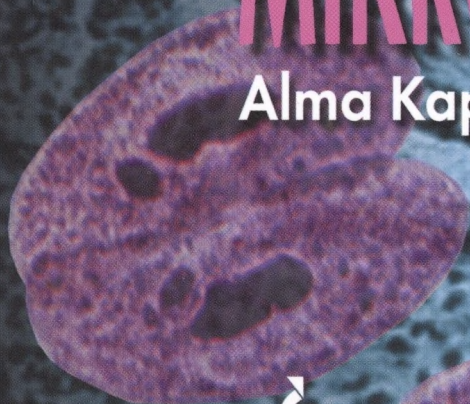


# MIKROBIOLOGIJA

Alma Kapun-Dolinar



Zavod Republike Slovenije za šolstvo

Alma Kapun-Dolinar

# MIKROBIOLOGIJA



Zavod Republike Slovenije za šolstvo

Ljubljana 2001



Alma Kapun-Dolinar, univ. dipl. inž. živilske tehnologije

**MIKROBIOLOGIJA**

*Strokovno pregledali:* dr. Urška Kurnik, dr.vet.med.  
Anica Lorenčič

Jezikovno pregledala: Marjana Šuštar - Mastinšek, prof. slov.jezika

*Izdal in založil:* Zavod RS za šolstvo

*Predstavnica:* Metka Zevnik

*Uredila:* Jelka Vintar

Računalniška priprava: Boex DTP

*Tisk:* Maxinel

Prvi natis

Ljubljana 2001

Učbenik MIKROBIOLOGIJA je bil potrjen na Strokovnem svetu za poklicno izobraževanje za program živilski tehnik.

Zahvaljujemo se založbi Benjamin/Cummings Publishing Company pri založbi Addison Wesley Longman za slikovno gradivo, ki smo ga z njihovim dovoljenjem objavili v učbeniku.

CIP – Kataložni zapis o publikaciji  
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

579(075.3)

KAPUN-Dolinar, Alma  
Mikrobiologija / Alma Kapun-Dolinar. 1. natis. - Ljubljana :  
Zavod Republike Slovenije za šolstvo

ISBN 961-234-389-6  
I. Dolinar, Alma Kapun- glej Kapun-Dolinar, Alma

114531328

© Zavod Republike Slovenije za šolstvo, Ljubljana 2001

Vse pravice pridržane. Brez pisnega dovoljenja založnika ni dovoljeno nobenega dela te knjige na kakršenkoli način reproducirati, kopirati ali kako drugače razširjati. Ta prepoved se nanaša tako na mehanske oblike reprodukcije (fotokopiranje) kot na elektronske (snemanje ali prepisovanje na kakršenkoli pomnilniški medij).

---

# KAZALO

<b>RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE</b>	<b>9</b>
<b>1 PREDSTAVITEV MIKROORGANIZMOV</b>	<b>13</b>
<b>2 IMENOVANJE IN KLASIFIKACIJA MIKROORGANIZMOV</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Različnost mikroorganizmov</b>	<b>16</b>
2.1.1 Bakterije	16
2.1.2 Fungi ali glive	17
2.1.3 Praživali	20
2.1.4 Alge	21
2.1.5 Virusi	23
<b>3 UPORABNA MIKROBIOLOGIJA IN OKOLJE</b>	<b>25</b>
<b>3.1 Mikrobiologija tal</b>	<b>25</b>
3.1.1 Sestava tal	25
<b>3.2 Mikroorganizmi in biogeokemični ciklusi</b>	<b>27</b>
3.2.1 Ogljikov cikelus	28
3.2.2 Dušikov cikelus	29
3.2.3 Razgradnja umetnih snovi v tleh	33
<b>4 MIKROBIOLOGIJA VODE</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Mikrobnna flora sladkih voda</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Mikrobnna flora slanih voda</b>	<b>37</b>
<b>4.3 Pomen mikroorganizmov za kakovost vode</b>	<b>38</b>
<b>4.4 Onesnaženost voda s kemikalijami</b>	<b>39</b>
<b>4.5 Uporaba mikroorganizmov za čiščenje odpadnih voda in trdnih odpadkov</b>	<b>40</b>
4.5.1 Čiščenje odpadnih voda	40
4.5.2 Predelava trdnih odpadkov (smeti)	42



<b>11</b>	<b>STRATEGIJA ZDRAVSTVENEGA NADZORA NAD ŽIVILI V ŽIVILSKI INDUSTRIJI</b>	<b>169</b>
<b>11.1</b>	<b>HACCP ali analiza tveganja v kritičnih kontrolnih točkah</b>	<b>169</b>
11.1.1	Prvi princip	170
11.1.2	Drugi princip	173
11.1.3	Tretji princip	174
11.1.4	Četrti princip	175
11.1.5	Peti princip	177
11.1.6	Šesti princip	177
11.1.7	Sedmi princip	178
<b>12</b>	<b>ALIMENTARNE TOKSIKOINFEKCIJE</b>	<b>181</b>
<b>12.1</b>	<b>Viri okužbe</b>	<b>183</b>
<b>12.2</b>	<b>Vpliv zunanjih dejavnikov na pojav bolezenskih znakov</b>	
<b>12.3</b>	<b>Bakterije, povzročitelji alimentarnih toksikoinfekcij</b>	<b>185</b>
12.3.1	Enterobacteriaceae	185
12.3.2	Vibrionaceae	190
12.3.3	Campylobacter (Aerobni, Mikroaerofilni vibrioni)	193
12.3.4	Listeria	195
12.3.5	Leptospira	196
12.3.6	Micrococcaceae	196
12.3.7	Mycobacteriaceae	199
12.3.8	Pseudomonadaceae	200
12.3.9	Bacillus	201
12.3.10	Clostridium	202
<b>12.4</b>	<b>Plesni, ki tvorijo mikotoksine</b>	<b>206</b>
12.4.1	Lastnosti mikotoksinov	208
12.4.2	Rast mikočoksikogenih plesni na različnih živilih	210
12.4.3	Preprečevanje okužb živil s toksikogenimi plesnimi in mikotoksini	213
<b>12.5</b>	<b>Virusi</b>	<b>213</b>
12.5.1	Prenos virusov z živili	214

<b>12.6 Paraziti</b>	<b>217</b>
12.6.1 Praživali ali Protozoji	219
12.6.2 Helmiti	223
<b>13 HIGIENA V PROIZVODNIH PROSTORIH</b>	<b>237</b>
<b>13.1 Dejavniki, ki vplivajo na kakovost živila</b>	<b>238</b>
13.1.1 Lokacija obrata	238
13.1.2 Oprema prostorov	239
13.1.3 Voda v živilskem obratu	240
13.1.4 Stroji in naprave	240
13.1.5 Organizacija proizvodnega procesa in razporeditev prostorov v proizvodnem obratu	241
<b>13.2 Osebna higijena delavcev v živilskem obratu</b>	<b>242</b>
13.2.1 Bolezni	243
13.2.2 Higijena rok	244
13.2.3 Delovna obleka	244
<b>13.3 Nadzor in osveščanje ter izobraževanje delavcev v živilski industriji</b>	<b>245</b>
<b>13.4 Čiščenje v obratih živilske industrije</b>	<b>247</b>
13.4.1 Vplivi na učinkovitost čiščenja	248
13.4.2 Dezinfekcija	251
13.4.3 Dezinfekcijska sredstva	243
13.4.4 Spiranje po dezinfekciji	256
13.4.5 Kontrola čiščenja in dezinfekcije	257
<b>PRILOGA 1</b>	<b>258</b>
<b>1 Zdravstveni nadzor živil</b>	
1.1 Zakon o zdravstveni neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe	
<b>PRAVILNIK O POGOJIH, KI JIM MORAJO GLEDE MIKROBIOLOŠKE NEOPOREČNOSTI USTREZATI ŽIVILA V PROMETU (Ur. l. SFRJ, {t. 45-563183 z dne 26. 8. 1983}</b>	<b>264</b>



<b>11</b>	<b>STRATEGIJA ZDRAVSTVENEGA NADZORA NAD ŽIVILI V ŽIVILSKI INDUSTRIJI</b>	<b>169</b>
<b>11.1</b>	<b>HACCP ali analiza tveganja v kritičnih kontrolnih točkah</b>	<b>169</b>
11.1.1	Prvi princip	170
11.1.2	Drugi princip	173
11.1.3	Tretji princip	174
11.1.4	Četrti princip	175
11.1.5	Peti princip	177
11.1.6	Šesti princip	177
11.1.7	Sedmi princip	178
<b>12</b>	<b>ALIMENTARNE TOKSIKOINFEKCIJE</b>	<b>181</b>
<b>12.1</b>	<b>Viri okužbe</b>	<b>183</b>
<b>12.2</b>	<b>Vpliv zunanjih dejavnikov na pojav bolezenskih znakov</b>	<b>184</b>
<b>12.3</b>	<b>Bakterije, povzročitelji alimentarnih toksikoinfekcij</b>	<b>185</b>
12.3.1	Enterobacteriaceae	185
12.3.2	Vibrionaceae	190
12.3.3	Campylobacter (Aerobni, Mikroaerofilni vibrioni)	193
12.3.4	Listeria	195
12.3.5	Leptospira	196
12.3.6	Micrococcaceae	196
12.3.7	Mycobacteriaceae	199
12.3.8	Pseudomonadaceae	200
12.3.9	Bacillus	201
12.3.10	Clostridium	202
<b>12.4</b>	<b>Plesni, ki tvorijo mikotoksine</b>	<b>206</b>
12.4.1	Lastnosti mikotoksinov	208
12.4.2	Rast mikotoksikogenih plesni na različnih živilih	210
12.4.3	Preprečevanje okužb živil s toksikogenimi plesnimi in mikotoksini	213
<b>12.5</b>	<b>Virusi</b>	<b>213</b>
12.5.1	Prenos virusov z živil	214

<b>12.6 Paraziti</b>	<b>217</b>
12.6.1 Praživali ali Protozoji	219
12.6.2 Helmiti	223
<b>13 HIGIENA V PROIZVODNIH PROSTORIH</b>	<b>237</b>
<b>13.1 Dejavniki, ki vplivajo na kakovost živila</b>	<b>238</b>
13.1.1 Lokacija obrata	238
13.1.2 Oprema prostorov	239
13.1.3 Voda v živilskem obratu	240
13.1.4 Stroji in naprave	240
13.1.5 Organizacija proizvodnega procesa in razporeditev prostorov v proizvodnem obratu	241
<b>13.2 Osebna higijena delavcev v živilskem obratu</b>	<b>242</b>
13.2.1 Bolezni	243
13.2.2 Higijena rok	244
13.2.3 Delovna obleka	244
<b>13.3 Nadzor in osveščanje ter izobraževanje delavcev v živilski industriji</b>	<b>245</b>
<b>13.4 Čiščenje v obratih živilske industrije</b>	<b>247</b>
13.4.1 Vplivi na učinkovitost čiščenja	248
13.4.2 Dezinfekcija	251
13.4.3 Dezinfekcijska sredstva	243
13.4.4 Spiranje po dezinfekciji	256
13.4.5 Kontrola čiščenja in dezinfekcije	257
<b>PRILOGA 1</b>	<b>258</b>
<b>1 Zdravstveni nadzor živil</b>	
1.1 Zakon o zdravstveni neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe	
<b>PRAVILNIK O POGOJIH, KI JIM MORAJO GLEDE MIKROBIOLOŠKE NEOPOREČNOSTI USTREZATI ŽIVILA V PROMETU [Ur. l. SFRJ, {t. 45-563183 z dne 26. 8. 1983}]</b>	<b>264</b>





# RAZVOJ MIKROBIOLOGIJE

**Ključne besede:** zgodovina mikrobiologije, vpliv religije, prvi mikroskop, uporaba mikroorganizmov v industriji, sistematizacija mikroorganizmov, zaščita pred boleznimi, razvoj posameznih panog mikrobiologije

Zgodovinski viri nam povedo, da je človek izkoriščal delovanje mikroorganizmov že pred tisočletji (pridelava piva v Egiptu pred 4.000 leti). Povzročiteljev procesov ni poznal, je pa na osnovi izkušenj te procese uporabljal in izpopolnjeval. Človek ni poznal delovanja "škodljivih in pogubnih mikroorganizmov", poskušal se je braniti pred njihovim delovanjem. Tako so na primer v Mojzesovih knjigah zapisana navodila za zaščito pred širjenjem kužnih bolezni s sežiganjem mrličev, izolacijo bolnikov ter za osebno, hišno in mestno higieno.

Že pred 2.000 leti je T. Varro pisal o nevidnih živalcah, ki prodirajo v naše telo in povzročajo huda obolenja. V srednjem veku zaradi močnega vpliva religije ni bilo pogojev za razvoj naravoslovnih ved. Na prelomu srednjega in novega veka so nekateri naravoslovci obnavljali domneve klasičnih mislecev o prenosu nekaterih bolezni s človeka na človeka. Niso pa imeli tehničnih sredstev, s katerimi bi lahko te hipoteze eksperimentalno potrdili.

Prvi dvodelni mikroskop je nastal okrog leta 1590, vendar skozenj ni bilo mogoče videti jasne slike. Antony van Leeuwenhoek (1632–1723) je sestavil mikroskope z eno močno lečo, ki so povečali 160-krat, najmočnejši pa 270-krat. Mikroorganizme je opazoval in risal ter o tem izčrpno poročal londonski Royal Society in pariški Akademiji znanosti. Kljub temu da so Leeuwenhoekova dela naredila velik vtis na naravoslovce, je v 18. stoletju le malokdo preučeval mikroorganizme. Več kot drugi sta o njih pisala B. Marton in dr. Anton Marko Plenčič (doma iz Solkana), ki je bil profesor na dunajski medicinski fakulteti. Učil je, da vsako vrsto nalezljivih bolezni povzroča neka vrsta nevidnih živih

bitij, s katerimi se okužijo ljudje in živali. Kljub temu da pri sodobnikih njegov nauk ni bil sprejet, je pri njem trdno vztrajal.

Od srede 17. stoletja do srede 19. stoletja je trajal spor o spontanem nastanku živih bitij iz nežive snovi. Zapuščina 18. stoletja ni mogla biti večja, ker še ni bilo možnosti in močnih spodbud za raziskovalno delo na področju mikrobiologije. Prvi sistematič živih bitij Carl Linne (1707–1778) je vse mikroorganizme uvrstil v nedefinirano skupino "*Chaos infusorium*". Izjavil je, da se ni treba poglobljati v raziskovanje tega dela živega sveta, ker je Bog že vedel, zakaj je ta bitja skrnil človeškim očem.

Devetnajsto stoletje je čas silnega razvoja materialnih proizvodnih sredstev. Mnoge panoge industrije in kmetijstva začnejo uporabljati pridobitve naravoslovnih ved in zato pospešujejo njihov razvoj. Razvoj optike v drugi polovici 19. stoletja je omogočil konstrukcijo mikroskopa, ki je omogočal jasno sliko tudi pri velikih povečavah. V drugi polovici 19. stoletja je potekal spor med raziskovalci, ki so trdili, da so oblike mikroorganizmov stalne in nespremenljive, in tistimi, ki so trdili, da se lahko vsaka vrsta spreminja in preide v drugo. Ta spor je močno spodbudil eksperimentalno delo v mikrobiologiji.

Prve eksperimentalno potrjene biološke razlage razgradnje organskih snovi (vrenja in gnitje) je podal v prvi polovici 19. stol. Ch. Cagniard – Latour. Ugotovil je, da je kvas povzročitelj alkoholnega vrenja in ne vinski odpadek. Učil je, da je kvas iz enoceličnih rastlinic, ki rastejo v sladkornih raztopinah in razgrajujejo sladkor v etanol in ogljikov dioksid. Kljub prepričljivim dokazom je ta trditev naletela na oster odpor vodilnih kemikov tistega časa. V tem času je kemija slavila mnoge zmage. Kemiki so razodevali skrivnosti zapletenih biokemičnih procesov, uspeli so sintetizirati "*in vitro*" organsko snov brez neposrednega sodelovanja živih bitij.

Šele Louis Pasteur (1822–1895) je prepričljivo dokazal, da so vrenja posledica življenjske aktivnosti mikroorganizmov. Njegova raziskovanja imajo velik praktičen in teoretičen pomen, ker so z njimi industrije vrenj dobile znanstveno podlago. Preučeval je kompleks življenja in prehrane mikroorganizmov, ki povzročajo vrenja. Opozoril je na anaerobiozo, preučeval je razširjenost mikroorganizmov povsod v naravi in razlagal njihovo vlogo v kroženju snovi v naravi. S poskusi je dokazal specifičnost povzročiteljev bolezni in s tem postavil temelje sodobne higijene, preventivne medicine, epidemiologije in asepse v kirurgiji. Odkril je nekatere povzročitelje bolezni in vpeljal zaščitno cepljenje in terapijo s serumi. S tem je postal začetnik sodobne imunologije. Postavil je temelje sodobne specifične mikrobiološke laboratorijske tehnike in eksperimentalne metodike. Začel je uporabljati sterilna tekoča gojišča in pridobival je čiste kulture.

Proti koncu 19. stoletja se je več raziskovalcev posvetilo medicinski mikrobiologiji. Med njimi je bil tudi Robert Koch (1843–1910). Njegove zasluge so: poglobljanje splošnih temeljev medicinske mikrobiologije in spopolnjevanje mikrobiološke tehnike in metodike. Našel je preprost in zanesljiv način izoliranja, kultiviranja in štetja mikroorganizmov. Začel je barvati mikrobiološke fiksirané preparate. Uvedel je postopek, s katerim ugotavljajo, ali določena vrsta mikroorganizmov povzroča določen pojav ali bolezen. Ta postopek (Kochove triade) uporabljajo še danes.

Zadnji dve desetletji 19. stoletja imenujejo "zlato dobo" mikrobiologije. V tem času je delovalo veliko medicinskih mikrobiologov na vseh celinah. Prerodili so kirurgijo z uvedbo asepse in z njo zmanjšali smrtnost. Prispevali so k razvoju diagnostike, terapije in profilakse nalezljivih bolezni.

Tudi mikrobiologija vrenj in vsa industrijska, zlasti mikrobiologija živilske tehnologije, se je v tem času zelo hitro razvijala. V začetku razvoj ni bil tako hiter kot v medicinski mikrobiologiji. Potrebe v industriji pa so ga zahtevale, da so lahko z vedno novimi spoznanji o fizioloških lastnostih in ekoloških odnosih mikroorganizmov obvladovali različne panoge vrelné industrije.

E. C. Hansen (1842–1909) je vpeljal v industrijo uporabo čistih kultur mikroorganizmov. Vedno bolj je prihajala do izraza specifičnost mikrobiološke problematike posameznih industrijskih panog. Razvile so se samostojne panoge mikrobiologije (mikrobiologija mleka, vina, piva in druge). Mikrobiologi so se začeli specializirati za posamezna področja. Proti koncu 19. stoletja se je začela razvijati najmlajša med panogami mikrobiologije – mikrobiologija tal.

### Vprašanja:

1. Ugotovi, kako je človek uporabljal mikroorganizme, ne da bi vedel za njihov obstoj.
2. V katerem stoletju se je začel razvoj mikrobiologije?
3. Primerjaj hitrost odkrivanja novih spoznanj o zgradbi in življenju mikroorganizmov danes in ob začetku znanstvenega preučevanja mikroorganizmov.
4. Razloži vzroke za hiter razvoj znanosti danes.
5. Ugotovi, koliko časa je trajalo, da so potrdili, kar je učil že dr. Plenčič.
6. Opiši delo in pomen Louisa Pasteurja.





# PREDSTAVITEV MIKROORGANIZMOV

**Ključne besede:** povzročitelji bolezni, ravnotežje med organskimi in neorganskimi snovmi, prehranska veriga, reciklaža, sinteza vitaminov in kemijskih spojin, živilska industrija, genetski inženiring

Mikroorganizmi so majhna bitja, ki so kot posamezni osebki premajhni, da bi jih videli s prostim očesom. Mednje uvrščamo bakterije, glive (kvasovke in plesni), praživali in mikroskopsko majhne alge. Sem seveda spadajo tudi virusi.

Z mikroorganizmi običajno povežemo neprijetne pojave. Vemo, da so povzročitelji bolezni ljudi, živali in rastlin. Pozabljamo pa, da pomagajo obdržati ravnotežje med živimi organizmi in neorganskimi spojinami v našem okolju. V vodah oceanov, rek, jezer so mikroorganizmi osnova prehranske verige. Tisti, ki živijo v tleh, razgrajujejo organske ostanke, da so spet uporabni za druge (rastline). Vežejo ogljikov dioksid iz zraka v spojine, ki jih lahko uporabijo rastline; torej reciklirajo kemijske spojine v vodi, tleh in zraku. V človeškem prebavnem traktu razgrajujejo nekatere hranilne snovi in tvorijo nekatere vitamine. V prebavnem traktu nekaterih živali (prežvekovalcev) razgrajujejo hranilne snovi.

Uporabljajo jih v proizvodnji kemijskih snovi, kot so: aceton, organske kisline, encimi, hormoni, alkohol in zdravila. V živilski industriji jih uporabljajo za pridelavo kisa, vina, piva, kruha, sojine omake, kislega zelja in repe, mlečnih izdelkov itn.

Z genetsko manipulacijo so uspeli bakterije spremeniti tako, da sintetizirajo terapevtske substance, npr.: insulin, rastne hormone, interferon.

### Vprašanja:

1. Ugotovi, v katerih vejah industrije mikroorganizme uporabljajo.
2. Ugotovi, kako pomembni so mikroorganizmi za življenje na Zemlji.
3. Razmisli, katerih živil ne bi mogli pridelati brez uporabe mikroorganizmov.
4. Razmisli, katerim živilom dajejo mikroorganizmi značilno aromo in videz.

# IMENOVANJE IN KLASIFIKACIJA MIKROORGANIZMOV

**Ključne besede:** Carl Linee, latinska imena, Robert Whittaker, celična organizacija, način prehrane organizmov

Sistem poimenovanja organizmov, ki se danes uporablja, je 1735 postavil Carl Linee. Vsa imena so latinska. Vsak organizem, ki je uvrščen v ta sistem, ima dve imeni; najprej je ime rodu (genusa) in ga pišemo z veliko začetnico, drugo je ime vrste (speciesa), pišemo ga z malo začetnico. Znanstveno ime lahko opiše lastnosti organizma ali označi življenjsko okolje organizma ali pa časti znanstvenika.

Primer: *Streptococcus thermophylus*: – streptokok (oblika bakterijskih celic),  
– termofilen (za rast potrebuje visoko temperaturo).

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 kraljestva:

1. Prokarioti ali Monera – eubakterije ali arheobakterije,
2. Protista – sluzaste plesni, praživali in nekatere alge,
3. Fungi – enocelične kvasovke, večcelične plesni, gobe,
4. rastline – nekatere alge, vsi mahovi, praproti, iglavci in cvetoče rastline,
5. živali – med drugimi vključuje spužve, črve, mrčes in vretenčarje.

Če izhajamo iz take klasifikacije, so prokariotski organizmi predhodniki eukariotskih 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 flagel. Enostavni eukariotski organizmi, večinoma enocelični, so uvrščeni v kraljestvo protistov. Protisti večinoma imajo flagele vsaj neko obdobje



življenjskega ciklusa. V preostalih treh kraljestvih so bolj kompleksni eukariotski organizmi, ki so večinoma večcelični.

**Vprašanja:**

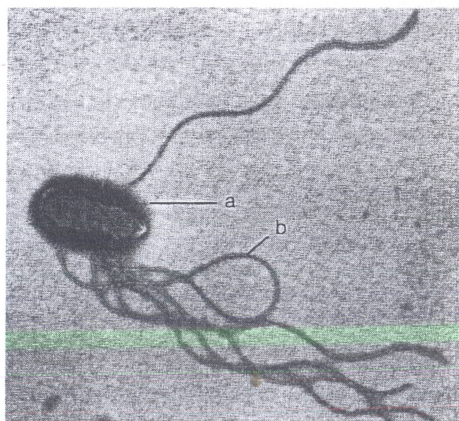
1. Opiši sistem poimenovanja za organizme, ki je danes v rabi.
2. Razloži, kako so razvrščeni organizmi v kraljestva.
3. Opiši kriterije za razvrstitev organizmov v posamezno kraljestvo.

**2.1 RAZLIČNOST MIKROORGANIZMOV**

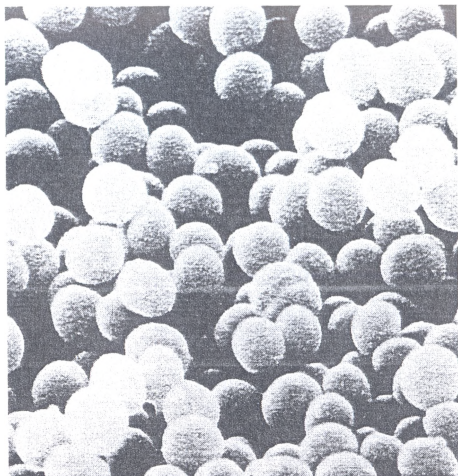
**2.1.1 Bakterije**

**Ključne besede:** enocelični organizmi, zgradba celice, razmnoževanje, hranilne snovi, gibljivost bakterij

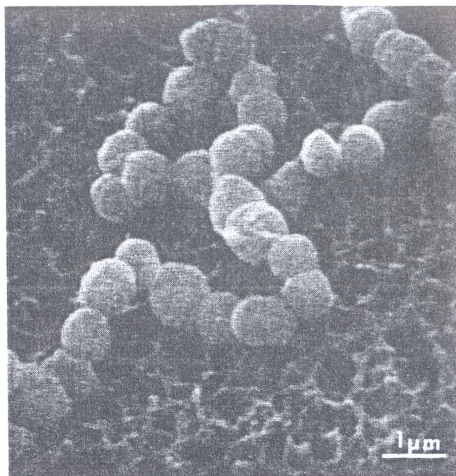
Bakterije so zelo majhni, relativno enostavni enocelični organizmi. Njihov dedni material ni ovit v jedrno membrano. Po obliki so okrogle, paličaste, spiralne, lahko so tudi zvezdaste ali pravokotne oblike. Tvorijo lahko skupine v obliki parov, verižic, grozdov ali drugačne oblike skupin. Te so odvisne od ravnine, po kateri se celice delijo. Oblike skupin celic so značilne za posamezne vrste bakterij. Bakterije so ovite s celično steno, ki je kompleksno zgrajena, njena temeljna sestavina je peptidoglikan. Razmnožujejo se ponavadi z delitvijo na dve enaki hčerinski celici. Kot hranilne snovi večina bakterij uporablja organske spojine, ki jih dobijo v naravi od mrtvih organizmov (saprofiti) ali od živega gostitelja. Nekatere bakterije uporabljajo svetlobo kot vir energije in neorganske snovi kot vir hranilnih snovi. Veliko bakterij je gibljivih, ker imajo flagele.



Slika 2  
*Proteus mirabilis*, gramnegativna bakterija. Opazne so flagele in fimbrije.  
 a – fimbrije  
 b – flagele



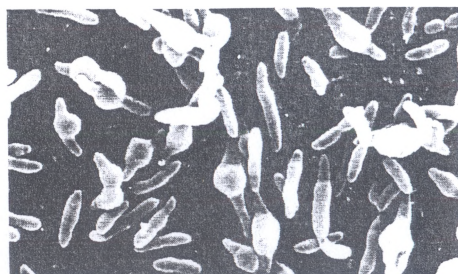
Slika 4  
*Staphylococcus aureus*, koki združeni v skupke, podobne grozdom.



Slika 5  
*Streptococcus mutans*. Večina streptokokov tvori verige, podobne tej na sliki.



Slika 7  
Halofilna arheobakterija, *Thermotoga neopolitana*. Raste v nasičenih slanih raztopinah.



Slika 8  
*Methanopyrus*, ki tvorijo metan, so našli v globokih oceanskih usedlinah, kjer je temperatura zaradi vročih izvirov 110°C.

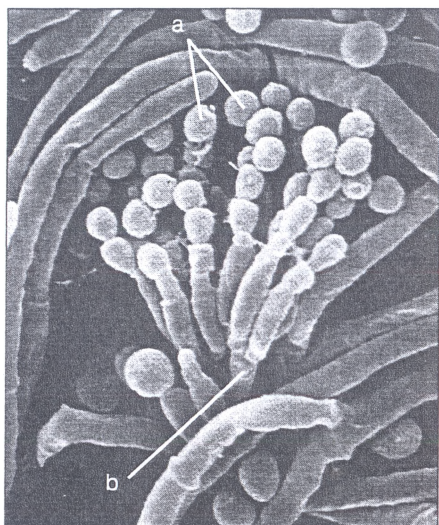
## 2.1.2 Fungi ali glive

**Ključne besede:** eukarionti, jedrna membrana, gobe, kvasovke, plesni, absorpcija hranilnih snovi

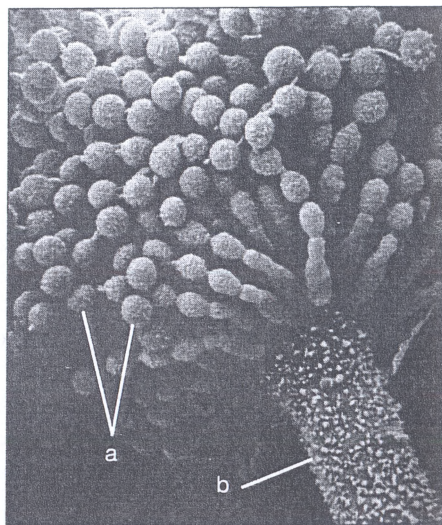
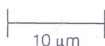
Fungi ali glive so eukarionski organizmi. Njihove celice imajo že ločeno jedro, ki vsebuje celični genetski material, in je ovito z jedrno membrano.

Glive so lahko enocelični ali večcelični organizmi. Veliki večcelični organizmi (gobe) so videti kot rastline, vendar niso sposobni fotosintetizirati. Prave glive imajo celične stene sestavljene v glavnem iz hitina.

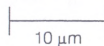
Enocelične oblike gliv so kvasovke. Te so ovalnih oblik in večje od bakterij. Najbolj tipične so plesni, ki tvorijo micelij. Sestavljajo ga med seboj prepletene dolge niti ali hife. Glive se lahko razmnožujejo spolno ali nespolno. Hranilne snovi dobijo z absorpcijo raztopin organskih snovi iz svojega okolja. Rastejo na tleh, v vodi, na živalskih in rastlinskih gostiteljih.



a)



b)

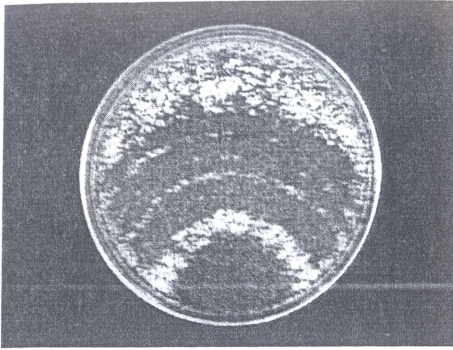


Slika 10

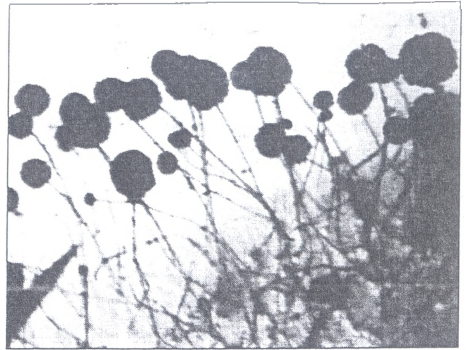
Razporeditev konidiospor lahko uporabimo za identifikacijo plesni.

- a) *Penicillium chrysogenum* tvori konidiospore na razvejanem konidioforu.
  - a – konidiospore
  - b – konidiofor
- b) Konidiospore plesni *Aspergillus flavus* nastajajo na podaljšanih koncih konidiofora.
  - a – konidiospore
  - b – konidiofor



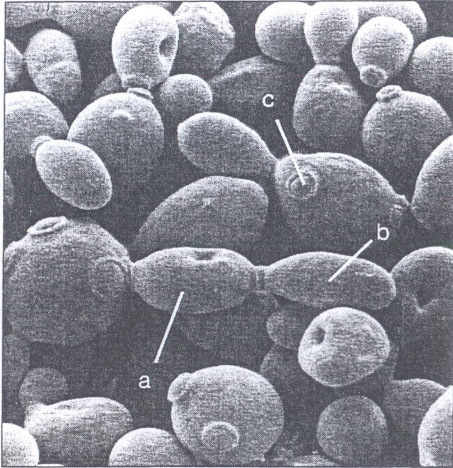


Slika 11  
Rast plesni *Aspergillus niger* na plošči glukoznega agarja



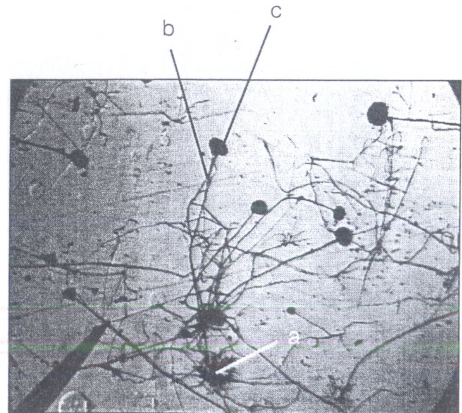
Slika 12  
*Aspergillus niger*, micelij z reprodukcijskimi spori

100  $\mu\text{m}$



Slika 13  
Pekovski kvas, *Sacharomyces cerevisiae*, v različnih stopnjah brstenja  
a – materinska celica  
b – brst  
c – brazgotina po odcepitvi brsta

1  $\mu\text{m}$



Slika 14  
*Rhizopus nigricans*. Vidni so sporangiji na vrhu sporangiofora.  
a – rizoid  
b – sporangiofor  
c – sporangij

50  $\mu\text{m}$

Vprašanja:

1. Razloži, kako se med seboj razlikujejo bakterije in glive.
2. Opiši vsaj dve večcelični glivi.
3. Opiši razlike med plesnimi in kvasovkami.
4. Razloži, kaj je micelij.
5. Razloži, kako glive dobijo hranilne snovi.

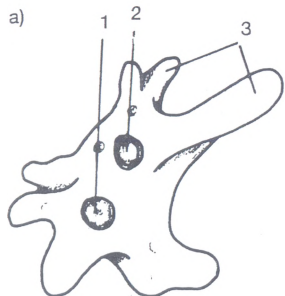
2.1.3 Praživali

**Ključne besede:** enocelični eukarionti, način gibanja, prostoživeče, paraziti, spolno in nespolno razmnoževanje

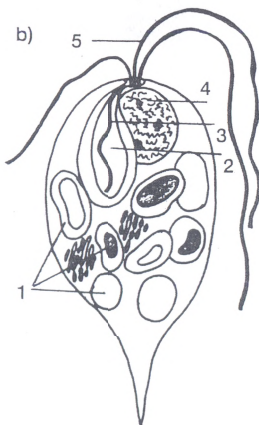
Praživali so enocelični eukariontski mikrobi in spadajo v kraljestvo Protistov. Razvrščene so glede na način gibanja. Amebe se gibljejo z uporabo podaljškov iz citoplazme (pseudopodijev), druge praživali pa imajo veliko število cilij. Lahko so različnih oblik in živijo prosto kot paraziti. Absorbirajo ali jedo organske snovi iz svojega okolja. Razmnožujejo se lahko spolno ali nespolno.

Slika 16 Predstavniki praživali (skica)

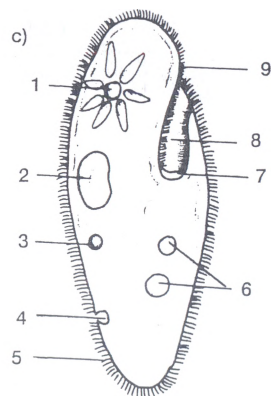
- a) *Amoeba* (pseudopod)
- b) *Chilomastix* (flagelat)
- c) *Paramecium* (ciliat)



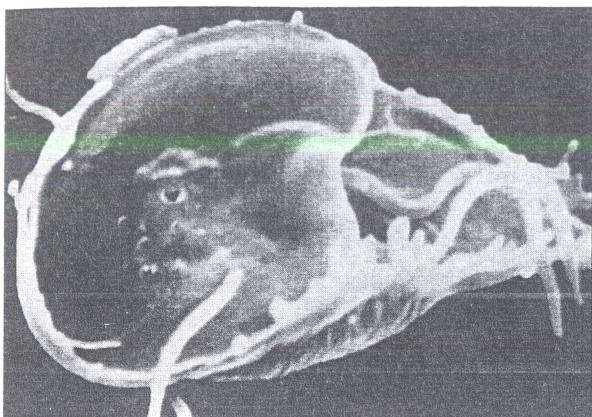
- 1 - Nukleus
- 2 - Vakuola
- 3 - Pseudopodi



- 1 - Vakuole
- 2 - Ustna votlina
- 3 - Četrta flagela
- 4 - Nukleus
- 5 - Flagele



- 1 - Kontraktilna vakuola
- 2 - Makronukleus
- 3 - Mikronukleus
- 4 - Analna pora
- 5 - Cilije
- 6 - Vakuole
- 7 - Usta
- 8 - Citostoma
- 9 - Pelikel



Slika 17  
*Giardia lamblia* (flagelat) živi v prebavnem traktu človeka in povzroča giardazo.

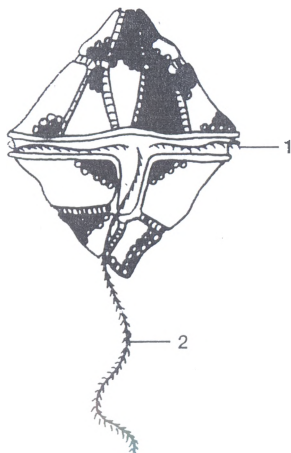
### 2.1.4 Alge

**Ključne besede:** eukarioti, fotosinteza, enoceličarji, življenjsko okolje

Alge so fotosintetizirajoči eukarioti zelo različnih oblik. Razmnožujejo se spolno ali nespolno. Ponavadi so enocelične. Celične stene večine alg so v glavnem iz celuloze (kot v rastlinskih celicah). Živijo v sladki in v slani vodi, v tleh in v združbi z rastlinami. Ker fotosintetizirajo, potrebujejo svetlobo in zrak za pridelavo hrane in za rast. Proizvodi fotosinteze so kisik in ogljikovi hidrati, ki jih uporabljajo drugi organizmi, tudi živali, zato so alge pomembne za ohranjanje ravnotežja v naravi.

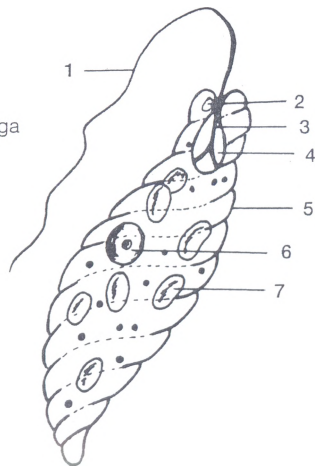
a) Dinoflagelat

- 1 – Flagela
- 2 – Flagela



b) Euglenoid

- 1 – Flagela
- 2 – Očesna pega
- 3 – Flagela
- 4 – Citostoma
- 5 – Pelikel
- 6 – Nukleus
- 7 – Kloroplast

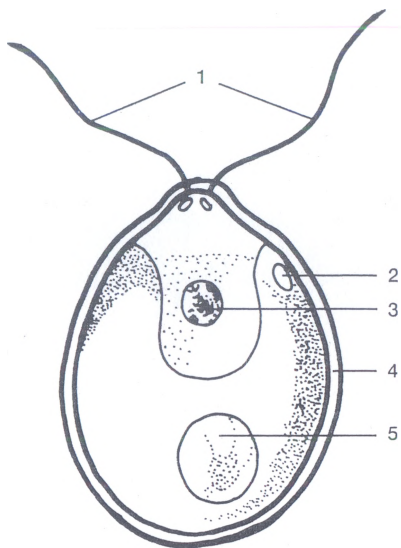




Slika 19

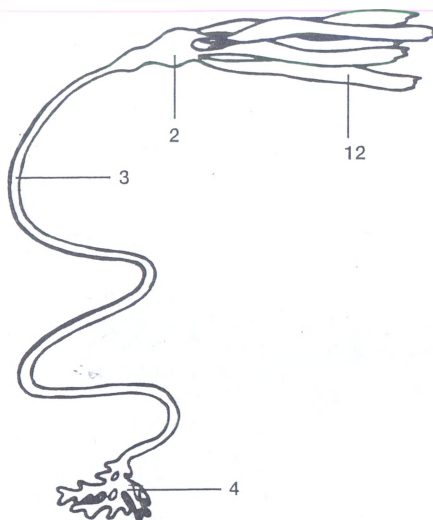
a) *Chlamydomonas* je zelena alga. Ima dve bičkasti flageli (bička), ki poganjata celico.

b) *Nereocystis* je rjava alga. Votlo steblo in s plinom napolnjen mehur držita talus dovolj pokončno v vodi. Tako dobi dovolj sončne svetlobe za rast.



a) Zelena alga *Chlamydomonas*

- 1 – Flageli
- 2 – Očesna pega
- 3 – Nukleus
- 4 – Celična stena
- 5 – Škrob (rezervna hrana)



b) Rjava alga *Nereocystis*

- 1 – Listi
- 2 – Mehur plina
- 3 – Steblo
- 4 – Oprimek

**Vprašanja:**

1. Razloži, zakaj spadajo alge med eukarionte.
2. Ugotovi, če so tudi alge, ki niso zelene, sposobne fotosintetizirati.
3. Razloži, zakaj so alge pomembne za ravnovesje v naravi.

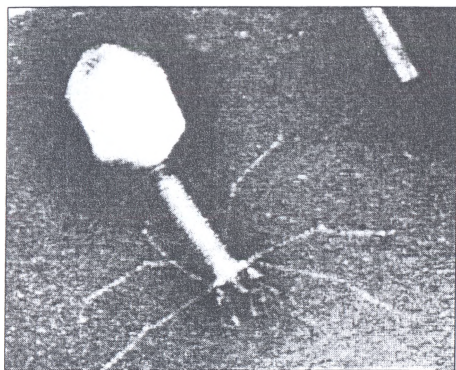
## 2.1.5 Virusi

**Ključne besede:** majhni, preprosta zgradba, en tip nukleinske kisline, paraziti, razmnoževanje v gostiteljski celici

Virusi se zelo razlikujejo od drugih mikroorganizmov. So tako majhni, da jih je večinoma moč videti samo z elektronskim mikroskopom. Njihova zgradba je zelo preprosta. Imajo ovoj iz proteinov, včasih še dodatno lipidno plast. V ovoju je jedro, ki ga sestavlja le en tip nukleinske kisline (DNA ali RNA). Vsi virusi so paraziti, zato ker se lahko razmnožujejo le v gostiteljski celici.

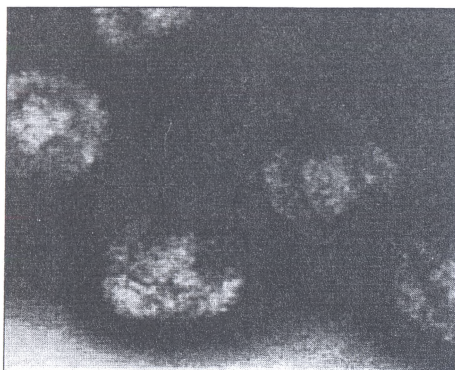
Slika 20  
Virusi

a) Bakteriofag



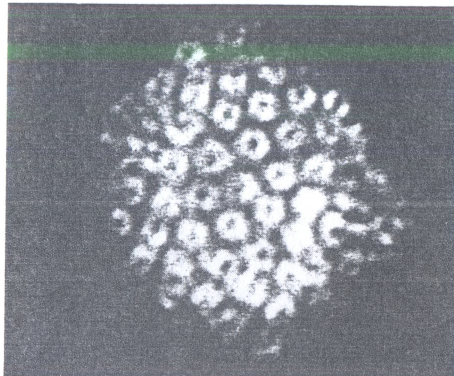
0.1  $\mu\text{m}$

b) Virus v cepivu za cepljenje ljudi proti kozam



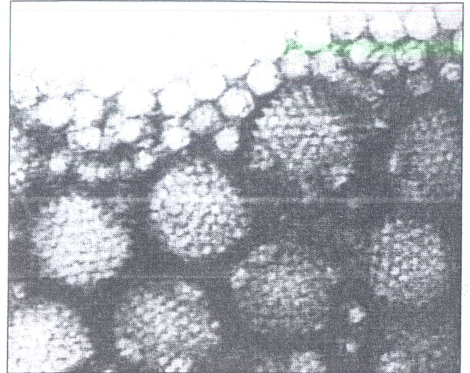
0.1  $\mu\text{m}$

Slika 21  
a) Virus herpesa



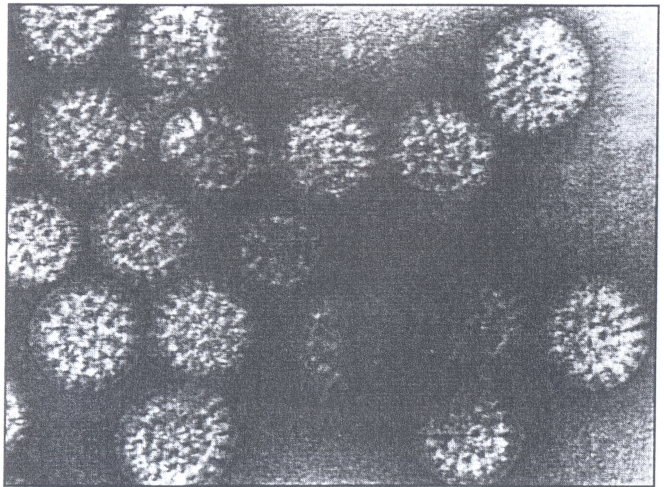
25 nm

b) Večji deli so adenovirusi, manjši delci so parvovirusi. Virusi so številčnejši zaradi centrifugiranja vzorca.



25 nm

Slika 22  
Rotavirus je dobil ime po svoji obliki.



10 μm

**Vprašanja:**

1. Razloži, v čem se virusi razlikujejo od drugih mikroorganizmov.
2. Opiši zgradbo virusa.
3. Razloži, zakaj so vsi virusi paraziti.

# UPORABNA MIKROBIOLOGIJA IN OKOLJE



## 3.1 MIKROBIOLOGIJA TAL

**Ključne besede:** razgradnja organskih snovi, število mikroorganizmov v tleh, kapaciteta metabolizma, povečanje plodnosti tal, biološki pesticidi

Ljudje poznajo bakterije le kot povzročitelje bolezni ali kot povzročitelje kvarjenja hrane; torej poznajo le slabe strani delovanja mikroorganizmov, samo lastnosti, ki jih želimo nadzirati ali se jim izogniti. Človeku škodljivi mikroorganizmi so le majhen del celotne mikroorganizemske populacije. Bakterije in drugi mikroorganizmi so tisti, ki omogočajo ohranjanje življenja na Zemlji.

### 3.1.1 Sestava tal

Tla so sestavljena iz mineralov, organskih snovi, vode in plinov ter organizmov, ki živijo v njih. Minerali so predvsem Si, Al, Fe pa tudi Ca, Na, Mg, K, P in majhne količine drugih elementov. Organske snovi v tleh so ogljikovi hidrati, lipidi, proteini in druge spojine. V obdelovalni zemlji je 2-10% organskih snovi. V močvirnih tleh je do 95 % organskih snovi, ki se zelo počasi razgrajujejo. Organske snovi so rastlinskega (odmrle rastline) ali živalskega izvora (iztrebki, trupla). V enem samem gramu plodne zemlje je na milijone mikroorganizmov. V tleh so še plini, kot sta npr. kisik in ogljikov dioksid.

Ti mikroorganizmi razgrajujejo organske snovi v neorganske (humus), ki jih lahko uporabijo rastline za svojo rast in razvoj. Življenje mikroorganizmov je odvisno od vode, ki raztaplja anorganske snovi. Taki organizmi so različne živali, od mikroskopsko majhnih do deževnikov, insektov, pajkov, miši, hrčkov in krtov. V tleh so tudi koreninski sistemi rastlin in zelo številni mikroorganizmi. V dobri obdelovalni zemlji na površini, veliki kot nogometno igrišče, živi toliko mikroorganizmov, da je njihova skupna teža skoraj enaka

teži trave, ki raste na njem. Zmogljivost metabolizma teh organizmov pa je verjetno 100.000-krat večja od zmogljivosti metabolizma trave.

Najštevilnejši mikroorganizmi v tleh so bakterije. Vsak gram tipične vrtno zemlje vsebuje milijone bakterij. Aktinomiceti so bakterije, vendar jih navadno obravnavamo posebej, ker se razlikujejo od običajnih predstav o bakterijah. Oblikujejo dolge nitke, podobne plesnim, vendar imajo bakterijske mere. Biomasa aktinomicet v tleh je verjetno enaka biomasi vseh drugih bakterij v tleh.

Alge in cianobakterije najdemo tudi v suhih puščavskih tleh. Včasih tvorijo vidne akumulacije na površini mokrih tal. Fotosintetizirajoče organizme najdemo le na površini, predvsem po dežju v travnatih predelih, tundrah in puščavah.

Veliko je praživali. V neugodnih razmerah tvorijo ciste (preidejo v latentno stanje). Mnoge živijo kot plenilci (predatorji), zato se njihova populacija večja in manjša skupaj z bakterijsko.

V tleh živi malo za ljudi patogenih mikroorganizmov, saj so zanje tuje, negostoljubno okolje. Tudi relativno odporne bakterije, kot so *Salmonella*, lahko tukaj žive le nekaj tednov ali mesecev. Večina za ljudi patogenih mikroorganizmov, ki preživijo v tleh, so endosporogene bakterije (npr. *Bacillus anthracis*). Najdemo lahko tudi nekatere druge endosporogene bakterije iz rodov *Clostridium*, npr.: *C. tetani* (povzročitelj tetanusa), *C. botulinum* (povzročitelj botulizma), *C. perfringens* (povzročitelj plinske gangrene). S prstjo lahko pridejo ti mikroorganizmi v živila in rane, se tam razmnožujejo in izločajo toksine.

