščob. Žarka margarina ima vonj po parfumu, rumenkasto obarvan zunanji sloj in je higiensko oporečna. Lahko se pojavi tudi plesen, ki je prav tako higiensko oporečna. Rast plesni zavira sorbinska kislina.

Margarina in izdelki iz rastlinskih olj morajo biti ustrezno skladiščeni pod naslednjimi pogoji:

- temperatura od 0 °C do 2 °C,
- relativna vlaga od 75 % do 80 %,
- temni prostor,
- nepredušno zaprta embalaža.

6.3 Mikrobiologija sladkorja

Navadni sladkor ali saharoza je higroskopičen (hitro veže ali vsrka vlago), se sprijema v kepe, postane temno rumen in lepljiv. Zaradi mikroorganizmov postane neprijetnega vonja in okusa. Kvarjenje sladkorja povzročajo nekatere kvasovke in bakterije. Kvasovke se naselijo na površini sladkorja, kjer je melasa. Plesni izločijo v sladkor encim invertazo, čeprav na njem ne rastejo. Bakterije iz rodu *Bacillus* in rodu *Clostridium* prenesejo visoke temperature in tako povzročajo kvar.

Kvarjenje sladkorja preprečimo z ustrezno higieno skladiščenja:

- temperatura naj ne bi bila višja kot 18 °C,
- relativna vlaga mora biti manjša kot 55 % in ne višja kot 75 %, sicer se zgrudi in spremeni se barva ter vonj.

6.4 Mikrobiologija jajc

Jajca nastanejo na jajčnikih, zato je 99 % kokošjih jajc sterilnih, 1 % pa jih je okuženih z grampozitivnimi bakterijami, ki niso kvarljivci. Kvarjenje jajc povzročajo gramnegativne bakterije in plesni, ki izvirajo iz okolice. Naravna zaščita jajc pred kvarjenjem je lupina in baktericidni učinek beljakovin, če so jajca sveža. Pri jajcih je prisotna nevarnost zoonoz (salmonela).

Kvarjenje jajc se kaže kot:

- kislina jajca (*Escherichia coli*),
- gnitje ali gniloba (*Pseudomonas*, *Proteus*, *Aeromonas*, koliformne bakterije ...). Gnitje dobi ime po spremenjeni barvi jajc, ki jo dajejo bakterije: zeleno gnitje (vonj po pokvarjeni ribi – *Pseudomonas*, *Aeromonas*), črno gnitje (vonj po H₂S, pokanje lupine – *Proteus*), rdeče gnitje (vonj po H₂S – *Serratia*), belo gnitje (enterobakterije), brezbarvno gnitje (*Alcaligenes* – enterobakterije).

- Plesnivost – jajce se okuži med skladiščenjem in micelij plesni raste skozi pore jajčne lupine. To povzroča pege različnih barv, ki so pod lupino. Vonj jajc je zatohel, po plesnivem, spremeni se tudi okus. Plesen lahko najdemo le pod lupino. Povzročajo jo plesni (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Cladosporium* ...).

Kvarjenje preprečimo z ustreznim hlajenjem brez nihanja temperature (jajca ne smejo biti rosna), z ustrežno higieno skladiščenja (jajc ne peremo), z ustrežno rejo živali, zdravstvenim stanjem živali (temperatura skladiščenja naj bo med 0 °C in 1 °C, relativna vlaga 80 %) in dodajanjem plina CO₂.

Mikrobiologija jajčnih izdelkov

Jajčni izdelki so namenjeni prehrani. So izdelki iz jajc, njihovih sestavin ali mešanic, po odstranitvi lupine. Delno so lahko dodana tudi druga živila ali aditivi. Ti izdelki so lahko tekoči, zgoščeni, sušeni, kristalizirani, zmrznjeni ali koagulirani. Pridobljeni morajo biti iz jajc iste perutnine.

Pasterizirani izdelki, pakirani v ustrežno embalažo in skladiščeni pri temperaturi –18 °C, oziroma pri 4 °C, so podvrženi delovanju mikroorganizmov, ki so odporni na te temperature. Napadejo jih predvsem bakterije (*Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*). V zamrznjenih in ne dovolj pasteriziranih izdelkih lahko preživijo določeni patogeni mikroorganizmi, predvsem bakterije vrste *Salmonella* in *Staphylococcus aureus*.

Kvar se kaže v neenakomerni barvi izdelka, izgubi homogenosti, nastanejo usedline in kosmiči, spremeni se vonj in okus. Spremembe nastanejo zaradi delovanja encimov in/ali delovanja mikroorganizmov.

6.5 Mikrobiologija medu

Posebna lastnost medu je, da zavira rast in razvoj skoraj vseh mikroorganizmov. Na to vplivajo: vsebnost sladkorjev (več kot 95 % suhe snovi), ki določa visok osmotski tlak in viskoznost; nizka vsebnost vode (14–21 %); nizka pH vrednost; prisotnost snovi, ki delujejo protimikrobno; nizka vsebnost dušika.

Med ni prenašalec patogenih mikroorganizmov. V zrelem medu lahko dokažemo le omejeno število mikroorganizmov, v glavnem sporogene bakterije, kvasovke in plesni.

Ti mikroorganizmi pridejo v med iz okolja, ker so prisotni v snoveh, ki jih nabirajo čebele (nektar, mana).

Med vsebuje 83 % sladkorja (saharoze). Kvarjenje medu povzročajo mikroorganizmi, ki rastejo v živilih z visoko vsebnostjo sladkorja. Ti mikroorganizmi so bakterije, ki tvorijo spore (*Bacillus*, *Clostridium*), plesni (*Mucor*, *Penicillium*) in kvasovke (rodu *Zygosaccharomyces*), ki prenesejo visoke koncentracije sladkorjev (40 % do 60 %) in rastejo pri majhni količini vode (a_w do 0,6). Preživijo temperaturo 76,5 °C. V med pridejo z nektarjem in povzročijo fermentacijo ali vrenje pri povišani temperaturi in več kot 22 % vode. Posledica tega je kisel vonj in okus, mehurčki, potemnitev in kristalizacija medu. Plesni lahko z medu posnamemo, razen če so okužene večje površine in če je medu malo, potem ga moramo zavreči.

Človek lahko okuži med na različne načine: neprimeren način točenja medu v higiensko neustreznih pogojih, uporaba higiensko oporečne vode za čiščenje opreme in prostorov, z direktno okužbo preko človeka ...

Kvarjenje preprečimo z ustrezno higieno pridelave in predelave, s temnim prostorom, relativno vlažnostjo 60 % in temperaturo skladiščenja 10 °C. Pasterizacija medu pet minut pri 77 °C uniči kvasovke.

6.6 Mikrobiologija slaščic

So pogosto izvor okužb in zastrupitev, še posebej, če so polnjene s kremami. Mleko in smetana sta ugoden medij za rast mikroorganizmov (npr. *Staphylococcus aureus*). Tudi umetne kreme pri tem niso nobena izjema zaradi neustreznega razmerja med sladkorjem in vodo. Če je razmerje sladkor : voda = 2 : 1, je rast mikroorganizmov onemogočena. Velika verjetnost je tudi okužba z *Escherichia coli*. Pomembna je kontrola zdravstvenega stanja osebja, ki so glavni povzročitelji okužb z mikroorganizmi zaradi neustrezne ali nezadostne higijene rok.

6.7 Mikrobiologija sadja

Različni in številni mikroorganizmi okužijo sadje že med rastjo. Najpogosteje je okuženo s kvasovkami in plesnimi, ki so odporne na kisline v njem. Zaradi nizkega pH sadja je onemogočena rast večini bakterij, nizek pH pa ne zavira razvoja bakterij iz rodov *Lactobacillus* in *Leuconostoc*.

Sadjarji zavirajo in preprečujejo kvar z ustrezno izbiro sort, ki so naravno odporne in s škropljenjem. Paziti moramo tudi, da ne pride do poškodb sadja med obiranjem in skladiščenjem. Gnailobo na svežem sadju najpogosteje povzročajo plesni iz rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Botrytis*, *Rhizopus*, *Fusarium*.

Kisanje fig povzročajo bakterije rodu *Gluconobacter*, vrenje jagodičja kvasovke iz rodov *Sacharomyces*, *Candida* in *Kloeckera*. Vse vrste kvasovk, bakterije iz rodov *Lactobacillus*, *Acetobacter* in *Leuconostoc* in plesni iz rodu *Penicillium* kvarijo sadne sokove. Vrenje in plesnivost marmelad in džemov povzročajo predvsem plesni, ki rastejo pri nizkem (a_w pod 0,6) in kvasovke, ki rastejo pri visokih koncentracijah sladkorjev (40 % do 60 %). Izvora plesni sta predvsem zrak in tla, številne spore pa se prenašajo po zračni poti.

6.8 Mikrobiologija vrtnin

Na vrtninah so mikroorganizmi iz tal in zraka. Razen paradižnika imajo skoraj vse vrtnine nevtralen pH, zato se na njih razvijajo plesni, kvasovke in bakterije iz rodov *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* in *Acetobacter*.