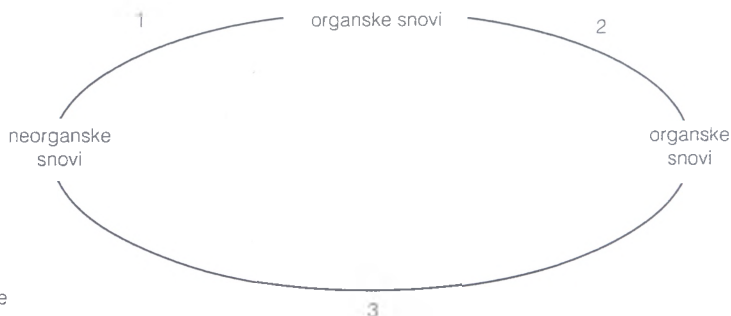
V tleh živijo tudi paraziti. To so živali, ki del svojega življenja preživijo tukaj kot ličinke. Te lahko prodrejo skozi človeško kožo, če pride človek v stik z njimi. Ker živijo predvsem v vlažnih in toplih tleh, so bolezni, ki jih povzročajo, omejene na tropski in subtropski pas.

Za rastline patogeni mikroorganizmi so v tleh najpogostejši. Večina je plesni, predvsem zato, ker so sposobne rasti v okolju z malo vlage. Bakterijske bolezni rastlin so manj pogoste. Povzročajo jih lahko tudi virusi. Nekateri mikroorganizmi so patogeni za insekte, npr. *Bacillus thuringiensis*, ki je patogen za ličinke mnogih insektov. Številne take mikroorganizme poskušajo uporabljati kot biološke pesticide.



Slika 23

Shematski prikaz kroženja snovi v naravi.



1 - Rastline

2 - Živali

3 - Mikroorganizmi v tleh

### Vprašanja:

1. Ovrednoti pomen delovanja mikroorganizmov v zemlji.
2. Razloži, kako povečajo mikroorganizmi plodnost tal.
3. Razloži, zakaj je v prsti manj mikroorganizmov, ki so patogeni za ljudi, kot tistih, ki so patogeni za rastline in insekte.

## 3.2 MIKROORGANIZMI IN BIOGEOKEMIČNI CIKLUSI

**Ključne besede:** recikliranje, esencialni elementi, biogeokemični ciklusi

Najpomembnejša vloga mikroorganizmov v tleh je recikliranje nekaterih kemijskih elementov, in sicer: C, N, S in P. Če mikroorganizmi ne bi bili aktivni v različnih biogeokemičnih ciklikih, bi ti elementi ostali vezani v spojinah in življenje na Zemlji bi izumrlo. Biogeokemični ciklusi, v katerih sodelujejo mikroorganizmi, so:

1. ogljikov cikel,
2. dušikov cikel,
3. drugi ciklusi.



### 3.2.1 Ogljikov cikelus

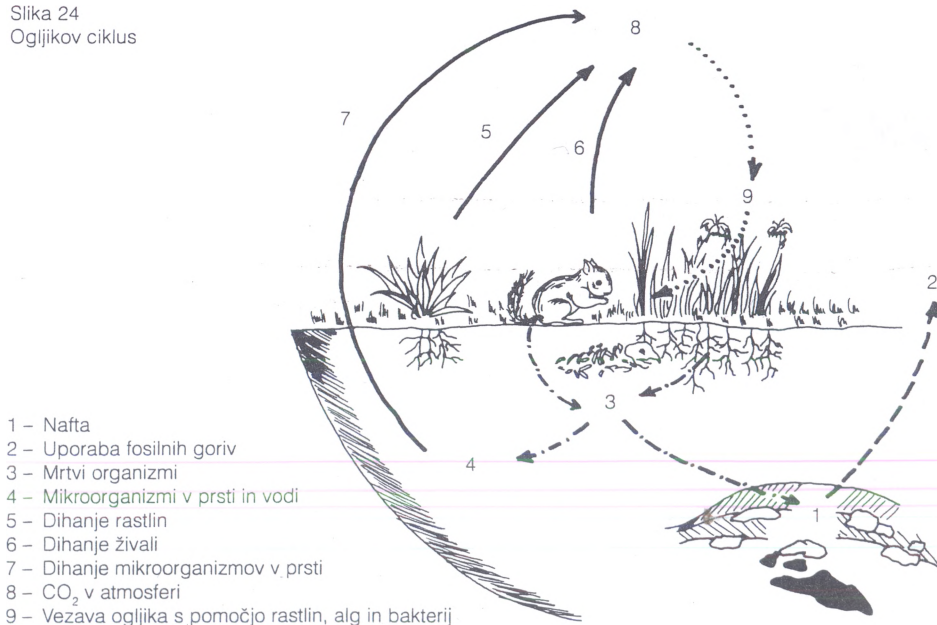
Ključne besede: ogljikov dioksid, ogljik, pretvorba, kroženje, razgradnja organskih snovi sproščanje ogljika

Ogljikov dioksid, ki je v atmosferi, vežejo fotoavtotrofni organizmi v organske spojine. To so zelene rastline, cianobakterije, alge, zelene in škrlatne žveplene bakterije.

Kemoheterotrofni organizmi uporabljajo te organske spojine za hrano. Pri živalih se med prebavo sprosti en del ogljikovega dioksida iz organskih spojin in živali (kemoheterotrofni organizmi) ga izdihajo v ozračje. Ta del ogljikovega dioksida fototrofni organizmi lahko takoj porabijo. Večina ogljika pa ostane vezana v organizmu živali ali v njenih izločkih. Ko žival pogine, mikroorganizmi, ki živijo v tleh, razgradijo njeno truplo. Največkrat so to bakterije ali plesni. Med to razgradnjo se sprošča ogljikov dioksid, ki se vrača v ozračje.

Ogljik je vezan tudi v mineralih (kalcijev karbonat) ali pa je raztopljen kot karbonatni ion v sladkih in slanih vodah. Vezan je tudi v premogu in nafti, zato se pri izgorevanju fosilnih goriv v ozračje sprošča ogljikov dioksid. Povečana količina tega plina v ozračju je eden od možnih vzrokov za gretje Zemlje oziroma za učinek tople grede.

Slika 24  
Ogljikov cikelus



**Vprašanja:**

1. Razloži, zakaj so pomembni biogeokemični ciklusi.
2. Razloži, kako se ogljikov dioksid vrača v ozračje.
3. Ovrednoti pomen ogljikovega ciklusa za življenje na Zemlji.
4. Opiši učinek tople grede.

**3.2.2 Dušikov cikel**

**Ključne besede:** vezava dušika, simbiotske in nesimbiotske bakterije, metuljnice (leguminoze), korenine, glive, aminokislina, amoniak, nitritni in nitratni ion, plodnost tal

Dušik potrebujejo vsi organizmi, ki sintetizirajo beljakovine, nukleinske kisline in druge snovi, v katerih je vezan dušik. Molekularni dušik predstavlja skoraj 80% zemeljskega ozračja. Kljub obilici dušika pa ga noben eukariotski organizem ne more uporabljati neposredno iz zraka. Da ga lahko uporabijo avtotrofni organizmi, mora biti dušik vezan z vodikom ali kisikom v nitratni ali amonijev ion. V tleh in zraku potekajo ob sodelovanju specifičnih mikroorganizmov kemijski in fizikalni procesi, v katerih se dušik iz zraka veže v uporabno obliko.

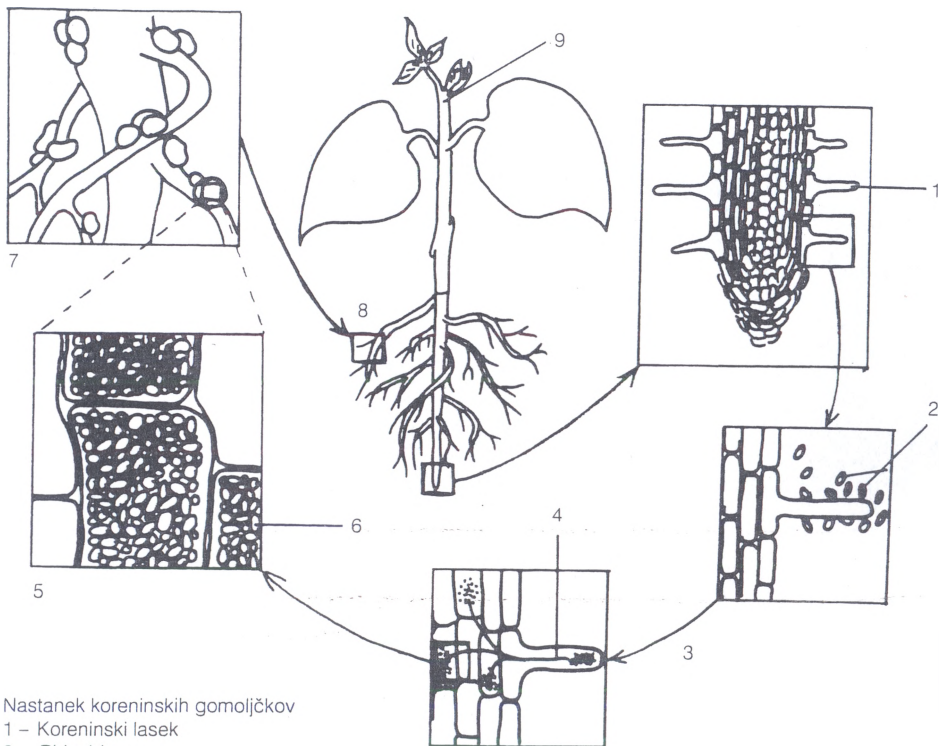
Proces, v katerem se plinasti dušik spremeni v spojine, ki jih lahko uporabijo avtotrofni organizmi, se imenuje vezava ali fiksacija dušika. Pri tem sodelujejo samo nekatere bakterije in cianobakterije. Fiksacijo dušika lahko opravljajo organizmi dveh tipov: nesimbiotske (prosto živeče) bakterije, simbiotske bakterije in glive.

Nesimbiotske bakterije so lahko aerobne (*Azotobacter*, *Beijerinckia*), anaerobne (*Clostridium pasteurianum*), fakultativno anaerobne (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacillus*) ali anaerobno fotoavtotrofne (*Rhodospirillum*, *Chlorobium*).

Pri vezavi dušika sodelujejo tudi aerobne, fotosintetizirajoče cianobakterije. Energetsko niso odvisne od ogljikovih hidratov v tleh in v vodi, zato lahko okolje dobro oskrbujejo z dušikom. Večina nesimbiotskih organizmov, ki vežejo dušik, lahko v laboratorijskih razmerah veže velike količine dušika. V tleh pa pogosto primanjkuje ogljikovih hidratov, iz katerih pridobivajo energijo, ki jo potrebujejo za redukcijo dušika v amoniak. Kljub temu te bakterije prispevajo velik delež dušika predvsem na travnikih, v gozdovih in arktičnih tundrah.

Simbiotske bakterije, ki vežejo dušik, živijo v simbiozi z leguminoznimi rastlinami (metuljnicami). Pomembno vlogo imajo pri oskrbi obdelanih tal z dušikom. Med te simbiotične bakterije spadajo predstavniki rodov *Rhizobium* in *Bradyrhizobium*. Ti v koreninah (koreninskih laskih) metuljnic tvorijo tumorom podobne gomoljčke, v katerih so bakterije. Fiksiranje dušika je rezultat delovanja simbioze rastlin in bakterij. Rastlina omogoči bakterijam anaerobne razmere za rast, bakterije pa vežejo dušik, ki se vgradi v rastlinske beljakovine. Tako se vsako leto veže milijone ton dušika.

Slika 25  
Nastanek gomoljčkov na koreninah metuljnic



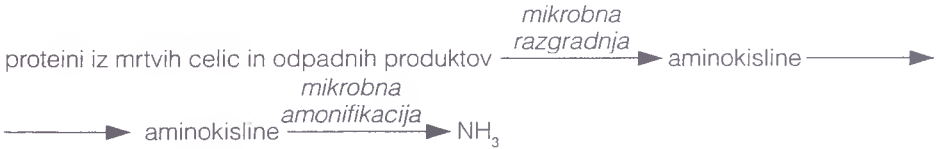
Nastanek koreninskih gomoljčkov

- 1 – Koreninski lasek
- 2 – *Rhizobia*
- 3 – Bakterije (*Rhizobia*) se prilepijo na koreninske laske in po infekcijski poti vdrejo v celice koreninskih laskov
- 4 – Infekcijska pot
- 5 – Bakterije se spremenijo v bakterioide, celice koreninskih laskov se povečajo
- 6 – Bakteroidi
- 7 – Povečane koreninske celice tvorijo gomoljčke
- 8 – Gomoljčki
- 9 – Rastlina (metuljnica)

Med simbiotske organizme, ki vežejo dušik, spadajo tudi nekatere glive. Tudi te živijo v simbiozi z rastlinami, predvsem na ali v njihovih koreninskih laskih. Hife gliv lahko prodrejo vanje in v celicah korenin razvijejo dve obliki struktur: mešičke in arbuskule (grmičke). Take glive imenujemo *Endomycorrhizae* (notranje). Živijo v koreninah različnih vrst trav in omogočajo njihovo pravilno rast. *Ectomycorrhizae* imenujemo glive, ki s svojim micelijem ovijejo manjše koreninice dreves (borov in hrastov). Tartufi, ki so znani kot kuharska posebnost, so take glive.

Večina ali skoraj ves dušik v tleh je vezan v organskih spojinah (predvsem v beljakovinah). Ko organizem odmre, z mikrobno razgradnjo (hidrolizo) iz beljakovin nastanejo aminokisliline. Iz teh se z deaminacijo odstranijo aminoskupine, iz katerih nastane amoniak. Iz suhih tal plinasti amoniak hitro izhaja. V vlažnih tleh se raztopi v vodi in tvori amonijev ion, ki ga lahko rastline in bakterije uporabijo za tvorbo svojih aminokislin in beljakovin.

Schema: Nastanek amoniaka iz proteinov



Amonijev ion se v procesu nitrifikacije spremeni v nitritni ion, iz tega pa nastane nitratni ion. Pri tem procesu sodelujejo avtotrofne nitrificirajoče bakterije iz rodov *Nitrosomonas* in *Nitrobacter*. Te pridobivajo energijo, potrebno za življenje, z oksidacijo amonijevih ionov in nitritov:

Schema: Oksidacija amonijevih in nitritnih ionov.



Nitratne ione uporabljajo rastline kot vir dušika. Nitratni ioni se v procesu denitrifikacije spreminjajo v plinasti dušik.

Schema: Denitrifikacija nitratnih ionov v plinasti dušik



$\text{NH}_4^-$  amonijev ion

$\text{NO}_2^-$  nitritni ion

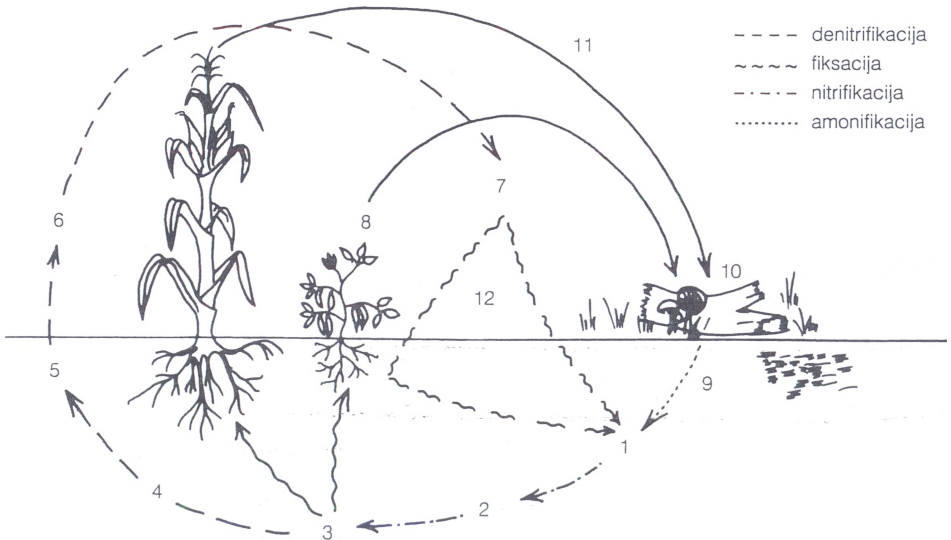
$\text{NO}_3^-$  nitratni ion

$\text{N}_2\text{O}$  dušikov oksid

$\text{N}_2$  plinast dušik

V procesu denitrifikacije v tleh sodelujejo bakterije iz rodov *Pseudomonas* (najpomembnejše), *Paracoccus*, *Thiobacillus*, *Bacillus*. Te bakterije so aerobne. V anaerobnih razmerah pa kot sprejemnika elektronov lahko uporabijo nitrat namesto kisika. S procesom denitrifikacije se zmanjša količina nitratov v tleh, kar slabo vpliva na njihovo plodnost.

Slika 26  
Dušikov cikel



(od 1–6 vpisati v sliko v elipsastih okvirčkih)

- 1 –  $\text{NH}_3$
- 2 –  $\text{NO}_2^-$
- 3 –  $\text{NO}_3^-$
- 4 –  $\text{NO}_2^-$
- 5 –  $\text{N}_2\text{O}$
- 6 –  $\text{N}_2$
- 7 – Molekularni dušik v atmosferi

- 8 – Leguminozne rastline
- 9 – Organizmi, ki razgrajujejo organske snovi v tleh
- 10 – Beljakovine iz mrtvih celic
- 11 – Razgradnja
- 12 – Fiksiranje dušika
- 13 – Nitrifikacija
- 14 – Denitrifikacija
- 15 – Denitrifikacijske bakterije

**Vprašanja:**

1. Razloži, kako lahko potek dušikovega ciklusa vpliva na plodnost tal.
2. Opiši simbiozo metuljnic in bakterij, ki vežejo dušik.
3. Razloži, kako se spreminja dušik oziroma njegove spojine med dušikovim ciklusom.
4. Ovrednoti pomen dušikovega ciklusa za življenje na Zemlji.
5. Naštej živa bitja, ki sodelujejo pri dušikovem ciklusu.

**3.2.3 Razgradnja umetnih snovi v tleh**

**Ključne besede:** onesnaževanje narave, razgradljivost kemikalij, bakterije - razgrajevalci toksičnih snovi

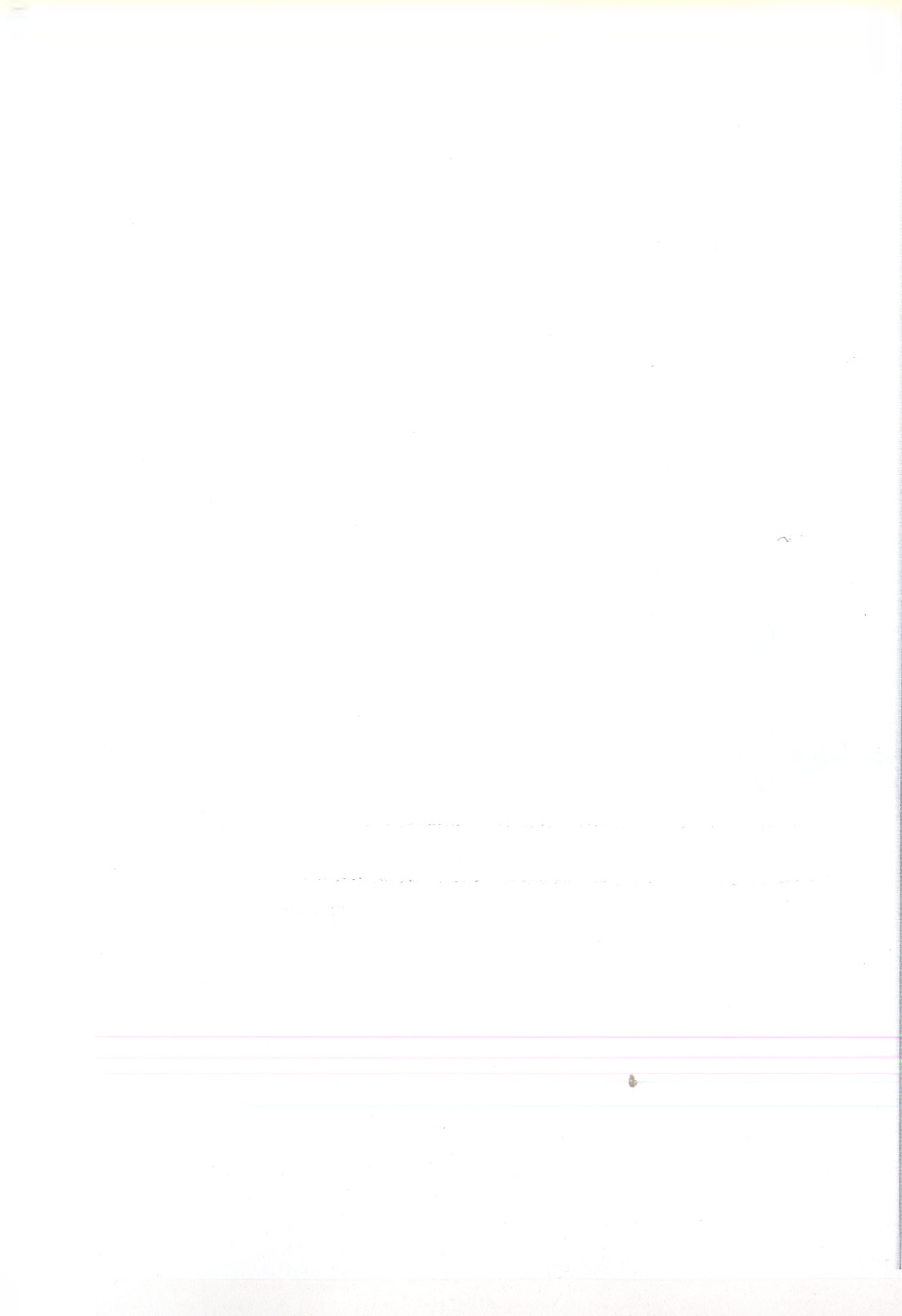
Samoumevno se nam zdi, da bodo vse snovi, ki pridejo v tla, razgradili mikroorganizmi, ki tam živijo. Naravne odpadne snovi se res razgradijo. V industrijski dobi pa pridejo v tla na različne načine snovi, ki jih v naravi ni, in to v velikih količinah (predvsem plastične mase). V nekatere plastične mase je vgrajen škrob, ki je biorazgradljiv. Vendar plastični polimeri, v katere je vezan, niso biorazgradljivi.

Veliko kemikalij, kot so npr. pesticidi, mikroorganizmi v tleh ne morejo razgraditi. Znan primer je insekticid DDT, ki je topen v maščobah in se zato zbira in zgošča v različnih delih prehranjevalne verige. Orli in druge ptice ujede so iz svoje hrane nakopičili velike količine DDT-ja, zato so imela njihova jajca tako mehke lupine, da so se drobila med valjenjem.

Vse kemikalije niso enako nerazgradljive. Že majhna sprememba v zgradbi insekticida ali pesticida oziroma herbicida lahko poveča njegovo razgradljivost. Vedno večji problem je izpiranje toksičnih snovi v talne vode. Viri teh težko razgradljivih snovi so industrijske odplake, odlagališča odpadkov, kemikalije, uporabljene za škropljenje pridelkov in podobno. Onesnažena talna voda lahko povzroči nepredvidljivo škodo, zato se raziskovalci trudijo razviti procese in izolirati bakterije, ki bi bile sposobne razgrajevati toksične snovi.

**Vprašanje:**

1. Poišči v dnevnem časopisu in revijah članke na temo onesnaževanja narave in reševanja teh problemov. Skupaj jih preberite in zapišite svoje ideje, kako zmanjšati onesnaževanje.





---

# MIKROBIOLOGIJA VODE

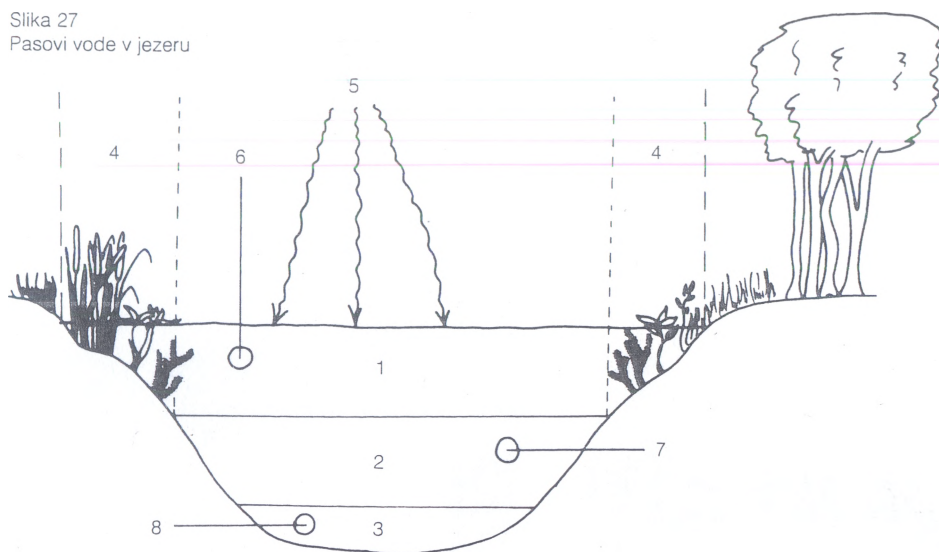
## 4.1 MIKROBNA FLORA SLADKIH VODA

**Ključne besede:** številčnost mikroorganizmov, onesnaženost voda, pasovi vode, kakovost vode

Študije temeljijo na raziskovanjih različnih vrst mikroorganizmov in njihovega delovanja v naravnih vodah, kot so: jezera, ribniki, potoki, reke, izlivi rek (estuariji) in morja. Številčnost mikroorganizmov kaže na veliko vsebnost hranilnih snovi v vodi. Če je onesnažena z odpadnimi vodami, se močno poveča število bakterij. Enak vpliv ima onesnaževanje voda z biorazgradljivimi industrijskimi organskimi odpadki.

V vodah, posebno v tistih z malo hranilnimi snovmi, mikroorganizmi rastejo na stalnih površinah ali na določenih snoveh. Veliko bakterij, katerih naravno življenjsko okolje je voda, se prilepi na različne površine. Nekatere bakterije imajo plinske mešičke, ki jih praznijo in polnijo.

Slika 27  
Pasovi vode v jezeru



- 1 – Površinski pas
- 2 – Globoki pas
- 3 – Pas ob dnu
- 4 – Litoralni pas

- 5 – Sončna svetloba
- 6 – Alge
- 7 – Škrlatne in zelene žveplene bakterije
- 8 – Metanove bakterije

Pasovi, značilni za jezero ali ribnik, in nekateri predstavniki mikroorganizmov, ki v njih živijo. Pasovi se med seboj ločijo po količini svetlobe, hranilnih snoveh in prisotnosti kisika.

Obalni ali litoralni pas je poraščen z ukoreninjenino vegetacijo. Svetloba prodira v njem do globine 200 m. Površinski pas vode predstavlja površinski sloj vode stran od obale. Globoki pas je globoka voda pod površinskim pasom. Pas na dnu ali bentalni pas pa predstavljajo usedline na dnu.

Mikrobna populacija je v sladkih vodah odvisna predvsem od prisotnosti kisika in svetlobe. Ker so fotosintetizirajoče alge glavni vir organskih snovi in energije za jezero, je svetloba zelo pomembna. Ti organizmi so vir organskih snovi v jezeru in oskrbujejo bakterije, praživali, ribe in druge organizme, ki živijo v vodi. Fotosintetizirajočih alg je največ v površinskem pasu.

V tem pasu, ki vsebuje dovolj kisika, običajno živijo pseudomonade ter vrste *Cytophaga*, *Caulobacter* in *Hypomicrobium*. Kisik se v vodi ne raztoplja dobro, zato mikroorganizmi, ki živijo v stoječih vodah, hitro porabijo raztopljen kisik. V vodi brez kisika ribe poginejo. Voda smrdi zaradi plinov (iz hidrogen sulfidov in organskih kislin), ki se razvijajo zaradi

anaerobne aktivnosti, mikroorganizmov. Valovanje v plitvih vodah in vodni tok v rekah pomagata pri večanju količine kisika v vodi in s tem omogočata rast aerobne populacije bakterij. Te pomagajo pri izboljšanju kakovosti vode in zmanjšanju količine hranilnih snovi, ki jo onesnažujejo.

V globljih vodah in ob dnu je majhna koncentracija kisika in malo svetlobe. Alge, ki živijo v površinskem sloju, filtrirajo svetlobo, zato ni neobičajno, da fotosintetični organizmi v globljih plasteh uporabljajo svetlobo drugačnih valovnih dolžin kot tisti na površini. V globokih vodah so škrlatne in zelene žveplove bakterije. Te so anaerobni, fotosintetizirajoči organizmi, ki vodikov sulfid metabolizirajo v žveplo in sulfate. Živijo v usedlinah na dnu in v pasu vode ob dnu. V usedlinah so tudi bakterije *Desulfovibrio*, ki uporabljajo sulfate kot sprejemnike elektronov in jih reducirajo v vodikov sulfid ( $H_2S$ ), ki dajejo jezerskemu blatu vonj po gnilih jajcih. V usedlinah na dnu živijo tudi bakterije, ki proizvajajo metan. Najdemo jih tudi močvirjih in barjih. Vrste *Clostridium* so pogoste v usedlinah na dnu in lahko vključujejo tudi botulitične organizme.

#### Vprašanja:

1. Razloži, kako čistost vode vpliva na številčnost mikroorganizmov v vodi.
2. Razloži, zakaj v različnih pasovih vode živijo različne vrste mikroorganizmov.
3. Opiši, kako se posamezni pasovi razlikujejo med seboj.
4. Opiši, kako lahko nekateri mikroorganizmi pomagajo izboljšati kakovost vode.
5. Razloži, kaj daje značilen vonj usedlinam (sedimentom) na jezerskem dnu.

## 4.2 MIKROBNA FLORA SLANIH VODA

**Ključne besede:** osmotski pritisk, alge, fitoplankton, vodne živali, prehranska veriga

Vode v odprtih oceanih imajo relativno visok osmotski pritisk, malo hranilnih snovi in so v globinah zelo mrzli. Tudi pH oceanskih voda je višji od optimalnega pH za večino mikroorganizmov. Bakterijske populacije v takih vodah so manj številne kot v izlivih rek in sladkih vodah, ki jih napajajo reke in potoki. Večino mikroskopskega življa sestavljajo fotosintetizirajoče diatomejske in druge alge.

Osnovo oceanske prehranske verige predstavljajo organizmi, imenovani fitoplankton. Ti uporabljajo svetlobo kot vir energije za fotosintezo in atmosferski ogljikov dioksid kot vir ogljika. Oceanske bakterije razgradijo odmrle organizme fitoplanktona, napadejo pa

tudi žive. Praživali izmenoma uporabljajo kot hrano bakterije in manjši fitoplankton. Plankton uporabljajo kot hrano tudi druge živali, ki živijo v morju (npr.: ribe, kiti, kril...).

### Vprašanji:

1. Razloži, kateri dejavniki in kako vplivajo na številčnost mikroorganizemske populacije v morju.
2. Opiši prehranjevalno verigo v morju in ovrednoti pomen mikroorganizmov v njej.

## 4.3 POMEN MIKROORGANIZMOV ZA KAKOVOST VODE

**Ključne besede:** kisli dež, kakovost vode, prenašanje infekcijskih bolezni, onesnaževanje vode

Voda je v naravi redko popolnoma čista. Celo dež je onesnažen, ko pade na zemljo. Na primer "kisli dež", ki nastane, ko se žveplove spojine (nastanejo pri gorenju fosilnih goriv) iz zraka raztopijo v deževnici in nastane žveplena kislina.

Kakovost vode ocenjujejo po stopnji onesnaženosti s topnimi kemikalijami, suspendiranimi koloidi (npr. zemeljski prah) in mikroorganizmi. Voda, ki pronica v zemljo, se filtrira, zato je v izvirih, studencih in globokih vodnjakih ponavadi dobre kakovosti.

Najnevarnejše onesnaženje vode povzročajo človeški in živalski iztrebki, če pridejo v vodne vire. V njih se lahko pojavijo povzročitelji tifusa in kolere (bakterije) ter hepatitisa A (virus). V vodi so lahko tudi praživali (*Giardia lamblia*), ki povzročajo bolezenske znake diareje, če pridejo v človekov prebavni trakt.

Školjke se prehranjujejo tako, da filtrirajo vodo, zato se v njih koncentrirajo virusi in bakterije iz vode, v kateri živijo. Povzročitelji bolezni, ki živijo v vodi, lahko pridejo v človeško telo skozi prebavni trakt ali skozi kožo.

### Vprašanji:

1. Razloži, zakaj je voda v naravi redkokdaj popolnoma čista.
2. Opiši načine okužbe vode s povzročitelji infekcijskih bolezni.

#### 4.4 ONESNAŽENOST VODA S KEMIKALIJAMI

**Ključne besede:** industrijske in agrokulturne kemikalije, prehranska veriga, nafta, čiščenje posledic razlita, bakterije

Preprečevanje onesnaženja voda s kemikalijami je resen problem. Industrijske in agrokulturne kemikalije se v vodo izpirajo v velikih količinah ter v oblikah, ki se ne morejo razgraditi. Mnoge od teh kemikalij se kopičijo v organizmih, ki sestavljajo prehransko verigo.

Pozornost vzbujajoč primer je industrijsko onesnaženje voda z živim srebrom (pridobivanje papirja). Živo srebro so spuščali v vode z odplakami, ker so menili, da se bo nabiralo v usedlinah na dnu. Tam pa so bakterije živo srebro, ki je bilo vezano v netopno spojino, spremenile in nastala je topna spojina živega srebra. Zato se je živo srebro koncentriralo v ribah in vretenčarjih, ki so živeli v vodi. Kadar takšna morska hrana predstavlja večji del človeške prehrane, se pojavijo težke okvare na živčnem sistemu ljudi kot posledica nakopičenega živega srebra v organizmu.

Drug primer so čistila, ki so jih razvili takoj po drugi svetovni vojni. Niso bila biološko razgradljiva, nadomestila pa so večino do takrat uporabljenih mil. V rekah in drugih vodnih tokovih je bilo videti pene čistil, ki so se nabirale na vodah. Po letu 1964 so jih zamenjala biološko razgradljiva čistila, ki pa vsebujejo fosfate. Fosfati prehajajo skoraj nespremenjeni skozi sistem čiščenja odpadnih vod. V rekah in jezerih, kamor se izlivajo prečiščene odpadne vode, fosfati povzročijo hitrejšo rast alg in cianobakterij. Včasih povzročijo smrt drugih organizmov. Alge in cianobakterije dobijo s fosfati presežek hranilnih snovi, zato se hitreje razmnožujejo in rastejo.

Najbolj dramatično onesnaženje voda predstavlja razlitje nafte po tleh ali morju. Bakterije, ki so sposobne razgraditi nafto in njene derivate, lahko uporabimo za čiščenje posledic takšnih razlitij.

Nafta vsebuje veliko ogljika in zelo malo drugih elementov (dušika in fosforja), ki so pomembni za rast mikroorganizmov. Če po razliti nafti polijejo mešanico bakterij in potrebnih hranilnih snovi, bakterije razgradijo polito nafto. Za to razgradnjo je potreben kisik. Če je nafta razlita po prsti, je za delovanje bakterij potrebna aeracija prsti.

Vprašanja:

1. Razloži, zakaj je onesnaževanje voda s kemikalijami resen problem.
2. Opiši, kako vplivajo na okolje čistila, ki vsebujejo fosfate.
3. Razloži, kako lahko bakterije uporabijo pri čiščenju posledic razlitja nafte.

## **4.5 UPORABA MIKROORGANIZMOV ZA ČIŠČENJE ODPADNIH VODA IN TRDNIH ODPADKOV**

**Ključne besede:** odpadne vode, čistilne naprave, smeti, anerobne metanogene bakterije, dodatek prsti

### **4.5.1 Čiščenje odpadnih voda**

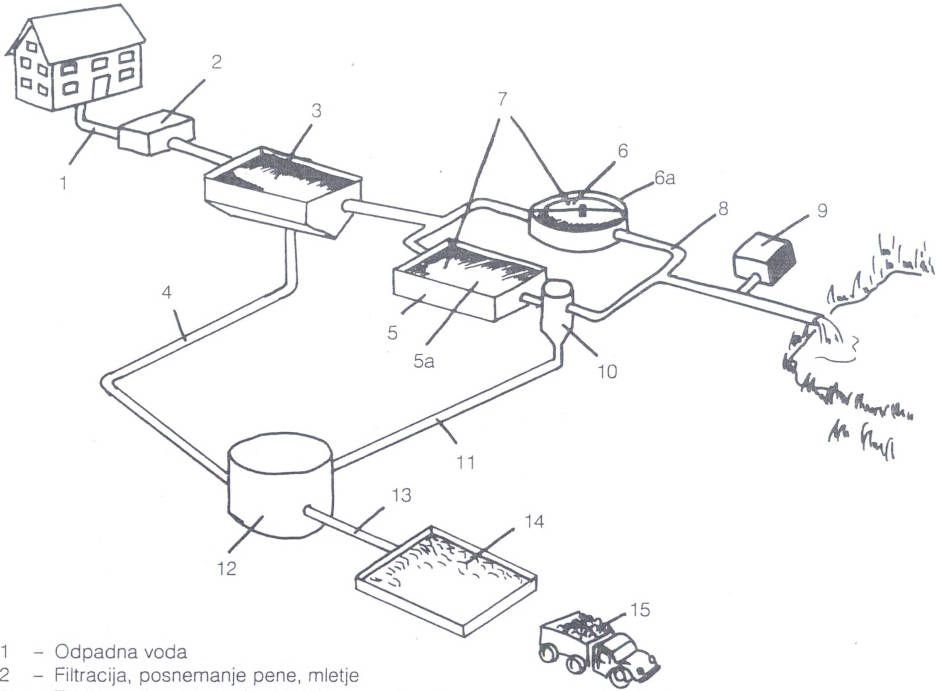
Med odpadne vode štejemo:

1. vodo, ki jo uporabimo v gospodinjstvu,
2. straniščne odpadke,
3. industrijsko odpadno vodo,
4. deževnico, ki se zbira v odtočnih kanalih cest.

Veliko naselij ima kanalizacijo, po kateri tečejo odpadne vode, načrtovano tako, da se steka naravnost v morje, jezero ali reko, večkrat brez kakršnih koli čistilnih naprav.

Čistilne naprave za odpadne vode delujejo tako, da ločijo trdne delce in vodo. Vodo lahko očiščeno vračajo v vodne tokove. Pomembni pri čiščenju odplak so mikroorganizmi, ki razgrajujejo organske snovi v odplakah. Blato sušijo in to se uporabi kot dodatek prsti za zasipavanje jam in pokrivanje starih smetišč.

Slika 29  
Čistilna naprava za odpadne vode

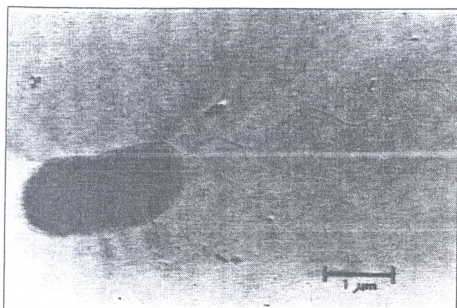


- 1 – Odpadna voda
- 2 – Filtracija, posnemanje pene, mletje
- 3 – Tank za primarno sedimentacijo
- 4 – Primarno blato
- 5 – Aeracijski tank
- 5a – Aktivno blato
- 6a – Sekundarna obdelava – pretočni filter
- 6 – Aktivno blato
- 7 – ali
- 8 – Izliv
- 9 – Dezinfekcija s klorom
- 10 – Sedimentacijske tank
- 11 – Sekundarno blato
- 12 – Anaerobni digester za blato
- 13 – Izliv blata
- 14 – Bazen za osuševanje blata
- 15 – Odvoz blata

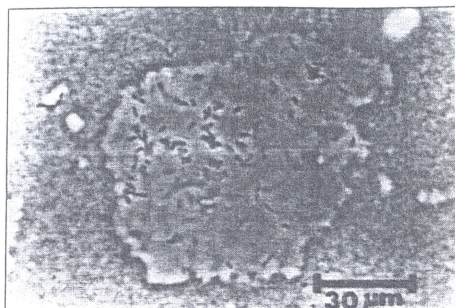


Slika 31  
Organizmi, ki sodelujejo pri čiščenju odpadnih voda.

a) *Zooglea ramigera*



b) *Zooglea ramigera* tvori želatinozno snov, v kateri so vidne celice.



#### 4.5.2 Predelava trdnih odpadkov (smeti)

Smeti navadno spravljajo na smetišča, ki so v jamah, opuščenih peskokopih in podobno. Na smetiščih so natlačene, zato tu vladajo anaerobne razmere. Razgradnja odpadnih snovi je v takih razmerah počasna ali pa do nje sploh ne pride. Celo razmeroma lahko razgradljive snovi, kot je npr. časopisni papir, mikroorganizmi težko predelajo.

Hitrejša je razgradnja odpadkov v velikih vrtljivih valjih (digestorjih) s pomočjo anaerobnih metanogenih bakterij. Odpadki se spremenijo v suho snov, podobno humusu, ki jo uporabljajo kot dodatek prsti (npr. ilovici). Metan, ki se sprošča pri razgradnji, se lahko porabi za pridobivanje električnega toka ali kot dodatek mestnemu plinu.

#### Vprašanja:

1. Razloži pomen čistilnih naprav za kanalizacijske odplake.
2. Razloži, zakaj uporabljajo mikroorganizme v čistilnih napravah.
3. Razloži delovanje mikroorganizmov pri predelavi trdnih odpadkov.

# MORFOLOGIJA IN CITOLOGIJA MIKROORGANIZMOV

## 5.1 VELIKOST MIKROORGANIZMOV

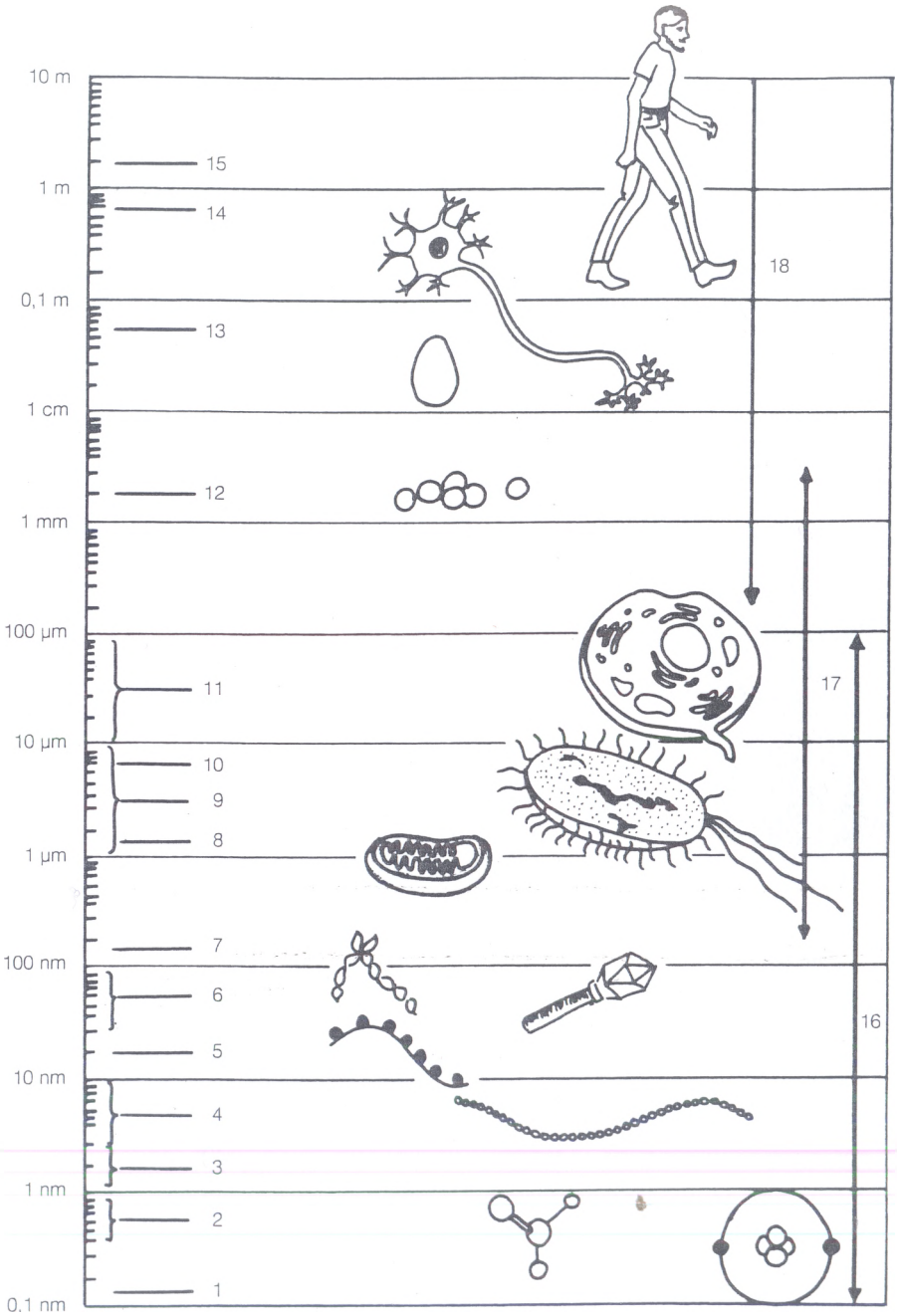
Ključne besede: mikrometer, nanometer, velikost, dolžina, premer

Velikost oziroma majhnost mikroorganizmov merimo z enotama mikrometer in nanometer. 1 mikrometer meri 1 tisočinko milimetra ali 1 milijoninko metra.

Slika 34

Razmerja med velikostmi različnih organizmov in delov organizmov

- |                       |  |
|-----------------------|--|
| 1 – Atomi             | 10 – Jedro   |
| 2 – Majhne molekule   | 11 – Eukariotska celica                                  |
| 3 – Lipidi            | 12 – Žabje jajce   |
| 4 – Proteini          | 13 – Kokošje jajce                                       |
| 5 – Ribosomi          | 14 – Dolžina nekaterih celic živčnega in mišičnega tkiva |
| 6 – Virusi            | 15 – Višina telesa                                       |
| 7 – <i>Mycoplasma</i> | 16 – Elektronski mikroskop                               |
| 8 – Mitohondriji      | 17 – Svetlobni mikroskop                                 |
| 9 – Večina bakterij   | 18 – Človekovo oko                                       |



Vprašanja:

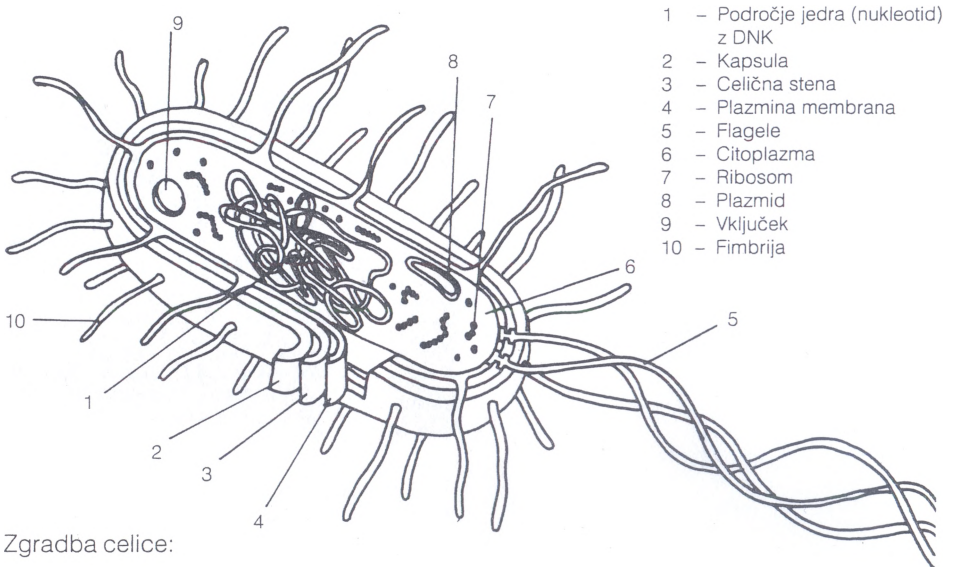
1. V katerih enotah merimo velikost mikroorganizmov?
2. Razvrsti po velikosti bakterije, plesni in kvasovke.

## 5.2 ZGRADBA PROKARIOTSKE IN EUKARIOTSKE CELICE

### 5.2.1 Prokariotska celica

Slika 35

Zgradba tipične prokariotske (bakterijske) celice – vzdolžni prerez celice



- 1 – Področje jedra (nukleotid) z DNK
- 2 – Kapsula
- 3 – Celična stena
- 4 – Plazmina membrana
- 5 – Flagele
- 6 – Citoplazma
- 7 – Ribosom
- 8 – Plazmid
- 9 – Vključek
- 10 – Fimbrija

Zgradba celice:

1. strukture zunaj celične stene:
  - a) glikokaliks,
  - b) flagele,
  - c) aksialni filamenti,
  - d) fimbrije in pili,
2. celična stena,
3. strukture znotraj celične stene (v celici):
  - a) citoplazemska membrana,
  - b) citoplazma,
  - c) območje jedra,
  - d) ribosomi,
  - e) vključki:
    - metakromatske granule,
    - polisaharidne granule,
    - lipidni vključki,
    - žveplene granule,
    - plinske vakuole,
  - f) endospore.