Kisanje zelja – na surovem zelju so prisotni različni mikroorganizmi, vendar zaradi soli in anaerobnih razmer prevladujejo mlečnokislinske bakterije. Vrenje začnejo bakterije *Leuconostoc mesenteroides*, ki spremenijo sladkor v mlečno kislino, očetno kislino, alkohol in

ogljikov dioksid. Nastala kislina zavira delovanje te bakterije, zato vrenje nadaljujeta bakteriji *Lactobacillus brevis* in *Pediccocus cerevisiae*, konča pa ga *Lactobacillus plantarum*.

6.9 Mikrobiologija piva

V pivovarstvu uporabljajo za alkoholno vrenje različne vrste kvasovk iz rodu *Sacharomyces* (*S. carlbergensis*, *S. uvarum*). Vrsto kvasovk izbere pivovarna glede na vrsto piva, ki ga prideluje.

Potencialno najnevarnejše za kvarjenje piva so mlečnokislinske bakterije iz rodu *Lactobacillus* (*L. pastorianus*, *L. brevis*, *L. diastaticus*, *L. delbruckii*). Te bakterije povzročajo motnost in priokus ter povečanje kislosti piva. Sluzavost piva povzročajo tudi bakterije iz rodu *Acetobacter* ... Motnost povzročajo kvasovke iz rodu *Candida*, *Sacharomyces diastaticus* in *Bretamyces*. Priokus dajejo pivu mlečnokislinske bakterije iz rodov *Pediococcus* ter kvasovke iz rodu *Candida*, *Pichia* in *Brettanomyces*.

Možnost okužbe z oetnokislinskimi bakterijami se pojavlja, ko sta pivo in sladovina izpostavljena zraku. Rast preprečimo z anaerobnimi razmerami. Znaki okužbe so povečana kislost, motnost, tanka prevleka na površini tekočine, sluzavost piva in priokus.

Vzrok za tuj vonj in okus piva, motnost in usedlino so lahko tudi kvasovke, ki se po tehnoloških in biokemijskih lastnosti razlikujejo od tistih, ki jih uporabljajo v pridelavi piva.

6.10 Mikrobiologija vina

Za alkoholno vrenje v pridelavi vina uporabljajo kvasovke iz rodu *Sacharomyces* (*S. vini*, *S. oviformis*, *S. uvarum*, *S. cerevisiae*). Za vsak pridelovalni okoliš imajo ponavadi izbrane lastne kvasovke glede na sorto grozdja in vrsto vina določenega pridelovalnega območja.

Vino kvarijo divje kvasovke iz rodov *Candida*, *Pichia*, *Pediccoccus*, *Brettanomyces*, ki razgrajujejo alkohol in ustvarijo usedlino ali film na površini. Mlečnokislinske in oetnokislinske bakterije so povzročitelji motnosti, kvarijo cvetico vina in ustvarjajo kislino. Bakterije *Leuconostoc oenus* razgrajujejo jabolčno, *Lactobacillus plantarium* pa vinsko kislino.

Kvarjenje vina preprečimo z vzdrževanjem in uporabo čiste kulture vrelnih kvasovk, z biološkim razkisolom, s čiščenjem in pasterizacijo mošta in ustrezno higieno vinarske opreme. Izbor zdravega, nepoškodovanega in nenagnitega grozdja je zelo pomemben za kakovost vina. Razvoj plesni lahko zavira tudi žveplanje z žveplovim dioksidom.

6.11 Mikrobiologija mleka in mlečnih izdelkov

Za mlekarstvo so najpomembnejša skupina mikroorganizmov mlečnokislinske bakterije. Mlečnokislinski izdelki (jogurt, kefir, različne vrste sirov ...) nastanejo z uporabo mikroorganizmov. Ponekod so nujno potrebni za sam nastanek izdelka (mlečnokislinske bakterije za nastanek jogurta), drugim dajejo značilen vonj in okus (plemenita plesen v siru).

V mlečnih izdelkih večinoma poteka mlečnokislinsko vrenje zaradi delovanja bakterij iz rodov *Lactobacterium*, *Lactobacillus* in *Streptococcus*.

Pri izdelavi jogurta kot mikrobiološko kulturo (starter kulturo) uporabljajo vrste *Lactobacillus bulgaricus* in *Streptococcus thermophilus*. Za izdelavo acidofilnega mleka uporabljajo bakterijo *Lactobacillus acidophilus*. Kefir je izdelek, ki nastane s pomočjo mlečnokislinskih bakterij in kvasovk *Torula kefyri*.

Pri izdelavi različnih vrst sira največkrat uporabljajo določene vrste mlečnokislinskih bakterij in nekatere vrste plesni (*Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*).

Tudi maslo lahko izdelujejo iz smetane z uporabo mikroorganizmov (bakterije rodu *Streptococcus*). Smetani, primerni za izdelavo masla, dodajo dve vrsti bakterij *Streptococcus lactis* (spremeni laktozo v mlečno kislino) in *Streptococcus citrovorus* (tvori diacetil, ki daje maslu aromo).

Mleko je lahko vzrok številnim boleznim, če je okuženo s patogenimi mikroorganizmi. Do okužbe lahko pride zaradi neustrezne higijene ljudi ali opreme in če so bolne živali. Najpogostejše bolezni govedi, ki se prenašajo z mlekom, so tuberkuloza, bruceloza ter slinavka in parkljevka. Mleko se zaradi bolnih živali lahko okuži z bakterijami iz rodov *Streptococcus* in *Staphylococcus*. Ljudje, ki so okuženi z bakterijami iz rodov *Salmonella*, *Shigella*, *Corynebacterium* in s piogenimi stafilokoki ali virusom hepatitisa, lahko z njimi okužijo mleko.

Mleko takoj po molži ni sterilno, ampak ima svojo naravno mikrobno populacijo. Mikroorganizmi, ki to naravno populacijo sestavljajo, ne preživijo toplotne obdelave – pasterizacije. Okužba mleka je ponavadi posledica naknadnih onesnaženj, ki nastanejo po toplotni obdelavi – pasterizaciji. Toplotna obdelava mleka mora biti tako visoka, da ne preživijo povzročitelji tuberkuloze.

Mleko kvarijo še drugi mikroorganizmi. Posledica rasti nekaterih mikroorganizmov v mleku so napake mleka, te vplivajo na senzorične lastnosti in spremenijo kemijsko sestavo mleka.

Napake mleka, ki so posledica delovanja mikroorganizmov:

- Priokus, žarkost, nastanek plinov, kisanje, koagulacija mlečnih beljakovin, sprememba viskoznosti mleka, sprememba barve povzročajo bakterije iz rodu *Pseudomonas*.
- Fermentacijo laktoze, tvorba plina, sprememba vonja mleka so posledica rasti bakterije *Clostridium perfringens*.
- Spremembo barve mleka povzročijo bakterije, ki tvorijo barvila ali pigmente.
- Nekatere bakterije povzročijo bazične reakcije v mleku in razgradijo beljakovine (*Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*).

Koliformne bakterije iz rodov *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* ne preživijo pasterizacije. Kadar so v mleku prisotne, je to znak neustreznega čiščenja in razkuževanja ali dezinfekcije. Te bakterije so tipični predstavniki povzročiteljev zgodnjega napihovanja sirov, ker tvorijo pline.

Plesni se v mlekarstvu pogosto pojavljajo kot kvarljivci. Rastejo na stenah in stropih mlekarn in nato na površini sirov, kjer tvorijo bele, rumene, zelene, rdeče, črne ali rjave madeže. Povzročajo tudi žarkost masla. Pogosto se uporabljajo plesni iz rodov *Monilia*, *Penicillium*, *Geotrichum*.

6.12 Mikrobiologija mesa

Meso je tako kot mleko dober medij za rast mikroorganizmov. Na njem in v njem raste ogromno število različnih mikroorganizmov. Mikroorganizmi, ki so v mesu in mesnih izdelkih, lahko povzročajo številna obolenja in zastrupitve, spremembe izdelkov in ugodne tehnološke spremembe.

Najpogostejše zastrupitve z mesom in mesnimi izdelki povzročajo bakterije iz rodov *Salmonella*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Campylobacter* in *Aeromonas*; zraven njih pa še *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*. Poleg bakterij se pojavljajo še virusi in plesni. Pogostost posameznih povzročiteljev pri pojavu obolenj v posameznih državah je odvisna od prehranskih navad potrošnikov, od higienske in tehnološke stopnje proizvodnje, od vrste izdelka ...

Meso je kot surovina ali izdelek izpostavljeno številnim možnim okužbam. Kvarjenje mesa in mesnih izdelkov se pokaže kot gnitje, kisanje, sluzavost, plesnivost, obarvanje površin in sprememba barve.

Gnitje je posledica razgradnje beljakovin zaradi delovanja mikroorganizmov, ki razgrajujejo beljakovine v mesu in mesnih izdelkih. To so bakterije rodu *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Proteus*, *Escherichia* ... ter plesni in kvasovke. Glavni znaki gnitja so sprememba barve, konsistence in vonja. V suhomesnatih izdelkih se zaradi razsoljevanja gnitje redkeje pojavlja. Pri nepropustno zaprtih izdelkih (embaliranih) je kvar viden po deformaciji ovitkov oziroma embalaži.

Kislost je posledica vrenja ali fermentacije v mesu ali mesnih izdelkih. Ta oblika kvara se pojavlja v anaerobnih in mikroaerofilnih razmerah. Najpogostejša je v barjenih klobasah, poltrajnih konzervah, vakuumsko pakiranih izdelkih in pakiranem svežem mesu.

Površinska sluzavost nastaja na ohlajenem mesu z vlažno površino. Na površini izdelka se pojavi sluzavo lepljivi sloj sivozelenkaste ali svetlorjave barve. Sluzavost se pojavlja na površini barjenih klobas, na klobasah za pečenje, v nadevu za klobase, na mesu v razsolici in na mletem mesu.

Plesnivost se pogosto pojavi na ovitkih klobas in na površinah trajnih in poltrajnih suhomesnatih izdelkov. Barva je odvisna od vrste plesni. Najpogosteje se pojavljajo plesni iz rodov *Mucor*, *Oospora*, *Alternaria*. Pri nekaterih izdelkih je plesen zaželena (trajne klobase, ki zorijo s plemenito plesnijo na ovitku), večinoma pa je pojav plesni na površini mesnih izdelkov neželen. Zaradi rasti plesni se spremenijo organoleptične lastnosti izdelkov, lahko pa plesni izločajo tudi strupe (aflatoksine – *Aspergillus flavus*).

V nadev za hitro fermentirane klobase dodajamo kulture mlečnokislinskih bakterij iz rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus*. S pretvorbo sladkorjev v mlečno kislino močno pospešijo zorenje klobas. Hitro fermentirane klobase zorijo polovico manj časa kot trajne klobase.

6.13 Mikrobiologija pitne vode

V Sloveniji uporabljamo za pitno vodo vse vrste vodnih virov, ki se po količinah, varnosti in kakovosti med seboj bolj ali manj razlikujejo: vodne izvire, podtalnice in površinske vode, kraške izvire in ponikalnice.

Vodni izviri so v Sloveniji večinoma kraškega izvora in dajejo v večjem obsegu dobro pitno vodo. Vendar zagotavljajo neoporečno vodo le, če so zajetja opremljena s kakovostnimi čistilnimi napravami, ki odstranijo motnost in kalnost ter razkužijo vodo. Povzročitelja onesnaženja vodnega vira je težje odkriti kot pri površinskih vodah. Hitra odstranitev onesnaženja ni mogoča, če je prodrlo v globino.

Površinske vode in ponikalnice predstavljajo največji del vodnega bogastva v Sloveniji, vendar se ne uporabljajo za preskrbo s pitno vodo. Vendar, skoraj vsi večji vodovodi v Sloveniji izkoriščajo površinske vode posredno (npr. mariborski iz Drave). Zato je mikrobiološka kakovost pitne vode odvisna tudi od kakovosti površinskih voda.

Podtalnice so, če okolje ni onesnaženo, najbolj kakovosten vir pitne vode. Z naraščanjem onesnaževanja okolja in vdorom onesnaževalcev, pa se tveganje s kemijskimi in mikrobiološkimi dejavniki veča (ostanki in razgradne snovi pesticidov, nitrati, težke kovine, kriptosporidiji, virusi, šigele, kampilobaktri, patogene leptospire ...).

Najpomembnejše je mikrobiološko onesnaženje pitne vode. V svetu naraščajo onesnaženja pitne vode zaradi odlagališč odpadkov, prenaseljenosti, »umazanih tehnologij«, posekov gozdov, preusmerjanja rečnih strug, velikih zajezitev, izsuševanja, velikih ulovov rib ... Največje zdravstveno tveganje, povezano z uživanjem pitne vode, predstavlja onesnaženje vode s človeškimi ali živalskimi izločki. Voda se okuži z vstopom fekalnih snovi v vodni vir. Pogoj je, da takšno vodo ljudje uporabljajo za pitje in pripravo hrane, umivanje, kopanje.

Okužbe z vodo zaradi prisotnosti patogenih mikroorganizmov so največkrat akutnega značaja. Pogoste preiskave pitne vode na prisotnost mikroorganizmov fekalnega izvora so še vedno najbolj zanesljivo zagotovilo za natančno in občutljivo določitev njene higienske kakovosti.

Patogeni mikroorganizmi, ki se prenašajo z vodo so bakterije, virusi, praživali, glive, toksini (strupi) alg in helmiti (trakulje). Povzročajo različne bolezni od blagih črevesnih bolezni do hepatitisa ali trebušnega tifusa, smrtne dizenterije. Vodne epidemije lahko nastanejo zaradi vdora fekalnih snovi v vire pitne vode in praviloma zajamejo večje število ljudi (kolera, bacilarna griža, tifus in paratifus, kampilobakterioze, šigeloze, črevesna virusna obolenja – hepatitis A).

Pitno vodo pred vstopom v omrežje primerno prečistijo. Način prečiščevanja je odvisen od kakovosti vodnega vira.

Najpogostejši postopki so:

- Koagulacija, flokulacija – po koagulaciji se v skupke zberejo raztopljeni delci organskih in anorganskih snovi in mikroorganizmi.
- Sedimentacija – je postopek, ki omogoči hitrejše usedanje delcev in zmanjša motnost vode.
- Filtracija (uporaba počasnih ali hitrih peščenih filtrov).
- Razkuževanje – je najpomembnejša pregrada. Najpogosteje uporabljajo kloriranje, ozoniranje ali UV-sevanje.

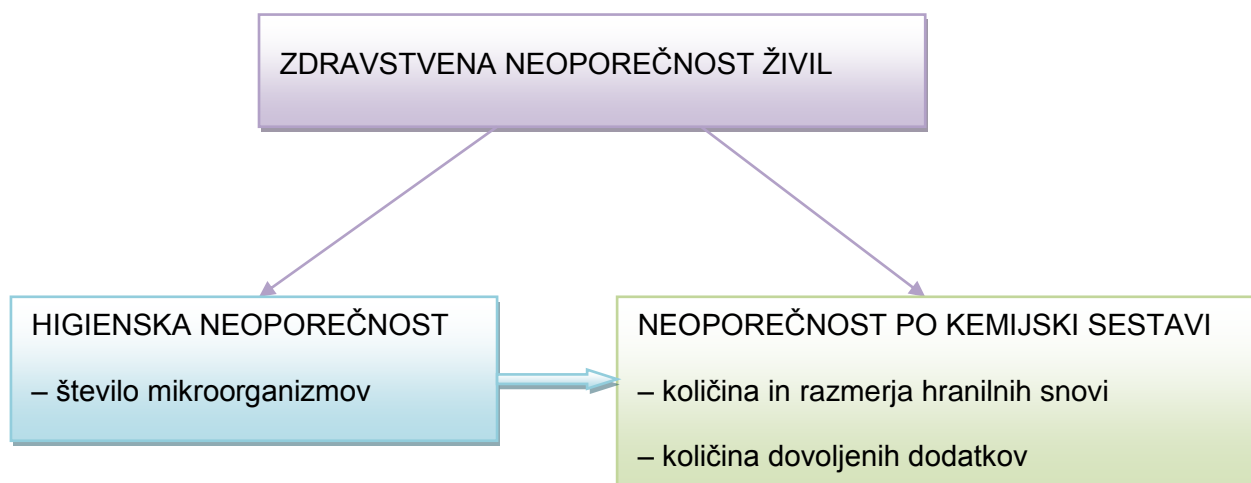
7 ZDRAVSTVENA NEOPOREČNOST ŽIVIL

Živila se v procesu od surovine preko predelave v proizvodnji, skladiščenja in prodaje do uporabe spremenijo. Nanje delujejo podnebni, fizikalni, kemični in biološki dejavniki. Ti spremenijo njihovo hranilno vrednost in organoleptične lastnosti. Higiena prehrane se ukvarja s preučevanjem vseh dejavnikov, ki preko hrane vplivajo na zdravstveno stanje organizma. Preučuje vzroke za pojav novodobnih množičnih bolezni (posledica nezadostne ali preobilne hrane). Preučuje pa tudi biološko in hranilno vrednost živil. Njena naloga je, da preprečuje poškodbe organizmov zaradi nezadostne ali premalo kakovostne hrane.

Preventivni pregledi in sanitarno – higienski postopki na področju živilstva imajo dvojni namen:

- Ščitijo potrošnika in njegovo zdravje.
- Dvigajo kakovost proizvodnje z uporabo ustrezne opreme in naprav v proizvodnem procesu in prometu z živil.

Na ta način se dviga kakovost živil in preprečuje njihovo kvarjenje.



Shema 5: Zdravstvena neoporečnost živil

Vir: Mikrobiologija (A. Kapun, 2001)

7.1 VRSTE NADZORA ZDRAVSTVENE NEOPOREČNOSTI ŽIVIL

Nadzor nad zdravstveno neoporečnostjo in kakovostjo živil je organiziran tako, da so vse vrste nadzora povezane v smiselno celoto in se medsebojno dopolnjujejo.

Vrste nadzora:

Samokontrola, pri kateri za kakovost izdelka odgovarja proizvajalec oziroma delavec, ki ga izdeluje.

Kontrola ali nadzor nad zdravstveno neoporečnostjo, ki jo izvaja delovna organizacija po obstoječih predpisih ali institucija, ki je pooblaščen za izvajanje določene vrste kontrole kakovosti živil.

Vzporedno preverjanje izdelkov, ki ga izvajajo na pobudo potrošnikov.

Ocenjevanje kakovosti na sejnih in razstavah, kjer se ocenjuje dosežen nivo tehnologije in kakovosti ter javno nagradi proizvajalce.

Inšpekcijski nadzor, ki ga izvajajo inšpekcijske službe (sanitarna, veterinarska in tržna inšpekcija).