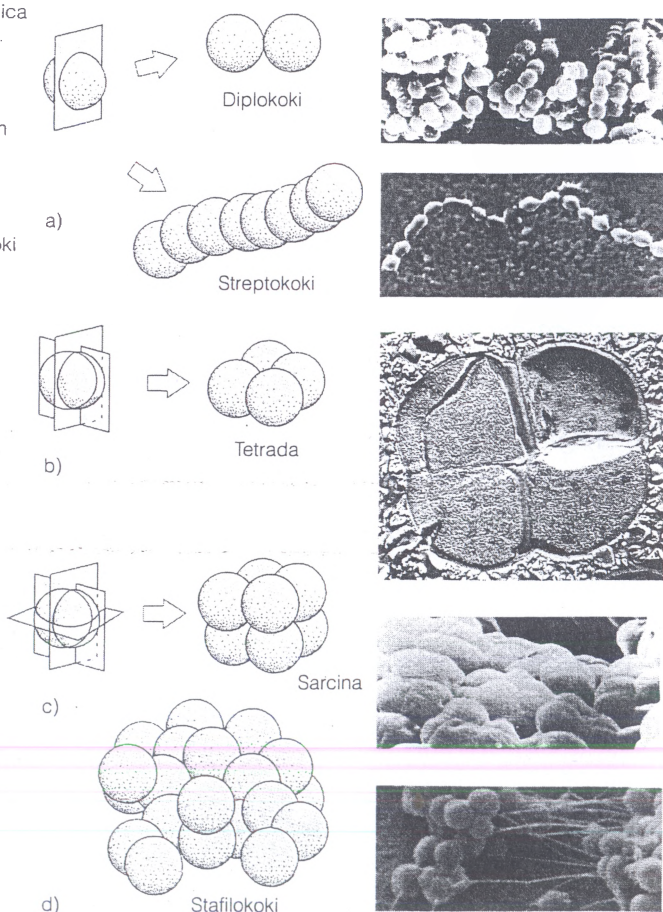
Prokariotski organizmi tvorijo veliko in zelo raznovrstno skupino zelo majhnih enoceličnih organizmov. Ta skupina vključuje eubakterije ali prave bakterije in arhebakterije. Med seboj se ločijo po morfologiji, kemijski sestavi, potrebah po hranilnih snoveh, biokemijskih dejavnostih in po viru energije.

Večina bakterij je monomorfnih (imajo lahko le eno obliko), nekatere pa so pleomorfne (imajo lahko več različnih oblik). Njihove oblike so zelo različne. Osnovne oblike so koki, bacili in spiralne oblike. Spiralne oblike so vibrijon, spirili in spirohete. Odkrili so tudi zvezdaste celice ter ploščate pravokotne in trikotne celice.

Slika 36  
Oblike skupin bakterijskih celic (kokov)

Število ravnin po katerih se celica deli določa obliko skupin celic.

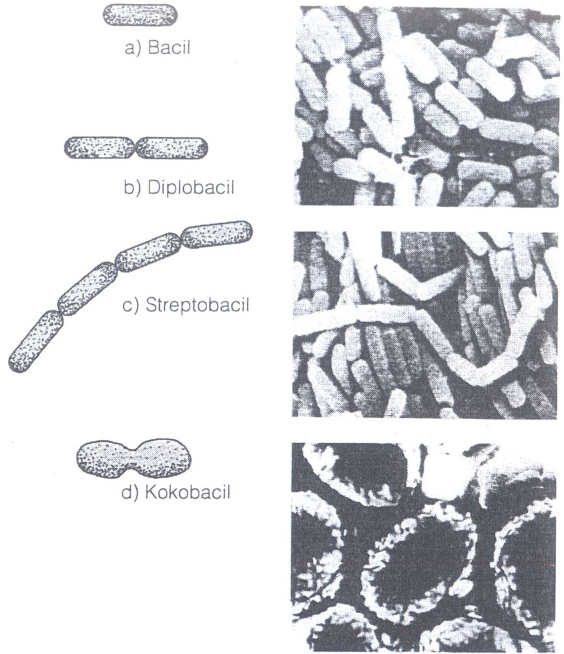
- a) Z deljenjem v eni ravnini nastanejo diplokoki in streptokoki
- b) Z deljenjem v dveh ravninah nastanejo tetrade
- c) Z deljenjem v treh ravninah nastanejo sarcine
- d) Z deljenjem v več različnih ravninah nastanejo stafilokoki





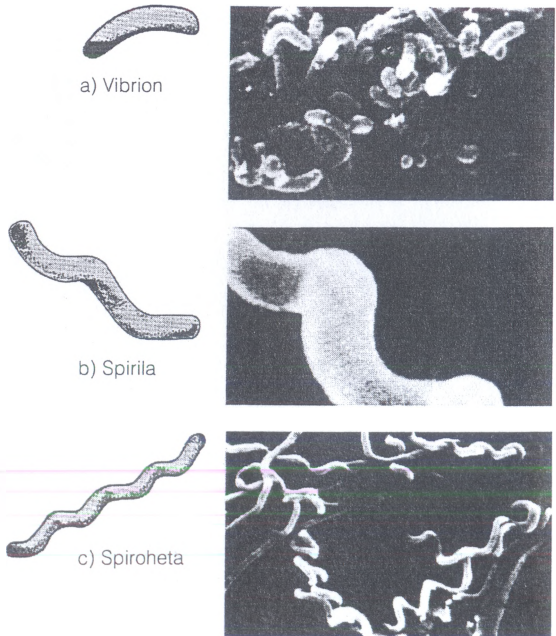
Slika 37

Osnovne oblike bakterij (bacilov)

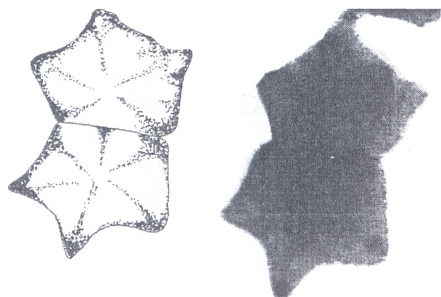


Slika 38

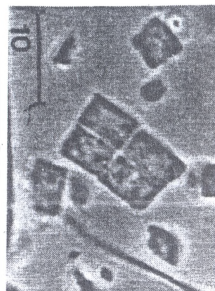
Osnovne oblike bakterij (spiralne oblike)



Slika 39  
Posebne oblike bakterij



a) Zvezdasta oblika (Stella)



b) Kvadratna oblika (halofilna arheobakterija)

### 5.2.1.1 Strukture zunaj celične stene

**Ključne besede:** glikokaliks, polimer, zaščita celice, gibanje, flagele, filamenti, fimbrije, pili

GLIKOKALIKS je ime za snovi, ki obdajajo celico. Bakterijski glikokaliks je viskozen, lepljiv, želatinast polimer, ki je sestavljen iz polisaharidov ali iz polipeptidov ali iz obeh. Kemijska sestava snovi je odvisna od vrste bakterije. Večinoma nastane znotraj celice, nato pa jo ta izloči na površino. Če se snov tesno oprijema celične stene, jo lahko imenujemo kapsula. Če se snov le rahlo oprijema celične stene, se imenuje sluzni ovoj. Kapsule pogosto ščitijo patogene bakterije pred fagocitozo gostiteljskih celic; npr. *Streptococcus pneumoniae* lahko povzroči pljučnico, če ima kapsule. Bakterije brez kapsul napadejo in fagocitirajo bela krvna telesa.

Druga naloga lepljivega glikokaliksa je omogočiti bakterijam, da se prilepijo na različne površine, da bi preživele v svojem naravnem okolju; npr. *Streptococcus mutans* je pomemben povzročitelj kariesa in se na podlago (zobe) pričvrsti z glikokaliksom. Glikokaliks ščiti celico pred izsušitvijo (dehidracijo) in fagocitozo.

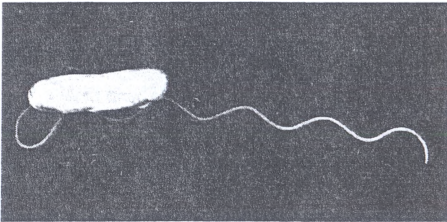


FLAGELE so dolgi nitasti izrastki. Lahko so na površini celice razporejene na štiri različne načine:

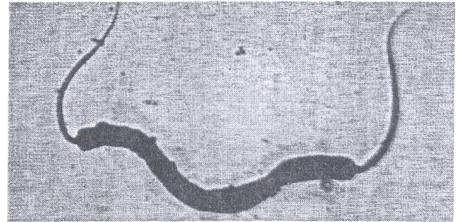
1. monotrihno – ena flagela na enem polu,
2. amfitrihno – po ena flagela na vsakem polu,
3. lofotrihno – dve flageli ali več na enem ali obeh polih,
4. peritrihno – flagele razporejene po vsej površini celice.

Flagela ima tri osnovne dele: filament, koren in bazalno telo. Filament je zunanji vidni del, zgrajen je iz proteina flagelina. Verige flagelina so spiralno ovite, v sredini pa je prazen prostor. Pri bakterijah filament ni pokrit z membrano ali ovojnico kot pri eukariotskih celicah. S korenem je pritrjen na bazalno telo, ki je usidrano v celično steno in v plazmatsko membrano. Bakterije, ki imajo flagele, se lahko same premikajo. Flagele se vrtijo okrog vzdolžne osi in tako povzročajo premikanje.

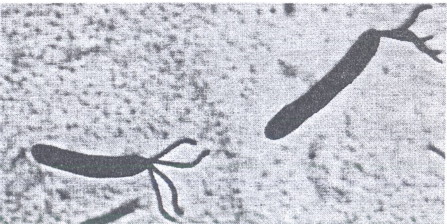
Slika 40  
Osnovni tipi namestitve flagel



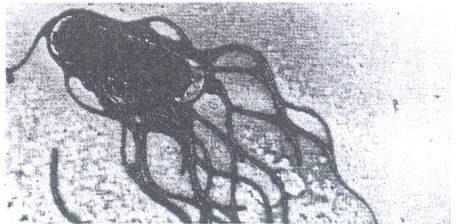
a) Monotrihna namestitev



b) Amfitrihna namestitev



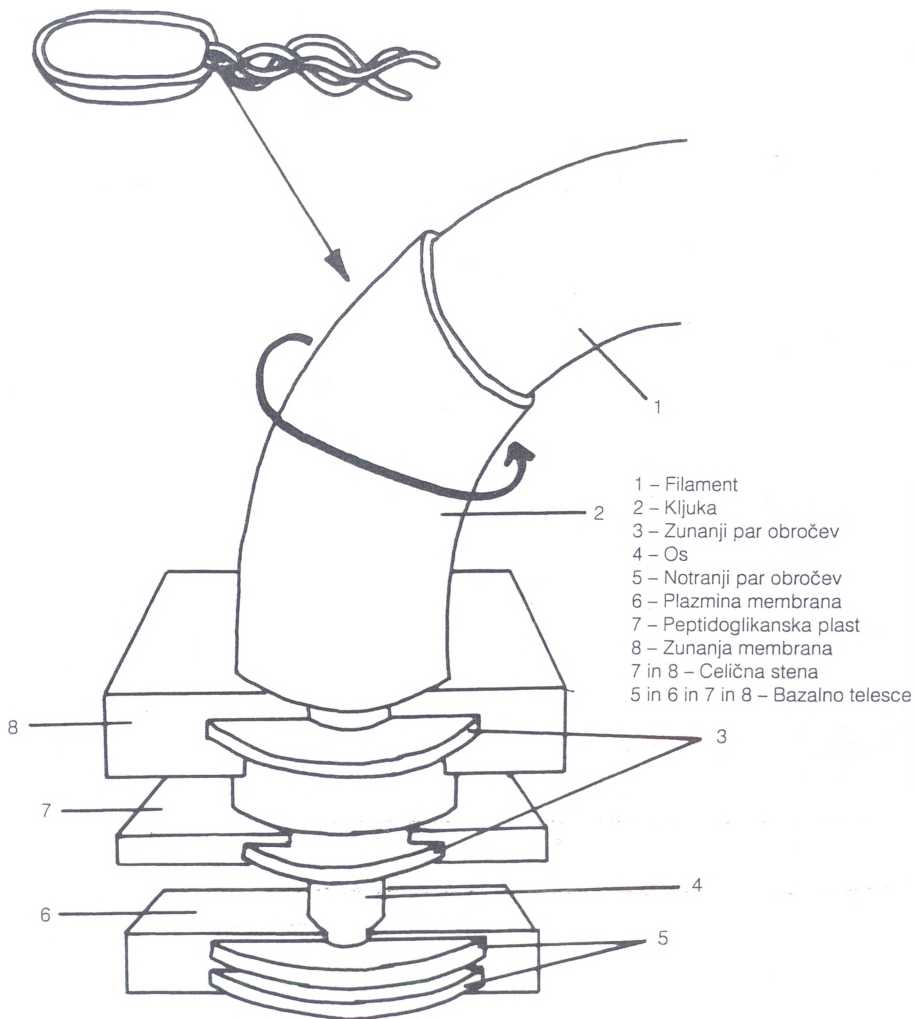
c) Lofotrihna namestitev



d) Peritrihna namestitev

Slika 41

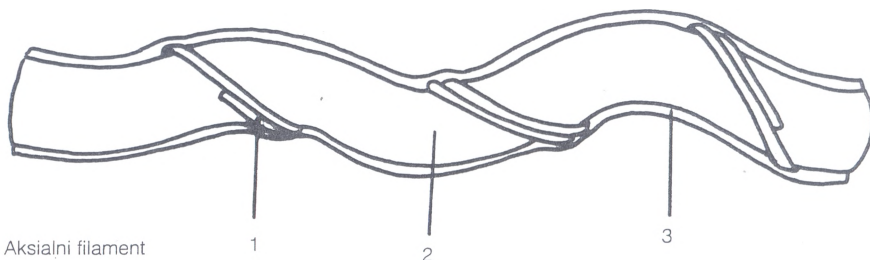
Sestavni deli flagele in način njene pritrditve pri gramnegativnih bakterijah



AKSIALNI FILAMENTI so spiralno oviti okrog bakterije (spirohete), in sicer med celično steno in zunanjim ovojem. Usidrani so na enem polu in ovijajo celico po vsej dolžini. Njihova zgradba je podobna flagelam. Rotacija filamentov povzroči gibanje bakterij. Takšne filamente imajo spirohete, npr. *Treponema pallidum* (povzročiteljica sifilisa) in *Borrelia burgdorferi* (povzročiteljica lymške bolezni).

Slika 42

Skica aksialnih filamentov, ki ovijajo spiroheto



- 1 – Aksialni filament  
2 – Celična stena  
3 – Zunanji ovoj

FIMBRIJE IN PILI so tanki lasasti izrastki, ki so tanjši in bolj ravni kot flagele. Fimbrije so lahko samo na polih ali po vsej površini. Podobno kot glikokaliks omogočajo tudi fimbrije celici, da se oprime površine. Pili so običajno daljši od fimbrij in na eni celici sta le eden ali dva. Njihova naloga je združiti dve bakterijski celici, da lahko pride do prenosa DNK iz ene celice v drugo, zato jih imenujejo seksualni pili.

### Vprašanja:

1. Opiši sestavo in pomen glikokaliksa.
2. Opiši zgradbo flagele.
3. Razloži, kako aksialni filament omogočajo gibanje bakterij.
4. Opiši naloge fimbrij.
5. Razloži, v čem se med seboj ločijo fimbrije in pili.

#### 5.2.1.2 Celična stena

**Ključne besede:** oblika celic, osmotski pritisk, peptidoglikan, mreža, arheobakterije, protoplast, delovanje antimikrobnih sredstev

CELIČNA STENA bakterij je kompleksna, poltrda struktura, ki daje celici obliko. Ovija krhko plazmatsko membrano in varuje notranjo zgradbo celice pred različnimi vplivi od zunaj. Skoraj vsi prokarioti imajo celično steno.

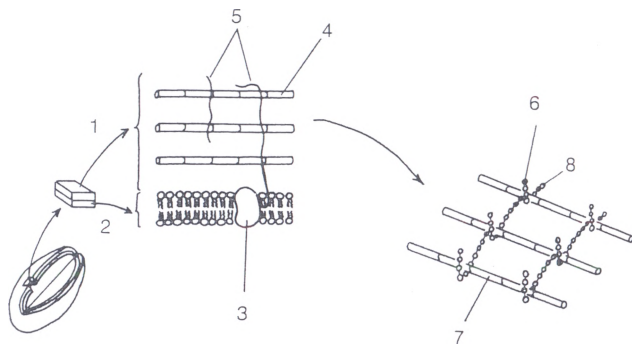
Celična stena preprečuje, da bi celica počila ob spremembi osmotskega pritiska (koncentracija v celici večja kot v okolju – plazmoptiza) in oblikuje celico. Vanjo so usidrane tudi flagele. Tudi nekateri eukariotski organizmi imajo celične stene (rastline, alge, plesni), vendar se njihove po kemični sestavi razlikujejo od prokariotskih. Bakterijske celične

stene imajo obliko mreže, ki jo tvorijo makromolekule peptidoglikana (mureina), ki je lahko sam ali v kombinaciji z drugimi snovmi. Peptidoglikan je mukopolisaharid. Zgrajen je iz disaharidov, ki so vezani na verigo štirih ali petih aminokislin. Monosaharidi, ki sestavljajo disaharide, so podobni glukozi.

Celične stene grampozitivnih in gramnegativnih bakterij se med seboj razlikujejo po zgradbi. Celično steno grampozitivnih bakterij gradi samo mreža peptidoglikana, na katero so vezane še nekatere druge snovi. Celična stena gramnegativnih bakterij pa je iz dveh plasti. Ena plast je mreža iz peptidoglikana, druga plast (zunanja membrana) je iz lipo-proteidov, fosfolipidov in proteinov. V prostorih peptidoglikanske mreže so še encimi in druge aktivne snovi.

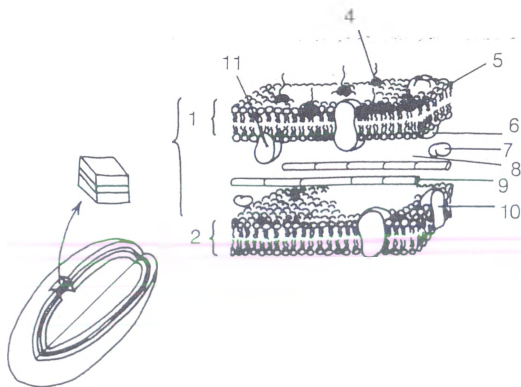
Slika 43

Celična stena bakterijske celice



a) Celična stena gram pozitivne celice

- 1 - Celična stena
- 2 - Plazmina membrana
- 3 - Protein
- 4 - Peptidoglikan
- 5 - Lipoteihoična kislina
- 6 - Tetrapeptidna stranska veriga
- 7 - Ogjikovohidratna osnova
- 8 - Prečna vez iz peptidov
- 9 - Struktura peptidoglikana (izpisano na sliki)



b) Celična stena gram negativne celice

- 1 - Zunanja membrana
- 2 - Plazmina membrana
- 3 - Celična stena
- 4 - Lipopolisaharid
- 5 - Fosfolipid
- 6 - Porin protein
- 7 - Encimi in druge aktivne snovi
- 8 - Perioplazemski gel
- 9 - Peptidoglikan
- 10 - Protein
- 11 - Lipoprotein

Med prokariotskimi organizmi so tudi celice, ki nimajo celične stene ali pa je ta zelo tanka. Takšne so bakterije iz rodu *Mycoplasma* in njim sorodni organizmi. *Mycoplasma* so najmanjše znane bakterije, ki lahko rastejo in se razmnožujejo zunaj gostiteljske celice. Ker nimajo celičnih sten, lahko prehajajo skozi večino bakterijskih filtrov. Imajo membrano, ki je edinstvena med bakterijami, in jih zaradi svojih sestavin ščiti pred razgradnjo. Sprva so jih imeli za viruse.

Arhebakterije so lahko brez stene ali pa imajo nenavadne stene iz polisaharidov in proteinov, vendar brez peptidoglikana. Druge netipične bakterije so L-oblike (imenovane po inštitutu Lister Institute, kjer so jih odkrili). To so majhne mutirane bakterije s spremenjenimi celičnimi stenami. Pri mnogih bakterijah nastajajo L-oblike kot posledica delovanja kemikalij ali antibiotikov. Nekatere L-oblike preidejo v normalno obliko, druge pa so stabilne.

Poškodbe celične stene so cilj nekaterih antimikrobnih sredstev. Eden od načinov, da se poškoduje celična stena, je, da pride v stik z encimom lizozinom. Ta encim nastane v nekaterih eukariotskih celicah in je sestavni del solz, sluzi in sline. Celične stene grampozitivnih bakterij skoraj popolnoma razgradi. Protoplast, ki je zaščiten le še s plazmatsko membrano, lahko ostane nepoškodovan in v njem lahko poteka metabolizem. Če isti encim deluje na gramnegativne celice, je celična stena poškodovana, vendar ostanejo še deli celične stene. Taka celica z ostanki celične stene se imenuje sferoplast.

Protoplast in sferoplast se v vodi ali malo koncentrirani raztopini soli ali sladkorja napihmeta. V celico vdirajo molekule vode in jo napihujejo, ker je koncentracija v celici višja kot zunaj nje.

#### Vprašanja:

1. Opiši pomen celične stene.
2. Razloži zgradbo bakterijske celične stene.
3. Razloži, v čem se razlikujeta celični steni gramnegativnih in grampozitivnih bakterij.
4. Opiši delovanje encima lizozima na celično steno bakterij.
5. Poskusi razložiti, zakaj je encim lizozim sestavni del solz, sluzi in sline.

#### 5.2.1.3 Strukture v celici

**Ključne besede:** plazmina membrana, fosfolipidi, proteini, mreža, citoplazma, nukleotid, plazmid, ribosom, vključki

PLAZMINA MEMBRANA ali citoplazmina ali notranja membrana je tanka ovojnica, ki leži pod celično steno in ovija citoplazmo. Plazmina membrana prokariotov je sestavljena

predvsem iz fosfolipidov in proteinov. Eukariotska plazmina membrana vsebuje tudi ogljikove hidrate in sterole (holesterol). Ker prokariotska membrana ne vsebuje sterolov, je manj toga.

Pod elektronskim mikroskopom je plazmina membrana prokariotov in eukariotov videti kot dvoplastna struktura. Fosfolipidne molekule so postavljene v dveh vzporedno ležečih plasteh. Vsaka fosfolipidna molekula vsebuje polarni konec, ki ga sestavljata fosfatna skupina in propantriol (hidrofilen, topen v vodi) in nepolaren rep, ki je iz maščobne kisline (hidrofobne, netopne v vodi). Polarni konci so na zunanji površini obeh plasti, nepolarni repi pa v notranjosti.

V membrani so še proteinske molekule. V ene so vključeni proteini, ki jih lahko odstranimo šele, če pretrgamo membrano. Druge molekule perifernih proteinov lahko odstranimo z lahkoto. Ležijo na zunanji ali notranji površini membrane in lahko delujejo kot encimi. Nekatere proteinske molekule gledajo na obeh straneh na površino. Za nekatere od teh proteinov menijo, da imajo kanalčke, po katerih lahko prehajajo snovi v celico ali iz nje.

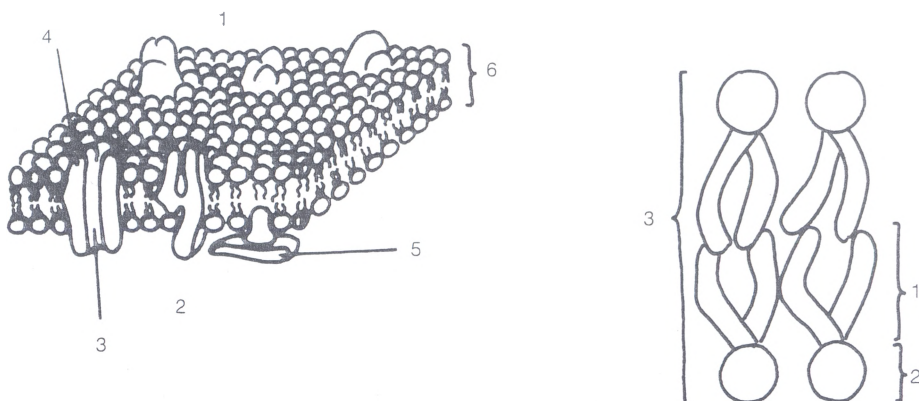
Plazmina membrana deluje kot selektivna ovira, skozi katero prehajajo snovi v celico ali iz nje. Je selektivno prepustna ali polprepustna. To pomeni, da nekateri ioni lahko gredo skozi membrano, drugi pa ne. Prepustnost membrane je odvisna od več dejavnikov. Velike molekule (npr. proteini) ne morejo skozi njo. Morda se to dogaja zato, ker so te molekule večje kot kanalčki v integralnih proteinih. Majhne molekule (voda, ogljikov dioksid, enostavni sladkorji) lahko pridejo skozi membrano. Ioni prehajajo počasi. Snovi, ki so topne v maščobah, prehajajo v celico hitreje kot druge, ker je membrana zgrajena iz fosfolipidov. Hitrost prehajanja snovi je odvisna tudi od molekul prenašalcev.

Plazmina membrana je pomembna v razgradnji hranilnih snovi. Plazmina membrana bakterij vsebuje encime, ki lahko katalizirajo reakcije razgradnje hranilnih snovi in tvorbo ATP. Pri nekaterih bakterijah so v plazmatski membrani našli barvila in encime, ki sodelujejo pri fotosintezi.

Plazmina membrana je za bakterije odločilnega pomena, zato so mikrobicidna sredstva prirejena tako, da jo poškodujejo. Membrano poškodujejo alkoholi in kvartarne amonijeve soli. Te snovi lahko uporabljamo kot razkužila.



Slika 44  
Plazmina (citoplazemska) membrana



b) Zgradba plazmine membrane

- 1 – Zunanja stran
- 2 – Notranja stran
- 3 – Kanalček
- 4 – Integriran protein
- 5 – Periferni protein
- 6 – Dvoslojni fosfolipid

c) Fosfolipidne molekule (razdelitev v dve plasti)

- 1 – Nepolarni hidrofobni repi (maščobne kisline)
- 2 – Polarne hidrofilne glave (fosfatne skupine in propantriol)
- 3 – Dvoslojni fosfolipid

CITOPLAZMA pri prokariotih pomeni celoten matriks celice, ki ga ovija plazmina membrana. 80 % citoplazme je voda, vsebuje še proteine (encime), ogljikove hidrate, lipide, neorganske ione in mnogo delcev z nizko molekularno maso. Koncentracija neorganskih ionov v citoplazmi je veliko večja kot v večini medijev. Citoplazma je <sup>celična tekočina</sup> gosta, vodena, poltransparentna in elastična snov. V citoplazmi je veliko ribosomov (DNK delcev) in rezervnih snovi (vključkov).

JEDRNO TELESCE ali NUKLEOTID v bakterijski celici vsebuje samo dolgo ali krožno molekulo DNK. To je bakterijski kromosom, ki vsebuje celično genetsko informacijo. To so informacije, potrebne za zgradbo celice in njeno delovanje. Bakterijski kromosomi ne vključujejo histonov in niso oviti z jedrno membrano.

V normalno rastoči celici zavzema jedrno telesce 20 % celične prostornine. Kromosom je vezan na plazmino membrano, ker so njeni proteini odgovorni za replikacijo DNK. Bakterija pogosto vsebuje plazmid. To je dodatek bakterijskemu kromosomu in je majhna, okrogla molekula DNK. Je ekstrakromosomski genetski element in ni vezan na glavni kromosom. Replicira se neodvisno od kromosomalne DNK. Pod določenimi pogoji so ti plazmidi prednost za celico, ker lahko nosijo gene za odpornost na antibiotike, toleranco na toksične



kovine, za proizvodnjo toksinov in sintezo encimov. Plazmide se lahko prenaša iz ene celice v drugo. V biotehnologiji plazmide uporabljajo za genetsko manipulacijo DNK.

RIBOSOMI so v vseh prokariotskih in eukariotskih celicah. Na njih potekajo sinteze proteinov. V vseh celicah, kjer je sinteza proteinov bolj intenzivna (v aktivno rastočih celicah), je veliko število ribosomov. V citoplazmi prokariotske celice je več kot deset tisoč ribosomov. Ti so iz dveh delov, oba sta sestavljena iz proteina in ribosomske RNK. Prokariotski ribosom se od eukariotskega loči po številu proteinskih molekul in molekul ribosomske RNK. Prokariotski ribosomi so manjši.

Nekateri antibiotiki (streptomycin, neomicin, tetraciklin) delujejo tako, da ovirajo sintezo proteinov na ribosomih. Delujejo samo na prokariotske ribosome, tako da eukariotska gostiteljska celice ostane nepoškodovana.

VKLJUČKI so mehurčki v celici. V njih so uskladiščene različne snovi. Glede na vsebino poznamo:

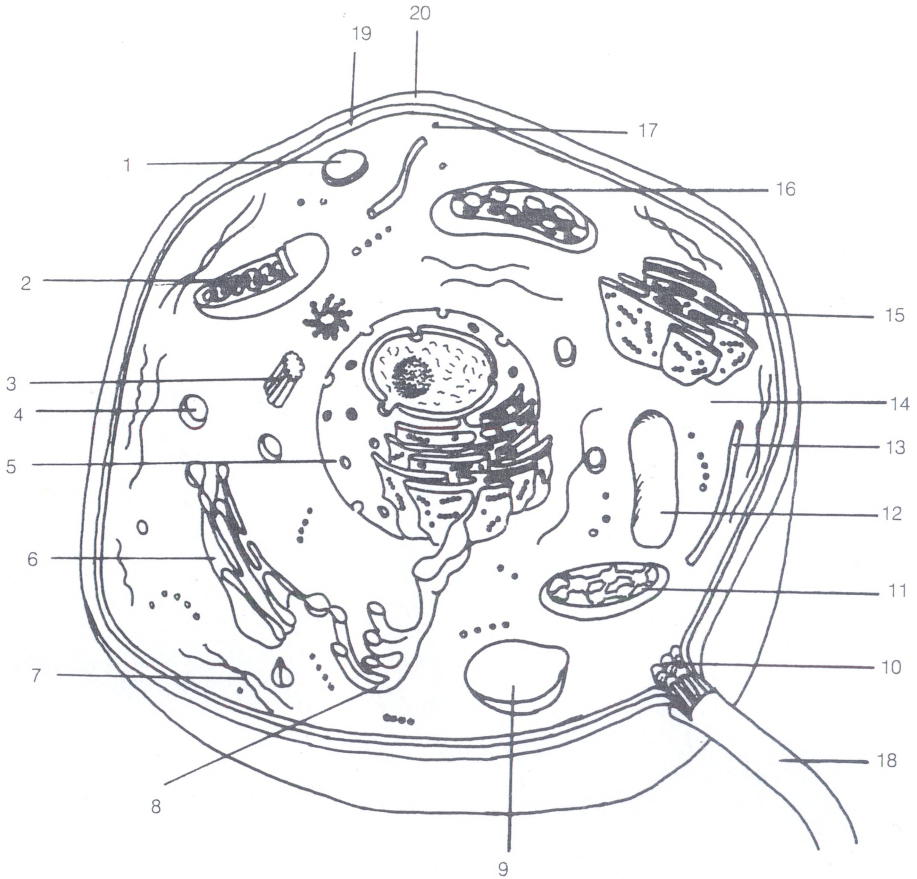
1. metakromatske granule (V njih je volutin, ki je rezerva neorganskega fosfata, potreben za sintezo ATP. Običajno nastanejo v celicah, ki rastejo na gojiščih, bogatih s fosfati.),
2. polisaharidne granule (vsebujejo škrob in glikogen),
3. lipidne vključke,
4. žveplove granule,
5. plinske vakuole.

### Vprašanja:

1. Razloži zgradbo plazmine membrane.
2. Ugotovi, zakaj v celico in iz nje hitreje prehajajo snovi, ki so topne v maščobah.
3. Razloži, kako delujejo mikrobicidna sredstva in jih naštej.
4. Razloži, kaj je jedro telesce in zakaj je za celico pomembno.
5. Razloži, kaj je plazmid.
6. Opiši zgradbo in delovanje ribosoma.
7. Razloži, od česa je odvisno število ribosomov v celici.

5.2.2 Eukariotska celica

Slika 45  
Eukariotska celica



- |   |  |
|---|--|
| 1 - Vključek  | 11 - Kloroplast                                      |
| 2 - Mitochondrij  | 12 - Mitochondrij                                    |
| 3 - Centriol  | 13 - Mikrotubus                                      |
| 4 - Lizosom   | 14 - Citoplazma                                      |
| 5 - Jedro   | 15 - Hrapav endoplazmatski retikulum<br>(z ribosomi) |
| 6 - Golgijev kompleks                                   | 16 - Tilakoid  |
| 7 - Mikrofilament                                       | 17 - Ribosom   |
| 8 - Gladek endoplazmatski retikulum<br>(brez ribosomov) | 18 - Flagela   |
| 9 - Vakuola   | 19 - Plazmina membrana                               |
| 10 - Bazalno telesce                                    | 20 - Celična stena                                   |

Eukariotsko celico sestavljajo:

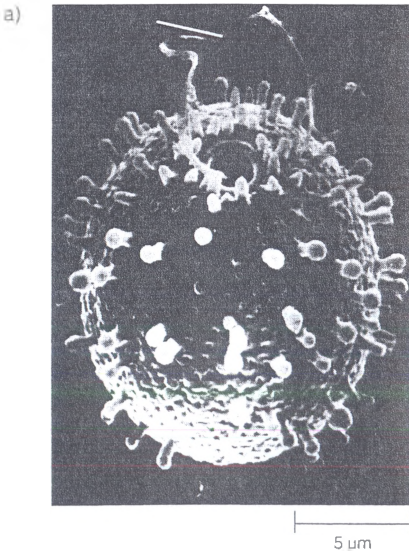
1. flagele in cilije,
2. celična stena in glikokaliks,
3. plazmina membrana,
4. citoplazma,
5. organeli:
  - jedro (nukleus),
  - endoplazmatski retikulum,
  - ribosomi,
  - mitohondriji,
  - kloroplasti,
  - lizosomi.

FLAGELE IN CILIJE so podaljški eukariotskih celic. So iz citoplazme, ki jo ovija plazmina membrana. Če so dolgi in jih je na celici malo, se imenujejo flagele. Na obodu flagele je devet parov mikrocevk, postavljenih v krog, v sredini pa sta še dve cevki. Če so podaljški kratki in jih je veliko ter so podobni lasem, se imenujejo cilije.

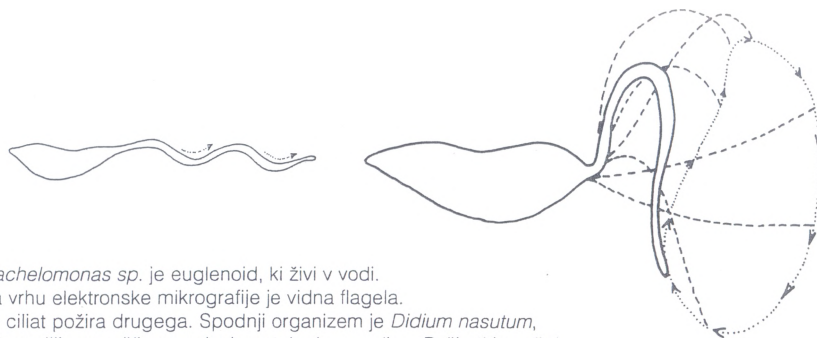
Naloga flagel in cilij je premikanje celice ali premikanje snovi (raztopine) ob telesu celice.

Slika 46

Flagele in cilije eukariotskih celic



c)



- a) *Trachelomonas* sp. je euglenoid, ki živi v vodi. Na vrhu elektronske mikrofografije je vidna flagela.
- b) En ciliat požira drugega. Spodnji organizem je *Didium nasutum*, ki ima cilije razvrščene v dveh vrstah okrog celice. Požirati je začel *Paramecium multimicronukleatum*. *Paramecium* m. ima cilije razvrščene po vsej površini celice.
- c) Gibanje eukariotskih flagel.

CELIČNA STENA in GLIKOKALIKS: Nekatere eukariotske celice imajo celične stene, vendar so te običajno veliko bolj preproste kot pri prokariotskih celicah. Večina alg ima celično steno zgrajeno iz polisaharida celuloze. Prav tako rastline. Celične stene nekaterih plesni (fungov) vsebujejo celulozo. Večina plesni ima kot osnovni sestavni del celične stene hitin, ki je tudi polisaharid. Hitin tvori tudi zunanje ogrodje insektov. Celična stena kvasovk vsebuje polisaharida glukon in manan. Tiste eukariotske celice, ki imajo neposreden stik z okoljem, imajo preko plazmatske membrane še dodaten ovoj. Praživali nimajo celične stene, ampak prilagodljiv zunanji ovoj, pelikel.

Pri drugih eukariotskih celicah je plazmatska membrana prekrita z glikokaliksom (s plastjo snovi, ki vsebuje lepljive ogljikove hidrate). Ogljikovi hidrati v glikokaliksu s proteini plazmatske membrane tvorijo vezi, ki trdno povežejo celice med seboj. Eukariotske celice ne vsebujejo peptidoglikana. Antibiotiki (penicilin, cefalosporin) delujejo na peptidoglikan v celični steni prokariotske celice in jo pri tem poškodujejo, gostiteljska eukariotska celica pa ostane nepoškodovana.

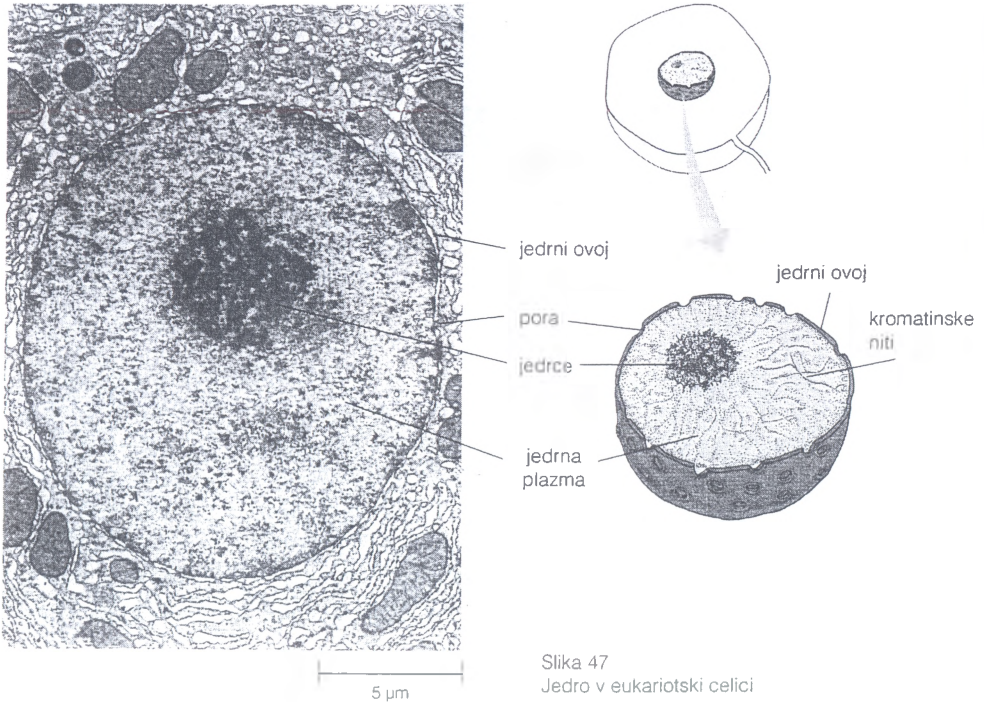
PLAZMINA MEMBRANA je pri eukariotskih celicah zunanji ovoj celice, pri tistih celicah, ki nimajo celične stene. Eukariotska plazmina membrana je zelo podobna prokariotski plazmini membrani. Razlikujeta se po proteinih in ogljikovih hidratih. Eukariotska plazmina membrana vsebuje tudi sterole. Ti ji pomagajo, da prenaša obremenitve zaradi osmotskega pritiska. Snovi lahko skozi eukariotsko plazmino membrano prehajajo enako kot skozi prokariotsko. Eukariotske celice imajo še dodaten mehanizem za prehod snovi skozi membrano – endocitozo. To je proces, pri katerem del plazmine membrane obkroži večjo molekulo in jo prinese v celico. Poznamo dva tipa endocitoze: fagocitoza in pinocitoza. Fagocitozo uporabljajo bela krvna telesca, da uničijo bakterije in tuje snovi. Pri pinocitozi pa se

napravi iz plazmine membrane guba navznoter in v celico pride ekstracelularna raztopina z vsemi snovmi, ki so v njej raztopljene.

CITOPLAZMA eukariotske celice obdaja celični matriks znotraj celične membrane in nukleus (jedro) od zunaj. Eukariotska citoplazma ima vključene tudi kompleksne notranje strukture, kot so: mikrofilamenti, intermediatni filamenti in mikrotubuli. Vsi ti delci skupaj tvorijo citoskeleton. Tega in druge dele citoplazme drži skupaj tridimenzionalna membrana iz tankih filamentov (mikrotrabekularna mreža). Ta mreža daje oporo in obliko ter organizira kemijske reakcije, ki potekajo v citoplazmi. Pomaga pri prehodu snovi skozi celico in lahko premika celotno celico. V citoplazmi so citoplazmatski tokovi, ki premikajo citoplazmo iz enega konca celice v drugega. S tem se prenašajo hranilne snovi.

ORGANELI so specializirane strukture, značilne za eukariotsko celico.

JEDRO ali NUKLEUS je najznačilnejši eukariotski organel. Običajno je okrogle ali ovalne oblike in je največji organel v celici. Vsebuje skoraj ves dedni material celice. Nekaj DNK



Slika 47  
Jedro v eukariotski celici



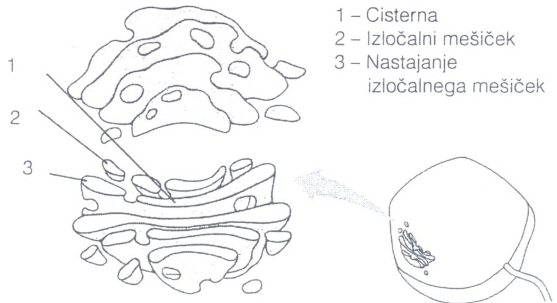
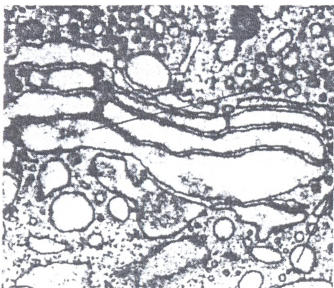
je v mitohondrijih in kloroplastih fotosintetizirajočih organizmov. Jedro je od citoplazme ločeno z jedrno membrano, ki je dvoplastna. V jedrni ovojnici so pore, ki omogočajo stik med citoplazmo in karioplazmo. Snovi skozi pore prehajajo v jedro in iz njega.

V njem je tudi eno ali več okroglih telesc, nukleolusov. Ti so center za sintezo ribosomske RNK. V jedru je DNK, ki je kombinirana s proteini (histoni in nehistoni). Kombinacijo 165 parov baz iz DNK in 9 molekul histonov imenujemo nukleosom. Ko se celica ne razmnožuje, so videti DNK in proteini kot preplet niti, ki jo imenujemo kromatin (kromatinske niti). Pred delitvijo jedra se kromatin skrči v krajša in debelejša telesa, imenovana kromosomi. Prokariotski kromosomi nimajo histonov, zato se ne krčijo in ne daljšajo. Eukariotska celica se deli na dva načina z mitozo in z mejozo.

ENDOPLAZMATSKI RETIKULUM je sistem, zgrajen iz dvojnih vzporednih membran, ki tvorijo mehurčke in vreče različnih oblik. Endoplazmatski retikulum je omrežje kanalčkov, ki poteka po citoplazmi in je povezano z jedrno in plazmino membrano. Na njegovi površini potekajo kemijske reakcije, je pa tudi skladišče za sintetizirane molekule. Nanj so pripeti ribosomi, ki sodelujejo pri sintezi proteinov.

GOLGIJEV KOMPLEKS (aparat) je sestavljen iz osmih sploščenih vreč (cistern), ki so zlepljene druga na drugo. Podaljšani konci vreč so ločeni od kompleksa in so znani kot izločalni mešički. Naloga Golgijevega aparata je, da zbira in izloča iz celice določene proteine in lipide. Druga naloga je, da sintetizira ogljikove hidrate in jih veže s proteini v glikoproteine, ki jih ravno tako z mešički izloča iz celice.

Slika 48  
Golgijev kompleks



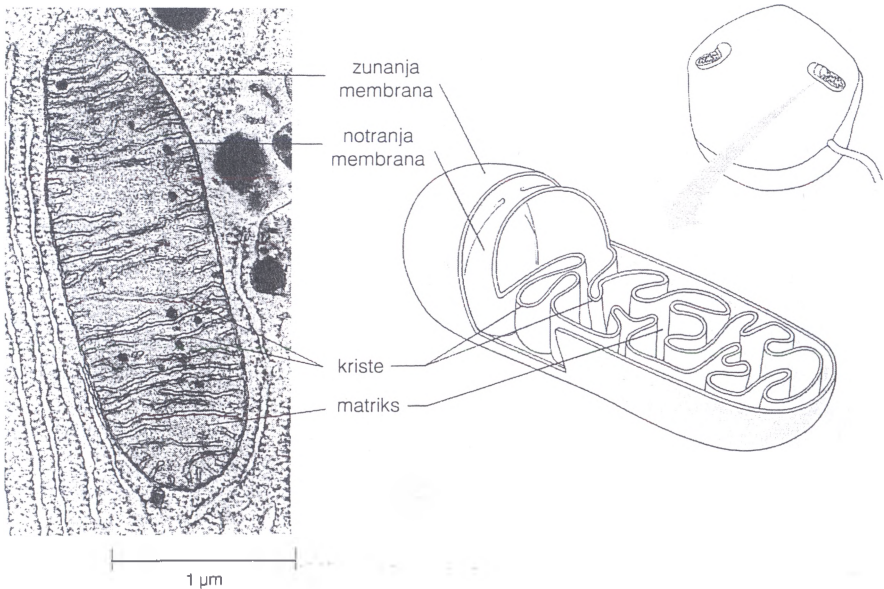
a) Transmisijska elektronska mikrofografija prečnega prereza Golgijevega kompleksa.

b) Tridimenzionalna risba Golgijevega kompleksa.



MITOHONDRIJI so okrogli ali podolgovati organeli. Zgrajeni so iz dvojnih membran podobne zgradbe kot plazmina membrana. Zunanja membrana mitohondrija je gladka, notranja pa nagubana in tvori kriste. V sredini mitohondrija je poltekoča snov, imenovana matriks. Notranja membrana je tako nagubana, da ima veliko površino in na njej potekajo kemijske reakcije. Na kristah so razporejeni proteini, ki sodelujejo pri celičnem dihanju, in encimi, ki tvorijo ATP. Mitohondriji vsebujejo ribosome in svojo DNK. Lahko se razmnožujejo samostojno tako, da rastejo in se delijo na dvoje.

Slika 49  
Mitohondrij



KLOROPLASTI so edinstveni organeli, ki jih imajo alge in zelene rastline. So membranske tvorbe, ki vsebujejo klorofil in encime, potrebne za potek svetlobnega dela fotosinteze. Klorofil je spravljen v sploščenih membranskih vrečkah, imenovanih tilakoidi. Kloroplasti vsebujejo ribosome, DNK in encime za sintezo proteinov. Sposobni so se sami razmnoževati z delitvijo.

LIZOSOMI so okrogli mehurčki, obdani z enojno membrano. Vsebujejo močne prebavne encime, ki lahko prebavijo bakterijo, ki vdre v celico. Lizosomi nastajajo v Golgijevem kompleksu. Človeške bele krvne celice imajo veliko število lizosomov, da lahko pri fagocitozi razgradijo celico.

CENTRIOL je cilindrična struktura. Vsak centriol sestavlja prstan iz devetih svežnjev, od katerih ima vsak po tri mikrocevkke. Ob jedru sta dva centriola, ki sodelujeta pri delitvi celice kot bazalni telesci ter pri nastanku flagel in cilij.

### Vprašanja:

1. Opiši zgradbo in naloge flagel in cilij.
2. Razloži, kako se razlikujejo med seboj celične stene plesni, alg in praživali.
3. Razloži, kaj je glikokaliks.
4. Razloži, zakaj antibiotiki delujejo samo na bakterijsko celico, celica gostitelja pa ostane nepoškodovana.
5. Razloži, zakaj vsebuje plazmina membrana eukariotskih celic sterole.
6. Opiši endocitozo.
7. Opiši citoplazmo in citoskeleton eukariotske celice.
8. Opiši sestavo in naloge mikrotrabekularne mreže.
9. Opiši zgradbo jedra.
10. Razloži pomen jedra za celico.
11. Opiši Golgijev kompleks.
12. Razloži delovanje endoplazmatskega retikuluma.
13. Opiši zgradbo in delovanje mitohondrija.
14. Poišči skupne lastnosti kloroplasta in mitohondrija.

### 5.2.3 Razlike med prokariotsko in eukariotsko celico

Preglednica: Razlike med prokariotsko in eukariotsko celico

KARAKTERISTIKA	PROKARIOTI	EUKARIOTI
značilnosti		
velikost celice	premer 0,2 do 2 mikrona	10 do 100 mikronov
membranske tvorbe	jih ni	lizosomi, Golgijev kompleks, mitohondriji, kloroplasti
jedro	ni nukleola, ni jedrne membrane	je pravo jedro z nukleolusom in jedrno membrano
flagele	zgrajene iz dveh proteinskih delov	zgrajene kompleksno iz mikrocevk
glikokaliks	kot kapsula ali celični ovoj	prisoten pri nekaterih celicah, ki nimajo celične stene
celična stena	večinoma prisotna, kemijska zgradba kompleksna	če je prisotna, njena je kemijska zgradba enostavna
plazmina membrana	brez ogljikovih hidratov in sterolov	vsebuje ogljikove hidrate in sterole
citoplazma	brez citoskeletona in tokov	citoskeleton in tokovi
ribosom	majhni	večji od prokariotskih, enako veliki, v organelih
kromosomi	krožen kromosom, brez histonov	več linearnih kromosomov s histoni
razmnoževanje spolno razmnoževanje	binarna delitev, ni meioze, le prenos delcev DNK	mitoza vključena meioza

# RAZMNOŽEVANJE

Ključne besede: spolno razmnoževanje, spolne celice, nespolno razmnoževanje

## 6.1 NESPOLNO IN SPOLNO RAZMNOŽEVANJE

Poznamo dva temeljna načina razmnoževanja: spolno in nespolno. Pri nespolnem načinu za tvorbo potomcev zadostuje samo en starševski osebek. Navadno so potomci, ki nastanejo s takim razmnoževanjem, po svojih dednih značilnostih enaki starševskemu osebku. Za spolno razmnoževanje je značilna združitev dveh spolnih celic ali gamet. Pri tem nastane spojek ali zigota.