7.2 STRATEGIJA ZDRAVSTVENEGA NADZORA NAD ŽIVILO V ŽIVILSKI INDUSTRIJI

V živilski industriji je za proizvajalce in prodajalce najpomembnejši cilj kakovost izdelka. Sodobni potrošniki so postali bolj zahtevni glede kakovosti živil, bolj ozaveščeni. Spremenili so prehranjevalne navade, izbor hrane in s tem zahteve proizvajalcev živil. Zahtevajo zdravo, varno in varovalno hrano.

Vse te zahteve potrošnikov lahko proizvajalci izpolnijo s sistemom, ki ga imenujemo celotno obvladovanje kakovosti. To je sistem, ki povezuje organizacijske strukture, postopke, izrabo surovin, tehnologijo in kontrolo izdelkov. Ustrezati mora zahtevam po kakovosti izdelkov ter zagotoviti zaupanje potrošnikov. Najvažnejši je učinkovit in aktiven nadzorni sistem. Tak sistem je HACCP ali analiza tveganja v kritičnih točkah.

Če želimo postaviti **sistem HACCP**, je potrebno izpolniti sedem pogojev:

1. Določiti možno tveganje pri vsaki sestavini izdelka ali vsaki stopnji procesa, ki lahko ogrozi varnost končnega izdelka.
2. Določiti točke v procesu, ki so kritične za nadzor poznanega tveganja v kritičnih kontrolnih točkah.
3. Določiti kriterije, norme in odstopanja, ki zagotavljajo nadzor nad kritičnimi kontrolnimi točkami.
4. Postavitev in delovanje nadzornega sistema za nadzor kritičnih kontrolnih točk.
5. Določiti in izvesti preprečevalne mere in ukrepe, ki so potrebni za popravek, kadar nadzorni sistem pokaže, da kritična kontrolna točka ni pod nadzorom.
6. Potrditev z dodatnimi testi, da HACCP sistem deluje.
7. Postaviti dokumentacijski sistem, ki vsebuje vse podatke o pogojih od 1 do 6 in njihovi uporabi.

8 OKUŽBE IN ZASTRUPITVE Z ŽIVILI (ALIMENTARNE TOKSIKOINFEKCIJE)

Živila, ki jih človek vsak dan uživa – surova ali predelana – lahko v določenih okoliščinah povzročijo obolenja posameznikov ali prave epidemije.

Ali bo določen mikroorganizem povzročil zastrupitev z živilom, je odvisno od več dejavnikov:

- Sposobnost mikroorganizmov, da v živilu ostane ali se v njem razmnožuje.
- Prisotnost točno določenih patogenih lastnosti mikroorganizmov (npr. sposobnost tvoriti mikotoksine ...).
- Sposobnost mikroorganizmov, da se širijo v tkivu človeka.
- Dovolj veliko število mikroorganizmov, da se doseže infekcijski odmerek, ki povzroči zastrupitev.

Na izbruh bolezni oziroma bolezenskih znakov vpliva tudi obrambna sposobnost okuženega človeka. Infekcijo ali okužbo z živilom povzroči vdor mikroorganizmov v človeško tkivo, kjer se razmnožujejo. Pogosto se mikroorganizmi v živilu ne morejo razmnoževati, vendar pa lahko povzročijo okužbo. Pomembna prenašalca takih okužb sta mleko in voda. Tipični mikroorganizmi iz te skupine so: *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Leptospira*, *Campylobacter jejuni*, A – streptokoki, virusi in paraziti.

Prvi pogoj za vdor mikroorganizmov v človeški organizem je njihova sposobnost, da se oprimejo celic gostiteljevega tkiva (*E. coli* ima za namen fimbrije). Z njegove površine prodrejo v globlje sloje tkiva. Razmnoževanje in razširjanje mikroorganizmov v človeškem tkivu je odvisno od odpornosti mikroorganizmov na obrambne mehanizme človeškega telesa. Večina vnetij, ki jih povzročijo napadalni mikroorganizmi (npr. *Campylobacter jejuni*), je prostorsko omejenih na določenem področju (na črevo). Nekateri povzročitelji zastrupitev (*Salmonella typhi* in virusi) pa povzročijo sistemske okužbe (okužbe, ki prizadenejo ves organizem). Ti se v inkubacijski dobi, čas od zaužitja okuženega živila do pojava bolezenskih znakov, po limfnem tkivu razširijo po telesu, prodrejo v krvni obtok in povzročijo sepsa, nato pa se naselijo v nekaterih organih.

Zastrupitve z živilom povzročajo mikroorganizmi, ki so sposobni tvoriti strupe – toksine in se običajno lahko razmnožujejo v živilih.

Meje med okužbo (infekcijo) in zastrupitvijo (intoksikacijo) ni vedno mogoče ločiti. Mnogi mikroorganizmi proizvajajo strupe in so hkrati tudi invazivni. Takšni so: salmonele, ki povzročajo vnetje tankega črevesja; *Shigella*, enteropatogena *Escherichia coli* in *Vibrio cholerae*. Zato vsa obolenja, ki nastanejo zaradi vdora mikroorganizmov z živilom v človeški organizem ali uživanjem njihovih presnovnih produktov z živilom, imenujemo alimentarne toksikoinfekcije. Virulenca je lastnost določene vrste mikroorganizmov, da lahko povzroči bolezen. Virulenca je stopnja patogenosti.

Dejavniki, ki pripomorejo k okužbam in zastrupitvam z mikroorganizmi so:

- priprava hrane vnaprej,
- hranjenje živil pri sobni temperaturi,
- nezadostno kuhanje živil,
- nezadostno ohlajevanje živil,
- okužba ali kontaminacija že pripravljene hrane,
- navzkrižna okužba ali kontaminacija,
- okužba ali kontaminacija (surove) toplotno neobdelane hrane,
- neustrezno ponovno pogrevanje živil,
- neustrezno odtajanje živil,
- priprava zelo velikih količin hrane,
- okuženi delavci.

Patogenost je sposobnost mikroorganizma, da povzroči bolezen, stopnjo patogenosti pa imenujemo **virulenca**. Patogene in virulentne bakterije vedno povzročijo bolezen, za razliko od **oportunistov**, ki povzročijo škodo le izjemoma in pod določenimi ugodnimi pogoji pri ljudeh z zmanjšanim imunskim odzivom ali odpornostjo. Navadno so oportunistične bakterije neškodljive, večkrat so za človeka tudi koristne. Veliko bakterij izloča strupe ali eksotoksine. To so beljakovine, ki delujejo škodljivo na celico. Bakterija jih izloča v okolju, kjer se razmnožuje. Zelo škodljivo deluje na človeški organizem endotoksin, ki ga tvorijo po Gramu negativne bakterije.

Med **alimentarne toksikoinfekcije** spadajo **alimentarne infekcije**. To so obolenja, ki jih povzročajo sami mikroorganizmi – bodisi zoonoze, človeške okužbe, ki se prenašajo z živili, mikrobiološko okužbo živil iz okolja.

Druga skupina so **alimentarne intoksikacije** – zastrupitve, ki jih povzročajo strupi (toksini) mikroorganizmov, plesni in pa strupene snovi v živilih.

8.1 Alimentarne infekcije

Alimentarne infekcije, ki jih prenašajo povzročitelji zoonoz

Infekcije s salmonelami

V naravi so zelo razširjene, posebno kot črevesni paraziti različnih sesalcev, ptic in človeka. Poznamo več kot 2000 različnih salmonel. Salmonele povzročijo obolenja samo, če pridejo žive v organizem. Na višje temperature niso odporne. Že temperatura pasterizacije (62 °C in višja) jih zanesljivo uniči. Salmonele pridejo v živila na dva načina:

- Če je živilo – meso ali mleko, pridobljeno iz živali, ki so zbolele za salmonelozo in ob zakolu niso bile veterinarsko pregledane.
- Ali pa se je živilo onesnažilo posredno prek ljudi, živali, insektov, vode, zemlje, umazanega orodja, pribora ter strojev, ki se uporabljajo za proizvodnjo živil.



Slika 11: Bakterija *Salmonella*

Vir: <http://www.healthype.com/wp-content/plugins/salmonella1.jpg>

Kritična vrsta živil glede salmonel je predvsem meso.

Nevarna so tudi račja jajca, ker so pogosto okužena s salmonelami, zato se smejo prodajati le z opozorilom, da morajo biti pred uporabo kuhana najmanj 10 minut. Salmonete v jajčnem melanžu so zunanega izvora; pri lomljenju jajc z nečisto lupino, to preprečimo tako, da pasteriziramo melanž pred zamrzovanjem. Jajca so lahko tudi izvor salmonel v živilih, kot so slaščice in sladoled.

Tudi mleko in mlečni izdelki so lahko prenašalci salmonel, predvsem na področjih, kjer ni bila ustrezna toplotna obdelava in so bili izvor ljudje.

Ribe so lahko okužene, če so bile ulovljene v onesnaženih vodah v bližini mest, tudi obalnih. Farne školjke so lahko okužene s salmonelami, saj školjke stalno filtrirajo vodo. Preden grejo školjke v prodajo so od 7 do 14 dni v zdravstveno ustrezni morski vodi.

Če salmonete prodrejo iz črevesja v kri in se razširijo, sledi začetni infekciji bolezen, ki jo prištevamo med salmoneloze. Simptomi salmoneloz se kažejo kot paratifoidna mrzlica, ki traja dalj časa.