Spolno razmnoževanje je vedno povezano z mejotsko delitvijo celic, ker zigota vsebuje dedni material dveh celic. Spolni celici za združitev ponavadi prispevata dva osebka, izjemoma obe spolni celici za združitev proizvede en osebek. Potomci imajo v svojih spolnih celicah kombinacijo dednih zapisov obeh staršev. Spolno razmnoževanje je pomemben vir raznolikosti znotraj vrste. To je pomembno za razvoj vrst.

### 6.1.1 Nespolno razmnoževanje

Cepitev imenujemo preprosto delitev celic prokariotov, pri kateri sodeluje delitveno vreteno. Tako se razmnožujejo bakterije.

Delitev celice (mitoza) je najpogostejša oblika nespolnega razmnoževanja praživali in enoceličnih alg. Brstenje je oblika nespolnega razmnoževanja, pri kateri se materinski osebek predeli neenakomerno. Manjši osebek, ki se običajno osamosvoji, imenujemo brst. Razmnoževanje s trosi ali sporami je posebna vrsta nespolnega razmnoževanja. Trosi so nediferencirane celice, ki se razvijejo v nov osebek. Pri mnogoceličarjih je v razvoj novega

osebka poleg celičnih delitev vključeno tudi njihovo diferenciranje. Trosi se z delitvijo razvijajo v trosovnikih ali sporangijih.

### 6.1.2 Spolno razmnoževanje

Spolno se lahko razmnožujejo enocelični in mnogocelični organizmi. Pri praživalih lahko osebek prevzame vlogo spolne celice ali pa se sam deli v spolne celice. Hčerinske celice, ki nastanejo z združitvijo gamet, se od staršev razlikujejo po velikosti, redkeje tudi po drugih lastnostih.

Zigota, ki nastane z združitvijo dveh spolnih celic pri mnogoceličarjih, se po številnih delitvah in diferenciaciji celic razvije v odrasel osebek. Ta proces imenujemo osebni razvoj ali ontogeneza.

Gametangija: pri rastlinah in nekaterih glivah se celice razvijajo v gametangijih. Spolne celice so lahko enake (izogamija) ali različne po velikosti (anizogamija). Če je ena vrsta gamet večja od druge in nima bičkov, jo imenujemo jajčna celica. Druge, sposobne gibanja in manjše, so spermatozoidi. Razmnoževanje z jajčnimi celicami in spermatozoidi imenujemo oogamija.

Rastline in glive se navadno razmnožujejo spolno in nespolno. Način je vezan na generacijo. Pri večini rastlin, ki se spolno razmnožujejo, sledi spolnemu razmnoževanju generacija z nespolnim razmnoževanjem. Taki enakomerni menjavi spolnih in nespolnih generacij pravimo prerod ali metageneza. Značilen je tudi za večino gliv. Generacija, ki razvije gametangije in gamete, je spolni rod ali gametofit. Generacija, ki se razmnožuje nespolno, je trosni rod ali sporofit.

#### Vprašanja:

1. Razloži, v čem se razlikujeta spolno in nespolno razmnoževanje.
2. Opiši skupne lastnosti razmnoževanja rastlin in gliv.
3. Razloži razliko med izogamijo in anizogamijo.

## 6.2 RAZMNOŽEVANJE NEKATERIH SKUPIN MIKROORGANIZMOV

Ključne besede: virusi, gostitelj, cepljivke, arhebakterije, eubakterije, glive, askospore, konidiji, plodišča

### 6.2.1 Virusi

Razmnoževanje virusov poteka samo znotraj gostiteljske celice. Ko virus sreča svojo gostiteljsko celico, se nanjo veže. V celico vstopi nukleinska kislina iz virusa, njegova kapsida pa ostane zunaj nje. Začne se litični cikel ali razmnoževalni cikel virusa, za kate-rega je značilno razpadanje gostiteljskih celic ob sproščanju novih virusov. Pri tem načinu virusna nukleinska kislina preusmeri presnovo gostiteljske celice tako, da ta izdeluje sestavne dele novih virusov.

Virusi se lahko obnašajo tudi drugače. Virusna nukleinska kislina se včasih vgradi v DNK gostiteljske celice in se skupaj z njo podvaja. Vgrajen virusni dedni zapis ne poškoduje gostiteljske celice. Ob vsaki delitvi se dedni zapis o zgradbi virusa prenese v hčerinsko celico. Tak razmnoževalni cikel imenujemo lizogeni cikel. Vgrajeni dedni zapis ni več celoten virus, imenujemo ga provirus, pri bakteriofagih pa profag. Cikla lahko prehajata drug v drugega.

### 6.2.2 Cepljivke

Mednje spadajo prokariotski organizmi (modrozeleni alge in bakterije). Pri cepljivkah ne poznamo spolnega razmnoževanja. Znani so drugi načini kombiniranja dednih zapisov različnih osebkov. Dedni material lahko iz ene celice v drugo prehaja na različne načine, tudi s pomočjo virusov. Ponavadi se cepljivke razmnožujejo s preprosto delitvijo, pri kateri ne sodeluje delitveno vreteno. Zaradi svoje majhnosti in preproste zgradbe ter enostavne delitve se zelo hitro razmnožujejo.

Na podlagi primerjav DNK v različnih vrstah cepljivk so vse cepljivke lahko razdelili na dve skupini: arhebakterije in eubakterije.

### 6.2.3 Glive

Glive so heterotrofni organizmi, ker so brez fotosintetskih barvil. Njihova hrana so odmrle organske snovi. Prehranjujejo se na saprofitski ali zajedalski način. Glede na zgradbo steljke in na razlike v razmnoževanju jih delimo na glive sluzavke (*Myxomycota*) in na



prave glive (*Eumycota*). Prave glive delimo po posebnostih v zgradbi in razmnoževanju v več razredov. Med njimi so algaste glive, zaprtotrosnice in prostotrosnice.

Med glive sluzavke uvrščajo enocelične organizme, ki del življenja preživijo posamično, v drugem delu pa se združijo v obsežne skupine (plazmodiji) zdrazastega videza. Zato jih imenujemo glive sluzavke. Razmnožujejo se lahko vegetativno z delitvijo enoceličnih amebastih oblik ali pa spolno z izogamijo.

Algaste glive so zelo raznolika skupina. Nekateri predstavniki te skupine so enocelični, drugi pa imajo micelij zgrajen iz neseptiranih hif. Med algaste glive spadajo:

prave algaste glive, ki živijo v vodnem okolju (*Oomycetes*),

jarmaste glive, ki so rastlinski, živalski in človekovi zajedalci (plesni) (*Zygomycetes*) in druge.

Lahko se razmnožujejo vegetativno s sporami in spolno z gametami.

Med zaprtotrosnice spadajo glive, ki razvijejo micelij in nekaj vrst enoceličnih organizmov na primer kvasovke. Micelij zaprtotrosnic je zgrajen iz septiranih hif. Zaprtotrosnice se razmnožujejo vegetativno (nespolno) s pomočjo specializiranih skupin hif. Spolno se razmnožujejo s pomočjo gametangiogamije pri tem nastajajo askospore. Med zaprtotrosnice spadajo kvasovke (rod *Saccharomyces*), čopičaste plesni (rod *Penicillium*). Mnoge vrste zaprtotrosnic živijo v simbiozi s koreninami višjih rastlin (gomoljike ali tartufi). Med zaprtotrosnice spadajo tudi vrste z užitnimi plodišči (mavrahi, smrčki,...)

Prostotrosnice tvorijo micelij s septiranimi hifami. Vegetativno se razmnožujejo s konidiosporami, spolno pa z bazidiosporami. Med prostotrosnice spadajo gobe, ki živijo saprofitsko in rastlinske rje in sneti, ki so zajedalci.

### Vprašanja:

1. Razloži, zakaj se razmnoževalni cikel virusov imenuje lizogeni.
2. Opiši razmnoževanje cepljivk.
3. Razloži, kaj je gametangija.
4. Razvrsti glive v skupine glede na načine razmnoževanja.

# FIZIOLOGIJA MIKROORGANIZMOV

## 7.1 METABOLIZEM

**Ključne besede:** biokemijske reakcije, katabolne reakcije, anabolne reakcije, energija, ATP, vrsta energije, hranilne snovi, tipi metabolizma, izkoristek razgrajenih snovi

Metabolizem so vse biokemijske reakcije, ki potekajo v živem organizmu. Tudi pri organizmih, ki so po zgradbi najbolj enostavni, je metabolizem sestavljen iz velikega števila kompleksnih biokemijskih reakcij. Pri nekaterih reakcijah se sprošča energija (pri katabolnih reakcijah), pri drugih pa se energija porablja (pri anabolnih reakcijah). Zato lahko rečemo, da je metabolizem izravnavanje količine energije.

Glede na porabo energije lahko reakcije metabolizma delimo v dve skupini:

1. Reakcije, pri katerih se kemijska energija sprošča. To so **katabolne** ali razgradne reakcije, pri katerih iz večjih molekul nastajajo manjše. Pri tem se cepijo kemijske vezi, zato se sprošča kemijska energija;
2. Reakcije, ki za svoj potek potrebujejo energijo. Pri teh reakcijah iz enostavnih molekul nastajajo kompleksne organske molekule. Pri tem se tvorijo kemijske vezi, za to pa je potrebna energija. Molekule organskih snovi, ki nastanejo, potrebujejo celice za rast in razmnoževanje. To so **anabolne** reakcije. Energija, ki je potrebna za potek teh reakcij, se sprošča pri katabolnih reakcijah.

Kemijska sestava celice se stalno spreminja, ker se nekatere molekule razcepljajo, druge pa nastajajo. Energija, ki se sprošča pri katabolnih reakcijah, se skladišči v ATP. En del energije se izgubi v okolje kot toplotna energija. Celici je potrebna energija za vse življenjske funkcije, zato potrebuje stalen zunanji vir energije.

Tak tip metabolizma poteka v organizmih, ki za življenje potrebujejo kemijsko energijo, ki se sprošča pri razcepljanju kemijskih vezi v molekulah. Organizmi na Zemlji lahko uporabljajo tudi sončno oziroma svetlobno energijo za življenje. Tudi snovi, ki jih uporabljajo kot vir ogljika oziroma kot hranilne snovi, so lahko organske ali neorganske. Poleg tega nekateri organizmi (aerobni) za življenje potrebujejo kisik, drugi (anaerobni) pa kisika ne potrebujejo.

Preglednica: Tipi metabolizma

Vrsta energije in hranilne snovi, ki jih organizmi lahko uporabljajo.

VRSTA ENERGIJE	HRANILNE SNOVI	POTREBA PO KISIKU
kemična energija 1	organske snovi 2	ne 3
svetlobna energija 4	neorganske snovi 5	da 6

Skupine organizmov lahko razporedimo glede na:

1. vrsto uporabljane energije na:
  - a) kemotrofne organizme 1
  - b) fototrofne organizme 4
2. vrsto uporabljenih hranilnih snovi na:
  - a) hetrotrofne organizme 2
  - b) avtotrofne organizme 5
3. potrebo po kisiku na:
  - a) aerobne organizme 6
  - b) anaerobne organizme 3

Vsi organizmi na Zemlji potrebujejo hranilne snovi in energijo in kisik ali katero drugo snov za sprejemanje elektronov. Zato so se razvili različni tipi metabolizma:

1. aerobni kemoheterotrofni organizmi (kisik + organske snovi + kemična energija),
2. aerobni ftoheterotrofni organizmi (kisik + organske snovi + svetlobna energija),
3. aerobni kemoavtotrofni organizmi (kisik + neorganske snovi + kemična energija),
4. aerobni fotoavtotrofni organizmi (kisik + neorganske snovi + svetlobna energija).

Različni tipi metabolizmov so se razvijali počasi in se prilagajali zunanjim razmeram za življenje.

Preglednica: Organizmi po tipu metabolizma

TIP METABOLIZMA	VIR ENERGIJE	VIR OGLJIKA	ORGANIZMI
fotoavtotrofni	svetloba	ogljikov dioksid	fotosintet. bakterije, cianobakterije, alge, zelene rastline
fotoheterotrofni	svetloba	organske snovi	škrlatne in zelene bakterije (ne žveplene)
kemoavtotrofni	elektroni iz neorganskih snovi	ogljikov dioksid	vodikove, žveplene, železove in nitrifikacijske bakterije
kemoheterotrofni	elektroni iz organskih snovi	organske snovi	večina bakterij, vse plesni, protozoi, živali, človek

Med mikroorganizmi so organizmi z različnimi načini prehranjevanja. Vsem je skupno, da morajo dobivati hranilne snovi, jih v celici predelati, uporabne vgraditi v svojo celično maso, neuporabne pa izločiti.

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 svoje metabolne produkte. Molekule hranilnih snovi so prevelike, da bi z absorpcijo lahko vstopale v celico. Zato celica v okolje izloča eksoencime, ki pomagajo pri razgradnji teh hranilnih snovi. Izkoristek tako razgrajenih snovi je majhen, zato mora biti presnova mikroorganizmov zelo hitra.

Na primer: ena mlečnokislinska bakterija predela v eni uri za svojo trikratno težo sladkorja v mlečno kislino. Če bi jo primerjali s človekom, bi moral 75 kg težak človek v eni uri prebaviti 225 kg sladkorja. V 24 urah bi torej prebavil 5,3 tone sladkorja.

### Vprašanja:

1. Razloži, kaj je metabolizem.
2. Razloži razliko med anaboli in kataboli reakcijami.
3. Razloži, po čem se razlikujejo med seboj posamezni tipi metabolizma.
4. Razloži, zakaj povzročajo mikroorganizmi kemične spremembe v okolju, v katerem živijo.

## 7.2 ENCIMI

**Ključne besede:** sproščanje energije, poraba energije, katalizatorji, aktivacijska energija, specifičnost encima, površinska oblika encima

V živi celici stalno potekajo kemijske reakcije, pri katerih se kemijske vezi med atomi razcepljajo ali spajajo. Da do reakcije pride, se morajo atomi ali molekule zaleteti. Ali bo tak trk sprožil reakcijo, je odvisno od hitrosti in oblike delcev ter količine energije, ki je potrebna za sproženje reakcije. To energijo imenujemo aktivacijska energija.

Fiziološka temperatura in pritisk v organizmu sta prenizka, da bi lahko reakcije potekale tako hitro druga za drugo, kot je potrebno, da lahko organizem živi. Vse kemijske reakcije potekajo hitreje pri višji temperaturi in višjem pritisku. V celici živega organizma ni mogoče dvigovati temperature in pritiska čez določeno mejo, ker bi se lahko celica poškodovala ali uničila. Za potrebno hitrost kemijskih reakcij v živi celici skrbijo encimi. Ti lahko pospešujejo kemijske reakcije na več načinov.

Encimi lahko zbližajo molekuli dveh reaktantov in ju pravilno orientirajo, da lahko reagirata. Lahko tudi znižajo aktivacijsko energijo, ne da bi se temperatura in pritisk v celici spremenila. Snovem, ki lahko pospešijo kemijske reakcije, ne da bi se pri tem spreminjale ali obrabile, pravimo katalizatorji. Kot katalizatorji so encimi specifični. To pomeni, da vsak encim deluje le na en substrat (snov) ali pospešuje samo eno reakcijo.

Specifičnost encimom omogoča njihova zgradba. Encimi so velike globularne beljakovine. Vsak ima značilno tridimenzionalno obliko in specifično površinsko obliko. Ravno ta encimom omogoča, da med vsemi molekulami v celici najdejo ravno pravi substrat (snov, na katero delujejo).

### Vprašanja:

1. Razloži, kako prihaja do kemijskih reakcij v živi celici.
2. Ugotovi pomembnost stalnega poteka kemičnih reakcij za življenje organizma.
3. Razloži, kaj je aktivacijska energija.
4. Razloži, kaj pomeni izraz specifičnost encima.
5. Razloži, na kakšen način lahko encim pospeši kemijsko reakcijo.

## 7.2.1 Imenovanje in razdelitev encimov

**Ključne besede:** končnica imena, tip reakcije, šest skupin

Imena encimov imajo običajno končnico -AZA, na primer: hidrolaza, reduktaza, sintetaza... Razdelimo jih lahko v šest skupin glede na tip reakcije, ki jo katalizirajo. V vsaki od večjih skupin so poimenovani po specifičnem tipu reakcij, ki jih katalizirajo. Na primer: encimi oksidoreduktaze sodelujejo pri oksidacijsko redukcijskih reakcijah. Med oksidacijo substrat lahko odda vodik ali pa sprejme kisik. Encimi oksidoreduktaze, ki katalizirajo oddajo vodika, so dehidrogenaze. Tisti, ki katalizirajo sprejem kisika, pa so oksidaze. Oboji pa imajo lahko še bolj specifična imena glede na substrat, na katerega delujejo, npr.: laktatdehidrogenaza, citokromoksidaza...

Preglednica: Razdelitev encimov na skupine po tipu reakcij, ki jih katalizirajo

SKUPINA	TIP KEMIJSKE REAKCIJE	ENCIM
oksidoreduktaze	oksidacija, redukcija	citokromoksidaza, laktatdehidrogenaza
transferaze	transfer funkcionalnih skupin (amino, acetilna, fosfatna skupina)	acetatkinaza, alanindeaminaza
hidrolaze	hidroliza	lipaza
liaze	odstranitev skupin atomov brez hidrolize	oksalatdekarboksilaza, izocitratliaza
izomeraze	prerazporeditev atomov v molekuli	glukoza – fosfat izomeraza
ligaze	spajanje dveh molekul ob uporabi energije iz ATP	acetil-CoA sintetaza DNA-ligaza

**Vprašanja:**

1. Razloži, kako sestavijo ime vsakega encima.
2. Ugotovi, po čem se razlikujejo encimi med seboj.
3. Razloži, katere skupne lastnosti imajo encimi, ki so v isti skupini.



### **7.2.2 Zgradba encimov**

**Ključne besede:** apoencim, kofaktor, holoencim, substrat, koencim

Večina encimov je zgrajenih iz dveh delov. En del je beljakovinski (apoencim), drugi del pa nebeljakovinski (kofaktor). Celoten encim se imenuje holoencim. Če odstranimo kofaktor, encim preneha delovati. Kofaktor je lahko kovinski ion ali kompleksna organska spojina, ki jo imenujemo koencim. Ta lahko deluje tako, da sprejema atome, ki jih oddaja substrat, ali oddaja atome, ki jih substrat sprejema. Nekateri koencimi delujejo tudi kot nosilci elektronov. Sprejemajo jih iz substrata in oddajajo molekulam v naslednjih reakcijah. Mnogi koencimi so pridobljeni iz vitaminov. Takšna sta tudi dva od najpomembnejših koencimov v celičnem metabolizmu. To sta NAD<sup>+</sup> ali nikotinamid adenin dinukleotid in NADP<sup>+</sup> ali nikotinamid adenin dinukleotid fosfat. Oba vsebujeta B-vitamin ali nikotinsko kislino, ki deluje kot nosilec elektronov.

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

Nekateri encimi so zgrajeni bolj enostavno, samo iz beljakovine.

#### **Vprašanja:**

1. Opiši zgradbo encima.
2. Kako deluje koencim?
3. Ugotovi, ali obstaja razlika med koencimom in kofaktorjem.

### **7.2.3 Mehanizem delovanja encimov**

**Ključne besede:** aktivacijska energija, aktivni center, substratni kompleks, specifičnost encima

Način zblíževanja aktivacijske energije še ni popolnoma znan. Poznano je zaporedje dogodkov pri samem delovanju encima:

1. površina substrata pride v stik z določenim delom encimove površine, ki jo imenujemo aktivni center,
2. nastane začasna zveza med encimom in substratom, ki jo imenujemo encimsko substratni kompleks,

3. molekula substrata se spremeni tako, da se razporedijo obstoječi atomi ali se razcepi molekula substrata ali pa nastane kombinacija z molekulo drugega substrata,
4. spremenjena molekula substrata, ki je končni produkt reakcije, se loči od encima, ker ne odgovarja več aktivnemu centru in načinu,
5. encim je nespremenjen in prost ter reagira z drugo molekulo substrata.

Posledica teh dogajanj je encimatska pospešitev kemijskih reakcij.

Encimi so specifični. Delujejo na določene substrate, ki so običajno veliko manjši od encima. To specifičnost imajo zaradi tridimenzionalne oblike svojih aktivnih centrov. Določen substrat se prilaga vanjo približno tako kot ključ v ključavnico.

Nekatere snovi so lahko substrati za različne encime, ki katalizirajo različne reakcije. Kaj bo nastalo iz substrata, je odvisno od encima, ki nanj deluje. Glukoza-6-fosfat je molekula, ki je pomembna za celični metabolizem. Nanjo lahko delujejo vsaj štirje različni encimi in pri vsaki reakciji nastane drugačen produkt.

Vprašanja:

1. Opiši delovanje encima.
2. Ugotovi, zakaj je od encima odvisno, kaj bo nastalo iz substrata.

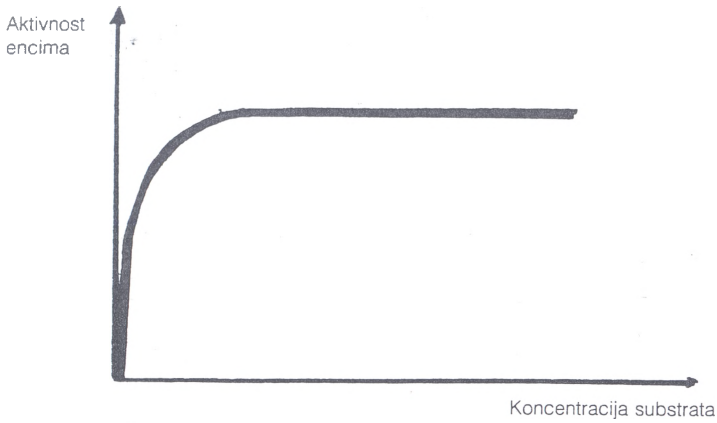
#### **7.2.4 Dejavniki, ki vplivajo na aktivnost encimov**

**Ključne besede:** količina substrata, aktivnost encima, temperatura, kislost okolja, inhibitorji

##### **7.2.4.1 Količina substrata**

Substrat imenujemo snov, na katero deluje encim. Z naraščajočo količino (koncentracijo) raste aktivnost encimov, ki doseže maksimum pri tolikšni koncentraciji substrata, pri kateri so zasedeni vsi aktivni centri encima. Če se koncentracija substrata večja, aktivnost encima ne narašča. V normalnih razmerah do take koncentracije substrata ne pride. Ponavadi je nekaj molekul encima v neaktivnem stanju zaradi pomanjkanja substrata. Torej koncentracija substrata vpliva na aktivnost encimov.

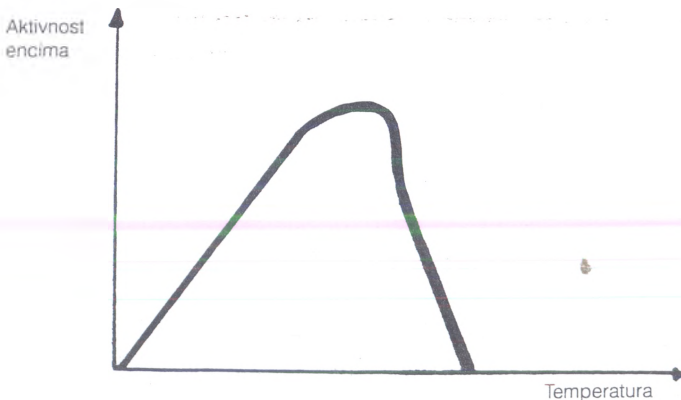
Slika 50  
Vpliv koncentracije substrata na aktivnost encima



### 7.2.4.2 Temperatura

Vsak encim ima temperaturni optimum, maksimum in minimum. Aktivnost encimov narašča z naraščanjem temperature, vendar le do temperaturnega optimuma encima. Ker je del encima beljakovina, ta zaradi delovanja toplote denaturira. Zaradi denaturacije se spremeni razporeditev aminokislin v aktivnih centrih. Zato encim izgubi svojo katalitično sposobnost in aktivnost. V nekaterih primerih je denaturacija popolnoma ali delno reverzibilna. Če se denaturacija nadaljuje, encimske beljakovine postanejo netopne in koagulirajo. Takrat je proces ireverzibilen in encim za stalno izgubi svoje lastnosti. Encimske beljakovine lahko koagulirajo tudi zaradi povečane koncentracije kislin, baz, ionov, težkih kovin, alkohola ali UV-sevanja.

Slika 51  
Vpliv temperature na aktivnost encima

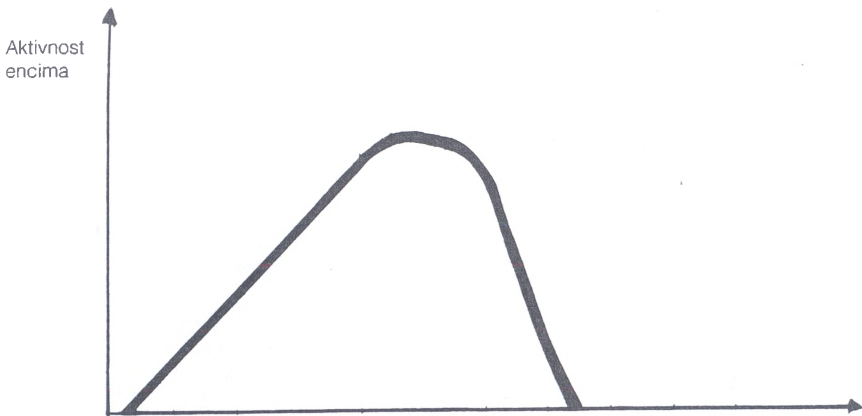


### 7.2.4.3 Kislost okolja ali pH stopnja

Večina encimov ima značilen optimalen pH, pri katerem je njihova aktivnost največja. Vrednosti pH, ki so večje ali manjše od optimalne, zmanjšajo aktivnost encimov. Če se spremeni pH vrednost medija, v katerem reakcija poteka, so poškodovane mnoge aminokisliline in spremenjena je prostorska (tridimenzionalna) zgradba encimske beljakovine.

Slika 52

Vpliv kislosti okolja na aktivnost encima



### 7.2.4.4 Inhibitorji

To so snovi, ki inaktivirajo encime. Delujejo na različne načine, zato poznamo več vrst inhibitorjev:

1. kompetitivne ali konkurenčne inhibitorje – inhibitor se veže na aktivno mesto encima namesto substrata in prepreči delovanje encima,
2. nekonkurenčne ali nekompetitivne inhibitorje – inhibitor ne tekmuje s substratom za vezavo na aktivno mesto, ampak se veže (ali deluje) na druga mesta na encimu. Aktivnost encima se zmanjša zaradi spremembe njegove oblike. Sprememba oblike je lahko reverzibilna ali ireverzibilna. Taka je alosterična inhibicija. Inhibitorji se lahko premočno vežejo na aktivne centre, kar prepreči delovanje encimov. Inhibitorje, ki tako delujejo imenujemo encimski strupi (na primer cianid, fluorid,...), ker dokončno inaktivirajo encime. Lahko pa delujejo samo na encime, ki imajo za aktivni center kovinski ion.

Posledica inaktivacije vseh encimov je metabolična inaktivacija speče celice.

Vprašanja:

1. Razloži, kako lahko količina substrata vpliva na aktivnost encima.
2. Ugotovi, kako lahko toplotno občutljivost encimov uporabimo pri podaljšanju obstojnosti živil.
3. Razloži, zakaj s povišano temperaturo zavremo delovanje encima ali ga uničimo.
4. Razloži, zakaj sprememba pH zmanjša aktivnost encima.
5. Poskusi ugotoviti, na kakšen način se lahko ohrani aktivnost encima, kljub temu da se pH spreminja zaradi poteka kemične reakcije.

### 7.3 PROCESI METABOLIZMA

**Ključne besede:** katabolizem, glikoliza, dihanje, fermentacija, fotosinteza, biosinteza

Metabolizem sestavljajo vse kemijske reakcije, ki potekajo v vsakem živem organizmu. Mikroorganizmi lahko s svojimi metabolnimi procesi pridobivajo energijo iz svetlobe, neorganskih ali organskih snovi. Navzoče pa so tudi reakcije, pri katerih se energija porablja. To so reakcije biosinteze.

Biokemijske reakcije oziroma procesi metabolizma:

1. biokemijske reakcije, pri katerih se sprošča energija:
  - a) katabolizem ogljikovih hidratov:
    - glikoliza,
    - dihanje: – aerobno dihanje,
    - anaerobno dihanje,
    - fermentacija,
  - b) katabolizem lipidov,
  - c) katabolizem proteinov,
  - d) fotosinteza;
2. biokemijske reakcije, pri katerih se porablja energija:
  - a) biosinteza polisaharidov,
  - b) biosinteza lipidov,
  - c) biosinteza aminokislin in proteinov,
  - d) biosinteza purinov in pirimidinov.

## Vprašanja:

1. Razloži, kako lahko pridobivajo mikroorganizmi energijo za življenje.
2. Razloži glavne razlike med reakcijami katabolizma in biosinteze.

### 7.3.1 Sproščanje energije

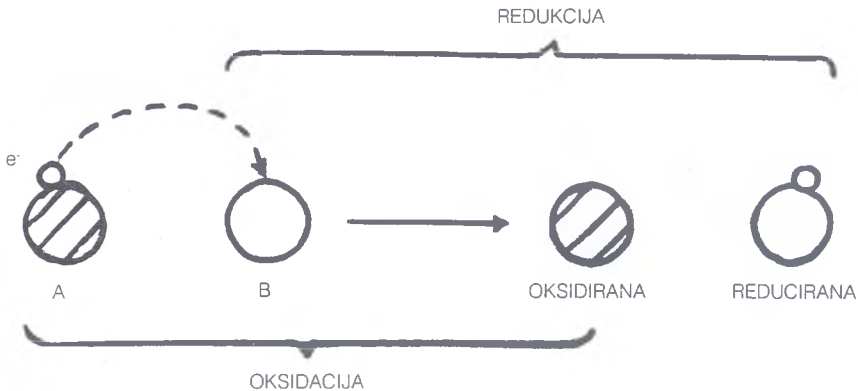
**Ključne besede:** ATP, energija, kemijske vezi, oksidacija, redukcija, fosforilacija

Molekule hranilnih snovi imajo kot vse druge molekule energijo vezano z elektroni, ki tvorijo kemijske vezi med njihovimi atomi. Ko je ta energija porazdeljena po molekuli, jo celica težko uporabi. Različne reakcije koncentrirajo to energijo v vezeh ATP. V molekuli te vezi niso izredno energetsko bogate, ampak so nestabilne. Zaradi nestabilnosti se energija, shranjena v njih, lahko sprošča enostavno in hitro.

Oksidacija je oddajanje elektronov iz molekule in je običajno reakcija, pri kateri se sprosti energija. Redukcija je sprejemanje elektronov. Oksidacije in redukcije potekajo ponavadi v pari.

Slika 53

Shematski prikaz: Oksidacija in redukcija



Elektron je z molekule A prešel na molekulo B, zato je v procesu molekula A oksidirana in molekula B reducirana. Take reakcije imenujemo tudi redoks reakcije.

V celici se molekula hranilne snovi, ki služi kot vir energije, postopno oksidira. Energija, ki se sprošča pri tem, se skladišči v vezeh ATP. Iz njih se energija porablja za kemijske



reakcije, ki energijo potrebujejo. ATP nastane tako, da se na ADP veže še tretja fosforna skupina. Tako vezavo fosforne skupine imenujemo fosforilacija:



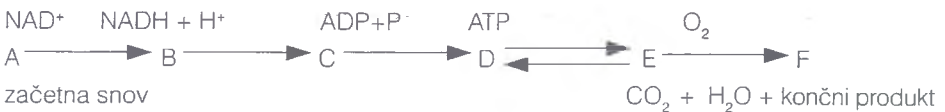
Poznamo tri mehanizme fosforilacije:

1. fosforilacija na stopnji substrata (fosforna skupina je v ATP prenesena neposredno iz fosforilirane spojine v substratu),
2. oksidativna fosforilacija (elektron je iz organske spojine v substratu preko cele vrste nosilcev elektronov premeščen na molekule kisika ali anorganske spojine. Energija se je porabila za fosforilacijo),
3. fotofosforilacija (pri fotosintezi se organska snov ob delovanju sončne energije tvori iz ogljikovega dioksida. Fotofosforilacija se začne tako, da se svetlobna energija spremeni v kemično energijo).

Biokemične poti sproščanja energije

V živih organizmih se energija iz organskih molekul sprošča in shranjuje postopno s celo vrsto kontroliranih kemijskih reakcij. Če bi se velika količina energije sprostila naenkrat (na primer toplotna energija), je ne bi bilo mogoče sproti porabiti za aktivacijo kemijskih reakcij in bi poškodovala celico. Zato, da se lahko energija ekstrahira iz organskih snovi in se skladišči v kemijski obliki, prehajajo v živi celici elektroni, s pomočjo cele vrste oksidacijskih in redukcijskih reakcij, iz ene snovi v drugo.

Zaporedje kemijskih reakcij, ki jih katalizirajo encimi in potekajo v živi celici imenujemo biokemična pot. Hipotetično pot, po kateri se začetna snov A spremeni v končni produkt F, lahko zapišemo v petih korakih:



Prvi korak je sprememba molekule A v molekulo B. Povezani sta dve reakciji. Poleg spremembe molekule A v B se tudi koencim  $\text{NAD}^+$  reducira v  $\text{NADH}$ . Elektroni in protoni, ki so potrebni za to redukcijo, prihajajo iz molekule A.

Tudi v tretjem koraku sta povezani dve reakciji. Medtem ko se molekula C spremeni v molekulo D, se  $\text{ADP}$  spremeni v  $\text{ATP}$ . Energija, ki je potrebna za nastanek  $\text{ATP}$ , se sprosti iz molekule D. Reakcija, v kateri se molekula D spremeni v molekulo E, je reverzibilna.

V petem koraku je molekula kisika reaktant v redukciji, s katero se molekula E spremeni v molekulo F. Pri tej reakciji kot stranska produkta nastaneta  $\text{CO}_2$  in  $\text{H}_2\text{O}$ .

Skoraj vsaka od reakcij, ki sestavljajo biokemično pot, katalizira specifičen encim.

**Vprašanja:**

1. Razloži, zakaj se lahko energija iz vezi v ATP sprošča enostavno in hitro.
2. Razloži razliko med oksidacijo in redukcijo.
3. Razloži povezavo med ATP, ADP in AMP.
4. Razloži, kakšna je redoks reakcija.
5. Opiši fosforilacijo.

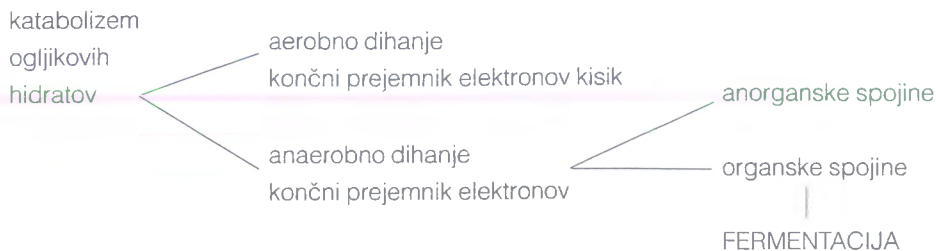
**7.3.1.1 Katabolizem ogljikovih hidratov**

**Ključne besede:** vir energije, oksidacija ogljikovih hidratov, glikoliza, aerobno dihanje, anaerobno dihanje, sprejemnik elektronov, fermentacija

Večina mikroorganizmov oksidira ogljikove hidrate kot primarni del energije, zato je katabolizem ogljikovih hidratov zelo pomemben za njihov celični metabolizem. Za pridobivanje energije iz heksoz oziroma ogljikovih hidratov uporabljajo dva osnovna procesa: aerobno in anaerobno dihanje.

Oba procesa se začneta z glikolizo, ki ji sledijo različne kemične reakcije. Med seboj se razlikujeta po kemičnih reakcijah in po končnem sprejemniku (akceptorju) elektronov. Pri aerobnem dihanju je končni sprejemnik elektronov kisik. Pri anaerobnem dihanju so končni prejemniki elektronov lahko anorganske spojine (npr.  $\text{NH}_4$  ali  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ali organske spojine (npr. mlečna kislina ali etanol). Aerobno dihanje, pri katerem so končni sprejemniki elektronov organske spojine, se imenuje fermentacija.

SHEMATSKI PREGLED: Katabolizem ogljikovih hidratov



GLIKOLIZA je oksidacija glukoze do dveh molekul piruvične kisline. Poteka v aerobnih in anaerobnih razmerah:



Krebsov cikel je oksidacija piruvične kisline do ogljikovega dioksida preko različnih derivatov. Pri tem nastajajo ATP, NADH in FADH.



V elektronski transportni verigi se NADH in FADH oksidirata in oddata elektrone, ki jih prenašata. To poteka preko cele vrste redoks reakcij, pri tem pa sodelujejo še dodatni prenašalci elektronov. Pri dihanju je končni akceptor (prejemnik) elektronov kisik. Energija iz teh reakcij se porabi za nastanek 38 molekul ATP. Pri dihanju nastane največ teh molekul ravno na tej tretji stopnji.

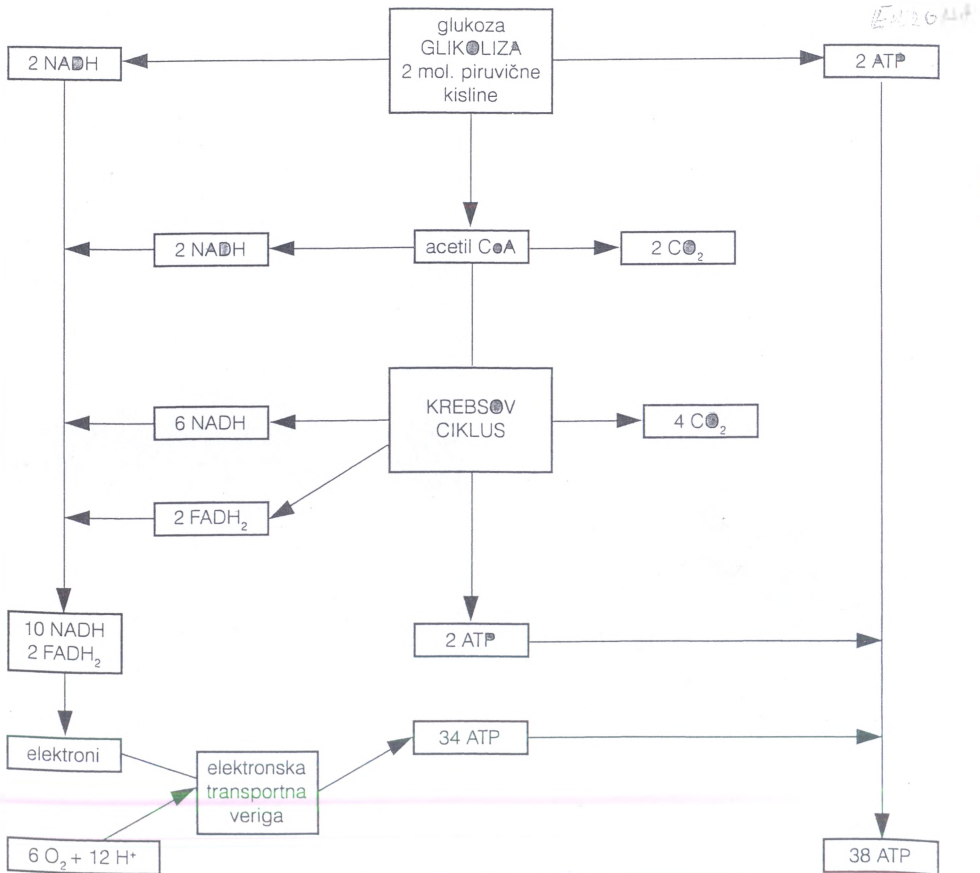
Pri glikolizi in Krebsovem ciklusu nastane malo molekul ATP, ki oddajo elektrone za pogon elektronske transportne verige, kjer nastaja velika količina molekul ATP. Končni pregled:



Začetni proces fermentacije je tudi glikoliza. Ob koncu glikolize, ko nastane piruvična kislina, se ta lahko spremeni v različne produkte, kot sta alkohol (etanol) in mlečna kislina. Kakšni produkti bodo nastali, je odvisno od tipa celice. Pri fermentaciji je končni prejemnik elektronov organska molekula. V procesu fermentacije ni Krebsovega ciklusa in elektronske verige, zato je število nastalih molekul ATP manjše kot pri dihanju.

AEROBNO DIHANJE je proces, pri katerem se glukoza razgradi do ogljikovega dioksida in vode. Pri tem nastajajo molekule ATP. Ta proces ima tri osnovne stopnje: glikolizo, Krebsov ciklus in transportno verigo. Pomembno pri njem je, da elektrone od vmesnih produktov pri glikolizi in Krebsovem ciklu vežeta  $\text{NAD}^+$  in  $\text{FAD}$ , ki jih kot  $\text{NADH}$  in  $\text{FADH}_2$  prenašata do elektronske transportne verige.  $\text{NADH}$  nastane tudi, ko se piruvična kislina preobrazi v acetil CoA. Večina molekul ATP nastane v elektronski transportni verigi z oksidativno fosforilacijo.

SHEMATSKI PRIKAZ: Aerobno dihanje

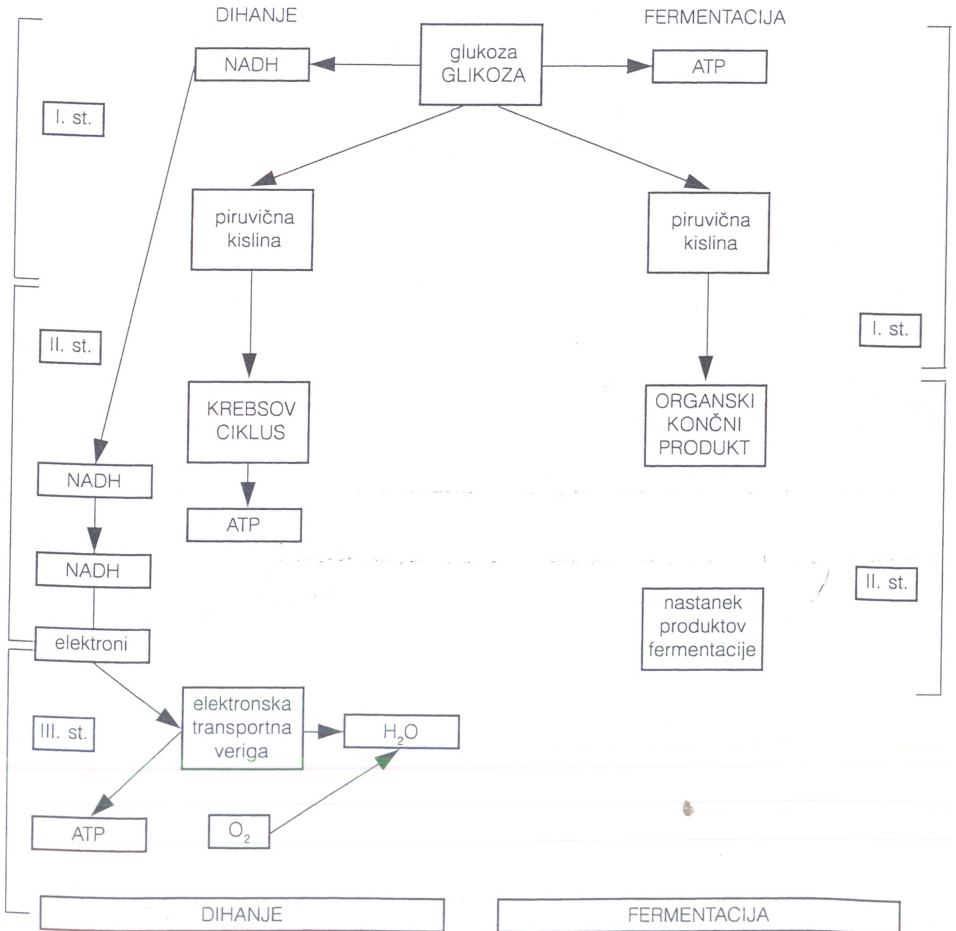


pri kvasovkah nastane 36 ATP

ANAEROBNO DIHANJE je proces, pri katerem končni prejemnik elektronov ni kisik. To so lahko anorganske snovi. Nekatere bakterije (*Pseudomonas* in *Bacillus*) lahko kot končnega sprejemnika elektronov uporabijo nitratni ion  $\text{NO}_3^-$ , ki se reducira v  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  ali plin dušik. Druge bakterije (*Desulfovibrio*) pa uporabijo sulfatne ione  $\text{SO}_4^{2-}$  kot končne sprejemnike elektronov in tvorijo  $\text{H}_2\text{S}$ .

Tako anaerobno dihanje je pomembno za dušikove in sulfatne cikle, ki se odvijajo v naravi. Količina nastalih molekul ATP je odvisna od organizma, v katerem proces poteka. Ker v anaerobnih razmerah poteka le del Krebsovega ciklusa, je količina ATP vedno vsaj malo manjša kot pri aerobnem dihanju.

SHEMATSKI PRIKAZ: Dihanje in fermentacija pri bakterijah



Končni prejemnik elektronov pri anaerobnem dihanju so lahko organske snovi. Tako anaerobno dihanje imenujemo fermentacija. Pri njej nastaja majhna količina molekul ATP, ker se veliko energije iz vezi v molekuli glukoze veže v organske končne produkte, kot sta alkohol in mlečna kislina.

Fermentacija poteka v dveh stopnjah. Prva je glikoliza. V drugi stopnji reducirani koencimi iz glikolize ali NADH in NADPH oddajo svoje elektronske in vodikove ione pirogrozdni kislini ali derivatom, da nastane organska snov. Pri fermentaciji iz vsake molekule začetne snovi nastaneta le 1 ali 2 molekuli ATP.

Preglednica: Končni produkti različnih mikrobnih fermentacij

ORGANIZEM	KONČNI PRODUKTI FERMENTACIJE
Streptococcus, Lactobacillus, Bacillus	mlečna kislina
Sacharomyces (kvasovke)	etanol, CO <sub>2</sub>
Propionibacterium	propionska kislina, očetna kislina, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>
Clostridium	maslena kislina, butanol, aceton, izopropilni alkohol, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>
Escherichia, Salmonella	etanol, mlečna kislina, sukcinilna kislina, očetna kislina, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>
Enterobacterium	etanol, mlečna kislina, formična kislina, aceton, butandiol, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>



Preglednica: Nekatere industrijske fermentacije

PRODUKT FERMENTACIJE	KOMERCIALNA UPORABA	ZAČETNI MATERIAL	MIKROORGANIZMI
	pivo	ekstrakt slada	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
etanol	vino	sadni sok (grozdje)	<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>
	gorivo	kmetijski odpadki	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
ocetna kislina	kis	etanol	<i>Acetobacter</i>
	sir, jogurt	mleko	<i>Lactobacillus, Streptococcus</i>
mlečna kislina	ržen kruh	žito, sladkor	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
	kislo zelje in repa	zelje, repa	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	fermenti, klobase	meso	<i>Pediococcus</i>
propionska kislina	sir	mleko	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
acetone, butanol	uporaba v farmac. industriji	melasa	<i>Clostridium acetobutyrum</i>
glicerol	uporaba v farmac. industriji	melasa	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
citronova kislina	aromatski dodatek	melasa	<i>Aspergillus</i>
metan	gorivo	ocetna kislina	<i>Methanosarcina</i>
sorboza	vitamin C	sorbitol	<i>Acetobacter</i>

**Vprašanja:**

1. Razloži razliko med aerobnim in anaerobnim dihanjem.
2. Opiši glikolizo.
3. Razloži, zakaj pri aerobnem dihanju nastane več molekul ATP kot pri anaerobnem dihanju.
4. Razloži, kako so med seboj povezani pojmi aerobnega dihanja, anaerobnega dihanja in fermentacije.
5. Opiši načine uporabe fermentacij v industriji.

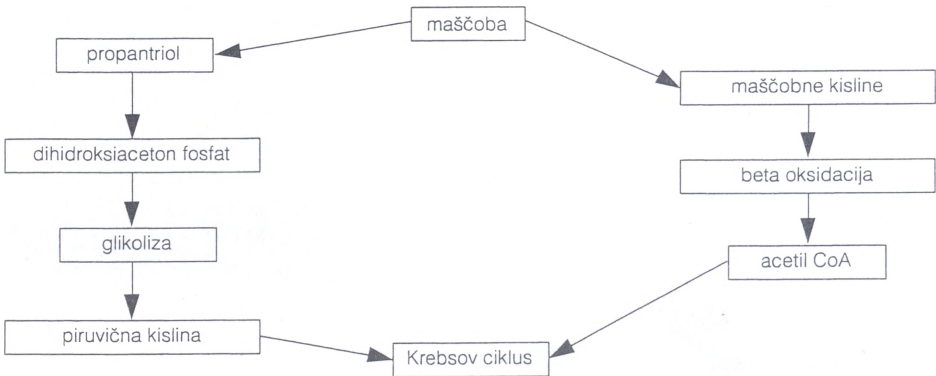
### 7.3.1.2 Katabolizem lipidov

**Ključne besede:** lipidi, maščobne kisline, propantriol, acetil CoA, razgradnja, Krebsov cikelus

Mikrobi lahko oksidirajo lipide in proteine. Oksidacije teh hranilnih snovi so podobne. Maščobe so snovi (estri), sestavljene iz maščobnih kislin in propantriola. Mikrobi proizvajajo ekstracelularne encime lipaze, ki razgradijo maščobe na maščobne kisline in propantriol. Vsaka od teh komponent se razgrajuje posebej. Produkti njene razgradnje vstopajo v Krebsov cikelus.

Proces oksidacije maščobnih kislin se imenuje beta oksidacija. V tem procesu se iz molekule maščobne kisline postopno odstranjujeta dva ogljikova fragmenta in iz njih nastane acetil CoA. Ta vstopa v Krebsov cikelus. Iz propantriola nastane dihidroksiaceton fosfat, iz njega pa z glikolizo piruvična kislina, ki vstopi v Krebsov cikelus.

SHEMATSKI PRIKAZ: Katabolizem lipidov



**Vprašanja:**

1. Opiši zgradbo maščob.
2. Razloži, kako je acetil CoA povezan z oksidacijo maščob.
3. Razloži povezavo med razgradnjo maščob in Krebsovim cikelusom.

### 7.3.1.3 Katabolizem proteinov

**Ključne besede:** ekstracelularni encimi, proteaze, peptidaze, deaminacija, dekarboksilacija, Krebsov cikelus

Proteini so prevelike molekule, da bi lahko brez pomoči prišli v celico skozi plazmno membrano. Mikrobi proizvajajo ekstracelularne proteaze in peptidaze, ki proteine razgradijo do aminokislin. Te lahko prehajajo skozi membrano. Večji del aminokislin se porabi za izgradnjo celice, le manjši del se katabolizira. Preden se aminokislina katabolizirajo, jih je potrebno spremeniti v snovi, ki lahko vstopajo v Krebsov cikelus. Taka sprememba je deaminacija, pri kateri se iz aminokislina odstrani amonijev ion  $\text{NH}_4^+$ , ki ga celica izloči. Ostane organska kislina, ki lahko vstopi v Krebsov cikelus. Druga vrsta spremembe je dekarboksilacija, pri kateri se iz aminokislina odstrani karboksilna skupina  $-\text{COOH}$ . Tretja sprememba je dehidrogenacija. Vse te spremembe so kompleksne. Pomembno je, da z njimi nastanejo snovi, ki vstopajo v Krebsov cikelus.

#### Vprašanji:

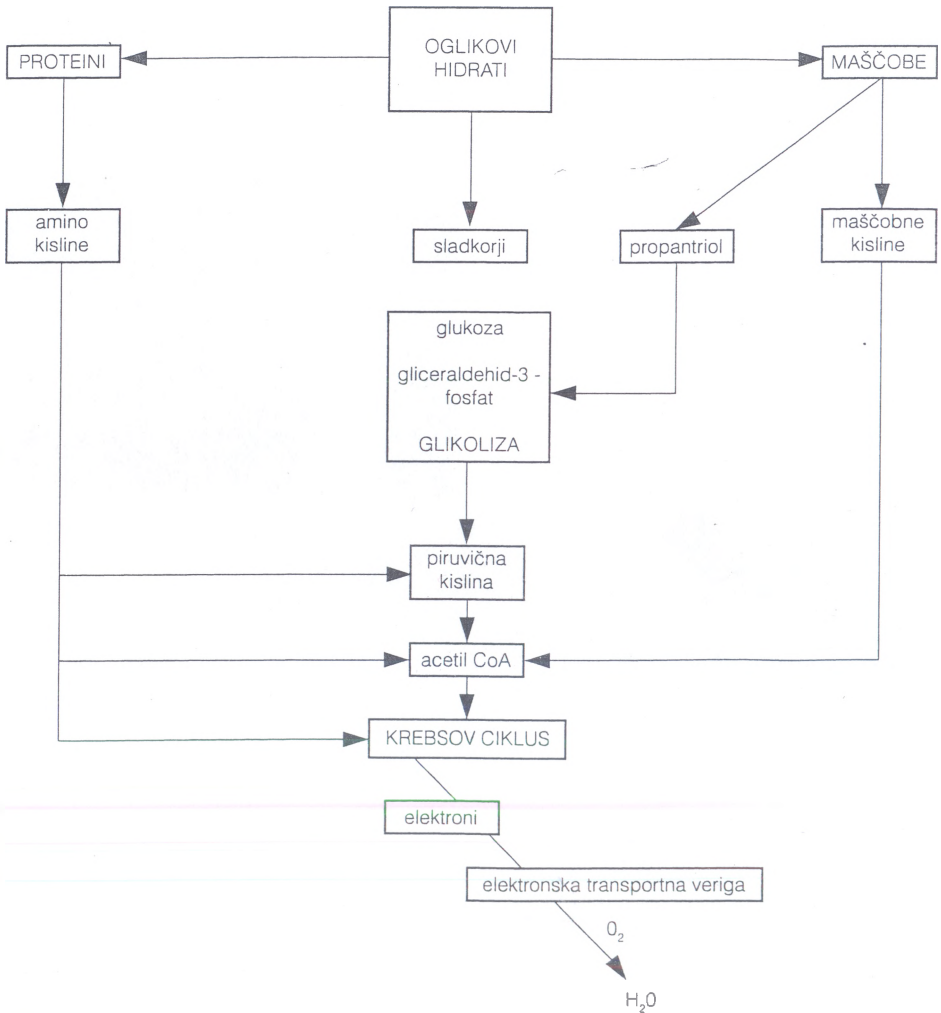
1. Razloži, zakaj mikroorganizmi proizvajajo ekstracelularne encime.
2. Opiši potek katabolizma proteinov.

**7.3.1.4 Povezanost katabolizma različnih hranljivih snovi**

Ključne besede: glikoliza, Krebsov ciklus, elektronska transportna veriga, ATP

Ogljikovi hidrati, maščobe in proteini so lahko viri elektronov in protonov za dihanje. Te snovi vstopajo v glikolizo in Krebsov ciklus na različnih mestih. Glikoliza in Krebsov ciklus sta katabolna procesa, s katerima pritekajo elektroni iz različnih vrst organskih hranilnih snovi v elektronsko transportno verigo, kjer nastaja večina ATP.

SHEMATSKI PRIKAZ: Povezanost različnih organskih hranilnih snovi



### 7.3.1.5 Fotosinteza

**Ključne besede:** fotosinteza, sončna energija, kemijska energija, ATP, NADP, CO<sub>2</sub>, sladkor

Fotosinteza je proces, pri katerem iz enostavnih neorganskih spojin nastajajo kompleksne organske snovi. Poteka v rastlinah in nekaterih mikrobih. Temelj fotosinteze je sprememba sončne svetlobne energije v kemijsko. Ta se porabi za spreminjanje CO<sub>2</sub> iz zraka v bolj reducirane ogljikove spojine, predvsem sladkorje. Nastanek sladkorjev iz plina CO<sub>2</sub> imenujemo tudi fiksiranje dušika.

Življenje na Zemlji je odvisno od takega načina ponovne uporabe ogljika. V cianobakterijah, algah in zelenih rastlinah poteka fotosinteza. Med procesom se elektroni iz vodikovih atomov v molekuli vode vežejo na molekule sladkorja.

Fotosinteza poteka v dveh stopnjah. Prva stopnja je svetlobna reakcija, med katero je svetlobna energija uporabljena za spremembo ADP v ATP, NADP pa se reducira v NADPH. Ta koencim je tako kot NADH energetsko bogat prenašalec elektronov. V drugi stopnji, ki jo imenujejo temna reakcija (ni odvisna od svetlobe), se ti elektroni skupaj z energijo iz ATP porabijo za redukcijo CO<sub>2</sub> v sladkor.

#### Vprašani:

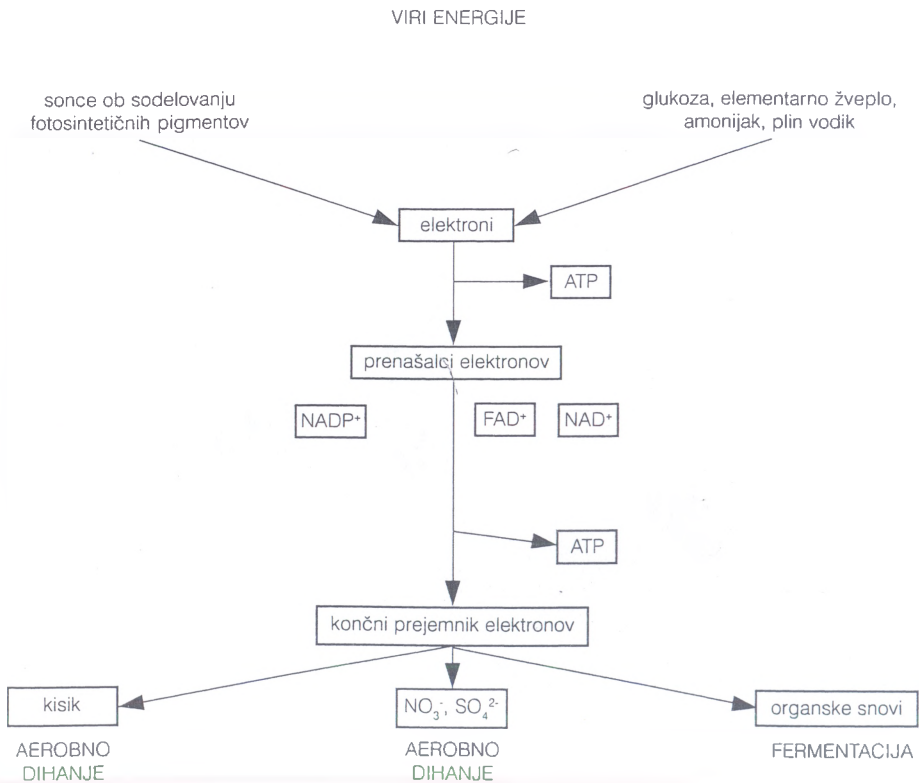
1. Opiši bistvo fotosinteze.
2. Razloži pomen fotosinteze za življenje na Zemlji.

7.3.1.6 Nastanek molekul ATP

Ključne besede: ATP, vir energije, redoks reakcija

Za nastanek ATP je potreben vir energije, prenos elektronov na prenašalca elektronov med redoks reakcijo in prenos teh elektronov na končnega sprejemnika elektronov. Ne glede na različne vire energije vsi organizmi uporabljajo podobne mehanizme za pridobivanje energije in nastanek ATP.

SHEMATSKI PRIKAZ: Mehanizmi za pridobivanje energije in nastanek ATP





### 7.3.2 Poraba energije

**Ključne besede:** pridobivanje energije, izguba energije, poraba energije, biosinteze

Organizmi pridobivajo energijo z oksidacijo organskih molekul v procesih aerobnega dihanja in fermentacije. Del te energije se izgubi kot toplota. Pri oksidaciji glukoze do  $\text{CO}_2$  in vode se 45 % vse energije, ki jo vsebuje glukoza, izgubi kot toplotna energija. Preostalo energijo, ki je vezana v vezeh ATP, pa lahko uporabi celica na različne načine. Mikrobi uporabljajo ATP, da dobijo energijo, ki omogoča transport snovi skozi plazmatske membrane. Ta proces se imenuje aktivni transport. Večina ATP se porabi za gibanje flagel. Proizvodnja novih celičnih komponent je proces, ki stalno poteka. Običajno je v prokariotskih celicah hitrejši kot v eukariotskih.

Avtotrofni organizmi proizvajajo organske snovi s fiksiranjem  $\text{CO}_2$ . Za to potrebujejo energijo iz ATP in elektronov, ki jo dobijo z oksidacijo NADPH. Heterotrofni organizmi morajo imeti vir organskih snovi za biosintezo potrebnih celičnih komponent. Pridobijo jih iz preprostih molekul. Organske snovi uporabljajo kot vir energije in ogljika. Procese nastajanja celičnih komponent imenujemo biosinteze.

#### Vprašanja:

1. Razloži, kako se izgublja del energije, ki jo celica pridobi.
2. Opiši, za kaj se porabi del pridobljene energije v celici.
3. Razloži, kaj je biosinteza.

**7.3.2.1 Biosinteza polisaharidov**

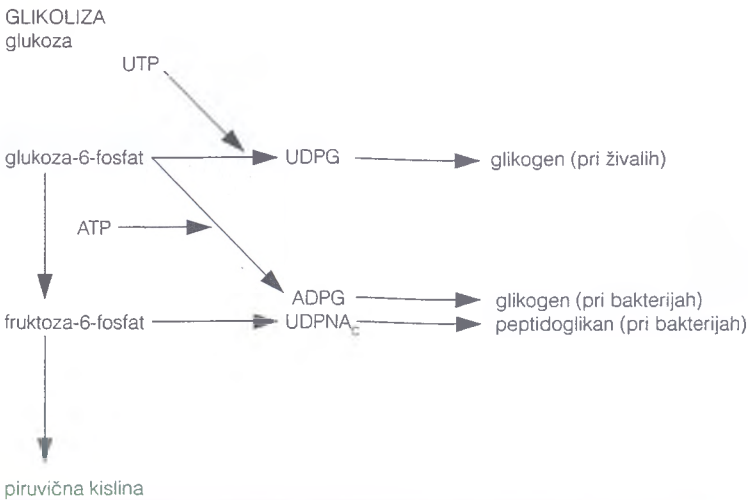
**Ključne besede:** sinteza, fosforilacija glukoze, biosinteza

Mikroorganizmi sintetizirajo sladkorje in polisaharide. Ogljikove atome, ki so potrebni za sintezo glukoze, dobijo iz vmesnih produktov v procesih glikolize in Krebsovega ciklusa, lahko pa tudi iz lipidov ali aminokislin. Po sintezi glukoze ali drugih enostavnih sladkorjev jih bakterije lahko združijo v bolj kompleksne polisaharide. Tak primer je glikogen. Da jih bakterija lahko združi v glikogen, morajo biti molekule glukoze fosforilirane in s tem spremenjene v glukozo-6-fosfat.

Proces fosforilacije potrebuje dotok energije v obliki ATP. Glavni vmesni produkt pri sintezi glikogena v bakteriji je adenozin difosfoglukoza (ADPG). Nastane z združitvijo ATP in glukoze-6-fosfata.

Živali uporabljajo uridintrifosfat (UTP) kot vir energije za sintezo glikogena in drugih ogljikovih hidratov iz uridindifosfoglukoze (UDPG). Podobna snov uridindifosfoglukoza-acetilglukozamin je začetna snov za biosintezo peptidoglikana, ki tvori celične stene.

**SHEMATSKI PRIKAZ: Sinteze polisaharidov**



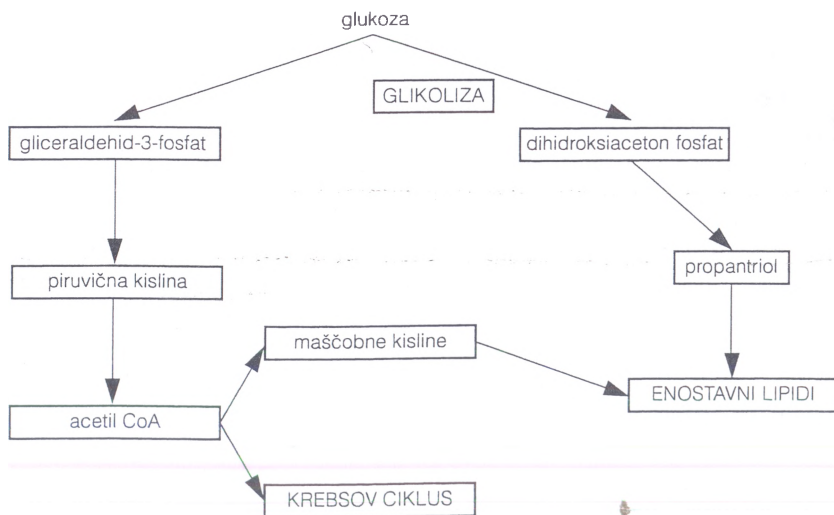
7.3.2.2 Biosinteza lipidov

Ključne besede: propantriol, maščobne kisline, acetil CoA, lipidi, fosfolipidi, ATP, CTP

Lipidi imajo različno kemijsko sestavo, zato so lahko sintetizirani iz različnih snovi. Celice sintetizirajo maščobe z združevanjem molekul propantriola in maščobnih kislin. Propantriol nastane iz vmesnega produkta pri glikolizi (dihidroksiacetonfosfat). Maščobne kisline nastanejo s postopnim dodajanjem ogljikovih fragmentov iz acetil CoA. Vežanje gradbenih enot v maščobe ali druge lipide poteka z dehidratacijami. To so reakcije, za katere dobi celica energijo iz ATP in s hidrolizo nukleotida, imenovanega citidin trifosfat (CTP).

Lipidi so pomembni kot strukturne komponente (sestavni deli) bioloških membran. V večini membran so vgrajeni kot fosfolipidi. V plazminih membranah eukariotskih celic je vgrajen holesterol. Ta je lipid z drugačno strukturo. Voski so lipidi in so pomembne komponente celičnih sten. Preostali lipidi, kot na primer karotinoidi, dajejo rdeče, oranžne ali rumene pigmente nekaterim mikroorganizmom. Lipidi sodelujejo tudi pri skladiščenju energije, ker produkti njihove oksidacije vstopajo v Krebsov cikelus.

SHEMATSKI PRIKAZ: Biosinteza enostavnih lipidov



### 7.3.2.3 Biosinteza aminokislin in proteinov

**Ključne besede:** neposredna sinteza, posredna sinteza, prekursorji, aminacija, transaminacija, gradbeni elementi, energija

Za biosintezo proteinov so potrebne aminokisliline. Nekateri mikroorganizmi jih lahko sintetizirajo iz glukoze in neorganskih snovi, ker imajo za to potrebne encime. Če ima organizem prave encime, lahko aminokisliline sintetizira neposredno ali posredno iz vmesnih produktov, ki nastanejo pri katabolizmu ogljikovih hidratov.

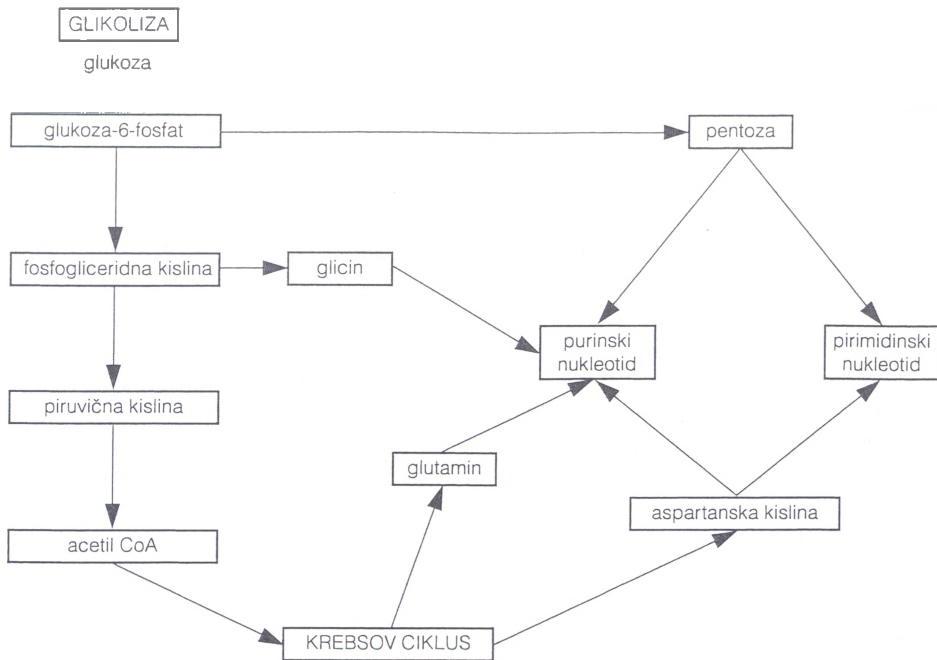
Drugi mikroorganizmi potrebujejo zunanji vir aminokislin. Snovi, iz katerih celice sintetizirajo aminokislino, so prekursorji (predhodne spojine). Pomemben vir prekursorjev za sintezo aminokislin je Krebsov cikel. Piruvična kislina iz tega ciklusa se z dodatkom aminoskupine spremeni v aminokislino. Ta proces imenujemo aminacija. Če je bila aminoskupina odvzeta z že obstoječe aminokisliline, se proces imenuje transaminacija. Večina aminokislin v celici je namenjena za sintezo proteinov. Te celice uporablja kot sestavni del encimov in toksinov ter kot gradbene elemente za izgradnjo celice. Združevanje aminokislin v proteine poteka z reakcijami, ki potrebujejo energijo v obliki ATP.

### 7.3.2.4 Biosinteza purinov in pirimidinov

**Ključne besede:** purini, pirimidini, DNK, RNK, pentoza, energija

Purini in pirimidini so sestavni deli DNK in RNK. Obe nukleinski kislini sta sestavljeni iz nukleotidov, ti pa so zgrajeni iz purinske ali pirimidinske baze, pentoze in fosfatne skupine. Pentoza nastane iz glukoze oziroma vmesnega produkta glikolize (glukoza-6-fosfat). Nekateri vmesni produkti Krebsovega ciklusa in glikolize (npr. aspartanska kislina, glutamin in glicin) sodelujejo pri sintezi purinov in pirimidinov. Ogljikovi in dušikovi atomi teh spojin tvorijo purinske in pirimidinske obročje. Energijo za sintezo dajejo molekule ATP.

SHEMATSKI PRIKAZ: Sinteza purinov in pirimidinov



Vprašanja:

1. Razloži, kako se biosintetizirajo maščobe.
2. Ugotovi, zakaj je za biosintezo potrebna energija, ki se sprošča pri katabolnih reakcijah.
3. Opiši, kako se v celicah porabijo maščobe oziroma lipidi, nastali z biosintezo.
4. Razloži, kako morajo biti spremenjene molekule glukoze, da se iz njih lahko sintetizirajo polisaharidi.
5. Naštej snovi, iz katerih mikroorganizmi dobijo ogljikove atome za sintezo glukoze.
6. Ugotovi, kakšna je razlika med neposredno in posredno sintezo aminokislin.
7. Ugotovi razliko med aminacijo in transaminacijo.
8. Ugotovi, kako pomembna je sinteza aminokislin in proteinov za življenje celice.
9. Razloži, kateri so sestavni deli RNK in DNK.
10. Razloži povezanost sinteze DNK in RNK ter razmnoževanje celic.

### 7.3.3 Povezanost vseh procesov metabolizma

**Ključne besede:** viri energije, kemične reakcije, biokemični procesi, amfibolični procesi, regulacija sinteze in razgradnje, koordinacija procesov, koencimi

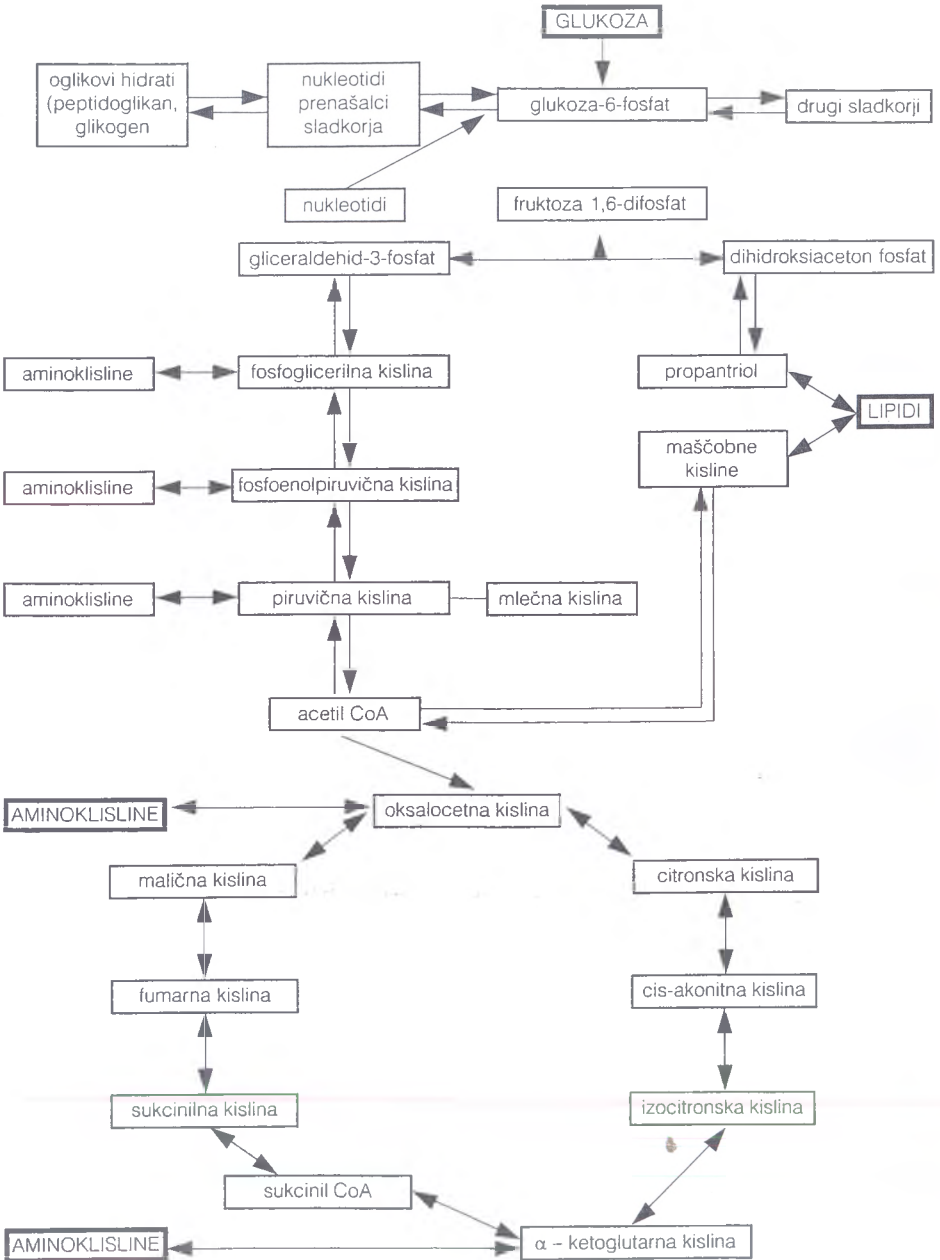
Med metabolnimi procesi v mikrobnih celicah so viri energije, svetloba, neorganske in organske snovi. Del metabolnih procesov so reakcije, ki to energijo sproščajo iz virov in jo skladiščijo, ter reakcije, ki to energijo porabijo. Pri tako pestri aktivnosti se morda zdi, da te reakcije potekajo neodvisno ena od druge. Vendar ni tako. Katabolne in anabolne reakcije so združene s skupnimi vmesnimi produkti. Obe vrsti reakcij sodelujeta v nekaterih procesih (npr. v Krebsovem ciklusu). Reakcije Krebsovega ciklusa sodelujejo pri oksidaciji glukoze in proizvajajo vmesne produkte, ki se lahko spremenijo v aminokisliline.

Biokemični procesi, ki so del katabolizma in anabolizma, se imenujejo amfibolični procesi. To pomeni, da imajo dvojen pomen. Ti procesi povezujejo reakcije, ki vodijo do razgradnje in sinteze ogljikovih hidratov, lipidov, proteinov in nukleotidov. Omogočajo tudi hkraten potek reakcij, pri katerih nastane razgradni produkt, ki je v drugi reakciji uporabljen kot sestavni del sinteze in obratno. Ker več vmesnih produktov sodeluje pri anabolnih in katabolnih reakcijah, obstajajo mehanizmi, ki regulirajo sintezo in razgradnjo ter omogočajo tem reakcijam, da potekajo istočasno.

Tak mehanizem je uporaba različnih koencimov za nasprotni proces, npr.  $\text{NAD}^+$  sodeluje pri katabolni reakciji,  $\text{NADP}^+$  pa pri anabolni reakciji. Encimi lahko koordinirajo anabolne in katabolne reakcije s povečanjem ali zmanjšanjem hitrosti biokemijskih reakcij.



SHEMATSKI PRIKAZ: Povezanost procesov metabolizma



# **RAST MIKROORGANIZMOV IN KONTROLA NJIHOVE RASTI**

**Ključne besede:** rast mikroorganizmov, gojenje mikroorganizmov

Ko govorimo o rasti mikroorganizmov, mislimo na večanje števila celic, ne na večanje ene same celice. Mikroorganizmi rastejo v naravi v svojem okolju, kateremu so prilagojeni. Gojimo jih lahko v laboratorijih za različne namene:

1. za proučevanje njihovih fizioloških in morfoloških lastnosti,
2. za pridobivanje metabolnih produktov (vzgoja kultur v biotehnologiji),
3. za uporabo v proizvodnji (živilski, kemijski, farmacevtski industriji, rudarstvu, odpadne vode...),
4. sistematizacijo (določanje vrste, rodu...).

## **8.1 POGOJI ZA RAST MIKROORGANIZMOV**

**Ključne besede:** pogoji za rast, fizikalni pogoji, kemijski pogoji, razmnoževanje mikroorganizmov

Mikroorganizmi potrebujejo za rast, enako kot vsi organizmi, določene pogoje.

Te pogoje lahko delimo v dve skupini:

1. fizikalni pogoji – temperatura, pH, osmotski pritisk,
2. kemijski pogoji – voda, hrana (viri C in N, minerali), prisotnost kisika in rastni faktorji.

Mikrobna populacija se lahko v kratkem času zelo namnoži. Če poznamo pogoje, ki jih mikroorganizmi potrebujejo za rast, lahko predvidimo, kako hitro se bodo mikroorganizmi določene vrste razmnoževali v določenih razmerah v okolju. Lahko tudi določimo način

kontrola rasti patogenih mikroorganizmov in mikroorganizmov, ki kvarijo živila. Hkrati pa lahko spodbujamo rast koristnih mikroorganizmov.

### Vprašanja:

1. Razloži, katere pogoje potrebujejo mikroorganizmi za življenje.
2. Razloži, zakaj želimo nekaterim mikroorganizmom ustvariti ugodne razmere za življenje, drugim pa razmnoževanje onemogočamo.

### 8.1.1 Fizikalni pogoji

**Ključne besede:** temperatura, psihofilni mikroorganizmi, mezofilni mikroorganizmi, termofilni mikroorganizmi, kislost okolja, osmotski pritisk

#### 8.1.1.1 Temperatura

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

Minimalna temperatura je najnižja temperatura, pri kateri določena vrsta mikroorganizmov še normalno raste. Maksimalna temperatura je najvišja temperatura, pri kateri določena vrsta mikroorganizmov še normalno raste. Optimalna temperatura je temperatura, pri kateri določena vrsta mikroorganizmov najbolje raste.

Glede na višino optimalne temperature delimo mikroorganizme v tri skupine:

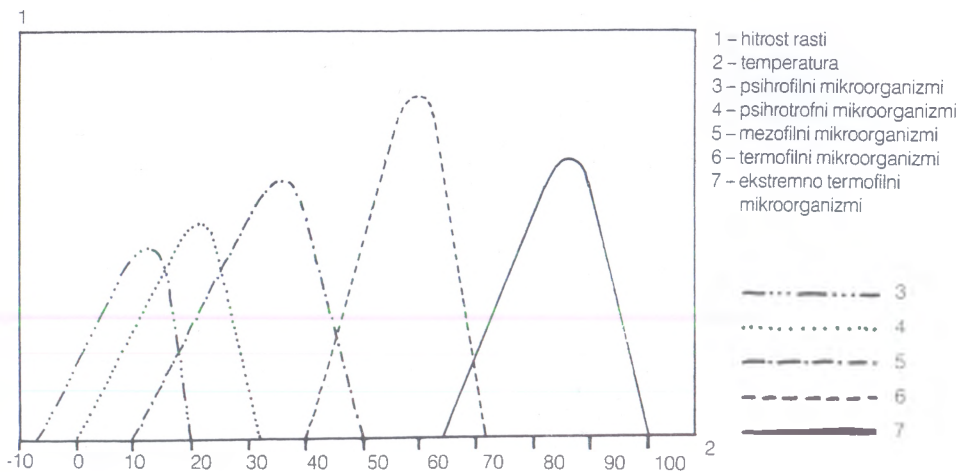
1. Psihofilni mikroorganizmi so tisti, ki rastejo pri nizkih temperaturah od  $-15^{\circ}\text{C}$  (če je substrat tekoč) do  $+20^{\circ}\text{C}$ . Psihofilni mikroorganizmi so lahko obligatno psihofilni in rastejo pri temperaturah od  $-15$  do  $+10^{\circ}\text{C}$ . Lahko so fakultativni psihofili ali psihotrofi in rastejo pri temperaturah od  $-5$  do  $+35^{\circ}\text{C}$ . Mikroorganizmi iz obeh skupin kvarijo živila. Psihotrofni mikroorganizmi pri nizkih temperaturah ne rastejo hitro, vendar so sposobni počasi razgraditi hranilne snovi tudi pri teh temperaturah. Na živilih, ki so jih napadli psihofilni mikroorganizmi, opazimo micelij plesni, sluzasto površino živila, tuje okuse in barve na živilih. Nizke temperature upočasnijo rast večine mikroorganizmov, ki kvarijo živila. Med psihotrofne bakterije spadajo: nekatere vrste rodu *Lactobacillus*, veliko rodov gramnegativnih paličastih bakterij (*Pseudomonada*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alteromonas*, *Aeromonas*, *Serratia*). Med  $0$  in  $+5^{\circ}\text{C}$  lahko rastejo poleg patogenih *Clostridium botulinum* in *Yersinia*

*enterocolitica* še določene vrste rodov *Bacillus*, *Enterococcus* (*Streptococcus*), *Micrococcus* in *Corynebacterium*.

2. Mezofilni mikroorganizmi imajo optimalno temperaturo rasti med  $+25$  in  $+40^{\circ}\text{C}$ . Največ vrst mikroorganizmov je mezofilnih. Organizmi, ki so prilagojeni življenju v telesih ljudi ali živali, imajo optimalno temperaturo blizu telesne temperature svojega gostitelja. Zato je optimalna temperatura patogenih bakterij okrog  $+37^{\circ}\text{C}$ . Med mezofilne mikroorganizme spada večina mikroorganizmov, ki kvarijo živila in povzročajo bolezenske znake. V to skupino mikroorganizmov spadajo *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, ki imajo optimalno temperaturo od  $+35$  do  $+37^{\circ}\text{C}$ . Tudi drugi mikroorganizmi iz družine *Enterobacteriaceae* in večina gram pozitivnih bakterij so mezofilni. Njihovo rast lahko zavremo s hlajenjem na  $+5$  do  $+15^{\circ}\text{C}$ .
3. Termofilni mikroorganizmi imajo večinoma optimalno temperaturo med  $+50$  in  $+60^{\circ}\text{C}$ . Nekateri (ekstremno termofilni) rastejo pri temperaturah od  $+80^{\circ}\text{C}$ , ne morejo pa rasti pri temperaturah nižjih od  $+45^{\circ}\text{C}$ . Endospore termofilnih bakterij preživijo toplotno obdelavo živil. Le malo takih bakterij ima optimalno temperaturo nižjo od  $+55^{\circ}\text{C}$ . Med te spadajo predvsem vrste iz rodov *Bacillus* in *Clostridium*. Večina teh je termotolerantna. Optimalno temperaturo imajo v območju mezofilnih mikroorganizmov, lahko pa rastejo tudi pri višjih temperaturah.

Slika 54

Hitrost rasti števila mikroorganizmov pri različnih temperaturah



Najhitrejše rast (razmnoževanje) kaže vrh krivulje. Pri majhnih odmikih od optimalne temperature se hitrost rasti zmanjša.

### 8.1.1.2 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.

Ker večina bakterij najbolje raste pri vrednosti pH med 6,5 in 7,5, lahko s povišano ali znižano kislinsko stopnjo zaščitimo živila pred njihovim delovanjem (kisló zelje, v kis vložena zelenjava, nekateri siri). Izjema so acidofilne bakterije, ki dobro prenašajo višjo kislinsko stopnjo. Plesni in kvasovke živijo v širšem območju pH kot bakterije. Optimalni pH plesni in kvasovk je nižji kot pri bakterijah, tako da večina živi v pH območju od 4,5 do 5,5. Tudi v alkalnem ali bazičnem območju mikroorganizmi težko rastejo, vendar za podaljšanje obstojnosti živil ne zvišujemo pH nad 7.

Nekatere bakterije v svojem metabolizmu tvorijo kisline, ki jih izločajo v okolje in mu znižujejo pH. Če želimo, da pH okolja ostane na istem nivoju, je potrebno gojišču dodati pufre. Pufri so snovi, ki v gojišču vzdržujejo enako kislost. To so lahko različne snovi, običajno so peptoni ali aminokisline.

### 8.1.1.3 Osmotski pritisk

Mikroorganizmi skoraj vse hranilne snovi dobijo iz vodne raztopine, ki jih obdaja. Za rast nujno potrebujejo vodo. V njihovih celicah je od 80–90 % vode. Visok osmotski pritisk povzroči, da se iz njih izloči prosta voda, kar povzroči plazmolizo in krčenje celic. Pri plazmolizi se skrči protoplast, ki je obdan s plazmino membrano. Pri tem ostane celična stena enaka. Zaradi takega delovanja raztopine soli ali sladkorja na mikroorganizemsko celico ju lahko uporabljamo za podaljšanje obstojnosti živil. Soljene ribe, med in sladkano kondenzirano mleko so dalj časa obstojni ravno zaradi povečanega osmotskega pritiska. Snovi z nizko molsko maso, kot na primer NaCl, imajo večji antimikrobni učinek kot snovi z veliko molsko maso.

Nekatere bakterije so se prilagodile življenju v okolju z visoko koncentracijo soli, imenujemo jih halofilne. Lahko so ekstremno halofilne in zahtevajo 17–19 % raztopino soli za normalno rast. Našli so jih v vodah Mrtvega morja. Druge so fakultativno halofilne bakterije in ne potrebujejo višje koncentracije soli za normalno rast, lahko pa rastejo pri povečani koncentraciji soli (do 2 % soli).

Vprašanja:

1. Razloži, kako omejujemo temperaturno območja, v katerem živijo posamezne vrste mikroorganizmov.
2. Opiši psihrofilne mikroorganizme in vpliv nizkih temperatur na njihovo rast.
3. Opiši skupne lastnosti mezofilnih mikroorganizmov.
4. Razloži, zakaj večina za ljudi in živali patogenih mikroorganizmov spada ravno med mezofilne mikroorganizme.
5. Razloži, zakaj so živila, ki jim dodamo kislino in tako znižamo pH, dalj časa obstojna.
6. Razloži, zakaj termofilni mikroorganizmi lahko kvarijo toplotno obdelana živila.
7. Ugotovi, kateri mikroorganizmi lahko kvarijo živilo z najnižjim pH in kateri živilo z najvišjim pH.
8. Razloži, kakšno lastnost mora imeti določena snov, da jo lahko imenujemo pufer.
9. Razloži, kaj je osmotski pritisk.
10. Opiši, kaj se zgodi s celico, če je v okolju močno povečana koncentracija.
11. Razloži, zakaj lahko dodajanje soli ali sladkorja podaljša obstojnost živila.

### 8.1.2 Kemijski pogoji

**Ključne besede:** ogljik, dušik, fosfor, elementi v sledih, kisik, aerobni organizmi, anaerobni organizmi, organski rastni faktorji

#### 8.1.2.1 Ogljik

Za rast mikroorganizmov je poleg količine vode izredno pomemben tudi vir ogljika. Ogljik je potreben za izgradnjo vseh organskih snovi, ki gradijo celico, in predstavlja eno četrtno teže suhe snovi celice. Kemoheterotrofni organizmi dobijo večino ogljika iz organskih snovi, ki so hkrati tudi vir energije. To so proteini, ogljikovi hidrati in lipidi. Kemoavtotrofni in fotoavtotrofni mikroorganizmi dobijo ogljik iz  $\text{CO}_2$ .

#### **Dušik, fosfor, žveplo**

Ti trije elementi so potrebni za sintezo celičnega materiala, predvsem za izgradnjo proteinov ter DNK in RNK. Fosfor je pomemben za sintezo molekul ATP, v katerih se skladišči kemijska energija. Dušik, fosfor in žveplo skupaj predstavljajo 18 % teže suhe snovi celice. Od tega je dušika 15%. Dušik je nujno potreben za izgradnjo aminoskupin. Mnoge bakterije ga dobijo z razgradnjo proteinov. Nekatere lahko uporabijo amonijeve ione ( $\text{NH}_4^+$ ).

Spet druge lahko fiksirajo dušik iz zraka. Žveplo je potrebno za sintezo aminokislin, ki vsebujejo žveplo in vitamine (tiamin, biotin). Fosfor je potreben za sinteze DNK, RNK, ATP.

### **Kalij, magnezij, kalcij**

Ti trije elementi so pogosto sestavni del kofaktorjev encimov v mikroorganizemskih celicah.

### **Mikroelementi ali elementi v sledih**

Mikroelementi so snovi, ki jih celica potrebuje za normalno delovanje, vendar v zelo majhnih količinah. Ti elementi so: železo, baker, molibden in cink. Običajno so vgrajeni v encime.

### **8.1.2.2 Kisik**

Navajeni smo misliti, da je molekularni kisik nujno potreben za življenje. V resnici pa je v velikih koncentracijah strupen. V ozračju našega planeta ni obstajal v vsej zgodovini Zemlje. Veliko oblik življenja ga potrebuje za aerobno dihanje. Molekule kisika se združijo z vodikom, ki se izloči iz organskih snovi in nastanejo molekule vode. Pri tem procesu se sprošča energija in je dober način za nevtraliziranje strupenega plina.

Organizme, ki uporabljajo molekularni kisik, imenujemo aerobni organizmi. Obligatno aerobni so tisti, ki za življenje nujno potrebujejo kisik. Ti 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. Ti organizmi so 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. Če ga uporabijo, se poškodujejo, ker v njihovih celicah nastaja vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). Ta nastaja tudi v celicah aerobnih mikroorganizmov, vendar imajo te encime, ki ga razgradijo. Anaerobni organizmi teh encimov nimajo, zato se v njihovih celicah nabira vodikov peroksid, ki celice poškoduje. Vodikov peroksid lahko razgradita dve vrsti encimov. Mikroaerofilni mikroorganizmi so tisti, ki lahko kisik prenašajo in imajo encime, ki nastajajoč vodikov peroksid razgradijo.



Preglednica: Mikroorganizmi in njihove potrebe po kisiku

IME	ODNOS DO KISIKA	PREDSTAVNIKI
OBLIGATNO AEROBNI	potrebujejo kisik, nevtralizirajo (razgradijo) $H_2O_2$ (nastane $H_2O$ in $O_2$ )	acetobakterije
FAKULTATIVNO ANAEROBNI	potrebujejo kisik, lahko živijo brez kisika, lahko razgradijo $H_2O_2$	<i>Escherichia coli</i> , nekatero kvasovke, mlečnokislinske bakterije
MIKROAEROFILNI	tolerirajo kisik, delno razgradijo $H_2O_2$	mlečnokislinske bakterije
OBLIGATNO ANAEROBNI	kisik je toksičen, ne morejo razgraditi $H_2O_2$	bakterije iz rodu <i>Clostridium</i>

### 8.1.2.3 Rastni faktorji

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

#### Vprašanja:

1. Razloži pomen ogljika za mikroorganizemsko celico in naštej vire ogljika.
2. Razloži, zakaj so za mikroorganizemsko celico pomembni dušik, fosfor in žveplo.
3. Ugotovi, kateri elementi so uporabni za kofaktorje encimov v mikroorganizemskih celicah.
4. Razloži razliko med aerobnimi in anaerobnimi organizmi.
5. Ugotovi, zakaj anaerobni organizmi ne prenašajo kisika.
6. Razloži, kako aerobni organizmi nevtralizirajo  $H_2O_2$ .
7. Ugotovi, katere snovi so lahko rastni faktorji.

### 8.1.3 Hranilne podlage ali gojišča

**Ključne besede:** hranilne podlage, poreklo, trdnost, namen uporabe, vrste gojišč, pogoji rasti

Hranilne podlage so hranilne snovi, pripravljene za gojenje mikroorganizmov v laboratorijskih razmerah. Kot gojišča bi lahko označili vse snovi, na ali v katerih lahko rastejo mikroorganizmi. Tako bi med gojišča lahko šteli vsa živila, ker na (ali v) vsakem živilu lahko zraste vsaj ena vrsta mikroorganizmov. Ko se trudimo podaljšati obstojnost živilom, se trudimo v živilu vzpostaviti razmere, ki ne omogočajo rasti mikroorganizmom. Mikroorganizmi za rast potrebujejo določene pogoje, ki so seveda odvisni od vrste, ki jo želimo gojiti. Da bodo mikroorganizmi na določenem gojišču rasli, mora to izpolnjevati nekatere pogoje:

1. vsebovati mora takšne hranilne snovi in v takem razmerju, kot jih potrebuje določena vrsta mikroorganizmov,
2. vsebovati mora dovolj proste vode,
3. imeti mora primeren pH, ki mora v času rasti ostani v primernih mejah (pufri),
4. imeti mora primeren redoks potencial (Eh-potencial).

Pred uporabo hranilne podlage mora biti ta popolnoma sterilna; to pomeni, da ne sme vsebovati živih mikroorganizemskih celic. Na njej naj rastejo samo mikroorganizmi, ki jih mi sami cepimo ali prenesemo nanjo. Rastoča kultura mikroorganizmov mora imeti primerno temperaturo, zato jo inkubiramo; to pomeni, da gojišča s cepljenimi mikroorganizmi za določen čas postavimo v termostat, ki vzdržuje primerno in stalno temperaturo.

Za uporabo v laboratorijih je na voljo zelo veliko različnih vrst hranilnih podlag. Ločimo jih glede na:

1. poreklo ali izvor:
  - a) naravne – rastlinske in naravne,
  - b) sintetične ali umetne,
2. trdnost (konsistenca):
  - a) trdne – agar,
  - b) tekoče – bujon,
3. namen uporabe:
  - a) selektivne podlage – vzpodbujajo rast zelenih in zavirajo rast drugih vrst,

- b) diferencialne podlage – omogočajo lažje ločevanje kolonij določene vrste mikroorganizmov od drugih, ki tudi rastejo na isti podlagi,
- c) obogatitvene – omogočajo povečanje števila celic ene vrste organizmov v vzorcu.

**Vprašanja:**

1. Razloži, kaj je hranilna podlaga in za kaj se uporablja.
2. Ugotovi, zakaj cepimo mikroorganizme samo na sterilno podlago in zakaj cepljeno hranilno podlago inkubiramo.
3. Razloži, kako razdelimo podlage glede na trdnost, poreklo in namen uporabe.
4. Razloži razlike med selektivnimi, diferencialnimi in obogatitvenimi hranilnimi podlagami.

**8.1.3.1 Pridobivanje čistih kultur**

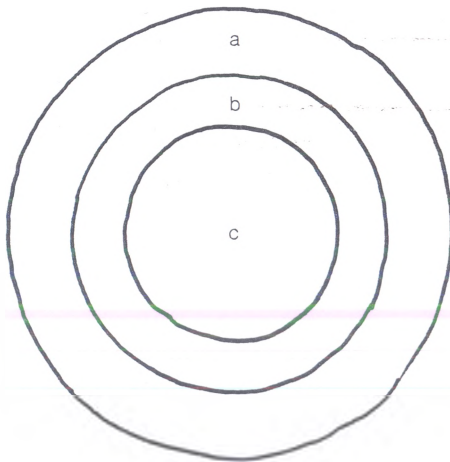
Ključne besede: čista kultura, kolonija, barva, površina, prečni prerez, rob, izolacija, cepilna zanka

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

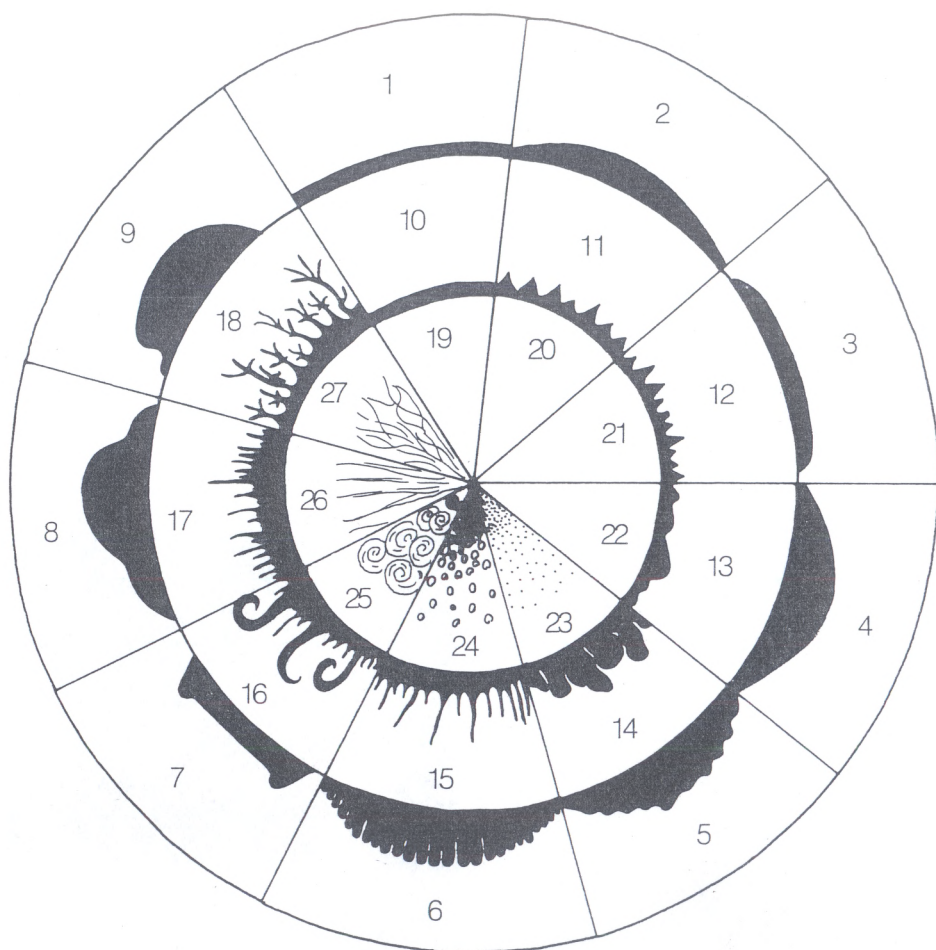
Kolonije različnih vrst mikroorganizmov se med seboj ločijo tako, da lahko tudi po njihovem videzu ločujemo različne vrste mikroorganizmov. Med se seboj ločijo po barvi, površini, prečnem prerezu in robu:

1. barva – rumeni in rdeči toni, flourescenca,
2. površina – kovinsko svetleča do puhasta (gladka, razbrazdana),
3. prečni prerez – ploska kolonija,
  - dvignjena kolonija,
  - konveksna kolonija,
  - dvignjena sredina,
  - ugreznjena sredina,
4. rob – gladek, valovit, korenast, s poglobitvami, nažagan, žarkast (nitast).