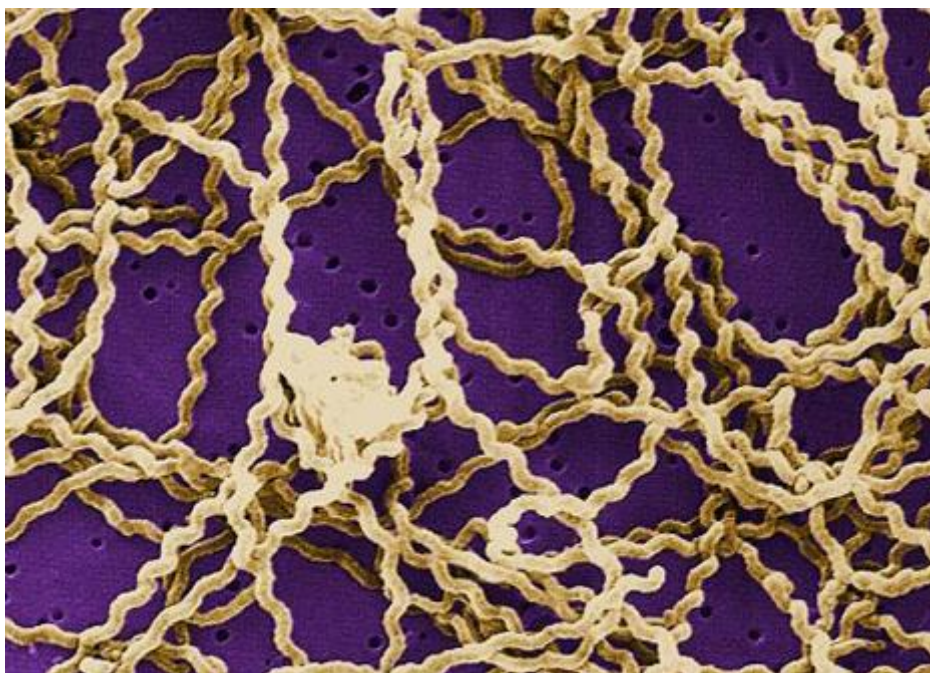
Za minimalno infekcijsko dozo je veliko let veljalo, da je treba dobiti najmanj 100.000 do 1.000.000 živih celic/g živila. Pri mladih in zelo starih ljudeh pa že neznatno število (100 – 1000 salmonel/g živila) je potrebno bolnišnično zdravljenje. Zato je treba vsako najdbo salmonel v živilu obravnavati kot zdravju nevarno. Če je v organizem prišlo samo manjše število salmonel in se bolezen še ni razvila, lahko ljudje postanejo klicenosci in so potencialno nevarni za okolico.

Preprečevalni ukrepi:

- Vzgoja oseb, ki delajo z živili. Pri osebni higieni je poudarjeno umivanje rok. Kuhana hrana naj ne pride v stik z rokami. Osebe, ki so prenašalci salmonel, ne smejo biti zaposleni v obratih družbene prehrane in v gostinstvu.
- Potrebno je skrbeti za čistost orodja, pribora in površin, ki pridejo v stik z živili.
- Živila – zlasti beljakovinska, ki so hitro pokvarljiva (kot npr. meso, perutninsko meso, jajčni melanj ipd.), je treba hraniti pri temperaturah, ki so nižje od 8 °C, ali pa, če so bila toplotno obdelana, pri temperaturi nad 60 °C. V obeh primerih preprečimo razmnoževanje salmonel (pri temperaturi nad 60 °C se celo uničijo).
- Prostori in oprema v prostorih morajo biti smiselno prostorsko urejeni tako, da se ne križajo čiste in nečiste poti.

LEPTOSPIROZA

Leptospirozo povzročajo bakterije *Leptospirae*. Na človeka se prenaša z okuženim surovim ali premalo toplotno obdelanim mesom bolnih živali, z mesnimi izdelki, z urinom okuženih miši ali podgan, pa tudi z mlekom bolnih živali. Prenos lahko poteče tudi kontaktno (z ranami ali odrgninami – delavci pri kanalizaciji, rudarji, mesarji, čistilci, ribiči). Možno je tudi onesnaženje okolja (seč v vodovja). Preventivni ukrepi so deratizacija in razkuževanje klavnic, tovarn ribjih konzerv, skladišč živil in tržnic. Pri okužbi z leptospirozo se v glavnem pojavi vročina, mrzlica, bolečine v mišicah in glavobol, izjemoma nastopi zlatenica s prizadetostjo jeter in ledvic ter s krvavitvami.

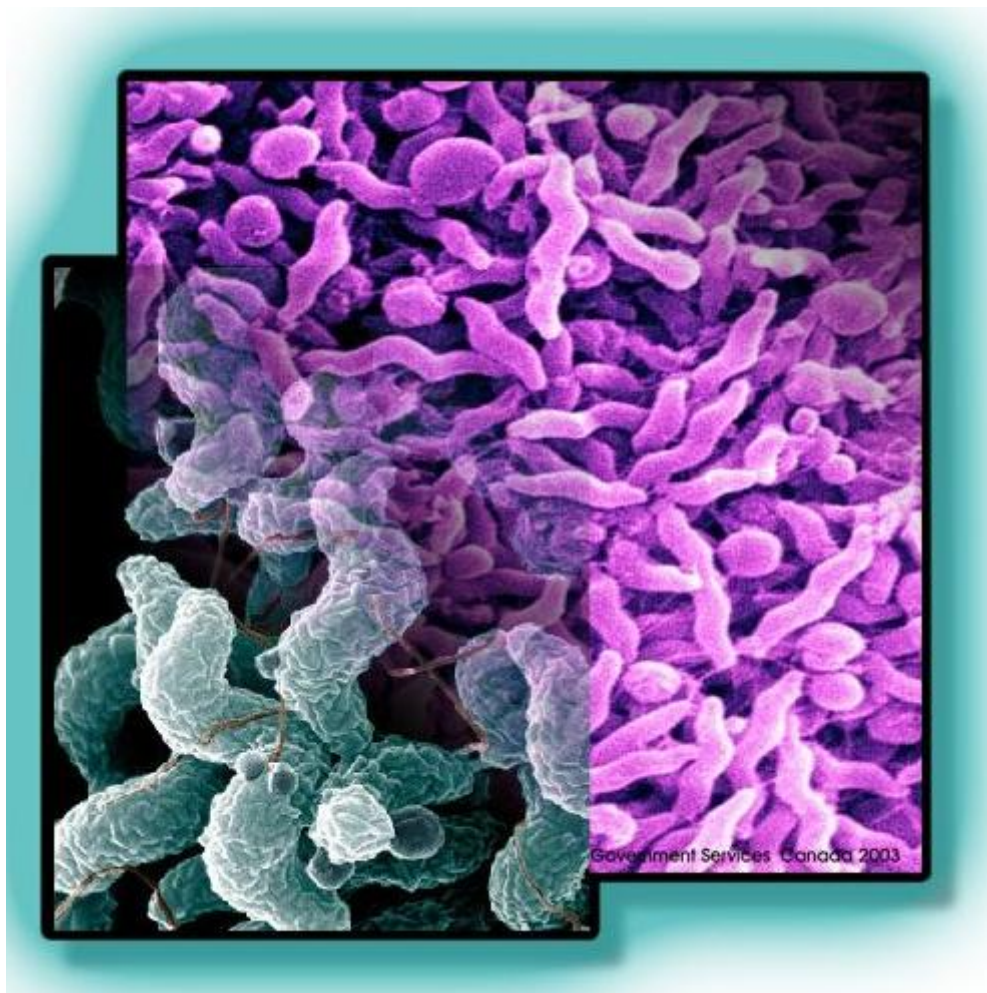


Slika 12: Bakterije *Leptospirae*

Vir: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/PublishingImages/leptospirosis.jpg>

KAMPILOBAKTARIOZA

Povzrota jo *Campylobacter jejuni* in *Campylobacter coli*. Na človeka se prenaša s surovim mlekom bolnih živali, nezadostno toplotno obdelanim perutninskim mesom. Divje ptice lahko okužijo površinske vode s svojimi iztrebki. Bakterija ne preživi pasterizacije in kuhanja. Pomembno je, da ne pride do navzkrižne kontaminacije. Bolezenski znaki so: driska, včasih tudi krvavitve, slabost, bruhanje in trebušni krči.



Slika 13: Bakterija *Campylobacter*

Vir: [http://www.defendingfoodsafety.com/uploads/image/Campylobacter\(2\).jpg](http://www.defendingfoodsafety.com/uploads/image/Campylobacter(2).jpg)

BRUCELOZA

Povzročajo jo *Brucella melitensis*, *Brucella suis* in *Brucella abortus*. Na človeka se prenaša s surovim mlekom ali mlečnimi izdelki, okuženimi iztrebki, urinom, premalo kuhanim mesom, s stikom (odrgnine kože) ali z vdihavanjem okuženega zraka. Brucele preživijo v hlajenem mesu perutnine 21 dni, v mleku pri 8 °C 48 ur, v sirih pri 5 °C pa do 6 mesecev. Povzročajo dolgotrajna obolenja, ki se kažejo v nihajoči povišani telesni temperaturi, bolečinah v sklepih, glavobolu in utrujenosti.