Slika 55  
Prečni prerez, rob in notranja struktura mikrobioloških kultur



- a) Prečni prerez
- b) Rob kulture
- c) Notranja struktura



a) Prečni prerez

- 1 - Razlita
- 2 - Rahlo izbočena
- 3 - Dvignjena
- 4 - Izbočena
- 5 - Bradavičasto izbočena
- 6 - Razbrazdano izbočena
- 7 - Izbočena s konkavno izbočenim robom
- 8 - Izbočena s konveksno izbočenim robom
- 9 - Blazinasta










b) Rob kulture

- 10 - Raven
- 11 - Razbrazdan
- 12 - Zobat
- 13 - Valovit
- 14 - Režnjast
- 15 - Vlaknast
- 16 - Pramenast
- 17 - Raztrgan
- 18 - Vejnast

c) Notranja struktura

- 19 - Prozorna
- 20 - Polprozorna
- 21 - Motna
- 22 - Gladka
- 23 - Drobno zrnata
- 24 - Debelo zrnata
- 25 - Valovito prepletana
- 26 - Nitasta
- 27 - Arborescentna

Slika56  
Oblike mikrobioloških kultur

	1	6	
	2	7	
	3	8	
	4	9	
	5		

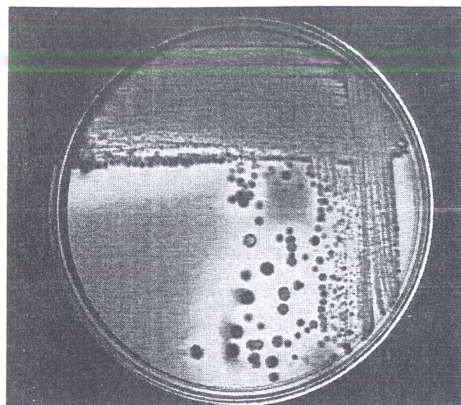
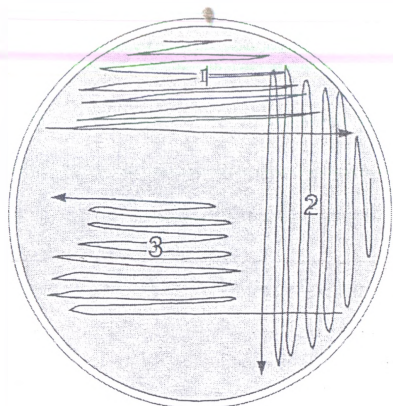
- 1 – Okrogla
- 2 – Nepravilna
- 3 – Ameboidna
- 4 – Korenasta
- 5 – Korenasta
- 6 – Nitasta
- 7 – Kodrasta
- 8 – Miceloidna
- 9 – Toruloidna

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

Izolacija čiste kulture s cepilno zanko je najpogostejši način. Sterilno cepilno zanko pomočimo v raztopino vzorca in jo prenesemo na sterilno hranilno podlago v petrijevki. S cepilno zanko vlečemo črte po hranilni podlagi. Po inkubaciji zrastejo ob črtah kolonije. Kjer je bilo vzorca več, so kolonije bolj gosto posejane. Ob končnih potezah je bilo vzorca na ezi že zelo malo, zato so tudi kolonije redkeje posejane in jih je le malo.

Slika 58

Izolacija čiste kulture s cepilno zanko



a) Smer vlečenja cepilne zanke (eze) je označena s puščico. S številko 1 so označene črte, ki jih vlečemo z zanko, namočeno v raztopino zorca. Nato cepilno zanko steriliziramo in vlečemo črte, označene s številko 2. Cepilno zanko še enkrat steriliziramo in vlečemo črte označene s številko 3.

b) Fotografija hranilne podlage, cepljene kot prikazuje slika, po inkubaciji. Videti je osamljene kolonije ob črtah, označenih s številko 3.

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

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

### Vprašanja:

1. Razloži, kako lahko razlikujemo kolonije posameznih vrst mikroorganizmov med seboj.
2. Opiši razliko med čisto in mešano kulturo.
3. Opiši način izolacije čiste kulture s cepilno zanko.



### 8.1.3.2 Konzerviranje [ohranitev] mikroorganizemskih kultur

Ključne besede: ohranjanje kultur, precepljanje, zamrzovanje, liofilizacija, dehidracija, sterilna glina

Kulture, ki so se razvile na hranilnih podlagah, hranimo na temnem in hladnem mestu (v hladilniku). Da bi preprečili izroditev in izumiranje kultur, jih precepimo na sveže podlage. Pogostost precepljanja je odvisna od občutljivosti kulture. 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:

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

Vprašanja:

1. Razloži, zakaj mikroorganizemske kulture precepljamo.
2. Razloži, kaj so trajne kulture in kako jih pripravimo.

### 8.1.3.3 Načini gojenja mikroorganizmov

Ključne besede: površinsko gojenje, submerzno gojenje, kontinuirano gojenje, diskontinuirano gojenje

Ločimo dva temeljna načina gojenja mikroorganizmov:

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

Kontinuirano ali neprekinjeno je gojenje, pri katerem v podlago nenehno dotekajo sveže hranilne snovi in se odstranjujejo metabolični produkti. Tako gojenje je mogoče v posebnih posodah (kemostatih). Vanje iz posebnih rezervoarjev stavno doteka hranilna podlaga, iz njih pa z enako hitrostjo odteka spremenjena podlaga z mikroorganizmi vred. Rast kulture uravnavamo s koncentracijo substrata. Običajno se hitrost omejuje s koncentracijo ene od spojin, ki so potrebne za rast kulture (vir N ali P). Da dosežemo stabilnost takega sistema gojenja, je treba uravnavati hitrost rasti kulture, hitrost dotekanja podlage in koncentracijo

substrata. Tak sistem gojenja se uporablja predvsem za gojenje bakterij in kvasovk. Diskontinuirano gojenje ali s prekinitvami je tisto, pri katerem mikroorganizme gojimo na podlagi, ki se ji med rastjo mikroorganizmov ne dodajajo hranilne snovi in se iz nje ne odvajajo metabolni produkti mikroorganizmov. V takšnih razmerah so mikroorganizmi odvisni samo od določene količine hranilne snovi.

### Vprašanja:

1. Ugotovi, katera dva temeljna načina gojenja mikroorganizmov uporabljajo in kako se razlikujeta med seboj.
2. Razloži razlike med kontinuiranim in diskontinuiranim načinom gojenja mikroorganizmov.

## 8.2 RAST MIKROORGANIZMOV

**Ključne besede:** večanje števila mikroorganizmov, generacijski čas, populacija, hčerinska celica

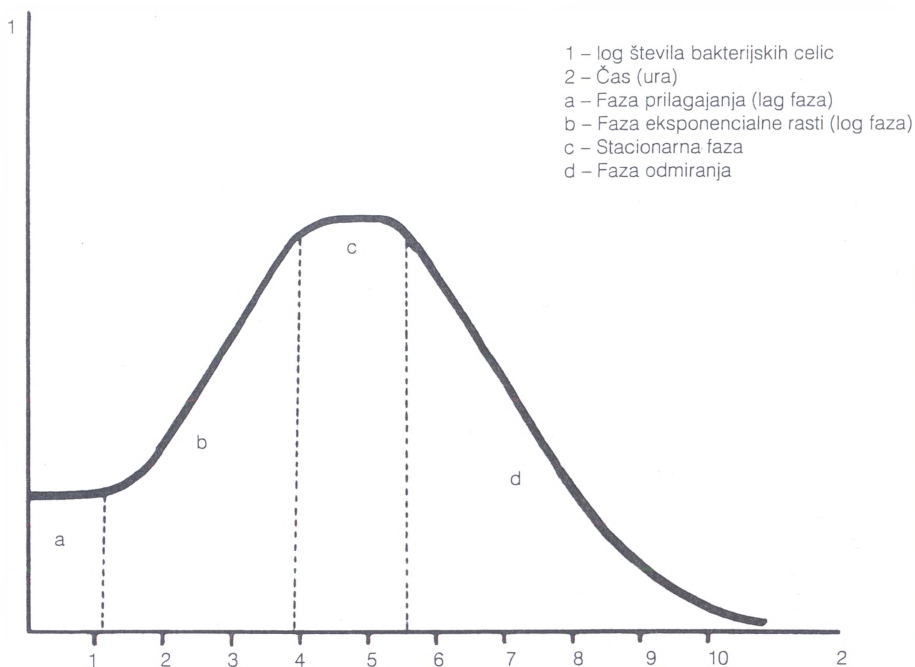
Z izrazom rast mikroorganizmov označimo večanje (rast) števila mikroorganizemskih celic, ne večanje (rast) ene same celice. Generacijski čas je čas, ki poteče od nastanka mikroorganizemske celice do razvoja njene hčerinske celice. To je čas, v katerem se populacija podvoji. Je različen za različne organizme. Večina bakterij ima generacijski čas od 1 ure do 3 ur. Nekatere bakterije imajo generacijski čas 24 ur, druge pa 30 minut. Če domnevamo, da se bakterija *Escherichia coli* razmnožuje samo z delitvijo in da se celice delijo vsakih 20 minut, potem iz ene celice po 7 urah v 20 generacijah nastane več kot milijon celic. Po 24 urah bi za zapis števila potrebovali številko z 21 ničlami. Zaradi tako velikih števil uporabljamo za prikaz števila celic mikroorganizmov v diagramih  $\log_{10}$  aritmetičnih števil celic.

### 8.2.1 Krivulja rasti mikroorganizmov

Če v tekočo hranilno podlago cepimo določeno število bakterij, bomo s spremljanjem spreminjanja števila celic v določenem časovnem obdobju dobili krivuljo. Ta prikazuje gibanje števila mikroorganizemskih celic v odvisnosti od časa, imenujemo jo rastna krivulja. Hitrost razmnoževanja in metabolna aktivnost mikroorganizmov sta odvisna od razpoložljive količine hranilnih snovi, temperature, pH, aktivnosti vode in količine metabolnih produktov, ki jih celice same izločajo v okolje, v katerem živijo.

Krivulja rasti števila mikroorganizemskih celic v gojišču, ki mu ne dodajamo hranilnih snovi in ne odvezamo metabolnih produktov, ima obliko, kot je prikazana na sliki.

Slika 59  
Krivulja rasti števila mikroorganizmov



Krivulja je razdeljena na štiri faze, v katerih se zaradi različnih vzrokov spreminja število mikroorganizemskih celic.

Spremembe v fazah krivulje rasti:

1. Faza prilagajanja – v tej fazi se celice prilagajajo novemu okolju. Število se rahlo zmanjša. V celicah poteka intenzivna metabolna aktivnost.
2. Faza eksponencialne 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 genetično pogojen za vsak organizem. Generacijski čas v tej fazi je nespremenljiv, zato je krivulja, ki opisuje to fazo, linearna. Metabolna aktivnost je zelo velika. Med to fazo so mikroorganizmi zelo občutljivi na različne zunanje dejavnike, kot so sevanje in antimikrobni strupi (antibiotiki).

3. Stacionarna faza – hitrost razmnoževanja se upočasni. Število odmrlih celic je enako številu novonastalih celic. Metabolna aktivnost se zmanjša. Do tega zmanjšanja oziroma ustavitve rasti števila celic pride, ker začne primanjkovati hranilnih snovi. Hkrati pa se nabirajo metabolni produkti, ki spremenijo življenjsko okolje mikroorganizemskih celic (pH). Lahko pride do spremembe temperature, vendar vzroki za nastop te faze niso vedno jasni.
4. Faza odmiranja – število odmrlih celic je večje od števila novonastalih celic. Zato število vseh celic upada skoraj tako hitro, kot je v drugi fazi raslo. Ko so porabljene vse hranilne snovi, lahko preživijo le maloštevilne celice. Sčasoma odmrjejo vse celice in podlaga je sterilna.

### Vprašanja:

1. Primerjaj generacijske čase različnih organizmov in hitrost rasti njihovih populacij.
2. Opiši krivuljo rasti in razloži vzroke za spremembo števila celic v posameznih fazah.
3. Nariši krivuljo rasti mikroorganizmov, če v hranilno podlago dodajamo hranilne snovi.
4. Nariši krivuljo rasti mikroorganizmov, če v hranilno podlago dodajamo hranilne snovi in odvezujemo metabolne produkte.
5. Primerjaj vse tri krivulje med seboj.

### 8.3 MERJENJE RASTI MIKROORGANIZMOV

**Ključne besede:** štetje celic, populacija, neposredno štetje, posredno štetje, štetje na ploščah, razredčitve, razlite plošče, membranska filtracija, MPN metoda ocenjevanja števila celic

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

Težava pri teh metodah je, da ni praktično šteti milijon celic v mililitru tekočine ali gramu živila, zato štejemo celice neposredno v seriji razredčitev. Dobljeno število pomnožimo z razredčitvijo.

### 8.3.1 Metode štetja

1. Štetje na ploščah je najbolj uporabljana metoda štetja celic. Pri tej metodi štejemo žive celice. Vzorec cepimo na hranilno podlago v petrijevki in po oseminštirideseturni inkubaciji lahko preštejemo kolonije. Domnevamo, da se iz vsake žive celice razvije kolonija, da je vzorec enovit in da se celice ne držijo skupaj. Da bi lahko šteli kolonije, ne smejo biti preveč tesno skupaj, ker se lahko prekrivajo. Običajno se šteje na ploščah, ki imajo od 25 do 250 kolonij. Da bi to dosegli, je potrebno vzorec oziroma njegovo matično raztopino razredčiti. Ponavadi naredijo serijo razredčitev.

2. Serija razredčitev. Najprej naredimo matično raztopino, ki je lahko tudi tekoč vzorec. Če imamo trden vzorec, naredimo matično raztopino tako, da trden vzorec zdrobimo ali zmeljemo in zmešamo s sterilno destilirano vodo, da dobimo desetkratno razredčitev. Za izhodišče vzamemo nerazredčen tekoči vzorec in desetkratno razredčitev trdega vzorca.

Serijo razredčitev naredimo tako, da damo v epruveto 1 ml matične raztopine in jo razredčimo z 9 ml sterilne destilirane vode. Za trden vzorec je ta razredčitev 1 : 10. Za naslednjo razredčitev vzamemo 1 ml te raztopine in jo razredčimo z 9 ml sterilne destilirane vode. Dobimo razredčitev 1 : 100.

Razredčitve delamo do 1 : 10 000 ali 1 : 1000 000. Po 1 ml iz vsake razredčitve cepimo na hranilno podlago v petrijevko in preštejemo kolonije po inkubaciji.

3. Razlite plošče in razmazane plošče. Štetje na ploščah opravljamo na razlitih ali razmazanih ploščah. Za razlite plošče stopimo agar, v sterilno petrijevko nalijemo raztopljeno sterilno hranilno podlago in dobro mešamo. Hranilna podlaga se strdi. Po inkubaciji preštejemo kolonije na površini. Upoštevati je potrebno desetkrat manjšo količino razlitega vzorca.
4. Membranska filtracija je način za štetje bakterij v bistrih tekočih vzorcih, kot so: vodovodna voda, bistri sokovi, vino in podobni. Sto ali več mililitrov vzorca gre skozi membranski filter, ki ima dovolj majhne pore, da ustavi mikroorganizme. Ta filter potem prenesemo na hranilno podlago in kolonije zrastejo na površini filtra. Metodo uporabljamo tudi za štetje koliformnih bakterij, ki so kazalci fekalnih okužb živil in vode. Če damo filter z bakterijami z vzorca na diferencialno hranilno podlago, lahko ločimo kolonije koliformnih bakterij od kolonij drugih bakterij.
5. Metoda "Most probable number" ali MPN metoda (metoda najverjetnejšega števila). Ta temelji na opazovanju rasti mikroorganizmov (kot motnosti) in opazovanju metabolne dejavnosti mikroorganizmov (preko indikatorjev v tekočih gojiščih). Izvedemo jo tako, da določeno število epruvet s tekočim gojiščem nacepimo in inkubiramo. S pomočjo verjetnostnega računa lahko iz števila pozitivnih epruvet v primerjavi s številom vseh

cepljenih epruvet izračunamo najbolj verjetno število mikroorganizmov v vzorcu. Pozitivne so tiste epruvete, v katerih ugotovimo rast mikroorganizmov. Pri tej metodi poznamo več izvedb glede na število cepljenih epruvet in število uporabljenih razredčitev.

6. **Direktno štetje pod mikroskopom.** Za takšno štetje uporabljamo objektne ploščice s števnimi komorami. To so v ploščico 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 kvadratkah, ki jih vidimo. Število celic v razliti količini vzorca izračunamo. Težko je šteti gibljive mikroorganizme. Preštejemo tudi mrtve celice. Prednosti sta, da ni inkubacije in da zelo hitro dobimo rezultate.

### **8.3.2 Metode, s katerimi ocenimo število mikroorganizemskih celic**

1. **Motnost.** Za nekatere vrste eksperimentalnega dela je ocenitev motnosti praktičen način za spremljanje rasti mikroorganizmov. Ta metoda je fotometrična. S spektrofotometrom merimo količino prepuščene svetlobe skozi vzorec. Vir svetlobe oddaja svetlobo z določeno jakostjo. Če med vir svetlobe in fotocelico postavimo vzorec, ki je moten, se bo jakost svetlobe, ki jo sprejme fotocelica, zmanjšala. In sicer za količino svetlobe, ki jo je absorbiral motni vzorec. Bolj ko je vzorec moten, več svetlobe absorbira. Predvidevamo, da motnost v vzorcu povzročijo mikroorganizemske celice. Torej je količina absorbirane svetlobe neposredno odvisna od števila mikroorganizemskih celic.
2. **Metabolna aktivnost.** Z merjenjem količine določenega metabolnega produkta lahko ocenimo število mikroorganizemskih celic, ki ta produkt izločajo. Predvidevamo, da je količina metabolnega produkta sorazmerna številu celic.
3. **Teža suhe snovi.** Uporabljamo jo za merjenje rasti nitastih mikroorganizmov, kot so na primer plesni. Za te organizme druge metode niso zanesljive. Glivo (plesen) odstranimo s hranilne podlage in jo posušimo ter tehtamo. Če tako ocenjujemo količino bakterij, jih od hranilne podlage ločimo s centrifugiranjem.

#### **Vprašanja:**

1. Opiši metodo štetja na ploščah.
2. Razloži, zakaj uporabljamo serijo razredčitev pri štetju in kako jo pripravimo.
3. Razloži razliko med razlitimi in razmazanimi ploščami.

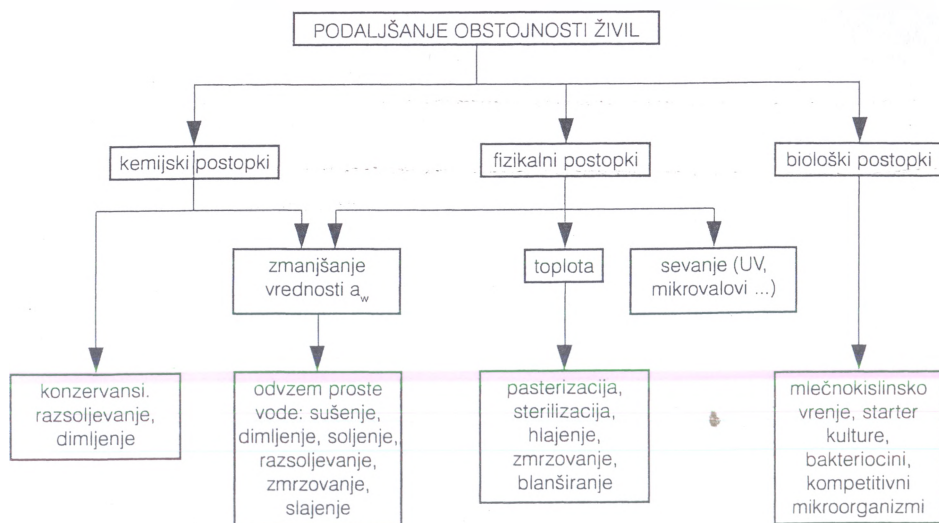
4. Ugotovi, zakaj lahko membransko filtracijo za štetje mikroorganizmov uporabimo le pri bistrh tekočih vzorcih.
5. Opiši MPN metodo.
6. Ugotovi prednosti in slabosti neposrednega štetja pod mikroskopom.
7. Razloži, kako lahko na podlagi motnosti vzorca ocenimo število mikroorganizemskih celic v njem.
8. Razloži, kako je količina metabolnega produkta mikroorganizmov v vzorcu povezana s številom mikroorganizmov.

## 8.4 ZAVIRANJE RASTI MIKROORGANIZMOV V ŽIVILSKI INDUSTRIJI

**Ključne besede:** fizikalni postopki, kemijski postopki, biološki postopki, kombinacija dejavnikov, ohranjanje kakovosti živila, podaljšanje obstojnosti živila, zdravstveno neoporečno živilo

S temi postopki nadziramo rast in razvoj mikroorganizmov in hkrati podaljšamo obstojnost živil.

SHEMATSKI PRIKAZ: Postopki za podaljšanje obstojnosti živil





Postopki, ki jih uporabljamo v živilski industriji, so fizikalni, kemijski in biološki. Pri vseh se pojavljajo dejavniki, ki vplivajo na rast mikroorganizmov ali jo zavirajo. Iz sheme je razvidno, da je malo postopkov, pri katerih bi delovali samo dejavniki ene vrste. Večinoma so kombinirani. Razsoljevanje je sicer kemijski postopek, pri katerem se zavre rast mikroorganizmov zaradi povečanega osmotskega pritiska (dodajanja soli) in zaradi zmanjšane vodne aktivnosti. Torej so dejavniki, ki delujejo pri tem postopku, kemijski in fizikalni.

Naloga vseh teh postopkov je zaviranje procesov, ki kvarijo živila. Mnogokrat sta postopka za preprečevanje kvara živil in ohranjanje kakovosti živil nasprotna. Pri živilu ni pomembna samo njegova obstojnost, ampak so zelo pomembne tudi njegove senzorične lastnosti. S postopki podaljšanja obstojnosti živil lahko spremenimo senzorične lastnosti živil tako, da jih ni mogoče jesti. Če želimo živilu podaljšati obstojnost s toplotno obdelavo in uporabimo visoko temperaturo in dolg čas delovanja toplote na živilo, bomo dobili živilo, ki je morda res sterilno in zato dolgo obstojno, vendar povsem razkuhano, brez primernega videza, arome, konsistence (senzorične lastnosti) in zato neužitno. Močno sta zmanjšani 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. Samo tako lahko ohranimo optimalno kakovost živila in primerno podaljšamo njegovo obstojnost.

### **8.4.1 Fizikalni postopki**

#### **8.4.1.1 Toplotna obdelava**

Glavni namen toplotne obdelave živil je uničenje ali inaktivacija mikroorganizmov in encimov v živilu, ki so glavni povzročitelji kvara živil. Če za uničevanje mikroorganizmov uporabimo toplotno obdelavo, mora biti ves proces izdelave živila zastavljen tako, da je čim manj možnosti za ponovno okužbo živila po obdelavi. Zelo pomembna sta embalažni material in način embaliranja.

Poznamo različne tipe toplotne obdelave. Med seboj se razlikujejo po:

1. višini temperature,
2. mediju (snovi), ki prenaša toploto z vira toplote na živilo,
3. po času delovanja toplote na živilo.

V živilski industriji se najpogosteje uporabljajo naslednji postopki toplotne obdelave:

1. sterilizacija,
2. pasterizacija,
3. blanširanje.

Postopke toplotne obdelave uporabljamo v kombinaciji z drugimi postopki (npr.: blanširanje in zamrzovanje, pasterizacija in kisanje). Sterilizacijo lahko uporabljamo tudi samostojno. Sterilizacija pomeni uničenje vseh življenjskih oblik mikroorganizmov in njihovih spor, tudi endospor, ki so najbolj odporna oblika mikroorganizmov. Načinov sterilizacije je več in sterilizacija ni omejena samo na toplotno obdelavo. Živila lahko steriliziramo, ne da bi jih segreli, na primer z obsevanjem z ionizirajočimi žarki ali z zaplinjanjem (etilen oksidom, ozonom). Najpogosteje pa se pojem sterilizacije uporablja kot oznaka za način toplotne obdelave.

Pasterizacija je postopek toplotne obdelave, s katerim uničimo vse patogene mikroorganizme v živilu, ne uničimo pa vseh mikroorganizmov. Zato so pasterizirana živila obstojna krajši čas kot sterilizirana.

Blanširanje je postopek toplotne obdelave, s katerim predvsem inaktiviramo encime v živilu in zmanjšamo število mikroorganizmov na njegovi površini. Ta postopek traja zelo kratek čas, saj živilo segrevamo le nekaj sekund, da se njegove senzorične lastnosti in hranilna vrednost zaradi postopka čim manj spremenijo.

Vsa živila, ki jih toplotno obdelujemo v embalaži, morajo biti v neprodušno zaprtih embalažnih enotah, da ni možnosti okužbe živila med toplotno obdelavo ali po njej.

Mikroorganizmi, ki jih želimo s toplotno obdelavo uničiti, so različno odporni na delovanje visokih temperatur. Delovanje visokih temperatur na mikroorganizemske celice oziroma hitrost odmiranja mikroorganizmov zaradi delovanja visokih temperatur opišemo z različnimi vrednostmi, kot so:

1. D-vrednost,
2. Q-faktor,
3. Z-faktor,
4. F-vrednost.

1. D-vrednost ali decimalna redukcijska vrednost je čas, ki je potreben za redukcijo (zmanjšanje) števila mikroorganizmov od  $N_0$  do  $0,1 N_0$ . Celotna populacija mikroorganizmov ne odmre naenkrat, ampak se število mrtvih celic veča eksponentialno. Pri določeni temperaturi in določenem začetnem številu mikroorganizemskih celic v časovni enoti odmre vedno enako število mikroorganizmov. D-vrednost imenujemo tudi decimalni redukcijski čas. Večja ko je odpornost mikroorganizmov na temperaturo, višja je pri določeni temperaturi toplotna vrednost D-vrednosti. Z višanjem temperature se D-vrednost manjša. Ko navajamo D-vrednost, mora biti vedno navedena tudi temperatura, za katero ta D-vrednost velja. Na primer:  $D_{121,1}$  pomeni D-vrednost pri temperaturi  $121,1^{\circ} \text{C}$ .

Če zapišemo  $D_{121,1} = 1$  za *Clostridium sporogenes* to pomeni, da se število celic tega mikroorganizma pri temperaturi  $121,1^{\circ}\text{C}$  v 1 minuti zmanjša za 90 % ali na 10 % od začetnega števila celic.

D-vrednost izračunamo:

$$D = \frac{t}{\log a - \log ab}$$

a = začetno število celic mikroorganizma

b = končno število celic mikroorganizma

t = čas toplotne obdelave v minutah

Pri nespremenljivi temperaturi je za uničenje določene vrste mikroorganizmov pri določeni D vrednosti potreben tem daljši čas, čim večje je začetno število mikroorganizemskih celic v živilu. Večina vegetativnih celic bakterij odmre že pri temperaturi od  $55$  do  $65^{\circ}\text{C}$ . Za gramnegativne paličaste bakterije (*E. coli*) so običajne vrednosti  $D_{65} = 0,1$ . Za enterokoke so vrednosti  $D_{65} = 5$  do  $30$ .

2. Z-vrednost pove, kakšen dvig temperature je potreben, da zmanjšamo D-vrednost na 1/10. Izračunamo ga:

$$\frac{1}{z} = \frac{\log D_2 - \log D_1}{T_1 - T_2}$$

$D_1$  = D-vrednost pri temperaturi  $T_1$

$D_2$  = D-vrednost pri temperaturi  $T_2$

Enote za Z-vrednost so  $^{\circ}\text{C}$

Višja ko je temperatura, s katero delujemo na mikroorganizemske celice, tem hitreje odmirajo. Vegetativne celice bakterij, kvasovk in plesni imajo Z vrednosti v območju  $4,4$  do  $6,6^{\circ}\text{C}$ . Endospore rodov *Bacillus* in *Clostridium* pa od  $3$  do  $30^{\circ}\text{C}$ .

3.  $Q_{10}$ - vrednost je merilo za vpliv temperature na mikroorganizemske celice. Je temperaturni koeficient, ki pove, koliko hitreje je odmiranje mikroorganizemskih celic v določenem mediju, če se temperatura toplotne obdelave dvigne za  $10^{\circ}\text{C}$ .  $Q_{10}$ -vrednost in Z-vrednost sta neposredno povezani:

$$Q_{10} = 10^{10/z}$$

Odpornost na visoko temperaturo je lastnost vseh mikroorganizmov, ki je za vsako vrsto drugačna. Na odpornost na visoko temperaturo ali termorezistenco vplivajo različni dejavniki:

1. fiziološko stanje celic – v logaritemski fazi rasti so celice na toploto bolj občutljive kot v stacionarni fazi rasti,

2. okolje ali medij, v katerem rastejo mikroorganizmi, močno vpliva na njihovo termorezistenco. Nanjo predvsem vplivajo: kislost okolja (pH), vodna aktivnost ( $a_w$ ) in prisotnost zaščitnih snovi,
3. pH – večina mikroorganizmov je najbolj odporna na visoko temperaturo pri pH od 6,0 do 8,0. Če se kislost okolja veča, se niža termorezistenca mikroorganizmov. Zato živila, ki imajo nižji pH, potrebujejo krajši čas toplotne obdelave pri enaki temperaturi kot živila z višjim pH, da je dosežen enak učinek (uničeno enako število mikro-organizemskih celic),
4.  $a_w$  ali vodna aktivnost, ki je razmerje med količino proste vode v živilu in absolutne količine vode v živilu. Nižja ko je vodna aktivnost, večja je odpornost mikroorganizmov na visoko temperaturo (termorezistenca). Ali drugače: z rastočo vsebnostjo vode v živilu pada termorezistenca mikroorganizmov,
5. zaščitne snovi – sestavni del živil so maščobe, beljakovine in ogljikovi hidrati, ki ovijejo celico mikroorganizma z varovalnim ovojem (z zaščitnim koloidom), ki slabo prevaja toploto in zato ščiti celico pred toploto, ker ovira dostop toplote do celice.

UČINEK STERILIZACIJE. Smrtni ali letalni učinek enominutnega delovanja toplote pri določeni temperaturi na neko populacijo mikroorganizmov z določeno termorezistenco nam pokaže L-vrednost. Imenujejo jo tudi delna F-vrednost. Za izračunanje učinka sterilizacije je L-vrednost podana v tabelah.

Med toplotno obdelavo se središčna temperatura živila v začetku dviga, nato je določen čas stalna, potem pa zaradi hlajenja pada. Na mikroorganizemske celice deluje temperatura ves čas, ne samo takrat, ko je najvišja. F-vrednost bi dobili, če bi sešteli vse L-vrednosti, merjene vsako minuto. F-vrednost nam pove, v koliko minutah bo nastopil letalni efekt, ki je vsota vseh letalnih efektov med celotnim časom toplotne obdelave. Na primer:  $F_0 = 5$  nam pove, da je na živilo delovalo toliko toplote, kot bi jo to sprejelo, če bi ga 5 minut segrevali pri  $121,1^\circ\text{C}$ .

$F_0$  vrednost lahko izračunamo:

$$F_0 = D (\log a - \log b)$$

D = predvidena termorezistenca določene vrste mikroorganizmov

a = začetno število mikroorganizmov

b = želeno število mikroorganizmov po sterilizaciji

TIPI TOPLOTNE OBDELAVE. Pri pasterizaciji se živilo segreje do  $100^\circ\text{C}$ , pri tem je uničena večina vegetativnih celic bakterij, kvasovk in plesni. Postopek se uporablja za toplotno obdelavo mleka, sadnih in zelenjavnih izdelkov ter vseh živil, ki jih ne smemo obdelovati s previsoko temperaturo, da obdržijo tudi po toplotni obdelavi svojo kakovost (senzorične

lastnosti in hranilno vrednost).

Toplotna obdelava pri nizkih temperaturah je lahko kratkotrajna ali dolgotrajna, v obeh primerih pa podaljšamo obstojnost živil. Dolgotrajna toplotna obdelava traja do 30 min pri 65°C. Kratkotrajna toplotna obdelava pa traja 71-75°C do 10 min (mleko 71-75°C, 40 s). Pri toplotni obdelavi z višjo temperaturo (85-90°C) je seveda lahko čas krajši (20 s). Ta način se imenuje HTST (high temperature short time). Tako lahko toplotno obdelamo npr. sadni sok, ki ga v ploščnem izmenjevalcu toplote segrejemo na 85-87°C za 20 s in ga ohladimo na 15°C. Tako obdelan sok je dalj časa obstojen in ohrani kakovost.

Pri sterilizaciji morajo biti uničene tudi bakterijske endospore, zato delujejo na živila temperature od 115-135°C. Praviloma preživi vsaj nekaj spor, tako da živilo ni popolnoma sterilno. Za takšno živilo pravimo, da je komercialno sterilno, če dejavniki v samem živilu (pH, % sladkorja ipd.) zavirajo razvoj preživelih mikroorganizmov.

#### 8.4.1.2 Zamrzovanje

Zamrzovanje se lahko uporablja kot samostojen postopek konzerviranja ali v kombinaciji z drugimi postopki (npr. z blanširanjem). Med zamrzovanjem, skladiščenjem in tajanjem živila niso sterilna. 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. Med bakterijami so mlečnokislinske bakterije, mikrokoki in enterokoki bolj odporni na zamrzovanje kot enterobakterije.

Zato, da obdržimo optimalno kakovost in strukturo živila, moramo živilo hitro ohladiti na -18°C. Živilo mora zamrzovati 1 do 5 cm na uro. Temperatura živila se mora znižati za 1°C na minuto. Z znižanjem temperature raste število nastalih kristalov. Pri hitrem zmrzovanju nastane veliko majhnih kristalov, pri počasnem zamrzovanju (0,1 do 1 cm na uro) pa nastajajo veliki kristali.

Pri počasnem zamrzovanju nastajajo jedra kristalov najprej v medceličnini. Zaradi tvorbe kristalov se poveča koncentracija medcelične tekočine. Zaradi povečanega osmotskega pritiska začne voda iz celic prehajati v medcelični prostor, zato se na jedra kristalov nalagajo nove plasti in kristali rastejo in zato so ti pri počasnem zamrzovanju veliki. Posledica izstopanja vode iz celic je izsušitev celic. Celice so zato poškodovane in izsušene.

Pri hitrem zamrzovanju se tvorijo kristali enakomerno v celicah in v medceličnem prostoru. Ne prihaja do razlik v koncentraciji raztopin v celicah in zunaj nje, zato voda ne prehaja iz celic v medceličnino in kristali ostanejo majhni. Pri rastlinskih celicah tvorba kristalov v celicah pogosto povzroči uničenje celične strukture.

Zamrznjena živila skladiščimo pri temperaturah vsaj -18°C. Med skladiščenjem živil ne smemo odmrzovati in spet zamrzovati, ker se zaradi tega poslabša njihova kakovost.

Med skladiščenjem, tudi pravilnim, lahko pride do encimatskega kvara, ker nekateri encimi lahko delujejo tudi pri zelo nizkih temperaturah (npr. encimi lipaze so aktivni še pri temperaturi  $-20^{\circ}\text{C}$ ). Za zamrznjena živila velja, da med skladiščenjem, transportom in prodajo temperatura v središču živila ne presega  $-12^{\circ}\text{C}$ , v obrobni plasti pa temperatura ne bi smela presežati  $-9^{\circ}\text{C}$ . Kvar živil zaradi delovanja mikroorganizmov je mogoč samo, če je bila zamrzovalna veriga pretrgana.

Ker lahko v živilu ostane nekaj nezamrznjene vode tudi po zmrzovanju pri  $-30^{\circ}\text{C}$ , se lahko v zamrznjenih živilih razmnožujejo še nekateri mikroorganizmi. Nekateri bakterije se lahko razmnožujejo pri temperaturi  $-5$  do  $-7^{\circ}\text{C}$ , kvasovke pri temperaturi od  $-10$  do  $-12^{\circ}\text{C}$  in plesni pri temperaturi od  $-15$  do  $-18^{\circ}\text{C}$ . Pri tako nizkih temperaturah se lahko razmnožujejo samo aerobni mikroorganizmi, ki rastejo na površini živil. Zato so h kvarjenju v zamrznjenem stanju najbolj nagnjena živila, ki imajo veliko zunanjo površino.

Zaradi zamrzovanja, skladiščenja in odtajanja živila niso sterilna, čeprav s temi postopki uničimo določeno število mikroorganizmov. Posebej odporni na zmrzovanje so virusi in bakterijske spore. Praviloma so kvasovke in plesni bolj odporne kot bakterije. Med bakterijami so mlečnokislinske bakterije, mikrokoki in enterokoki bolj odporni na zamrzovanje kot *Pseudomonada* in *Enterobacteriaceae*. Izjema je *Clostridium perfringens*, ki že med hlajenjem hitro odmre.

#### **8.4.1.3 Radiacija ali sevanje**

##### **IONIZIRAJOČE SEVANJE**

Med ionizirajoče žarke, ki jih uporabljajo v živilski industriji, spadajo  $\beta$ - in  $\gamma$  žarki.  $\beta$ -žarki so elektroni, ki dobijo v pospeševalniku zaradi delovanja električnega polja zelo veliko energijo. Kako globoko prodrejo v živilo, je odvisno od njihove energije. Elektroni z energijo  $10\text{ MV}$  (megavolt) prodrejo v živilo največ  $5\text{ cm}$ ; torej so učinkoviti predvsem na površini. Pri uporabi elektronov z večjo energijo se lahko sprožijo jedrske reakcije, posledica je lahko radioaktivnost živil.

Gama žarki so emisija  $\text{Co}^{60}$  s frekvenco  $3 \times 10^6\text{ MHz}$  (megahertz). Uporabljajo jih za obsevanje že embalaranih živil, za pasterizacijo živil in za uničevanje patogenih mikroorganizmov v njih. V živilski industriji jih uporabljajo predvsem za zniževanje števila



mikroorganizemskih celic v živilu (v svežem sadju, zelenjavi, začimbah, mesu, žitih) in za zaviranje kaljenja (krompirja, čebule) ter za zaviranje 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 in ovirajo delovanje membran v celicah. Organizmi so različno občutljivi na žarčenje. Smrtna (letalna) doza za človeka in višje živali je 0,005-0,01 kGy (Gray). Za mrčes je letalna doza obsevanja z gama žarki 0,01-1,0 kGy. Za mikroorganizme so smrtne doze različne. 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 dozo sevanja 10 kGy uničimo vse gramnegativne bakterije in plesni, večino grampozitivnih bakterij in kvasovk. Ne uničimo pa bakterijskih spor in virusov. Živila, ki vsebujejo dozo sevanja do 10 kGy, niso nevarna zdravju ljudi.

Odpornost mikroorganizemskih celic na sevanje se pri višjih temperaturah zmanjša, pri nizkih temperaturah pa se poveča. Zmanjšanje vodne aktivnosti  $a_w$  poveča odpornost mikroorganizmov na sevanje.

Na primer: Doza, s katero uničimo *Salmonella typhimurium* je: v mesu 0,50 kGy; v zamrznjenem mesu 1,28 kGy; v posušeni ribji moki pa 1,74 kGy. Spore *Clostridium botulinum* uničimo, če živilo obsevamo z dozo 45 kGy. Pri tako visokih dozah moramo v živilu pričakovati veliko spremembo senzoričnih lastnosti. Lahko pa pride do toksikoloških sprememb v živilu. Zato je boljša kombinacija toplotne obdelave in manjše doze obsevanja. Za uničenje toksina botulina v živilu je potrebna doza vsaj 80 kGy. Pri predelavi sadja in zelenjave se uporablja kombinacija toplotne obdelave in obsevanja. To je potrebno, ker je za inaktivacijo encimov, ki povzročajo spremembo barve v sadju in zelenjavi, potrebna doza vsaj 50 kGy.

Za uničenje nesporogenih patogenih mikroorganizmov v ribah (*Vibrio parahaemolyticus*) in v mesu klavnih živali in perutnine (*Salmonella*) je potrebna doza 2,5 kGy. V zamrznjenem mesu je za enak učinek potrebna doza 5 kGy. Če želimo samo podaljšati obstojnost hlajenega mesa, je dovolj visoka doza obsevanja 0,5 kGy, ker so mikroorganizmi, ki rastejo na površini mesa (*Pseudomonada*), zelo občutljivi na sevanje.



Preglednica: Doze sevanja, potrebne za uničenje nekaterih mikroorganizmov

MIKROORGANIZMI	DOZA (kGy)
gramnegativne bakterije: <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Shigella</i> sp., <i>Salmonella</i>	nad 0,5 do 1 nad 0,5 do 3 1,5 do 3 2 do 5
grampozitivne bakterije: <i>Micrococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus</i> sp., spore <i>Bacillus</i> in <i>Clostridium</i>	3 do 5 2 do 7,5 nad 0,5 do 20 3 do 20 10 do 30
plesni: <i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp.	0,5 do 2 1,5 do 5
kvasovke: <i>Torula</i> sp., <i>Sacharomyces</i> sp., <i>Candida</i> sp. virusi	2 do 10 5 do 10 7,5 do 20 nad 30

Preglednica: Pregled živil, ki jih je v Evropi dovoljeno obsevati

ŽIVILA	NAMEN OBSEVANJA	DOZA SEVANJA (kGy)	DOVOLJENO V EVROPSKIH DRŽAVAH
KROMPIR	zaviranje kaljenja	0,1–0,15	Belgija, Danska, Francija, Nizozemska, Italija, Španija
ČEBULA	zaviranje kaljenja	0,05–0,15	Belgija, Francija, Nizozemska, Italija, Španija
SVEŽE GOBE	zaviranje zorenja	2,0–2,5	Nizozemska
SVEŽE SADJE IN ZELENJAVA	zaviranje zorenja in zmanjšanje štev. mikroorganizmov	0,15–4	Belgija, Nizozemska
ZAČIMBE	zmanjšanje števila mikroorganizmov	10	Belgija, Francija, Nizozemska
ŽITA	uničenje insektov (škodljivcev)	0,2–1	Nizozemska
MESO	zmanjšanje števila mikroorganizmov	2–8	Nizozemska

Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) navaja, da je najvišja dopustna doza sevanja, ki ne predstavlja nevarnosti za zdravje človeka, 10 kGy.

Doza obsevanja je odvisna od vrste živila in od temperature, pri kateri obsevanje poteka. Če je obsevanje premočno, lahko pride do sprememb senzoričnih lastnosti, teksture (zmehčanja obsevanega sadja) in barve. Poleg tega pa lahko pride do nastanke toksičnih snovi. Obsevanje pri višjih temperaturah povzroči hitrejše odmiranje mikroorganizmov, vendar se pri tem močno poveča reaktivnost prostih radikalov, ki so nastali zaradi razgradnje sestavin živila, ki je posledica obsevanja. Razgradnjo snovi, do katere pride zaradi sevanja, imenujemo radioliza. Zato je za nekatera živila bolj priporočljivo obsevanje v zamrznjenem stanju. Čas obsevanja se podaljša, vendar je manjša količina nastalih stranskih produktov. Posebej občutljivo je mleko, ki se mu že pri obsevanju z dozami pod 0,5 kGy spremeni okus. Veliko sprememb senzoričnih lastnosti je posledica razcepitve beljakovin in maščob; predvsem pri obsevanju maščob nastanejo številni razgradni produkti, ki vplivajo na senzorične lastnosti živil že v majhnih količinah. Zato živila, ki vsebujejo veliko maščob, ni priporočljivo konzervirati s sevanjem.

ELEKTROMAGNETNO SEVANJE. Med elektromagnetne žarke spadajo:

1. Ultravijolični žarki UV. Njihov izvor je nizkotlačna živosrebrna svetilka, ki seva UV-žarke z valovno dolžino 254 nm. Najbolj učinkoviti so žarki z valovno dolžino okoli 260 nm, ki delujejo na nukleinske kisline v mikroorganizemskih celicah. Občutljivost mikroorganizmov na UV-žarke je zelo različna. Razlikuje se celo med posameznimi vrstami istega rodu. Grampozitivne bakterije so manj občutljive kot gramnegativne paličaste bakterije. Še bolj odporne so bakterijske spore, kvasovke in plesni. 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 zmanjšanje števila mikroorganizmov v zraku v hladilnicah mesa. Živil ne smemo neomejeno obsevat z UV-žarki, ker lahko pride do sprememb senzoričnih lastnosti in zmanjšanja biološke vrednosti. Ta se zmanjša, ker zaradi delovanja UV-žarkov pride do razgradnje vitaminov. Ker imajo UV-žarki malo energije, lahko delujejo le na površini živil.
  
2. Z mikrovalovi posredno segrejemo živilo. Mikrovalovi so elektromagnetni valovi s frekvencami od 300 MHz do 300 GHz in valovno dolžino od 1 m do 1 mm. Živila so izpostavljena homogenemu električnemu polju, zato se njegova polariteta s frekvenco periodično menja. Mikrovalovi prodirajo v živilo in z menjavo polarnosti povzročijo gibanje molekul s stalnim dipolom (voda, aminokislina, peptidi). 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. Višji ko je delež vode in proteinov v živilu, boljša je pretvorba energije. Voda absorbira energijo bistveno bolje kot led. Zato so mikrovalovi bolj uporabni za kuhanje kot za odtajevanje. Za enak termičen učinek je poraba energije 10- do 20-krat večja pri uporabi mikrovalov kot pri uporabi pare. Če je dovolj vode, lahko zraste temperatura obsevanega živila do temperature pasterizacije maks. 100° C. Šele takrat, če je v živilu manj kot 10% vode, lahko pride na nekaterih mestih do pregetja in ožganin (prismojeno živilo).
  
3. Energija radiofrekventnih valov, ki imajo nizko frekvenco od 1 do 800 MHz, povzroči denaturacijo beljakovin in trganje bioloških membran v mikroorganizemskih celicah. Ob obsevanju s temi valovi se živilo ne segreje. Z njimi lahko inaktiviramo mikroorganizme in hkrati zelo malo vplivamo na kakovost živila. Lahko jih pa uporabljamo za odtajanje živil. Tega obsevanja ne moremo uporabljati samostojno v predelavi živil, ampak vedno v kombinaciji s kakšnim drugim postopkom konzerviranja živil.

- Oscilirajoče magnetno polje se uporablja za inaktivacijo velikega števila različnih mikroorganizmov, predvsem za bakterije in kvasovke. En sam impulz takega magnetnega polja lahko v slabo električno prevodnih živilih stokrat zmanjša število mikroorganizmov. Zaradi delovanja magnetnega polja se živilo segreje največ za 5° C. Oscilirajoče magnetno polje se uporablja za pasterizacijo že embaliranih živil. Obdelava živil z oscilirajočim magnetnim poljem ne more biti samostojna metoda konzerviranja živil, vedno jo uporabljamo v kombinaciji z drugimi metodami konzerviranja.
- Impulzi visokonapetostnega električnega polja se uporabljajo za inaktivacijo mikroorganizmov v živilih. Zaradi delovanja tega polja pride do poškodb membran v celicah. Spremeni se prepustnost plazmine membrane in celica odmre. Tega sevanja ne moremo uporabljati samostojno, vedno ga kombiniramo z drugimi načini konzerviranja.

### 8.4.1.4 Ultravisok pritisk

To je pritisk 3000 barov in več. Tako visok pritisk povzroča inaktivacijo encimov in mikroorganizmov. Stopnja inaktivacije mikroorganizmov je odvisna od vodne aktivnosti  $a_w$ , kislosti okolja in temperature živila. Pritisk uniči celične membrane, zato celice odmrejo. Uporabljamo ga v kombinaciji z visoko temperaturo. Ta postopek imenujemo visokotlačna sterilizacija.

### 8.4.1.5 Ultrazvok

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

## 8.4.2 Kemijski postopki

### 8.4.2.1 Vodna aktivnost $a_w$

Je pojem, ki izraža razliko med absolutno količino vode v živilu in količino proste vode v njem. V vsakem živilu je določena količina vode (absolutna količina vode), del te je kemijsko vezan na kemijske snovi v živilu, 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  $a_w = 1,00$ .

Z uravnavanjem vodne aktivnosti se lahko usmerjajo tehnološki procesi in vpliva na obstojnost živil. 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.

Vodno aktivnost lahko prikažemo kot razmerje med parcialnim pritiskom vode v živilu ali raztopini in tlakom čiste vodne pare pri isti temperaturi in pritisku.

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

$P$  = parcialni tlak vode v živilu

$P_0$  = tlak čiste vodne pare

Od vseh mikroorganizmov so na nizke vrednosti vodne aktivnosti najbolj odporne plesni.

Preglednica: Minimalne vrednosti  $a_w$  za rast mikroorganizmov

OBMOČJE $a_w$	SKUPINA ORGANIZMOV	MINIMALNA VREDNOST $a_w$	ORGANIZMI
0,97–0,96	gramnegativne paličaste bakterije Clostridium botulinum	0,97	<i>Pseudomonas</i>
		0,96	<i>Acinetobacter</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Shigella</i> , <i>C. botulinum</i>
0,95-0,91	večina bakterij	0,95	salmonele in druge <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Microbacterium</i> ,
		0,94	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Pediococcus</i>
0,94-0,87	kvasovke	0,94	<i>Candida utilis</i> ,
		0,88	večina kvarljivcev,
		0,87	<i>Debaryomyces</i>
0,90-0,86	grampozitivni koki	0,90	<i>Micrococcus</i> ,
		0,86	<i>Staphylococcus aureus</i>
0,93-0,80	plesni	0,93	<i>Rhizopus nigricans</i> ,
		0,83	<i>Penicillium expansum</i> ,
		0,81	<i>P. patulum</i> ,
		0,80	večina kvarljivcev

OBMOČJE $a_w$	SKUPINA ORGANIZMOV	MINIMALNA VREDNOST $a_w$	ORGANIZMI
0,80-0,75 (0,60) 0,65-0,60	halofilne bakterije osmotolerantne (filne) kvasovke	0,75	<i>Halobacterium halobium</i>
		0,62	<i>Sacharomyces rouxii</i>
0,78-0,60	kserotolerantne (filne) plesni	0,78	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. glaucus</i> , <i>Chrysosporium fastidium</i> , <i>Xeromonas bisporus</i>
		0,77	
		0,70	
		0,69	
		0,60	

#### 8.4.2.2 Postopki konzerviranja živil, ki zmanjšajo vodno aktivnost

1. Sušenje. Med sušenjem na soncu, zraku, toploti ali v vakuumu se zmanjša količina vode v živilu, zato se zmanjša vodna aktivnost. Pri kontroli procesa sušenja določamo količino vode v živilu, ker je lažje merljiva kot vodna aktivnost. Če želimo imeti obstojna sušena živila, vodna aktivnost v njih ne sme presegati 0,7. Ta vrednost je kritična meja, vse vrednosti, manjše od te, zagotavljajo mikrobiološko stabilno živilo. Med sušenjem je potrebno kritično mejo vodne aktivnosti čim hitreje doseči oziroma vodno aktivnost znižati pod kritično mejo. Poznamo več različnih načinov sušenja, ki se med seboj razlikujejo po višini temperature, relativni vlažnosti zraka, času (hitrosti) in seveda po napravah, v ali na katerih sušenje poteka. V živilski industriji pogosto uporabljajo sušenje na valjih in sušenje z razprševanjem (spray). Pri metodi sušenja na valjih je najvišja temperatura 90° C. Tako temperaturo preživijo bakterijske endospore in termorezistentne bakterije (*Microbacterium lacticum* v mleku in mlečnih izdelkih). Pri sušenju z razprševanjem se živila sušijo v toku zraka pri 200° C, zato je število mikroorganizmov, ki lahko preživijo sušenje z razprševanjem, izredno majhno. Najbolje ohrani senzorične lastnosti in hranilno vrednost sušenje z zamrzovanjem v vakuumu (liofilizacija). Živila najprej hitro zamrznejo, nato pa ob delovanju toplote pri tlaku 0,3 do 2,5 milibara ali 30 do 250 Pa sušijo. Med liofilizacijo se celice mikroorganizmov malo poškodujejo, zato lahko uporabljamo liofilizacijo za konzerviranje mikrobioloških kultur. Tega postopka ne moremo uporabljati za zmanjšanje števila mikroorganizmov v živilu, lahko pa ga uporabljamo za podaljšanje njegove obstojnosti.

2. Soljenje (dodajanje soli v živilo). S soljenjem lahko konzerviramo (podaljšamo obstojnost) živilo predvsem zato, ker z njim znižamo vodno aktivnost v živilu. Zaradi soljenja pride do plazmolize bakterijskih celic, kar močno zavira delovanje bakterij. K zaviranju razvoja mikroorganizmov v soljenem živilu posredno pripomore tudi zmanjšanje topnosti kisika. Zmanjšanje vrednosti vodne aktivnosti zavre delovanje mikroorganizmom, ki kvarijo živila, kot so: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*, vrste rodov *Clostridium* in *Bacillus*. Na razvoj *Staphylococcus aureus*, mikrokokov, halofilnih bakterij in osmotolerantnih kvasovk le malo vplivata koncentracija soli in temperatura.

Živila lahko solijo na suh, moker ali kombiniran način. Dodajajo lahko kuhinjsko sol (NaCl) ali nitratno ali nitritno sol (razsoljevanje z razsolom, v katerem so poleg kuhinjske soli še Na-nitrat in Na-nitrit, sladkor, askorbinska kislina). Koncentracija soli v različnih živilih je različna:

- sir 1-3 %,
- margarina do 19 %,
- ribe: močno slane 20-4 %,
- srednje slane 6-20 %,
- malo slane 8-10 %,
- kaviar najmanj 6 %.

3. Slajenje (dodajanje sladkorja v živilo). Sladkor zavira razvoj mikroorganizmov v živilu, ker zniža vrednost vodne aktivnosti. Lahko dodajamo kristalni sladkor ali invertni sladkor. Večji ko je delež invertnega sladkorja v sladkornem pripravku, ki ga dodajamo živilu, bolj bo znižal vrednost vodne aktivnosti. Še bolj znižujejo  $a_w$  pripravki iz škrobnih sirupov (z visokim deležem glukoze). Živila, ki jih konzervirajo z dodajanjem sladkorja ob istočasnem zgoščevanju, so predvsem izdelki iz sadja, kot so: marmelade, džemi, želeji in sadni sirupi. Izdelki, ki vsebujejo vsaj 60 % sladkorja, imajo vrednost vodne aktivnosti okrog 0,80. Pri taki vrednosti vodne aktivnosti lahko rastejo plesni. V živilih, konzerviranih s sladkorjem, se kot kvarljivci pojavljajo predvsem plesni različnih vrst iz rodov *Penicillium* in *Aspergillus*. Živila se s temi plesnimi največkrat okužijo sekundarno. Sadne sirupe izdelajo iz sadnih sokov, ki jih koncentrirajo in jim dodajo do 68 % sladkorja. Kvarijo jih skoraj izključno osmofilne kvasovke, kot je *Zygosacharomyces rouxii*. Marcipan, percipan in drugi podobni izdelki vsebujejo 60% sladkorja in več. V njih se kljub visokemu deležu sladkorja lahko razvijejo osmofilne in osmotolerantne kvasovke, ki med vrenjem izločajo CO<sub>2</sub>. Izdelki se lahko zaradi tvorbe plina razpočijo.

#### 8.4.2.2 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.

Pri kvarjenju živil sodeluje največ mikroorganizmov, katerih optimalna pH vrednost je v območju od 6 do 8. Najnižji pH za večino bakterij, ki kvarijo živila, je od 4,4 do 4,5. Mednje spadajo: *Enterobacteriaceae*, vrste rodu *Bacillus*, *Clostridium botulinum*. Kvarljivci živil kot *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* so občutljivi na kisline. Na nizek pH sta neobčutljiva *Salmonella typhi* in *Staphylococcus aureus*.

Manj občutljive kot bakterije so na nizek pH kvasovke in plesni, ki rastejo tudi v močno kislem okolju (pH 4,0). Na občutljivost mikroorganizmov na kislino okolje vplivajo: snovi v živilu, zmanjšanje vodne aktivnosti, oskrba s kisikom, postopki predelave in razmere skladiščenja. Najvišji pH, ki ga prenesejo bakterije, plesni in kvasovke, je med 8,0 in 9,0. Od živil ima samo jajčni beljak višji pH.


Preglednica: pH vrednosti različnih živil

pH OBMOČJE	ŽIVILO	pH VREDNOST
alkalno pH nad 7	jajčni beljak	do 9,6
nevtralnno pH = 7,0–6,5	mleko,	7,0–6,8
	garnele (škampi),	7,0–6,8
	ostrige,	6,7–6,3
	perutnina	6,7–6,3
slabo kislo pH = 6,5–5,3	meso,	5,8–5,4
	ribe,	6,6–5,7
	bel kruh,	6,0–5,0
	veliko vrst zelenjave	6,5–5,0
srednje kislo pH = 5,3–4,5	veliko vrst živil v pločevinkah	
kislo pH = 4,5–3,7	v kis vložena zelenjava,	4,5–3,5
	paradižnik,	4,4–4,0
	jogurt,	4,2–3,8
	majoneza,	4,1–3,0
	veliko vrst sadja	4,5–3,0
močno kislo pH nad 3,7	kislo zelje,	3,7–3,1
	jabolka, jabolčni sok,	3,5–3,3
	slive,	3,0–2,8
	limone	2,4–2,2

Razvoja mikroorganizmov v živilu ne zavirajo samo prosti  $H^+$  ioni, ampak tudi nedisociirane kisline. Nedisociirane organske kisline lahko pridejo v notranjost celice skozi membrane, ki vsebujejo lipide. Posebno lahko vdirajo v celice slabo disociirane organske kisline (ocetna, mlečna kislina). Razvoj mikroorganizmov zavirajo, ker povzročijo zakisanje notranjosti celice in ovirajo promet snovi med celico in okoljem ter ovirajo transport hranilnih snovi. Stopnja zakisanja celice je med drugim odvisna tudi od tega, ali se lahko kislinski anion metabolizira in  $H^+$  izloči. Pri enakem pH je zato slaba organska kislina bolj učinkovit zaviralec razvoja mikroorganizmov kot močno disociirana kislina (HCl). Seveda je za vzpostavitev enake vrednosti pH potrebna večja količina slabe kisline kakor močne kisline. V proizvodnji živil se uporabljajo organske kisline in njihove soli (ocetna, benzojeva, sorbinska, citronska, mlečna, propionska kislina). Zniževanje pH kot postopek za podaljšanje obstojnosti živil se kombinira z drugimi postopki konzerviranja živil (toplotno obdelavo, soljenjem in drugimi).

Preglednica: Minimalne in maksimalne vrednosti pH za rast mikroorganizmov

MIKROORGANIZMI	MINIMALNA VREDNOST pH	MAKSIMALNA VREDNOST pH
<i>Micrococcus sp.</i>	5,6	8,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	8,0
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	5,2	9,2
<i>Clostridium botulinum</i> Tip E	5,1-5,2	
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,0	9,0
<i>Bacillus cereus</i>	4,9	9,3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	11,0
<i>Clostridium botulinum</i> Tip A,B	4,5 4,0	8,5 9,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0-4,5	8-9,6
salmonele	4,4	9,0
<i>Escherichia coli</i>	4,4	9,2
<i>Proteus vulgaris</i>	4,3-4,8	9,2
<i>Streptococcus lactis</i>		
mlečnokislinske bakterije		
<i>Lactobacillus spp.</i>	3,8-4,4	7,2
ocetnokislinske bakterije		
<i>Acetobacter acidophilus</i>	2,6	4,3

MIKROORGANIZMI	MINIMALNA VREDNOST pH	MAKSIMALNA VREDNOST pH
kvasovke 		
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	2,3	8,6
plesni		
<i>Penicillium italicum</i>	1,9	9,3
<i>Aspergillus oryzae</i>	1,6	9,3

### 8.4.2.3 Redoks potencial ali $E_h$

Proces oksidacije je oddajanje elektronov, redukcija pa je sprejemanje elektronov. Merilo pripravljenosti (tendence) neke snovi za oddajanje elektronov je redoks potencial. Meri se količina oddanih elektronov glede na primerjalno platinasto elektrodo pri standardnih pogojih. Redoks potencial izračunamo:

$$E_h = E_o + \frac{RT \text{ oks}}{nF \ln(\text{red})}$$

$E_o$  = standardni redoks potencial pri pH 0  
 $R$  = plinska konstanta  
 $T$  = absolutna temperatura  
 $n$  = število elektronov  
 $F$  = faradeyeva konstanta

Redoks potencial je odvisen od razmerja med oksidiranimi in reduciranimi snovmi. To razmerje je v živilu odvisno od kemijske sestave živila in parcialnega pritiska kisika v njem. Redoks potencial se v živilih lahko močno zniža zaradi:

1. dodajanja reducentov, kot je askorbinska kislina,
2. rasti mikroorganizmov, katerega posledica je poraba kisika (aerobni), nastanek vodika in tvorba reduciranih produktov fermentacije (anaerobni),
3. embalaže, ki ne prepušča plinov.

Od redoks potenciala živila je odvisno, katere vrste mikroorganizmov bodo rasle v živilu. Aerobne bakterije potrebujejo visoke vrednosti  $E_h$ ; *Pseudomonas fluorescens* raste v območju od +100 do +500 mV. Fakultativno anaerobne bakterije lahko rastejo pri pozitivnih in negativnih vrednostih  $E_h$ :

*Staphylococcus aureus* se razmnožuje v območju od -200 do +200 mV. Optimalna vrednost za rast in tvorbo toksina je +200 mV. Večina anaerobnih bakterij (klostridiji) potrebuje za rast nizke vrednosti  $E_h$ , in sicer okrog -300 mV. Nekatere vrste iz rodu *Clostridium* (*C. perfringens*) lahko rastejo tudi pri višjih vrednostih  $E_h$ , in sicer +30 mV in več, še posebej, če kisik ni navzoč.

Vrednosti v živilih so lahko zelo različne in se tudi spreminjajo s časom skladiščenja. V mesu je vrednost  $E_n$  takoj po zakolu +250 mV, med skladiščenjem (hlajenjem) se lahko zmanjša na -200 mV. Tako nizek  $E_n$  omogoča rast samo anaerobnim ali fakultativno anaerobnim mikroorganizmom. Podobne razmere so v siru (od -20 do -200 mV) in živilih v pločevinkah (-20 do -150 mV). V rastlinskih živilih, na primer v sadju in sadnih sokovih, so vrednosti  $E_n$  višje (+300 do +400 mV), zato v njih rastejo in jih kvarijo predvsem aerobne bakterije in plesni. Vrednost  $E_n$  določa, ali bodo v živilu rasli aerobni ali anaerobni mikroorganizmi.

Plin ozon ( $O_3$ ) ima veliko moč oksidacije. Mikroorganizmi v stiku z njim odmrejo, ker pride do oksidacije aminokislin in nukleinskih kislin v celici. 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), sanitacijo zraka v hladilnicah mesa in za razkuževanje embalaže.

#### **8.4.2.4 Konzervansi**

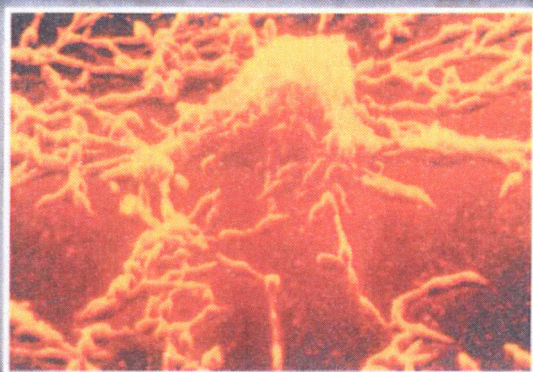
Le redke snovi so toksikološko tako neoporečne, da jih lahko uporabljamo za konzerviranje živil. Mednje spadajo predvsem mlečna, očetna in citronska kislina. Poleg teh med konzervanse spadajo še sorbinska kislina in njene soli (sorbati), benzojeva kislina in njene soli (benzoati), mravljična kislina in njene soli (formiati), propionska kislina in njene soli (propionati), žveplov dioksid, natrijev nitrit in natamycin (antibiotik).

Preglednica: Uporaba konzervansov v živilih

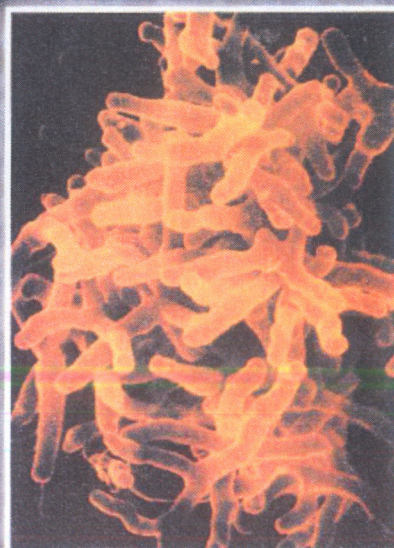
KONZERVANS	ŽIVILA, v katerih se uporablja
sorbinska kislina in Na-, K-, Ca-sorbati	izdelki iz rib, margarina, gotova živila z dodatkom majoneze, površina živil (sira, trajnih klobas, trajnih suhomesnatih izdelkov), sadni polizdelki, marmelade, nadevi za slaščice, brezalkoholne osvežilne pijače, vino, trajni kruhi
benzojeva kislina in Na-, K-, Ca-benzoati	izdelki iz rib, gotove jedi z majonezo, sadni polizdelki, brezalkoholne osvežilne pijače
mravljična (formična) kislina in Na-, Ca-formiati	izdelki iz rib, v kis vložena zelenjava
propionska kislina in Na-, K-, Ca-propionati	površinska uporaba in uporaba v polizdelkih
	trajni kruh, pekovsko pecivo



**Paličasta bakterija  
*Clostridium tetanii*,  
ki povzroča tetanus.**



***Mycoplasma pneumoniae*.  
Bakterija nima  
celične stene.  
Je pleomorfna,  
razmnožuje se  
s fragmentacijo  
filamentov.**

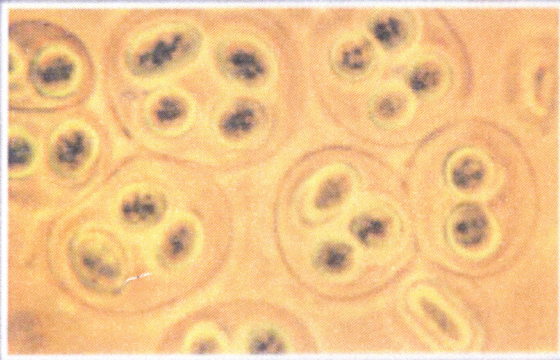


***Actinomyces* sp.  
Vidna je razvejana  
oblika filamentov.**

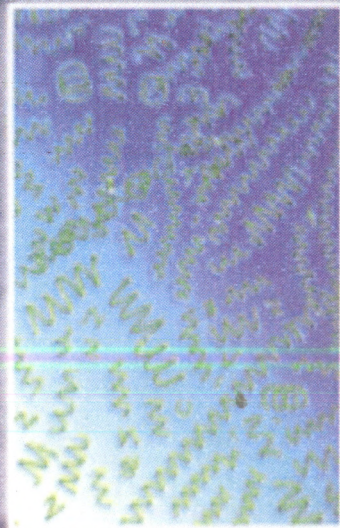




a)



b)



c)

**Cyanobacteria**

- a) Svetlobna mikrografija cianobakterij *Anabaena spiroides*. Opazna je heterocista.
- b) Tako je pod svetlobnim faznokontrastnim mikroskopom videti cianobakterija *Gleocapsa*. Tri ali štiri celice so povezane z glikokaliksom.
- c) Elektronska mikrografija cianobakterije *Anabaena spiroides*. Vidna je njena vijajna oblika.





**Konjugacija paramecija. Spolno razmnoževanje pri ciliatih poteka s konjugacijo. Vsaka celica ima mikronukleus in makronukleus. Mikronukleus je haploiden in sodeluje pri konjugaciji. Iz ene celice se med konjugacijo mikronukleus preseli v drugo celico.**

**Uporaba bioloških sredstev za očiščenje posledic razlita nafte**

**a) Obala na Green Islandu na Aljaski, ki jo je onesnažila nafta, razlita iz tankerja Exxon Valdez.**



**b) Ista obala po trikratnem nanosu zmesi bakterij in hranilnih snovi brez ogljika (gnojila), ki močno pospešijo delovanje mikroorganizmov.**





**Sekundarna obdelava  
blata**

a) Aeracijski tank.

Površina je  
vzvalovana zaradi  
vpihovanja zraka  
(aeracija).

b) Skica sekundarno  
obdelave blata.



**Sekundarna  
obdelava odpadnih  
voda (pretočni  
filtr)**

a) Odpadne vode  
prelije skozi  
rotirajočo cev  
na površino  
pretočnega filtra

b) Skica  
pretočnega filtra

**Predstava trdnih  
odpadkov**

a) Izločanje  
biološke  
nerazgradljivih  
snovi

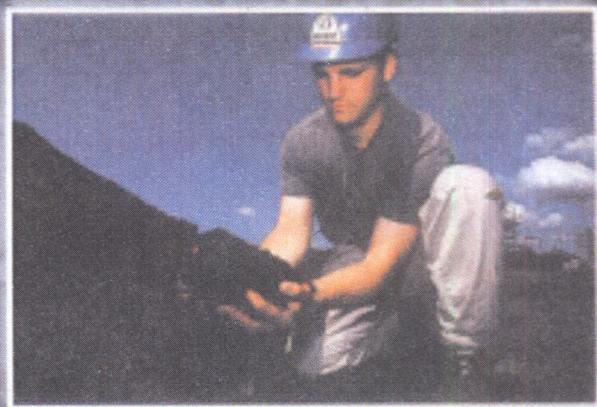
d) Predelan  
material tehta  
veliko manj  
kot poprežnji  
odpadki. Tako  
pridobljen  
kompost uporabijo  
kot prst (zemljo).







b) Razgradljivi odpadki grejo v rotirajoč digestor, ki poveča učinkovitost bakterij in počasi pomika material naprej.



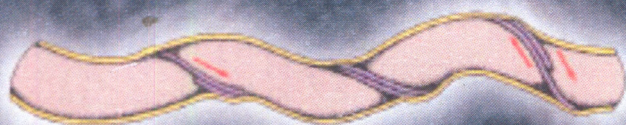
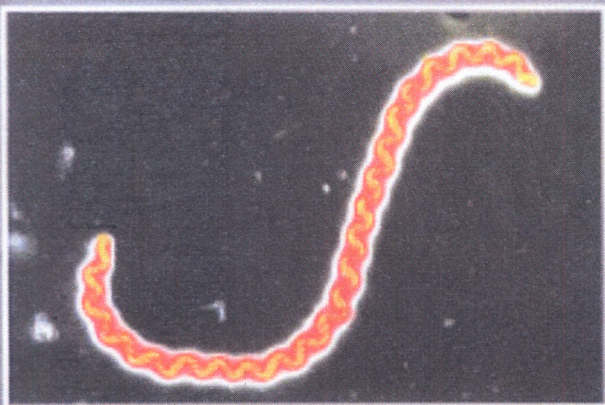
c) Razgrajen material izhaja iz digestorja, v katerem je zaradi delovanja mikroorganizmov temperatura okrog 60° C.



d) Predelan material tehta veliko manj kot poprejšnji odpadki. Tako pridobljen kompost uporabijo kot prst (zemljo).

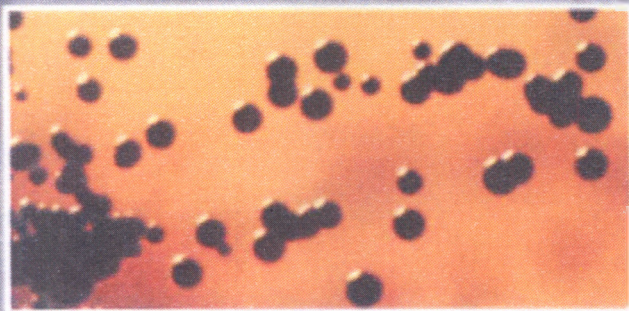


Fotomikrografija  
spirohete  
*Leptospira* na  
kateri so vidni  
aksialni filamenti.

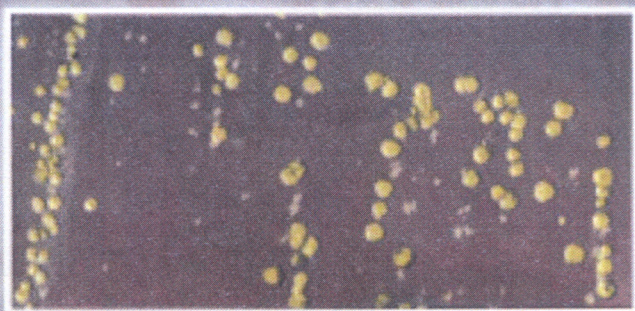


Skica aksialnih  
filamentov, ki  
ovljujejo del  
spirohete.

Bakterijske  
kolonije na  
različnih hranilnih  
podlagah  
a) *Staphylococcus  
aureus* na teluritno  
- glicinski hranilni  
podlagi

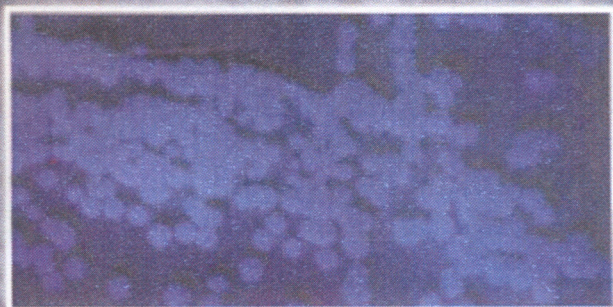
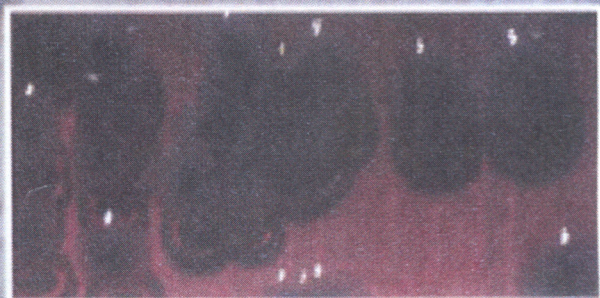






b) *Escherichia coli* na EMB gojišču

c) *Enterobacter aerogenes* na EMB gojišču

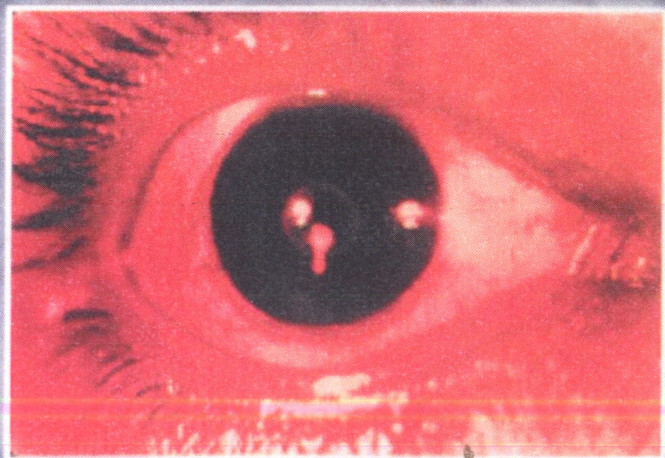


d) *Pseudomonas aeruginosa*. Pod UV lučjo je viden flourescirajoč pigment, ki ga tvori *P. aeruginosa*.





a) Cista *Taenia solium*. Viden je skoleks trakulje v mehurčku napojenem s tekočino.  
Velikost 6 - 18 mm.  
1 - Skoleks  
2 - Mehurček s tekočino



b) Ciste se lahko pojavijo v različnih tkivih.  
Na sliki je cista v očesu.

KONZERVANS	ŽIVILA, v katerih se uporablja
SO <sub>2</sub> in snovi, ki ga izločajo	H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> – kot konzervans, antioksidant, stabilizator barve v glukoznem sirupu, kisu, marmeladah, želejih, izdelkih iz krompirja, vinu, suhi zelenjavi in sadju
NaNO <sub>2</sub>	razsoljeni mesni izdelki
natamycin	obdelava površine sirov, ki imajo skorjo
difenil, ortofenifenol plesnivost (ovojni papir, vosek, voda za PHB-ester	obdelava površine sadja za preprečevanje pranje sadja) izdelki iz rib, nadevi za slaščice

PHB-ester = P-hidroksibenzojeva kislina – ester

Toksikološka neoporečnost konzervansov. ADI vrednost ali "acceptable daily intake" je za varnostni faktor 100 zmanjšana koncentracija konzervansa, ki pri poskusih na živalih še ni pokazala nobenega toksičnega učinka<sup>1</sup>. ADI vrednost podajajo v mg/kg telesne teže na dan. Za določanje ADI vrednosti pri poskusih na živalih določajo oziroma preverjajo:

1. akutno toksičnost,
2. subkronično in kronično toksičnost (dodajanje v krmo dolgo časa),
3. kancerogenost (tvorba tumorov),
4. mutagenost (spremembe dednih lastnosti),
5. teratogenost (toksičnost delovanja na zarodek),
6. biokemično delovanje v organizmu (telesu) – resorbicija, porazdelitev, akumuliranje, vključevanje v metabolizem, izločanje.

Sorbinska kislina ima zelo ugodno vrednost ADI, zato jo veliko uporabljajo kot konzervans. Mravljična kislina ima neprimerno ADI vrednost, zato je v nekaterih državah kot konzervans že prepovedana.<sup>2</sup> Poseben problem je žveplena kislina, ki ima zelo neugodno ADI vrednost. Pri poskusih na živalih so ugotovili, da je subkronično in kronično toksična, da povzroča akutne zastrupitve (glavobol, slabost, drisko), reagira s telesnimi encimi, vitamini in drugimi snovmi. Človek s telesno težo 70 kg lahko dnevno zaužije samo 49 mg žveplene

<sup>1</sup> ADI vrednost je količina konzervansa (izražena v mg/kg telesne teže), ki jo potrošnik lahko znižuje dnevno brez posledic za svoje zdravje.

<sup>2</sup> Pri nas dovoljena uporaba na površini živil in polizdelkov.



kislina. Ta količina je lahko že z nekaj kozarci žveplanega vina, ki lahko vsebuje tudi do 400 mg žveplene kisline v enem litru, prekoračena.

Nitrit je v velikih koncentracijah, ki jih z uživanjem razsoljenih živil praviloma ne moremo doseči, toksičen. V kislem okolju pride do redukcije in nastane NO, ki s krvnim barvilom mioglobinom tvori nitrosomioglobin, ki preprečuje transport kisika. Večjo nevarnost predstavlja možnost nastanka nitrosaminov, ki so kancerogeni. Večja možnost tvorbe nitrozamina je, če uporabimo kot surovino meso, ki ni več sveže in se je že začelo kvariti zaradi mikroorganizmov.

Preglednica: Vrednosti ADI za različne konzervanse in njihovo delovanje

KONZERVANS	ADI vrednost	bakterije	kvasovke	plesni
sorbinska kislina	0–25	+	++	++
benzojeva kislina	0–5	+ / ++	++	++
PHB-ester	0–10	+ / ++	++	++
mravljična kislina	0–3	+	++	++
propionska kislina	ni omejitve	+	++	++
žveplena kislina	0–0,7	++	+	+
nitrit	0,2	++	–	–

ADI vrednost podana v mg/kg telesne teže/dan

- ni delovanja na mikroorganizme
- + očitno do slabo delovanje na mikroorganizme
- ++ dobro delovanje

Spekter delovanja konzervansov. Večina konzervansov v dovoljenih koncentracijah deluje predvsem na plesni in kvasovke. Razvoj bakterij zavirajo samo delno. Na primer propionska kislina je učinkovita proti *Bacillus subtilis*, bakteriji, ki povzroča nitkavost kruha. Druge grampozitivne bakterije pa zavira le malo. Je pa slabo delovanje propionske kisline proti mlečnokislinskim bakterijam zaželeno pri konzerviranju biološko kisane zelenjave (kisanje z mlečnokislinskimi bakterijami), ker se ohrani naravna mikroflora. PBH-ester zavira predvsem razvoj plesni (fungicidno delovanje), lahko pa ga uporabimo za zaviranje razvoja številnih vrst bakterij. Žveplena kislina zavira predvsem razvoj bakterij. Ob podpori NaCl deluje nitrit samo na bakterije. Posebno pomembno je, da zavira razvoj *Clostridium botulinum* v razsoljenem mesu in mesnih izdelkih.

Konzervansi so večinoma kisline, ki morajo prodreti v celico, da lahko delujejo. V celici

zavirajo delovanje različnih encimov ali poškodujejo celico zaradi reakcij s celičnimi mem-branami ali drugimi snovmi v celici. Vanjo prodrejo predvsem tiste nedisociirane kisline, ki so topne v maščobah, ker so sestavni del plazmatske membrane lipidi. Delež mikrobiološko aktivnih nedisociiranih konzervansov se večja s padajočim pH, zato vsi konzervansi delujejo predvsem v kislem okolju. Ker imata nizko konstanto disociacije, delujeta propionska kislina in sorbinska kislina tudi v slabo kislem okolju. PHB pa lahko deluje tudi v nevtralnem okolju (polnila za slaščice in pecivo). Benzojeva in mravljična kislina imata zadosten učinek v močno kislih živilih. Žveplena kislina ima zelo visoko konstanto disociacije, zato je dovolj učinkovita samo v okolju s pH vrednostjo nižjo od 3,5.

V emulzijah maščobe in vode rastejo mikroorganizmi predvsem v vodni fazi. Konzervansi, ki se topijo bolje v maščobi, imajo zato v živilih, ki vsebujejo veliko maščob, zelo zmanjšan učinek delovanja. Zato je za dobro delovanje konzervansa zelo pomembno razmerje med koncentracijo konzervansa v maščobni fazi živila in koncentracijo konzervansa v vodni fazi živila. Na razmerje vplivajo: vrsta konzervansa in vrednost pH v živilu, vrsta in koncentracija raztopljene snovi ter vrsta maščobe. Propionova in sorbinska kislina imata nizek koeficient (razmerje), zato sta uporabna za konzerviranje margarine. Koeficient PHB-propilestra je zelo visok, zato ga ni mogoče uporabljati za konzerviranje živil, ki vsebujejo veliko maščob.

### 8.4.3 Biološki postopki

#### 8.4.3.1 Mlečnokislinska fermentacija

Mlečnokislinsko fermentacijo ali vrenje uporabljamo za izdelavo različnih živil. Jogurta, kislega mleka, kefirja, kislega zelja in repe brez delovanja mlečnokislinskih bakterij ne bi mogli izdelati.

Mlečnokislinske bakterije (iz rodov *Lactobacillus* in *Streptococcus*) mlečni sladkor prevrevajo v mlečno kislino. Ta potem deluje kot konzervans, ker zniža pH živila. Mlečnokislinske bakterije dodajamo 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 simbiozi (sožitju) več različnih vrst mikroorganizmov. Tudi v živilih so lahko čiste ali mešane kulture. V mešanih kulturah vsak član skupnosti 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 simbiozi ali antibiozi.

Simbioza imenujemo način skupnega življenja, pri katerem člani skupnosti spodbujajoče delujejo na enega ali vse člane skupnosti. Antibioza je način skupnega življenja, pri

katerem se zaradi delovanja enega ali več članov skupnosti zaustavi rast in razmnoževanje enega ali več članov skupnosti. Lahko pa zaradi delovanja enega ali več članov skupnosti pride do uničenja enega ali več članov. Vzrok zaustavitve rasti ali uničenja je lahko boj za hrano, snovi, ki jih izločajo v okolje in podobno.

### Vprašanja:

1. Razloži, kakšne postopke lahko uporabljamo v živilski industriji za zaviranje rasti in razvoja mikroorganizmov.
2. Razloži, na kakšen način lahko ohranimo optimalno kakovost živila in mu podaljšamo obstojnost.
3. Razloži, katere tipe toplotne obdelave živil poznamo in po čem se razlikujejo med seboj.
4. Ugotovi dejavnike, glede na katere izbiramo način toplotne obdelave, primeren za posamezno živilo.
5. Razloži, kaj je D-vrednost, kaj z njo opišemo in kako jo izračunamo.
6. Razloži, kaj je Q-vrednost, kaj z njo opišemo in kako jo izračunamo.
7. Razloži, od česa je odvisna odpornost mikroorganizmov na visoko temperaturo.
8. Razloži, kako lahko določimo učinek sterilizacije.
9. Razloži, kako hitrost zamrzovanja vpliva na zgradbo živila.
10. Opiši temperature zamrzovanja in skladiščenja živil.
11. Razloži, kaj so ionizirajoči žarki in za kaj jih lahko v živilski industriji uporabimo.
12. Razloži način in namen uporabe UV žarkov v živilski industriji.
13. Razloži, zakaj mikrovalovi živilo segrejejo in kako jih v živilski industriji lahko uporabimo.
14. Razloži, kaj se dogaja v živilu, ki ga obsevamo z radiofrekventnimi valovi.
15. Ovrednoti uporabnost radiofrekventnih valov v živilski industriji.
16. Razloži način in namen uporabe oscilirajočega magnetnega polja v živilski industriji.
17. Opiši, kako lahko uporabljamo ultrazvok v živilski industriji.
18. Razloži, kaj je  $a_w$  in s katerimi postopki konzerviranja jo zmanjšamo.
19. Razloži, kako lahko pH živila vpliva na njegovo obstojnost.
20. Razloži, kaj je redoks potencial in kateri dejavniki vplivajo nanj.
21. Razloži, katere konzervanse uporabljamo v živilski industriji.
22. Razvrsti konzervanse po škodljivosti za človekovo zdravje.
23. Poišči konzervanse, ki jih brez nevarnosti za človekovo zdravje lahko dodajamo v živila.
24. Ugotovi, kateri postopki podaljšanja obstojnosti živil najmanj prizadenejo hranilno vrednost živil in njihove senzorične lastnosti.

---

# MIKROBIOLOGIJA ŽIVIL



**Ključne besede:** posamezne skupine živil, žito, sadje, zelenjava, mleko, meso, patogeni mikroorganizmi, mikroorganizmi, ki kvarijo živila, načini okužbe, kvar živil

## 9.1 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 za vsa živila je tudi za žita, moko in mlevske izdelke največji povzročitelj okužb človek – posredno ali neposredno. Žita in moko okužijo predvsem plesni iz rodov: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* in *Mucor*.

### 9.1.1 MIKROBIOLOGIJA KRUHA

Vsako kvašeno testo tudi krušno lahko izdelamo samo z dodatkom pekovskega kvasa (*Sacharomyces cerevisiae*), ki povzroči vzhajanje testa. V moki se škrob pod vplivom encima amilaze razgradi na dekstrine, glukozo in maltozo. Dodatek kvasa sproži aerobno dihanje kvasovk. Optimalna temperatura alkoholnega vrenja je 30°C. Nastane CO<sub>2</sub>, ki se nabira v testu in ga dviguje. Pri pripravi nekaterih vrst testa (npr. za kisli kruh ali kumis) se poleg kvasovk dodajajo tudi mlečnokislinske bakterije. Ker je kakovost kruha zelo odvisna od kakovosti kvasa, je potrebno kakovost kvasa stalno nadzirati. Pri kvasovkah nadzorujejo njihovo biokemijsko in mikrobiološko kakovost.

#### 9.1.1.1 Okužbe kruha

1. Nitkavost. Na kruhu in drugih pekarskih izdelkih se pogosto pojavlja nitkavost. Kruh ima sladkast vonj po prezrelih melonah, sredica postane mehka in tvorijo se rumeno

rjavi madeži. Nitkavost je posledica rasti bakterije *Bacillus subtilis*, ki tvori termorezistentne spore (preživijo peko). Okužbo preprečijo z uporabo čiste, neokužene surovine. Stroji, aparati in naprave morajo biti čisti, brez ostankov testa. Po končani peki moramo kruh čim prej ohladiti. Rast bakterij upočasni tudi uporaba konzervansov.

2. Plesnivost. Kruh je dovolj vlažen za rast raznih vrst plesni. Pomemben dejavnik za rast raznih vrst plesni je tudi temperatura.

Preglednica: Plesni, ki jih najpogosteje najdemo na kruhu in pekarskih izdelkih

PLESEN	BARVA KOLONIJE	LASTNOSTI
<i>Penicillium</i>	modra/zelena (najpogostejša)	
<i>Aspergillus niger</i>	črna	
<i>A. flavus</i>	olivno zelena	
<i>A. candidus</i>	krem	
<i>A. glaucus</i>	bledo zelena	
<i>Cladosporium</i>	temno zelena	pogosto na zidovih pekarn
<i>Neurospora sitophila</i>	marelična/oranžna	
<i>Rhizopus nigricans</i>	siva/črna	raste hitro na vlažnem kruhu
<i>Mucor</i>	siva	raste hitro na vlažnem kruhu

Med peko se spore plesni uničijo, če je središčna temperatura nad 90°C. Kruh in drugi pekarski izdelki se s plesnijo okužijo predvsem po peki. Spore plesni pridejo na kruh iz zraka, opreme in z rok zaposlenih.

Delovne površine in tla morajo biti čista brez ostankov starega kruha, moke in drobtin. Zidovi pekarn morajo biti gladki in obdelani tako, da jih je mogoče mokro čistiti. In napravah za rezanje in pakiranje kruha ne sme biti ostankov kruha in drobtin. Pogosto uporabljajo za zaščito kruha pred kvarom konzervanse, vendar ti v dovoljenih količinah plesni ne uničijo, ampak samo upočasni njihovo rast.

3. Okužbe s kvasovkami. Če so v testu prisotne druge kvasovke, ne *Sacharomyces cerevisiae* (pekovski kvas), je kruh slabe kakovosti, lahko ima tuj (neželen) vonj in okus. Nekatere kvasovke se na površini sredice razrastejo podobno kot plesen. Najpogostejša je okužba s kvasovko *saccharomyces (Hypopichia) burtonii*, ki ima kolonije kredasto bele barve in zelo hitro raste. Veliko bolj kot večina plesni je odporna na konzervanse in na dezinfekcijska sredstva. V testo pride z okuženih površin (strojev za rezanje kruha, tekočih trakov...).



## 9.2 MIKROBIOLOGIJA SADJA IN VRTNIN

### 9.2.1 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 inhibirana rast večine bakterij, nizek pH pa ne zavira razvoja bakterij iz rodov *Lactobacillus* in *Leuconostoc*.

Kvar sadjarji zavirajo in preprečujejo z izborom sort, ki so naravno odporne in s škropljenjem. Paziti morajo tudi, da ne pride do poškodb sadja med obiranjem in skladiščenjem. Gniloba na svežem sadju najpogosteje povzročajo plesni iz rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Botrytis*, *Rhizopus*, *Fusarium*.

Kisanje fig povzročajo bakterije iz rodu *Gluconobacter*, vrenje jagodičja kvasovke iz rodu *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 kserofilne plesni in osmofilne kvasovke.

### 9.2.2 Mikrobiologija vrtnin

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

#### 9.2.2.1 Kisanje zelja

Na surovem zelju so navzoči 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 CO<sub>2</sub>. Nastala kislina inhibira delovanje te bakterije, zato vrenje nadaljujeta bakteriji *Lactobacillus brevis* in *Pedicoccus cerevisiae*, konča pa ga *Lactobacillus plantarum*.

## 9.3 MIKROBIOLOGIJA PIVA

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

### 9.3.1 Okužbe piva

Potencialno najnevarnejše bakterije v pivovarstvu so mlečnokislinske bakterije iz rodu *Lactobacillus* (*L. pastorianus*, *L. brevis*, *L. diastaticus*, *L. delbrückii*). Te bakterije so vzrok za povečanje kislosti piva, povzročajo motnost in priokus (posledica metabolnih produktov bakterij). Sluzavost piva povzročajo tudi bakterije iz rodu *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* in *Pediococcus*. Motnost povzročajo kvasovke iz rodu *Candida*, *Sacharomyces* (*S. diastaticus*) in *Brettanomyces* ter bakterije iz rodu *Flavonobacterium*, *Pectinatus*, *Selenomonas*. Priokus dajejo pivu mlečnokislinske bakterije iz rodov *Pediococcus* ter kvasovke iz rodu *Candida*, *Pichia* in *Brettanomyces*.

Možnost okužbe z očetnokislinskimi bakterijami (*Acetobacter pastorianum*, *A. peroxydans*, *A. aceti*, *Acetomonas capsulanum* in *Acetomonas viskosum*) 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. Gramnegativna bakterija *Zymomonas anaerobia* se pojavlja kot posledica okužbe cevovodov in tankov v kletah. Prevreda glukozo v acetaldehid in SO<sub>2</sub>, ki dajeta pivu neprijeten vonj in okus.

Bakterije iz družine *Enterobacteriaceae* so lahko prisotne v sladovini, vendar med alkoholnim vrenjem propadejo. Če so navzoči v sladovini v velikem številu njihovi metabolni produkti (npr. fenol), pridejo iz sladovine v pivo in kvarijo okus in vonj piva.

Vzrok za tuj vonj in okus piva, motnost in usedlino so lahko tudi kvasovke, ki se po tehnoloških in biokemijskih lastnostih razlikujejo od tistih, ki jih uporabljajo v pridelavi piva. Najpogostejše so kvasovke iz rodu *Sacharomyces* (*Sach. ellipsoides*, *Sach. diastaticus*, *Sach. pastorianus*), *Candida*, *Pichia*, *Torulopsis*, *Kloeckera*, *Hansenula* in *Brettanomyces*.

## 9.4 MIKROBIOLOGIJA VINA

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

### 9.4.1 Okužbe vina

Vino kvarijo divje kvasovke iz rodov *Candida*, *Pichia*, *Pediococcus*, *Brettanomyces*, ki razgrajujejo alkohol in ustvarjajo film na površini ali usedlino. Mlečno- in očetnokislinske

bakterije so povzročitelji motnosti, kvarijo cvetico vina in ustvarjajo kislino. Bakterija *Leuconostoc oenus* razgrajuje jabolčno, *Lactobacillus plantarum* pa vinsko kislino.

Kvaru vina se izognemo z vzdrževanjem in uporabo čiste kulture vrelnih kvasovk, z biološkim razkisolom, s čiščenjem in pasterizacijo mošta in sanitacijo vinarske opreme.

Patulin je mikotoksin, ki ga tvorijo nekatere vrste plesni iz rodov *Aspergillus*, *Penicillium* in *Byssoclamys*, ki so v nagnitem grozdju. Izbor zdravega, nenagnitega in nepoškodovanega grozdja je zelo pomemben za kakovost vina. Razvoj plesni lahko zavira tudi žveplanje z  $\text{SO}_2$ .

## 9.5 MIKROBIOLOGIJA MLEKA

Za mlekarstvo so najpomembnejša skupina mikroorganizmov mlečnokislinske bakterije. Cela vrsta mlečnih izdelkov nastaja 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 kultura) uporabljajo vrste *Lactobacillus bulgaricus* in *Streptococcus thermophilus*. Za izdelavo acidofilnega mleka uporabljajo bakterijo *Lactobacillus acidophilus*. Kefir je kislomlečni izdelek, za katerega uporabijo poleg mlečnokislinskih bakterij še kvasovke *Torula kefyri*.

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

Tudi maslo lahko izdelujejo iz smetane z uporabo mikroorganizmov, in sicer predvsem bakterij iz rodov *Streptococcus* (*Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. citrovorus*, *Str. paracitrovorus*, *Str. diacetilactis*). Smetani, primerni za izdelavo masla, dodajo dve vrsti bakterij, in sicer *Streptococcus lactis* (prevreva laktozo v mlečno kislino) in *Streptococcus citrovorus* (tvori diacetil, ki daje maslu aromo).

### 9.3.1 Okužbe mleka

Mleko je lahko vzrok za številne bolezni, če je okuženo s patogenimi mikroorganizmi. Okuži se lahko, če so molzne živali bolne in tudi zaradi ljudi ali opreme, ki niso dovolj čisti. Najpogostejše bolezni govedi, ki se prenašajo z mlekom, so tuberkuloza, bruceloza, parkljevka in slinavka. Mleko se zaradi bolnih živali lahko okuži z bakterijami iz rodov *Streptococcus* in *Staphylococcus*. Ljudje, okuženi z bakterijami iz rodov *Salmonella*,

*Shigella*, *Corynebacterium* ter s piogenimi stafilokoki ali virusom hepatitisa, lahko z njim okužijo mleko.

Mleko takoj po molži, brez vsake zunanje okužbe, ni sterilno, ampak ima svojo naravno mikrofloro. Mikroorganizmi, ki to naravno mikrofloro sestavljajo, ne preživijo toplotne obdelave (pasterizacije). Zato so slabe mikrobiološke slike mleka (veliko mikroorganizmov) po toplotni obdelavi večinoma posledica poznejših okužb mleka (po pasterizaciji). Temperatura toplotne obdelave mleka mora biti tako visoka, da je ne preživi povzročitelj tuberkuloze.

Poleg že naštetih mikroorganizmov je v mleku lahko še cela vrsta mikroorganizmov, ki mleko kvarijo. Nekateri od njih so patogeni, drugi pa ne. Posledica rasti nekaterih mikroorganizmov v mleku so napake mleka, ki prizadenejo njegove senzorične lastnosti in spremenijo njegovo kemijsko sestavo.

Napake mleka, ki so posledica delovanja mikroorganizmov so:

1. priokus, žarkost, nastanek plinov, kisanje, koagulacija mlečnih beljakovin, sprememba viskoznosti mleka, sprememba barve. Povzročitelji teh napak so največkrat bakterije iz rodu *Pseudomonas*,
2. fermentacija laktoze, tvorba plina, sprememba vonja mleka so posledice rasti *Clostridium perfringens*,
3. spremembo barve mleka povzročijo bakterije, ki tvorijo pigmente (*Pseudomonas aerogenes* obarva mleko modrozeleno, *Bacillus prodigius* ga obarva rdeče),
4. nekatere bakterije povzročijo alkalne reakcije v mleku in hidrolizirajo beljakovine (*Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*).

Koliformne bakterije iz rodov *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* ne preživijo pasterizacije, zato je njihova navzočnost v mleku in mlečnih izdelkih znak nezadostnega čiščenja in 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 mlekarin in nato na površini sirov, kjer tvorijo bele, rumene, zelene, rdeče, črne ali rjave madeže. Povzročajo tudi žarkost surovega masla. Pogosto se pojavljajo plesni iz rodov *Monilia*, *Penicillium*, *Geotrichum*.

## 9.6 MIKROBIOLOGIJA MESA

Meso je tako kot mleko dober medij za rast mikroorganizmov, zato lahko na njem ali v njem raste veliko število različnih mikroorganizmov. Mikroorganizmi, ki so v mesu in mesnih izdelkih, lahko povzročijo specifična obolenja in alimentarne intoksikacije, spremembe izdelkov (od neznatnih sprememb do kvara) in ugodne tehnološke spremembe.