Slika 14: Bakterija *Brucella melitensis*

Vir: http://www.sandoz.sk/img/vzdelavanie/galeria_mikroorganizmy/brutlla_melitensis.jpg

LISTERIOZA

Listeriozo povzroča bakterija *Listeria monocytogenes*. Na človeka se prenaša z nezadostno kuhanim mesom, z neposrednim stikom, možno je tudi onesnaženje okolja (zemlja – uživanje surove zelenjave). Listerije se uničijo pri temperaturi 80 °C/15 sekund. Pri temperaturi 22 °C se hitro razmnožujejo, preživijo sušenje, zamrzovanje, soljenje in razsoljevanje. Listerioza povzroča splav pri nosečnicah, sicer pa nastopa kot lokalna okužba ali razširjena okužba po vsem telesu (meningitis). Infekcijski odmerek je že 100 bakterij.

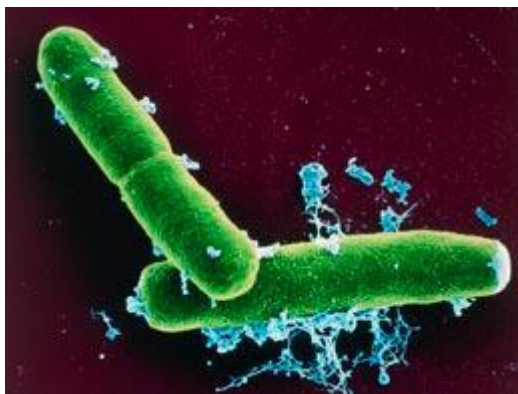


Slika 15: Bakterija *Listeria monocytogenes*

Vir: <http://special.novinky.cz/2007/ekonomika-svet-bez-olova-bakterii-a-ftalatu.html>

VRANIČNI PRISAD

Vranični prisad povzroča bakterija *Bacillus anthracis*. Prenaša se z mesom in mlekom bolnih živali, s stikom (delo s trupi, kožo, volno, mesom ali krvjo bolnih živali) ali z vdihavanjem okuženega zraka. Kadar pride do suma vraničnega prisada, se zakol prepove. Bolne živali se ustrezno uničijo, spore bakterij uniči šele temperatura 120 °C/10 minut. Pri ljudeh se najprej pojavi kožna oblika antraksa, zatem sledi okužba krvi in meningitis.

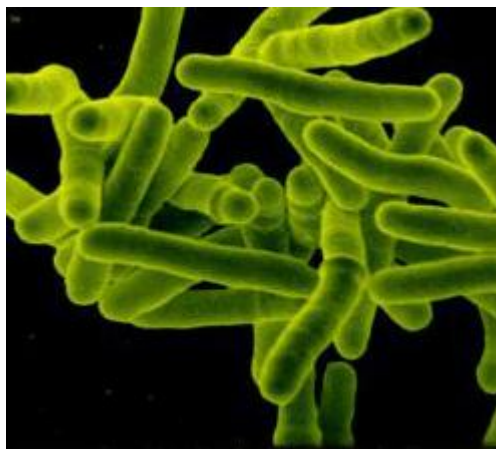


Slika 16: Bakterija *Bacillus anthracis*

Vir: <http://www.nature.com/news/2009/090225/images/news.2009.120.jpg>

TUBERKULOZA

Tuberkulozo povzročajo bakterije *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium* in *Mycobacterium tuberculosis*. Prenaša se z organi (jetra) okuženih živali, predvsem s surovim mlekom bolnih živali ter jajci bolne perutnine, možen je tudi prenos preko zraka in okužba s stikom (z ranami). Bakterije preživijo 14 dni v kislem mleku, v smetani 30 dni, v surovem maslu več mesecev, v mehkih sirih do 50 dni, v poltrdih sirih do 80 dni. Bakterija ne preživi pasterizacije. Znak okužbe je kronično obolenje pljuč. Bakterija napade vse organe, čeprav v večini primerov ostane infekcija omejena na bezgavke.

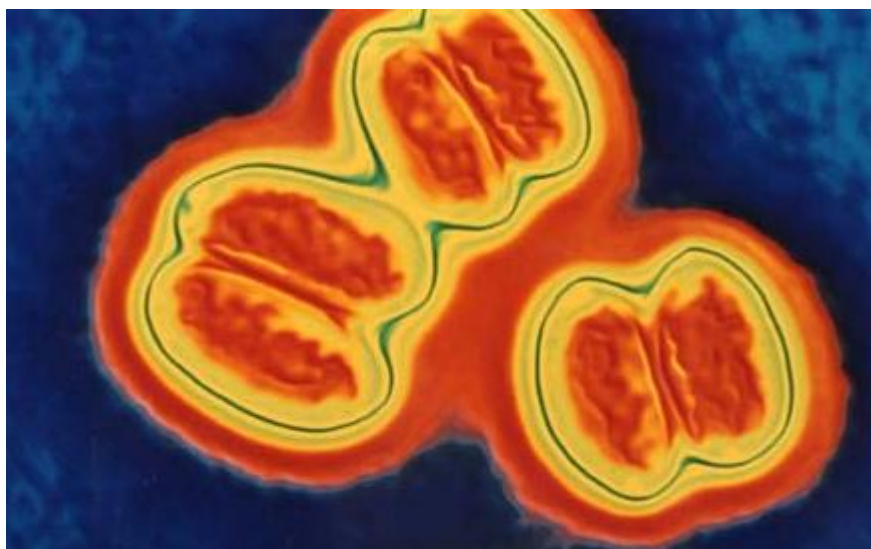


Slika 17: Bakterija *Mycobacterium tuberculosis*

Vir: <http://medicineworld.org/images/blogs/11-2007/mycobacterium-tuberculosis-299290.jpg>

KLOPNI MENINGOENCEFALITIS

Povzročja ga virus. Človek se okuži s surovim mlekom obolelih koz ali z ugrizom klopa. Pasterizacija ga uniči, v smetani in surovem maslu (iz nepasteriziranega mleka) zdrži pri 4 °C dva meseca. Znaki okužbe so: bolečine mišic v vratu in nato pride do vnetja ovojnic centralnega živčnega sistema v možganih (meningoencefalitis).



Slika 18: Virus, ki povzroča klopni meningoencefalitis

Vir: <http://www.zdravstvena.info/vsznj/wp-content/uploads/2009/01/meningitis.jpg>

FEKALNI STREPTOKOKI

Bakterija *Enterococcus faecalis* je lahko potencialni povzročitelj blage oblike vnetja želodca in črevesja. Znaki okužbe so slabost, driska in bolečine v trebuhu.

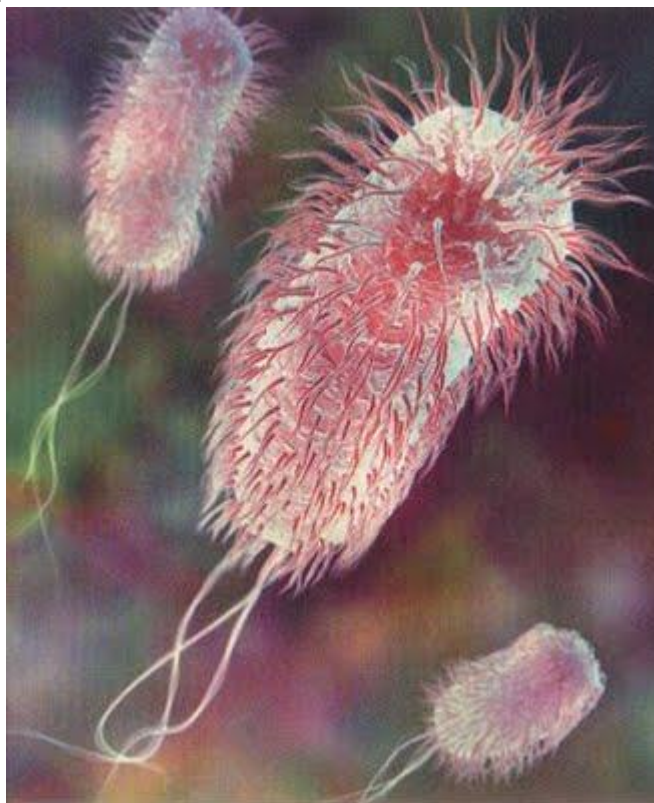
Bakterija ***Proteus morganii*** proizvaja histamin iz aminokislina histidina, zlasti v mišičevju rib (tune, lokarde, skuše). Znaki zastrupitve s histaminom so glavobol, bolečine v trebuhu, driska, slabost in bruhanje, včasih se pojavi srbečica in edem. Prvi znaki zastrupitve se pojavijo tri ure po zaužitju ribe. Pogosto so ribe izpostavljene temperaturam, pri katerih se ta bakterija izredno hitro razmnožuje. Kritična koncentracija za histaminsko zastrupitev je ≥ 100 mg/kg. Histamin je termostabilen in ga sterilizacija konzerv ne uniči.



Slika 19: Bakterija *Proteus morganii*

Vir: <http://www.cutimeduk.com/pics/sorbacteria1.jpg>

Bakterija ***Escherichia coli*** je prisotna v normalni črevesni flori človeka in živali. Večina sevov je neškodljivih, le nekateri povzročajo okužbe. Znaki okužbe so driska, bolečine v trebuhu, slabost in vročina. Težave trajajo 7 dni. Za preprečevanje vseh infekcij je pomembna higiena, preskrba z neoporečno vodo ter higiensko neoporečna priprava živil oziroma jedi. Je tudi pogost povzročitelj »potovalnih drisk«.



Slika 20: Bakterija *Escherichia coli*

Vir: <http://www.zdravstvena.info/vsznj/wp-content/uploads/2009/01/meningitis.jpg>

ALIMENTARNE INTOKSIKACIJE

To so obolenja, ki jih povzročajo strupi ali toksini mikroorganizmov – bakterij, virusov, plesni ter strupene snovi v nekaterih vrstah živali (rib, rakov, školjk).

STRUPI ALI TOKSINI MIKROORGANIZMOV

Botulizem

Bakterije rodu *Clostridium* se nahajajo v zemlji, zraku, vodi, fekalijah človeka in živali ter na rastlinah. So sporogene bakterije. Povzročajo kvarjenje živil (mesnih izdelkov). Patogeni vrsti sta *Clostridium botulinum* in *Clostridium perfringens*, ki povzročata alimentarne intoksikacije.

Clostridium botulinum najdemo v zemlji, blatu, živalski krmi, ribah, nepravilno konzerviranih živilih, ribjih izdelkih ipd. Tvori strupe v hrani, pri dojenčkih pa lahko strup nastane v črevesju. Spore so odporne na visoke temperature, strup pa visoka temperatura uniči. Če uživamo živila, ki niso bila dovolj toplotno obdelana in se v njih med skladiščenjem tvori strup botulin. Ta strup deluje smrtno že v malih količinah. Je do danes najmočnejši znan biološki strup. Deluje nevrotoksično, ker blokira prenos dražljajev po živčnih vlaknih. Smrtnost je 50 % in več. Okrevanje obolelih traja od 6 do 8 mesecev. Najugodnejša temperatura za razmnoževanje je 45 °C, da nastane toksin pa le 30 °C.

Ko zaužijemo okuženo živilo, se strup vsrka v zgornjem delu tankega črevesa preko limfnega sistema v krvni obtok. Kdaj se bodo pojavili bolezenski znaki, je odvisno od vrste strupa in zdravstvenega stanja okuženega človeka. Inkubacijska doba je od 12 do 36 ur (redkeje od 4 ure do 4 dni). Bolezenski znaki so paraliza očesnih mišic, pride do motenj vida (dvojna slika ipd.); otrplost žrelne mišice in jezika, kar povzroči motnje v govoru in požiranju, sluznice ust, jezika in žrela postanejo suhe, ker se zmanjša izločanje sline. Hkrati lahko pride do paralize udov. Smrt bolnika nastopi zaradi paralize ali otrplosti dihalnih mišic, ki onemogoči dihanje. Za zdravljenje je zelo pomembno, da bolnik dobi čim prej protistrup, ki nevtralizira prost toksin, ki se še ni vezal na živčevje. Strup poskušajo razredčiti s praznjenjem želodca in črevesja ter infuzijo. Poleg tega bolnik še dobi zdravila, s katerimi želijo preprečiti naknadne okužbe in kisik.

Okužbo preprečujemo s segrevanjem živil na 121 °C za najmanj 15 minut, ki so skladiščena pri temperaturah višjih od 10 °C. Živila, ki so skladiščena nad 10 °C je potrebno segreti na 90 °C za najmanj 5 minut. Živila, ki vsebujejo kisline morajo imeti pH nižji od 4. S soljenjem, razsoljevanjem, slajenjem in zamrzovanjem je potrebno vrednosti vodne aktivnosti a_w v živilih znižati pod 0,932. Dodatna ukrepa sta še uporaba surovin, ki niso onesnažena z zemljo in uporaba konzervansov (nitrit).

Clostridium perfringens

Je bakterija, ki se nahaja v prahu, zemlji, v živalskih in človeških iztrebkih, v začimbah, v posušeni živilih, v mesu klavnih živali in perutnine. Je sporogena bakterija. Spore preživijo kuhanje in lahko vzklijejo med zmernim in dolgotrajnim hlajenjem. Razmnožuje se pri temperaturah od 6,4 °C do 50 °C. Če človek s hrano vnese dovolj veliko število teh bakterij, se razmnožujejo in tvorijo spore v črevesju. Bolezenski znaki so driska, bolečine v trebuhu, slabost, vendar brez bruhanja. Telesna temperatura navadno ni povišana. Najpogostejši vzrok okužbe so pogrete jedi, ker lahko gretje pospeši klitje spor. V 8 do 20 urah po zaužitju okuženega živila se pojavi driska, ki jo spremljajo bolečine v spodnjem delu trebuha. Bolezenski znaki običajno izginejo po 10 do 24 urah.



Slika 21: Bakterija *Clostridium perfringens*

Vir: Foodylife.com

Plesni, ki tvorijo mikotoksine

Mikotoksini so presnovni produkti nekaterih plesni. Nastanejo med rastjo in se nabirajo v živilih in v hranilnih podlagah, na katerih rastejo. So strupeni za ljudi in živali. Najpogostejše plesni, ki tvorijo mikotoksine so iz rodov *Aspergillus*, *Penicillium* in *Fusarium*. Prisotnost teh plesni na živilih povzroča kvar. So termostabilni, razgradljivi so pri temperaturah nad 130 °C.

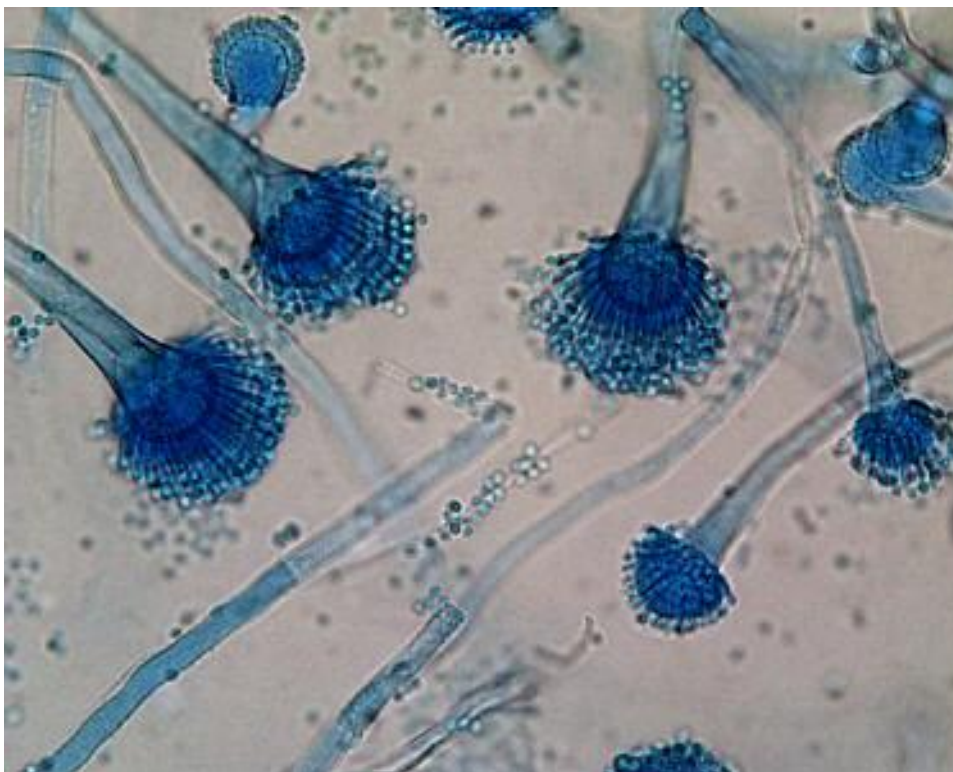
Aflatoksini

Ime so dobili po *Aspergillus flavus*, ki te strupe tvori. Aflatoksini so termostabilni in se razgradijo šele po daljšem času delovanja toplote (100–120 °C) v avtoklavah ali pri pečenju. Med peko kruha in pasterizacijo se ne razgradijo popolnoma. Bolj so občutljivi na delovanje močnih kislin in baz.

Toksičnost aflatoksinov je enaka strupenosti strihnina in ciankalija. Pojesti bi bilo treba veliko količino s plesnijo okuženega živila, da bi v telo vnesli dovolj strupa za nenadne težave. Pomembnejša so obolenja, ki so posledica uživanja manjših odmerkov daljši čas. Ta obolenja so različna obolenja jeter in razraščanja veziv. Enaka obolenja lahko povzročata tudi vdihovanje prahu, ki se dviga pri pretovarjanju plesnivih žitaric ali zemeljskih oreščkov.

Strupi se kopičijo v jetrih, srcu in mišicah, tako še okrepijo svoje delovanje. Poleg poškodb jeter povzročajo aflatoksini še teratogenost (nastanek poškodb zarodka) predvsem pri živalih. So rakotvorni (karcenogeni) in povzročajo raka na jetrih in ledvicah.

Plesni, ki tvorijo aflatoksine najdemo v tleh, prahu, na rastlinah in njihovih sadežih. Posebno pogoste so te plesni na tropskem in subtropskem lupinastem sadju in žitih. Živila, ki jih je potrebno nadzirati glede prisotnosti aflatoksinov so: zemeljski oreški, lešniki, orehi, pistacije, mandlji, marelične in breskove koščice, kokosovi kosmiči, mak, sezam in žita.



Slika 22: Plesen *Aspergillus flavus*

Vir: <http://www.eapcri.eu/images/aspergillus1.jpg>

Patulin

Je mikotoksin, ki nastane kot presnovni produkt plesni iz različnih rodov *Penicillium*, *Aspergillus* in *Byssoclamys*. Patulin nastaja predvsem v sadju. Pri živalih povzroča prebavne motnje, edeme in notranje krvavitve različnih organov.

***Fusarium* toksini**

Je različne skupina toksinov. Plesni vrste *Fusarium* med rastjo na žitaricah izločajo strupe. V to skupino strupov spadajo: zearalenon, moniliformin, fusarin C in drugi. Vrste *Fusarium* rastejo in oblikujejo toksin v temperaturnem območju od 1 °C do 39 °C. Bolezni, ki jih povzročajo so: zaviranje nastanka beljakovin, popuščanje krvožilnega sistema, bruhanje, driske in odklanjanje hrane. Vse te znake so opazili predvsem na živalih.



Slika 23: Plesni vrste *Fusarium*

Vir: http://www.prosementi.com/images/uploads/rewind/mas_fusariosi.jpg

Preprečevanje okužb s plesnimi, ki izločajo mikotoksine:

Pridelava manj okuženih surovin (žit, sadja, orehov in začimb).

Preprečevanje delovanja mikotoksinov, ki so že v živilih s tehnološkimi operacijami (filtracijo, uporabo žveplovega dioksida, uporabo C-vitamina, praženjem pri visokih temperaturah nad 240 °C, ekstrakcijo s solno raztopino).

Uničevanjem plesni v polizdelkih in izdelkih.

9 Higiena v proizvodnih prostorih

Živilo, ki je mikrobiološko kakovostno, vsebuje čim manjše število mikroorganizmov, ki povzročajo kvarjenje živila in nobenega patogenega mikroorganizma ali njegovih presnovnih strupenih snovi.

Mikrobiološko kakovost lahko dosežemo z mnogimi preventivnimi ukrepi na področjih higiene v obratih. Ne moremo je doseči samo z nadzorom končnih izdelkov. Že pri načrtovanju proizvodnje je potrebno upoštevati mikrobiološke zahteve.

Med te spadajo:

- oprema prostorov,
- delovanje prezračevalnih naprav,
- oskrba z vodo,
- odvoz odpadnih voda in odstranjevanje odpadkov,
- zgradba strojev in možnost njihovega čiščenja,
- organizacija delovnih faz in razporeditev prostorov v obratu,
- stabilizacija mikrobiološke kakovosti polizdelkov in končnih izdelkov z ustreznimi recepturami in tehnološkimi postopki,
- izdelava specifikacij z dobavitelji za vse surovine.

Izvedbo in rezultate ukrepov morajo nadzirati izbrani delavci, ki ugotovitve redno spremljajo in vpisujejo v zapisnike. Te redno pregledujejo strokovnjaki, ki skrbijo za kakovost izdelkov v delovni organizaciji. Za uspeh teh kontrolnih ukrepov je pomembno, da delavce stalno izobražujemo in jih motiviramo, da spoznajo in upoštevajo medsebojno odvisnost od higiene v proizvodnih prostorih in kakovosti izdelka.



Slika 24: Čiščenje in vzdrževanje higiene med delovnim procesom v mlečni industriji

Vir: http://hygiene-for-cleaners.eu/media/Images/OCIP_food_industr.jpg

KAZALO SLIK

Slika 1: Osnovna zgradba virusa	4
Slika 2: Oblike virusov.....	4
Slika 3: Razmnoževanje virusa brez ovojnice v človeški celici	5
Slika 4: Osnovne oblike bakterij	7
Slika 5: Bakterijska sporulacija.....	9
Slika 6: Rast bakterij v tekočem gojišču	24
Slika 7: Oblike mikrobioloških kultur	25
Slika 8: Izolacija čiste kulture s cepilno zanko	25
Slika 9: Izolacija čiste kulture s cepilno zanko iz tekočega gojišča na trdno gojišče	26
Slika 10: Krivulja rasti mikroorganizmov.....	27
Slika 11: Bakterija <i>Salmonella</i>	49
Slika 12: Bakterije <i>Leptospirae</i>	50
Slika 13: Bakterija <i>Campylobacter</i>	51
Slika 14: Bakterija <i>Brucella melitensis</i>	52
Slika 15: Bakterija <i>Listeria monocytogenes</i>	52
Slika 16: Bakterija <i>Bacillus anthracis</i>	53
Slika 17: Bakterija <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	53
Slika 18: Virus, ki povzroča klopni meningoencefalitis.....	54
Slika 19: Bakterija <i>Proteus morganii</i>	55
Slika 20: Bakterija <i>Escherichia coli</i>	55
Slika 21: Bakterija <i>Clostridium perfringens</i>	57
Slika 22: Plesen <i>Aspergillus flavus</i>	58
Slika 23: Plesni vrste <i>Fusarium</i>	59
Slika 24: Čiščenje in vzdrževanje higiene med delovnim procesom v mlečni industriji	60

KAZALO TABEL

Tabela 1: Nekateri značilnosti mikroorganizmov	3
Tabela 2: Primerjava prokariotske in evkariotske celice	6

KAZALO SHEM

Shema 1: Procesi presnove ali metabolizma	17
Shema 2: Razgradnja beljakovin	18
Shema 3: Razgradnja maščob	19
Shema 4: Postopki za podaljšanje obstojnosti živil	30
Shema 5: Zdravstvena neoporečnost živil.....	45

VIRI

1. Bem, Z., Adamič, J., Žlender, B., Smole Možina, S. in Gašperlin, L. 2003. Mikrobiologija živil živalskega izvora. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, oddelek za živilstvo.
2. BSN medical. Cutimed. [Uporabljeno 1.7. 2010]. Dostopno na: <http://www.cutimeduk.com/pics/sorbbacteria1.jpg>
3. Defending Food Safety. Campylobacter Fact. Sheet. [Uporabljeno 6.4. 2010]. Dostopno na: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/PublishingImages/leptospirosis.jpg>
4. Dragaš, A. Z. 2004. Mikrobiologija z epidemiologijo. Učbenik za srednje zdravstvene šole. Ljubljana: DZS.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. [Uporabljeno 6.7. 2010]. Dostopno na: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/PublishingImages/leptospirosis.jpg>
6. FoodLife. 2009. Food Origin Pathogens: Clostridium perfringens and E. coli. [Uporabljeno 22.4. 2009]. Dostopno na: http://www.foodylife.com/wp-content/uploads/2009/04/e_coli_o157h7-food_origin_pathogens_clostridium_perfringens_and_escherichia_coli_ecoli-365x301.jpg
7. HACCP za čistilce. Moduli za poklicno izobraževanje in usposabljanje o izvedbi uredbe (ES) št. 852/2004. [Uporabljeno 1.7. 2010]. Dostopno na: http://hygiene-for-cleaners.eu/media/Images/OCIP_food_industr.jpg
8. HealthHype. Lucas M. 2008. Preventive Measures against Salmonella. [Uporabljeno 25.6. 2008]. Dostopno na: <http://www.healthhype.com/wp-content/plugins/salmonella1.jpg>
9. International Society for Human and Animal Mycology. [Uporabljeno 1.7. 2010]. Dostopno na: <http://www.eapcri.eu/images/aspergillus1.jpg>
10. Kapun, A. 2001. Mikrobiologija. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.
11. Madigan, M. T., Martinko, J. M. in Parker, J. Brock. Ninth Edition, 2000 Biology of Microorganisms. USA: Prentice Hall.
12. Medicine World.Org. 2007. Decoding Genomes of Tuberculosis Bacteria. [Uporabljeno 27.11. 2007]. Dostopno na: <http://medicineworld.org/images/blogs/11-2007/mycobacterium-tuberculosis-299290.jpg>
13. Naturenews. Kwok. R. Anthrax Investigation Still Yielding Findings. [Uporabljeno 25.2. 2009]. Dostopno na: <http://www.nature.com/news/2009/090225/images/news.2009.120.jpg>

14. Pokorn, J. 1990. Mikrobiologija v živilskih procesih. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Živilska tehnologija.
15. Sandoz. [Uporabljeno 1.7. 2007]. Dostopno na:
http://www.sandoz.sk/img/vzdelavanie/galeria_mikroorganizmy/brutilla_melitensis.jpg
16. Societa produttori sementi S.p.A. Bologna. [Uporabljeno 1.7. 2010]. Dostopno na:
http://www.prosementi.com/images/uploads/rewind/mas_fusariosi.jpg
17. Special Novinky. 2007. [Uporabljeno 1.7. 2010]. Dostopno na:
<http://special.novinky.cz/2007/ekonomika-svet-bez-olova-bakterii-a-ftalatu.html>
18. Treehugger. Alter L. 2007. Dutch Scientists Growing Meat in the Lab. [Uporabljeno 6.4. 2007]. Dostopno na: <http://i.treehugger.com/images/2007/10/24/petri%20dish.jpg>
19. Zdravstvena.info. 2009. Virusne bolezni, bakterijske okužbe. [Uporabljeno 19.1. 2009]. Dostopno na:
<http://www.zdravstvena.info/vsznj/wp-content/uploads/2009/01/meningitis.jpg>