Med povzročitelji alimentarnih intoksikacij so najpogosteje bakterije iz rodov *Salmonella*, *Clostridium* (*C. perfringens*, *C. botulinum*), *Streptococcus*, *Campylobacter* in *Aeromonas*; poleg teh 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 ravni proizvodnje, od vrste izdelka... Na primer na Japonskem se pogosto pojavljajo obolenja, ki jih povzroča *Vibrio parahaemolyticus*, ker jedo tudi surove ribe in školjke; v Nemčiji in ZDA je pogosta okužba z bakterijami iz rodu *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* zaradi velike porabe perutninskega mesa in mesnih izdelkov.

Meso je kot surovina ali izdelek izpostavljeno številnim možnostim okužbe. Kvarjenje mesa in mesnih izdelkov se pokaže kot gnitje, kisanje, sluzavost, plesnivost, fosforilacija, pigmentiranje površin in sprememba barve.

Gnitje je posledica razgradnje beljakovin zaradi delovanja različnih proteolitičnih mikroorganizmov. To so bakterije iz rodu: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Proteus*, *Escherichia*, *Streptococcus* ter plesni in kvasovke. Glavni znaki gnitja so sprememba barve, konsistence in vonja. V suhomesnatih izdelkih se zaradi razsoljevanja gnitje pojavlja redkeje. Pri hermetično zaprtih (embaliranih) izdelkih je kvar viden po deformaciji ovitkov oziroma embalaže.

Kislost je posledica fermentacije v mesu in mesnih izdelkih. Ta oblika kvara se pojavlja v anaerobnih in mikroaerofilnih razmerah. Najpogostejša je v barjenih klobasah (količina ogljikovih hidratov v nadevu), poltrajnih konzervah, vakuumsko pakiranih izdelkih in pakiranem svežem mesu.

Površinska sluzavost nastaja na ohlajenem mesu z vlažno površino. Na površini izdelka se pojavi sluzavo lepiliv 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



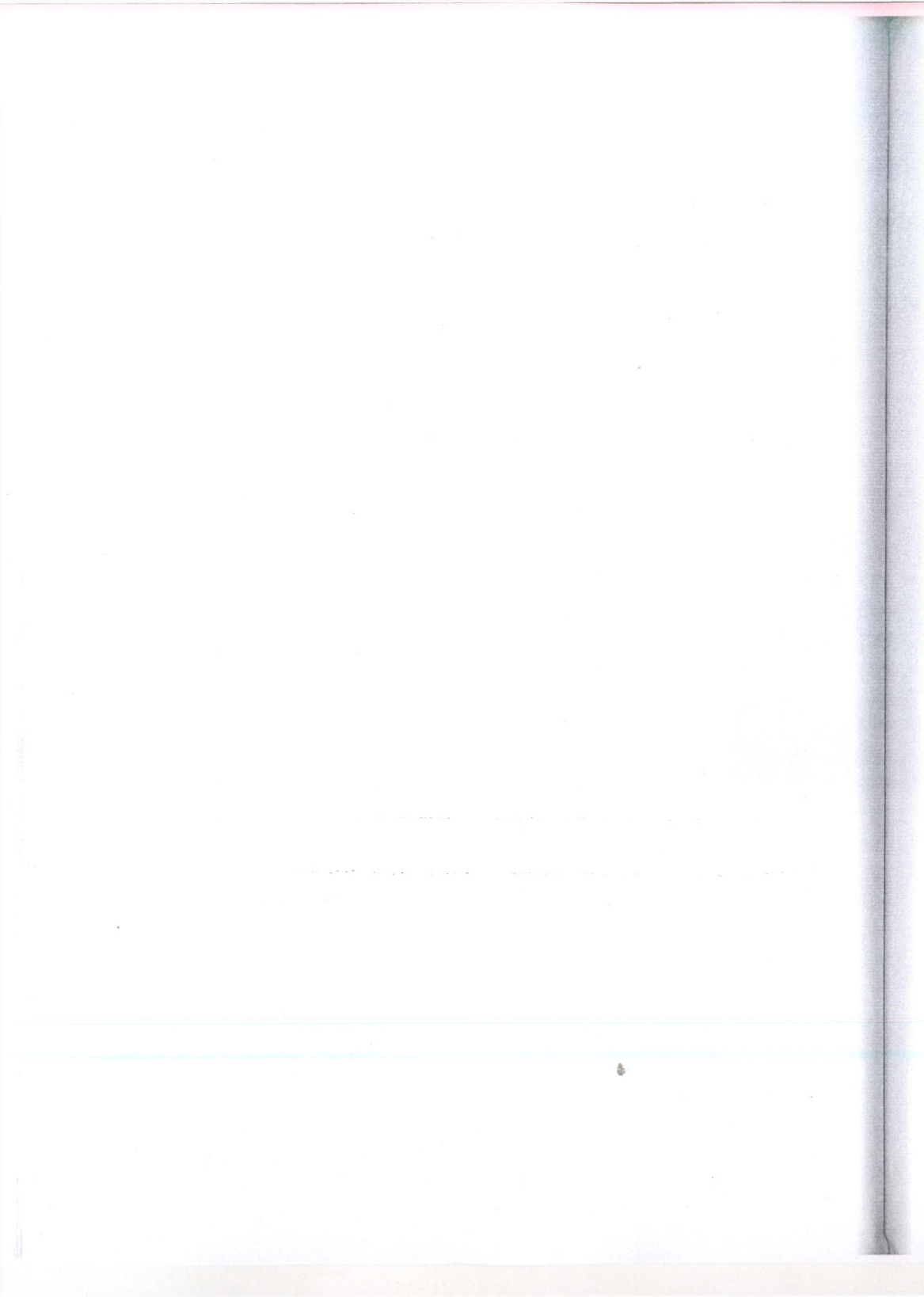
plesni iz rodov *Mucor*, *Oospora*, *Alternaria*. Pri nekaterih izdelkih je plesen zaželena (trajne klobase, ki zorijo s plemenito plesnijo na ovitku), večinoma pa je pojav plesni na površini mesnih izdelkov neželen. Zaradi rasti plesni se spremenijo senzorične lastnosti izdelkov, lahko pa plesni izločajo tudi aflatoksine (*Aspergillus flavus*).

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

### Vprašanja:

1. Ugotovi, kaj je najpogostejši vir okužbe žit.
2. Ugotovi, zakaj se na žitih in žitnih izdelkih kot kvarljivci pogosteje pojavljajo plesni kot bakterije.
3. Pojasni, na kakšne načine lahko preprečujemo okužbe kruha.
4. Razloži, kako vplivata temperatura in vlažnost na rast plesni na kruhu.
5. Pojasni, zakaj kruhu dodajajo konzervanse in kako ti delujejo na kvarljivce.
6. Ugotovi, ali obstaja kvasovka, ki kvari kruh in je bolj obstojna od plesni.
7. Razloži, kako preprečujemo okužbe kruha z drugimi nepekovskimi kvasovkami.
8. Razloži, kako se sadje okuži z mikroorganizmi, ki povzročajo kvar in kateri so najpogostejši.
9. Opiši načine preprečevanja kvara sadja.
10. Ugotovi, kakšne vrste kvara sadja in izdelkov iz sadja so posledica delovanja mikroorganizmov.
11. Razloži, zakaj lahko bakterije, plesni in kvasovke kvarijo vrtnine in zakaj je paradižnik izjema.
12. Razloži, zakaj med kisanjem zelja prevladujejo mlečnokislinske bakterije, razvoj drugih mikroorganizmov pa je oviran.
13. Ugotovi, med katerimi vrstami izbirajo pivovarji kvasovke za izdelavo piva.
14. Ugotovi, katere napake piva povzročijo bakterije in katere kvasovke.
15. Ugotovi, iz katerih rodov so kvasovke, ki kvarijo pivo.
16. Razloži, kaj pomeni izraz "selekcioniranje lastnih kvasovk".
17. Ugotovi, katere napake vina povzročajo bakterije in katere kvasovke.
18. Razloži, kako se lahko izognemo kvaru vina.
19. Ugotovi, katere bakterije so primerne za uporabo pri izdelavi kislomlečnih izdelkov.
20. Ugotovi, za katere vrste izdelkov iz mleka uporabljajo plesni.
21. Razloži, v čem se kefir razlikuje od drugih fermentiranih mlečnih napitkov.

22. Razloži, kako se mleko lahko okuži s patogenimi mikroorganizmi.
23. Ugotovi, kakšne spremembe v mleku lahko povzročijo bakterije.
24. Razloži, kaj je naravna mikroflora mleka.
25. Ugotovi, kakšne napake se pojavljajo v siru in kateri mikroorganizmi jih povzročajo.
26. Ugotovi, katere bolezni se prenašajo z mlekom na ljudi.
27. Razloži, kaj so alimentarne intoksikacije.
28. Razloži, v kakšnih oblikah se pokaže kvarjenje mesa in mesnih izdelkov.
29. Ugotovi, v katerih mesnih izdelkih poteka mlečnokislinsko vrenje in kateri mikroorganizmi ga povzročajo.
30. Razloži, kaj je starter kultura.



# ZDRAVSTVENA NEOPOREČNOST ŽIVIL

**Ključne besede:** zdravstvena neoporečnost, higienska neoporečnost, neoporečnost kemijske sestave

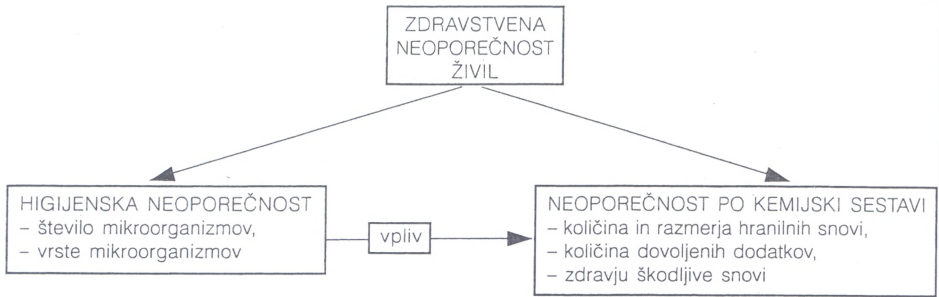
Živila se v svojem ciklusu od surovine preko predelave v proizvodnji, skladiščenja in prodaje do uporabe spremenijo. Nanje delujejo podnebni, fizikalni, kemični in biološki dejavniki, ki spreminjajo njihovo biološko vrednost in organoleptične lastnosti. Higiena prehrane se ukvarja ravno s preučevanjem vseh dejavnikov, ki preko hrane vplivajo na zdravstveno stanje organizma in njegovo vitalno sposobnost. Preučuje vzroke za pojav množičnih bolezni (posledica nezadostne ali preobilne hrane) in potrebe organizma po energetskih, gradbenih in zaščitnih hranilnih snoveh. Preučuje pa tudi biološko in hranilno vrednost živil in njihovo dietetično vrednost in razmere, v katerih se živila pridelujejo, predelujejo, prevažajo in uporabljajo. Njena naloga je tudi, da preprečuje poškodbe organizmov zaradi nezadostne ali premalo kakovostne hrane.

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

1. ščitijo potrošnika in njegovo zdravje,
2. dvigajo kakovost proizvodnje z uporabo primerne opreme in naprav v proizvodnem procesu in prometu z živil.

S tem se dviga kakovost živil in preprečuje njihovo kvarjenje.

SHEMATSKI PRIKAZ: Zdravstvena neoporečnost živil



Vprašanja:

1. Razloži, kdaj je živilo zdravstveno neoporečno.
2. Razloži, kdaj je živilo higiensko neoporečno.
3. Razloži, kdaj je živilo neoporečno po svoji kemijski sestavi.
4. Ugotovi, ali je živilo, ki je oporečno po svoji kemijski sestavi, vedno zdravju škodljivo.
5. Ugotovi, kaj pomeni izraz "ponarejeno živilo".
6. Ugotovi, zakaj higienska neoporečnost živila vpliva na njegovo kemijsko sestavo.

## 10.1 ADITIVI V ŽIVILIH

**Ključne besede:** aditivi, konzervansi, kemijska sestava živila, tveganje, obveščanje, potrošnik

Živila se spreminjajo na poti od surovine do uporabe. Nekatere spremembe so zaželene. Posledica nezaželenih sprememb pa je kvar živil. Z različnimi postopki in dodatki skušamo preprečiti ali zmanjšati obseg kvarjenja. S tem povečamo pridelovanje hrane, zmanjšamo odpad, podaljšamo čas skladiščenja in olajšamo distribucijo. Z dodajanjem različnih aditivov in konzervansov pa lahko tudi spremenimo kemijsko sestavo živila tako, da ni uporabno za prehrano ljudi. Dodajajo jih zato, da izboljšajo živilu tehnološke lastnosti in preprečijo spremembe v njih.

Aditive lahko razdelimo v naslednje skupine:

1. pufri,
2. antimikrobna sredstva,



3. oksidoseduktivni dejavniki,
4. snovi, ki pospešujejo zorenje izdelkov,
5. antioksidanti,
6. stabilizatorji,
7. emulgatorji,
8. sredstva za izboljšanje okusa.

Sem ne štejemo začimb. V živilih so še snovi, ki vdrejo vanje med pridelavo, to so pesticidi, herbicidi, hormoni itd. Te snovi škodljivo delujejo na človeški organizem, nekatere od njih pa so izrazito toksične.

Različne kemijske snovi predstavljajo tveganje same po sebi in v živilih lahko povzročijo spremembe, ki so prav tako lahko tvegane. Te spremembe so:

1. zmanjšanje količine in sprememba hranilnih snovi, ki so lahko delno ali popolnoma uničene ali kemijsko spremenjene in je zato močno zmanjšana biološka vrednost živil,
2. tehnološki postopki, ki jih uporabljamo pri izdelavi oziroma pridelavi živil, lahko spremenijo tudi aditive in njihove derivate.

Aditivi in naključni kontaminanti so lahko naravni ali umetni. Lahko pozitivno ali negativno delujejo na porabnika. Uporaba katere koli snovi v tehnologiji ni upravičena, če ni koristna potrošniku. Nikakor pa ne smemo uporabiti tehnologije, ki lahko potrošnika zavede glede narave ali kakovosti izdelka. Potrošnik mora biti obveščen, kakšen tehnološki proces je uporabljen za izdelavo živila in kateri aditiv je dodan.

### **10.1.1 Koristno delovanje aditivov**

Uporaba pesticidov in drugih kemijskih sredstev omogoča večje hektarske donose in s tem cenejša živila. Izboljšanje proizvodnje, razmere skladiščenja, pakiranja in prodaje omogočajo živilom daljšo obstojnost. Uporaba antioksidantov, antimikrobnih snovi ipd. zmanjša količino kala. Tudi procesi, ki spreminjajo izdelke slabše kakovosti v izdelke boljše kakovosti, so koristni za potrošnika, vendar mora potrošnik vedeti, da je kakovost živila izboljšana z obdelavo.

### **10.1.2 Slabe strani uporabe aditivov**

Učinki, ki jih povzročajo aditivi ali uporaba novega procesa, so lahko neposredni ali posredni:

1. Neposredni učinki: nekateri aditivi in kontaminanti, kot so pesticidi, herbicidi in

antibiotiki, se nalagajo v organizmih, v živilih pa se pojavljajo kot pomembni rezidui. Izjema so plinasti aditivi, ki jih uporabljajo za zorenje žita ali sadja, in tisti aditivi, ki zaradi visoke temperature pri toplotni obdelavi izginejo.

2. Posredni učinki: toksično delovanje, ki se pokaže kot škodljiv učinek na potrošnika, lahko izzovejo aditivi ali njihovi derivati. Snovi, ki jih dobimo v hrani, so pogosto drugačne od tistih, ki so bile dodane v živilo kot aditivi. To je razumljivo, ker aditive dodajamo z namenom, da povzročajo spremembo neke hranilne snovi, pri tem pa se sami kemično spremenijo, spreminjajo pa jih tudi tehnološki postopki (visoka temperatura, kislina itd.).

Toksično delovanje se pokaže na prebavnem traktu, jetrih, ledvicah in koži; redkeje pa na kostnem mozgu in živčnem sistemu. Potrebno je ravnati po načelu, da so vse snovi potencialni strupi v določenih okoliščinah. Nekatere so karcinogene, zato je potrebno biti previden pri tistih, ki se kot aditivi dodajajo živilom, ki jih jemo vse življenje in se zato v organizmu kopičijo.

### Vprašanja:

1. Ugotovi, katere snovi so aditivi in zakaj jih živilom dodajamo.
2. Razloži, kakšne spremembe lahko v živilih povzročajo kemijske snovi.
3. Ugotovi, po kakšnih kriterijih se lahko odločamo za uporabo nekega aditiva v živilu.
4. Razloži, kateri so koristni učinki delovanja aditivov.
5. Razmisli, kateri dejavniki določajo mejo med koristnim in škodljivim delovanjem pesticidov.
6. Razloži, zakaj lahko aditivi škodljivo delujejo na človeški organizem posredno in neposredno.

## 10.2 VRSTE NADZORA ZDRAVSTVENE NEOPOREČNOSTI ŽIVIL

**Ključne besede:** organizacija nadzora, dopolnjevanje, nadzor nad živilom od surovine do končnega izdelka

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

Vrste nadzora:

1. samokontrola, pri kateri za kakovost izdelka odgovarja proizvajalec oziroma delavec, ki ga izdeluje,
2. kontrola ali nadzor nad zdravstveno neoporečnostjo in kakovostjo, ki jo izvaja delovna organizacija po obstoječih predpisih. Če delovna organizacija nima strokovnih kadrov in opreme, da bi ta nadzor lahko opravljala, opravi ta dela zanjo druga primerno opremljena delovna organizacija,
3. vzporedno preverjanje izdelkov, ki ga izvajajo na pobudo potrošnikov,
4. ocenjevanje kakovosti na sejnih in razstavah, kjer se ocenjuje dosežen nivo tehnologije in kakovosti ter javno nagradi proizvajalce,
5. inšpekcijski nadzor, ki ga izvajajo inšpekcijske službe (sanitarna, veterinarska in tržna inšpekcija).

Vprašanje:

1. Opiši nadzor nad zdravstveno neoporečnostjo živil.

### 10.2.1 Metodologija nadzorovanja živil

Ključne besede: enotna metodologija, možnost primerjave, standardi, metode kontrole živil

Pri določanju higienske neoporečnosti in kakovosti živil je zelo pomembno, da se uporabi enotna metodologija, ki mora biti učinkovita, točna, pravočasna in gospodarna. Uporabo enotnih norm uravnavajo standardi. Če ne bi bilo enotne metodologije, bi pri določanju lastnosti izdelkov (npr. vsebnosti beljakovin) dobivali različne rezultate zaradi različnih metod določanja. Metodologijo kontrole zdravstvene neoporečnosti zato določajo predpisi, ki so sprejeti na podlagi Zakona o zdravstveni neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe.

**METODE KONTROLE ŽIVIL.** Temeljna naloga živilske industrije je, da izdeluje živila, ki so standardizirana in na določenem nivoju zdravstvene neoporečnosti in kakovosti. To je lahko problem, še posebej, če surovine niso standardizirane.

Proizvodnjo standardiziranih izdelkov za trg dosegajo tudi zaradi kontrole zdravstvene neoporečnosti živil, ki je kompleksna in zajema vso živilsko industrijo. Norme zdravstvene neoporečnosti živil in kakovosti je za živila, ki jih izvažamo, potrebno spreminjati v skladu s predpisi v državi, v katero je živilo namenjeno. Kakovost živila je odvisna od osnovnih

surovin, dodatkov in tehnološkega procesa, zato je potrebno nadzirati vse dejavnike, ki nanj vplivajo.

Surovina je temeljna sestavina, ki mnogim izdelkom vnaprej določa kakovost. Lahko jo nadziramo na več načinov. Kakšen način bomo izbrali, je odvisno od tega, kaj želimo doseči z nadzorom. Tega je potrebno vnaprej načrtovati in določiti, katere preiskave bodo potrebne ter predvideti tudi alternativne preiskave.

Potreben je nadzor surovine, proizvodnega procesa in končnega izdelka. Nadzor je potrebno prilagoditi vrsti surovine in tudi vrsti končnega izdelka. Postati mora del proizvodnega procesa, ker bo le tako dovolj učinkovit in prisoten na vseh kritičnih točkah. Izidi nadzora morajo biti prikazani s čim bolj enostavno.

Vse metode, ki jih uporabljajo v kontroli živil, lahko razdelimo v naslednje skupine:

1. senzorične preiskave,
2. mikrobiološke preiskave,
3. fizikalno-kemijske preiskave,
4. histološke preiskave,
5. toksikološke preiskave,
6. uporaba statističnih metod za razlago izidov preiskav.

### **10.2.1.1 Senzorične preiskave ali analize**

**Ključne besede:**ocenjevanje s čutili, subjektivna ocena

To so preiskave, s katerimi s pomočjo svojih čutov ocenimo ali preizkušamo določeno živilo. Pri tem uporabljamo vse naše čute: vid, voh, okus, otip in sluh. Ti so različno občutljivi pri različnih ljudeh, pri vseh pa lahko ustvarjajo vtis o prijetnosti ali neprijetnosti določenega živila. Sprejemljivost neke lastnosti živila je odvisna od navad posameznika in od določenih zunanjih okoliščin. Vsak človek ustvari svojo oceno določenega živila. Osebna psihološka komponenta je obvezni spremljevalec čutnih dražljajev, a jo poskušamo pri preiskavi živil čim bolj izključiti. Izraženost senzoričnih dražljajev daje neko predstavo o teh dražljajih, zato se lahko razvrstijo v razrede tudi pri senzorični preiskavi.

Razvrščamo lahko senzorične dražljaje, kot so:

1. izrazitost barve,
2. kislost,
3. sočnost,

4. konsistenca in druge lastnosti živil.

Večjo natančnost v ocenjevanju dosežemo z vajo.

Vse oblike senzoričnih preiskav lahko razvrstimo v dve skupini:

1. skupina: v senzoričnih analizah iz te skupine je zastopan princip intenzivnosti in temeljijo na fizioloških pogojno objektivnih občutjih,
2. skupina: senzorične analize iz te skupine so čutne in zajemajo fiziološko-psihološke komponente.

Poleg tega obstaja še cela vrsta načinov preiskovanja in razlage izidov. Nemogoče je najti za vse veljaven sistem a1i način, pač pa ga je za vsako priliko potrebno prilagoditi tako, da dobimo najbolj učinkovite izide. Glede na to, kaj zajema, je lahko senzorični nadzor enostaven ali sestavljen (kompleksen).

Pri enostavnem nadzoru se ugotavlja samo razlika nekih lastnosti pri dveh ali več vzorcih. To je pravzaprav primerjava določenih lastnosti vzorca z vnaprej določenimi oziroma standardiziranimi lastnostmi. Pri kompleksni senzorični preiskavi se ocenjuje večje število posameznih lastnosti in njihov medsebojni odnos ter se kompleksno ocenjuje kakovost izdelka.

Izidi senzoričnega ocenjevanja se lahko prikažejo na različne načine. Pri izbiri načina prikaza izida je potrebno upoštevati njegovo primernost, točnost in natančnost. Uporabijo se lahko sheme, lestvice, vprašalniki, lahko se prikažejo s številčnimi vrednostmi ali pa z besednim opisom.

Najpogosteje se uporablja način točkovanja. Temeljni princip tega sistema je, da se točkuje izraženost (intenzivnost) posameznih lastnosti izdelka. Skupne kakovosti izdelka ne izrazimo vedno z enostavnim seštevkom točk. Lastnosti izdelka so različne in na skupno kakovost izdelka ne vplivajo vse enako, zato se različne lastnosti točkujejo različno, odvisno od njihovega vpliva na kakovost izdelka.

#### **10.2.1.2 Mikrobiološke preiskave ali analize**

**Ključne besede:** mikrobiološka kakovost živil, število in vrste mikroorganizmov, okužena živila, kvar živil, patogeni mikroorganizmi, uporaba mikroorganizmov v živilski industriji, bakteriološke norme, minimalni pogoji bakteriološke neoporečnosti živil

Mikrobiološka kakovost živila je pogosto odločilna za higiensko in zdravstveno oporečnost živil in tudi kakovost živil. Večina živil je dober medij za razmnoževanje različnih patogenih

mikroorganizmov in kvarljivcev živil. Nepatogeni mikroorganizmi so mnogo pogostejši. V živilih je skoraj vedno določeno število mikroorganizmov, ki vanj pridejo iz okolja (prenašajo jih ljudje in živali). Za živila, v katerih so mikroorganizmi, pravimo, da so kontaminirana ali okužena. Okuženost je prisotnost mikroorganizmov (bakterij in gliv) ter parazitov in njihovih jajčec na neživi snovi ali na površini organizmov, ljudi in živali, ki ne morejo reagirati na njihovo prisotnost in razmnoževanje.

Pogosto nepatogeni ali pogojno patogeni mikroorganizmi zaradi svoje rasti in razmnoževanja povzročajo kvar živil. To so vsi procesi, ki potekajo v živilih in tako spremenijo njihove senzorične lastnosti (videz, vonj, okus, barvo, konsistenco...), da postanejo ta neuporabna za človekovo prehrano. Kvar živil lahko povzročajo različni mikroorganizmi, stopnja sprememb v živilih pa je odvisna od encimske aktivnosti mikroorganizmov.

Večina živil se lahko okuži z različnimi patogenimi mikroorganizmi, zato so ta lahko veliki prenašalci različnih nalezljivih bolezni. Bolezni, ki se prenašajo z živali, so posledica delovanja velikega števila mikroorganizmov ali pa delovanja toksinov, ki jih mikroorganizmi lahko izločajo v živilo ali človekov prebavni trakt. Vendar vsa živila, ki vsebujejo mikroorganizme, niso neuporabna za človekovo prehrano. Pravzaprav je zelo malo sterilnih živil.

V živilski industriji je razširjena uporaba mikroorganizmov in encimov. Pri nekaterih živilih je potrebno njihovo delovanje, da dobijo svoje značilne senzorične lastnosti. Nekaterih živil pa brez uporabe mikroorganizmov sploh ne moremo izdelati.

Na primer:

Limburški sir dobi svoj značilni vonj in okus zaradi gnilobne razgradnje beljakovin. Tudi nekateri drugi siri dobijo svoje značilne okuse in vonje zaradi določene stopnje take razgradnje in ustvarjanja razgradnih produktov. Pridelava kislega mleka in jogurta temelji na bakterijski razgradnji ogljikovih hidratov. V pridelavi nekaterih sokov uporabljajo encime za razgradnjo surovin in s tem dosežejo boljši odpust soka pri stiskanju. Pogosto mikroorganizme dodajo živilom med samim pridelovalnim postopkom (starter kulture za mlečnokisle izdelke in za fermentirane klobase).

Na mikroorganizme močno vpliva okolje, v katerem živijo, pa tudi oni s snovmi, ki jih izločajo v okolje in porabljajo iz njega, spreminjajo okolje, v katerem živijo. V okolje izločajo encime (ekstracelularni), lahko pa ti ostanejo vezani v celici (intracelularni).



Metodologija mikrobioloških preiskav živil. Metode, po katerih izvajamo mikrobiološke preiskave živil, so predpisane v Pravilniku o minimalnih pogojih bakteriološke neoporečnosti in Pravilniku o metodah izvajanja mikrobioloških analiz in superanaliz živil.

S pravilniki so določene bakteriološke norme, ki jih morajo izpolnjevati živila v prometu. Predpisano je število in vrste kontaminentov, in to za živila v celoti in za posamezna živila ali posamezne skupine živil. Kontaminenti so vse vrste bakterij, ki ne sodelujejo v normalnem procesu izdelave in zorenja živil.

Splošni kriteriji za vsebnost mikroorganizmov za vsa živila določajo, če ni drugače predpisano, da ne smejo vsebovati:

1. bakterije iz rodu *Salmonella* v 50 g (ml),
2. koagulaze pozitivnih stafilokokov v 0,01 g (ml),
3. sulfit reducirajočih klostridijev v 0,01 g (ml),
4. vrst *Proteus* v 0,001 g (ml),

Mleko in mlečni izdelki, sladoled in prašek za sladoled ne smejo vsebovati bakterije *Streptococcus haemolyticus* v 0,01 g (ml).

Posamezne skupine živil, za katere so določeni minimalni pogoji higienske (bakteriološke) neoporečnosti:

1. meso in mesni izdelki ter izdelki iz rib,
2. mleko in mlečni izdelki, tekoča sirila, sladoled,
3. sveža kokošja jajca in izdelki iz jajc,
4. sadje in zelenjava, konzervirana s toploto, zmrznjena zelenjava, sadni sokovi, osvežilni sadni napitki,
5. osvežilne gazirane brezalkoholne pijače,
6. toplotno obdelane konzervirane gobe,
7. nepasterizirano pivo,
8. sladkor, slaščice s kremo, kreme,
9. margarina, majoneza.

Za druga živila, ki niso naštetá, se uporabljajo norme podobnih živil. Kriteriji za presojanje posebej naštetih bakterioloških pogojev za posamezna živila so precej strogi. Živila, ki glede bakteriološke neoporečnosti ne odgovarjajo splošnim in posebnim pogojem, so higiensko oporečna. Izjeme so: mleko in mlečni izdelki, sirila, sladoled; jajca in izdelki iz jajc; predelano sadje in zelenjava, sadni sokovi, osvežujoče brezalkoholne pijače; sladkor

in slaščice. Te izjeme so higiensko oporečne, če je število bakterij kontaminantov v 1 g (ml) večje od predpisanega (še dovoljenega) števila kontaminantov.

Organizacije, ki izvajajo analize, so dolžne zagotoviti in preveriti sterilnost in kakovost podlag in drugega materiala pred uporabo.

Metode mikrobioloških analiz in superanaliz. S predpisi je določena metodologija analiz in superanaliz živil, ki se jim določa zdravstvena neoporečnost.

Odvzem vzorca.

Najmanjša količina vzorca živila, ki se ga pošlje v mikrobiološko analizo ali superanalizo, znaša 200 g. Vse vrste vzorcev živil moramo odvzeti in analizirati v aseptičnih razmerah, da bi preprečili okuženje vzorcev z mikroorganizmi iz okolice. Vzorci, vzeti za mikrobiološko analizo, morajo biti shranjeni v sterilnih steklenih posodah.

Glavni cilj analize je izolacija posamezne vrste mikroorganizmov, potrditev prisotnosti te vrste mikroorganizmov z različnimi testi in določitev števila celic mikroorganizmov na določeno količino vzorca. Ne glede na to, katero živilo analiziramo, moramo analizo začeti z domnevo, da se v njem nahaja več vrst mikroorganizmov in da je njihovo število veliko.

Izvedba analize

Mikrobiološka analiza običajno zajema:

1. Pripravo vzorcev. Te pred analizo v aseptičnih razmerah zatehtamo, homogeniziramo in pripravimo ustrezne raztopine. Tako dobimo osnovno raztopino vzorca (matično raztopino).
2. Izbor primerne hranilne podlage. Izbiramo jih glede na vrsto vzorca in mikroorganizme, ki jih v vzorcu živila lahko pričakujemo (npr. bakterije iz rodu *Salmonella* v jajcih). Če analiziramo živila po pravilniku, pripravimo gojišča za mikroorganizme, ki jih živila po tem pravilniku ne smejo vsebovati oziroma jih vsebujejo v omejenem številu.
3. Cepljenje vzorca na (ali v) hranilno podlago. Osnovno raztopino vzorca razlijemo, nacepimo na stehrano podlago (tekočo, trdno, v epruvete ali na plošče).
4. Inkubacijo. Plošče ali epruvete z vzorcem inkubiramo v inkubatorju, ki vzdržuje temperaturo. Temperatura in čas inkubacije sta odvisna od vrste mikroorganizmov. Če analiziramo aerobne mikroorganizme, damo plošče ali epruvete v posodo za anaerobno inkubacijo.
5. Pridobivanje čistih kultur. Če smo na začetku analize cepili vzorec na čvrsto gojišče, po inkubaciji z ezo precepimo posamezne kolonije na drugo gojišče. Če po drugi inkubaciji še nimamo čiste kulture, postopek ponovimo.
6. Če smo na začetku analize cepili vzorec na tekoče gojišče, po inkubaciji prenesemo nekaj vzorca na trdno gojišče. Po drugi inkubaciji bomo najverjetneje dobili mešano kulturo, ki jo ponovno izoliramo.

7. Izolacijo in ponovno precepljanje na podlago. Če imamo po drugi inkubaciji dovolj veliko število kolonij, ponovno precepljanje ni potrebno. Če je število kolonij majhno, kolonije čiste kulture precepimo, da dobimo večje število kolonij za nadaljnje analize.
8. Analizo čistih kultur. Za identifikacijo posameznega mikroorganizma moramo določiti:
  - a) z mikroskopiranjem:
    - osnovno obliko (kok, bacil...),
    - sposobnost barvanja (po Grammu),
    - prisotnost spor, kapsul,
  - b) pogoje za razmnoževanje:
    - potrebo po kisiku (aerobni, anaerobni),
    - temperaturo (optimalna temperatura),
    - kislost gojišča (optimalen pH),
  - c) lastnosti kolonij:
    - obliko (značilno za analizirane mikroorganizme),
    - tvorbo pigmenta,
  - d) biokemijske teste:
    - sposobnost fermentacije ogljikovih hidratov (glukoza, laktoza, saharoza),
    - sposobnost raztapljanja želatine,
    - sposobnost tvorbe indola,
    - dokazovanje aktivnosti oksidaze, fosfataze, lipaze...,
    - dokaz tvorbe  $H_2S$ ,
    - dokaz razgradnje uree.

### 10.2.1.3 Kemijske preiskave živil

**Ključne besede:** kemijska sestava živil, spremembe v živilu, sistem nadzora nad živilu, analize kemijske sestave

Živila vsebujejo hranilne snovi v različnih količinah, poleg njih pa še druge snovi, ki sodelujejo pri oblikovanju arome, vonja in okusa določenega živila. Kemijska zgradba živil se spreminja med proizvodnim procesom in med skladiščenjem živil, zato se spremenijo barva, struktura, aroma in druge lastnosti živil. Med proizvodnim procesom jim dodajajo aditive in jim na različne načine podaljšajo obstojnost, kar vse vpliva na njihovo kemijsko zgradbo.

Hitrost kemijskih procesov, ki potekajo v živilih, je odvisna od temperature, pri kateri hranimo živila. Da te procese upočasnimo, hranimo živila pri nižjih temperaturah. Čas skladiščenja, v katerem živilo ohrani svoje lastnosti, imenujemo "optimalen čas

skladiščenja" ali "High Quality Life – HQL", maksimalen čas skladiščenja določenega živila pa "Expected Storage Life - ESL". Zelo pomembno je, da dovolj hitro opazimo prve spremembe v lastnostih izdelka. Pravočasno odkrivanje začetnih sprememb je pomembno za proizvajalca in potrošnika. Proizvajalec takoj prekine skladiščenje, potrošnik pa dobi izdelek pričakovane kakovosti.

Teh sprememb ne moremo opaziti pri živilih, ki so embalirana. Zato je potrebno za kontrolo teh izdelati sistem nadzora pred prodajo izdelka in med samim skladiščenjem. Ta nadzor sestavljajo senzorične, mikrobiološke in kemijske metode, ki se med seboj dopolnjujejo.

Kemijske preiskave so lahko različne, od enostavnih ugotavljanj prisotnosti določene snovi do analize kemijske sestave izdelka v celoti. V grobem te analize lahko delimo na enostavne in zapletene.

S fizikalno-kemijskimi preiskavami lahko določimo:

1. maso izdelka (neto teža izdelka),
2. specifično težo,
3. temperaturo ledišča, vrelišča, kriokopsko točko,
4. kot lomljenja svetlobe,
5. pH vrednost,
6. kolorimetrične analize,
7. biokemijske analize: določanje vsebnosti posameznih hranilnih snovi (beljakovin, maščob in ogljikovih hidratov), pepela, aditivov, reziduov, aditivov, pesticidov itd.,
8. elektrolitsko prevodnost,
9. radiološko kontaminacijo,
10. viskoznost, konsistenco itd.

Za vsako skupino živil so značilne določene kemijske analize. Pri posameznih skupinah živil je določeno, katere vrste fizikalno-kemičnih analiz je potrebno opraviti, če želimo določiti njihovo zdravstveno neoporečnost oziroma kakovost.

## Vprašanja:

1. Razloži pomen pojmov metoda in metodologija.
2. Razloži, zakaj morajo biti živila, ki se prodajajo, standardizirana.
3. Razloži, kako so povezani norme zdravstvene neoporečnosti in kakovosti, nadzor nad zdravstveno neoporečnostjo živil in proizvodnja standardiziranih živil.
4. Razloži, zakaj je potreben nadzor kakovosti surovin, proizvodnega procesa in končnega izdelka, da dobimo kakovosten izdelek.
5. Opiši metode, ki jih uporabljamo v nadzoru živil.
6. Opiši specifične lastnosti senzoričnih analiz.
7. Razloži, kako se enostavna senzorična preiskava razlikuje od kompleksne.
8. Pripravi ocenjevalni list za senzorično oceno nekega poljubno izbranega živila.
9. Na podlagi enega ocenjevalnega lista naj vsi dijaki v oddelku ocenijo živilo in nato prikaži izide ocenjevanja.
10. V oddelku pripravite primerjalno ocenjevanje več enakih živil različnih proizvajalcev in prikažite izide ocenjevanja.
11. Razloži namen mikrobioloških analiz izdelka in surovine.
12. Razloži, kdaj so živila kontaminirana in kaj so kontaminanti.
13. Ugotovi, zakaj je malo živil sterilnih.
14. Opiši uporabo mikroorganizmov in encimov v živilski industriji.
15. Razloži, kaj so bakteriološke norme.
16. Čim bolj enostavno razloži potek mikrobiološke analize živil.
17. Opiši vlogo in pomen kemijskih analiz živil.
18. Razloži, od katerih dejavnikov je odvisna kemijska sestava živila in zakaj prihaja do njenih sprememb.
19. Razloži, zakaj je pomembno zgodnje odkrivanje sprememb na živilih med skladiščenjem.
20. Ugotovi, katere lastnosti živil lahko nadziramo s fizikalno-kemijskimi analizami.
21. Pojasni, kako odvezamemo vzorec za mikrobiološko analizo.
22. Razloži, glede na katere kriterije izberemo hranilno podlago.
23. Opiši, kako dobimo čiste kulture.
24. Pojasni, kako identificiramo (določamo vrsto, rod...) mikroorganizme iz čistih kultur.

### 10.3 VZORČENJE

**Ključne besede:** vzorec, jemanje vzorca, standardi za vzorčenje, odstotek napak, oprema za vzorčenje, kriteriji vzorčenja, oprema vzorca

Za nadzor zdravstvene neoporečnosti ne moremo uporabiti kar vseh izdelanih živil, zato je potrebno dobiti samo del oziroma določeno količino živil. Izidi analiz te količine živil oziroma vzorcev pa nam morajo dati dejansko sliko lastnosti celotne količine živil ali surovin, katerim smo vzorce odvzeli.

Pri vzorčenju živil je potrebno upoštevati še nekaj dejavnikov, ki jemanje vzorcev otežujejo:

1. surovine in živila imajo heterogene sestave in njihove lastnosti se stalno spreminjajo (število mikroorganizmov, količina posameznih kemijskih spojin itd.),
2. mikrobiološke, senzorične in kemijske analize se opravljajo na različne načine, zato mora biti tudi vzorčenje različno (odvisno od vrste analize, za katero je vzorec namenjen),
3. določen vpliv imajo tudi drugi dejavniki, kot so čas in mesto vzorčenja, ljudje, ki opravljajo vzorčenje in analize.

Vzorčenje lahko poteka na več načinov:

1. naključno (jemanje naključno izbranih delov celote),
2. sistematsko (vzorce jemljemo po vnaprej določenem sistemu),
3. celotno količino razdelimo na dele ali sloje in iz vsakega dela vzamemo vzorce.

Glede na vrste analiz, ki jih bomo na vzorcih opravljali, se vzorci ločijo po načinu jemanja, embalaži, transportu in pripravi za analizo.

**Vprašanja:**

1. Razloži, kaj je vzorec in zakaj ga vzamemo.
2. Opiši načine vzorčenja.
3. Razloži, kako se jemanje vzorcev loči glede na vrste analiz.



### 10.3.1 Standardi, ki uravnavajo vzdrževanje

**Ključne besede:** vzorec, posamični vzorec, zbirni vzorec, povprečni vzorec, vzorec za analizo, embalažna enota, šarža, klasifikacija napak, odstotek napak

Vzorec predstavlja del ali enoto analizirane mase, eno ali več enot izdelka iz ene serije ali partije. Število enot je velikost vzorca. Posamičen vzorec je manjša količina izdelka, vzeta po standardih za določene izdelke. Zbirni vzorec je večje število posamičnih vzorcev, ki so med seboj združeni in premešani. Povprečni vzorec dobimo z deljenjem prvotnega vzorca in ga uporabljamo za laboratorijske analize. Vzorec za analizo dobijo z delitvijo povprečnega vzorca. Enota izdelka in embalažna enota. Enota izdelka je par, niz, dolžina, delovna operacija, prostornina ali cel gotov izdelek (npr. pločevinka, steklenica ipd.). Enota izdelka ni nujno tudi prodajna enota. Embalažna enota izdelka je embaliran izdelek v škatli, vreči, zaboju ali kakšni drugi vrsti embalaže.

Partija ali serija ali šarža je količina izdelkov, za katero lahko domnevamo, da ima enako kakovost. To je določeno število enot izdelka enake velikosti in vrste, ki so bile izdelane pod enakimi pogoji, v enovitem proizvodnem procesu, v enaki vrsti embalaže in v isti izmeni.

Klasifikacija napak in pokvarjenih izdelkov. Napaka je vsako odstopanje izdelka od povprečnih zahtev. Lahko so kritične, večje ali manjše. Količino napak in slabih izdelkov izražamo v odstotkih (%).

$$\text{Odstotek napak} = \frac{A}{B} \cdot 100$$

A = število napak

B = skupno število nadziranih proizvodnih enot

#### Vprašanja:

1. Opiši razlike med posamičnim, zbirnim in povprečnim vzorcem.
2. Razloži, kaj je enota izdelka in kaj embalažna enota.
3. Ugotovi, zakaj domnevamo, da imajo izdelki iz iste partije enako kakovost.
4. Razloži, kaj je napaka izdelka.

### 10.3.2 Oprema za jemanje vzorcev

**Ključne besede:** pribor za vzorčenje, lastnosti živila, delitev zbirnega vzorca, transport vzorcev

Vrsta opreme je odvisna predvsem od lastnosti izdelka, ki ga želimo vzorčiti (npr. žita v razsutem stanju, tekoča živila in podobno). Pribor ali oprema, ki jo uporabljajo, so: različne sonde, lopate, žlice, menzure, lijaki, natege in podobno. Za reduciranje zbirnega vzorca se uporablja pribor za mešanje, delitev, četrтинjenje in podobno. Biti mora čist in suh, za jemanje vzorcev za mikrobiološke analize pa mora biti tudi sterilan. Vzorci morajo priti na mesto, kjer bodo opravljali analize, v stanju, v kakršnem so bili odvzeti. Zato mora biti na voljo oprema, ki omogoča transport vzorcev v nespremenjenem stanju in shranjevanje že odvzetih vzorcev za daljši čas. Posebej to velja za lahko pokvarljiva živila in za shranjevanje vzorcev za morebitno superanalizo.

### 10.3.3 Jemanje vzorcev

**Ključne besede:** vzorci, vzorčenje, prisotnost pri odvzemu vzorca, superanaliza, kriteriji jemanja vzorcev, metodologija jemanja vzorcev, inšpekcijske službe, zapisnik o odvzemu vzorcev, oprema vzorcev, čas, vračanje vzorcev

Vzorci za analizo zdravstvene neoporečnosti vzamejo delavci organa ali organizacije, ki ta nadzor opravlja, v prisotnosti predstavnika proizvajalca ali prodajalca živila. Vzorec vzamejo v dveh paralelkah, če stranka v postopku (proizvajalec, prodajalec) zahteva tudi v treh. Prvi vzorec da v analizo organ za nadzor zdravstvene neoporečnosti živil (inšpekcijska služba), drugi in tretji vzorec pa skupaj s kopijo zapisnika o jemanju vzorca ostaneta lastniku živila. Vsak vzorec mora biti vzet v količini, ki omogoča njegovo analizo. Pri jemanju vzorcev je pomembno, da:

1. pri jemanju vzorcev iz živil, ki so v razsutem stanju in nehomogena, dobijo povprečne vzorce tako, da jih jemljejo z več mest in jih zmešajo med seboj,
2. s četrтинjenjem veliko proizvodno enoto zmanjšamo na primerno količino za vzorec za analizo,
3. se vzorci od živil, ki so embalirana v vrečah, sodih, zabojih ipd., jemljejo z vrha, sredine in dna teh embalažnih enot.

### 10.3.4 Postopek pri jemanju vzorcev

Vzorce jemljejo vsi, ki želijo nadzirati kakovost izdelka. To so lahko:

1. proizvajalec za preverjanje zdravstvene neoporečnosti in kakovosti izdelka,
2. kupec na podlagi kupoprodajne pogodbe,
3. strokovna organizacija, ki jo najameta kupec ali proizvajalec,
4. pristojne inšpekcijske službe.

Za posamezne skupine živil je predpisana metodologija jemanja vzorcev. Najstrožje je določen postopek jemanja vzorcev, ki jih jemljejo inšpekcijske službe in v primerih, ko lahko pride do sporov.

Jemanje vzorcev mora potekati ob prisotnosti zainteresiranih strank ali pooblaščenih zastopnikov; torej poleg inšpektorja še odgovorna oseba, ki zastopa proizvajalca ali prodajalca. Po končanem vzorčenju je potrebno napisati zapisnik, v katerem so podatki o stanju izdelka, tehniki jemanja vzorca in okoliščinah, ki bi lahko vplivale na jemanje vzorca ali izide analiz. Za transport od mesta jemanja do laboratorija jih je potrebno primerno opremiti, kar pomeni označiti in embalarati. Embalarani material mora biti takšen, da ne vpliva na sestavo ter senzorične in druge lastnosti živila oziroma vzorca. Embalaža mora biti čista in za vzorce, ki se jim določa vsebnost vode, tudi neprepustna in hermetično zaprta. Za mikrobiološke analize mora biti sterilna. Jemanje vzorcev za mikrobiološke analize mora biti aseptično. Te vzorce je potrebno transportirati ohlajene na temperaturo do  $+5^{\circ}\text{C}$ . Vzorce zmrznjenih živil je treba prepeljati do analize v zamrznjenem stanju. Količina vzorca v embalaži (ostanek praznega prostora med vzorcem in zamaškom) je odvisna od vrste vzorca. Napolnjene posode je potrebno zapreti, označiti in zapečatiti.

Na oznaki vzorca so naslednji podatki:

1. prevozno sredstvo in njegova oznaka,
2. ime kraja, od koder je poslan in cilj pošiljke,
3. datum in ura odvzema vzorca,
4. datum, ko je pošiljka prispela,
5. količina izdelka, vrsta embalaže,
6. vrsta izdelka,
7. oznaka identifikacije in številka partije,
8. ime dobavitelja in naziv kupca,

9. številka in datum dobavnice,
10. oznaka kraja in datum jemanja vzorca.

Ti podatki morajo biti napisani tako, da jih ni mogoče izbrisati.

Laboratorij, kamor je vzorec poslan, ga mora shraniti v primernih razmerah. Analize morajo biti opravljene v določenem času (vlažnost kruha lahko določamo od 2-6 ur po pečenju, poznejši rezultati niso realni, ker se je kruh že sam nekoliko osušil). V laboratorij mora poleg vzorca priti tudi dopis, katere analize je potrebno opraviti in po kakšni metodi. Po opravljenih analizah morajo dostaviti poročilo z mnenjem o tem, ali vzorci zadovoljujejo predpisane pogoje zdravstvene neoporečnosti oziroma kakovosti. Mnenje oziroma poročilo mora biti čim bolj natančno.

Če so vzorci zdravstveno neoporečni, druga dva vzorca vrnejo proizvajalcu. Če pa vzorci niso zdravstveno neoporečni, analize ponovijo z drugim vzorcem, lahko pa tudi s tretjim (superanaliza).

Ponovno in superanalizo lahko opravi drug pooblaščen laboratorij.

### Vprašanja:

1. Razloži, kdo jemlje vzorce živil in surovin in zakaj.
2. Ugotovi, zakaj je potrebno vzorce jemati v dveh ali treh paralelkah.
3. Ugotovi, kaj je pomembno pri jemanju vzorcev.
4. Opiši sam postopek jemanja vzorcev.
5. Razloži, zakaj mora biti pri jemanju vzorcev prisotna tudi odgovorna oseba, ki zastopa lastnika ali proizvajalca živila.
6. Opiši, kako mora biti opremljen vzorec, da je pripravljen na transport do laboratorija.
7. Ugotovi, zakaj je pomemben čas od jemanja vzorcev do začetka analiz v laboratoriju.
8. Razloži, kaj se zgodi z vzorci po analizah.

# STRATEGIJA ZDRAVSTVENEGA NADZORA NAD ŽIVILI V ŽIVILSKI INDUSTRIJI

## 11.1 HACCP ALI ANALIZA TVEGANJA V KRITIČNIH KONTROLNIH TOČKAH

**Ključne besede:** HACCP, TQM, tveganje, kritične točke, kriteriji, norme, tolerance, nadzorni sistem, korekcija, verifikacija, dokumentacijski sistem, lastnosti živil, inšpekcijske službe

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 do proizvajalcev živil. Zahtevajo zdravo, varno in varovalno hrano.

Vse te zahteve potrošnikov lahko proizvajalci izpolnijo s sistemom, ki ga imenujemo celotno obvladovanje kakovosti ali TQM (Total Quality Management). To je sistem, ki povezuje organizacijske strukture, postopke, procese, izrabo surovin, tehnologijo in kontrolo izdelkov, da ustrezajo zahtevam po kakovosti izdelkov, in zagotavlja zaupanje potrošnikov. Najvažnejši je učinkovit in aktiven nadzorni sistem. Tak sistem je HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) ali analiza tveganja v kritičnih točkah.

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

1. določitev (identifikacijo) možnega tveganja (biološkega, kemijskega, fizikalnega) pri vsaki sestavini izdelka ali vsaki stopnji procesa, ki lahko prizadene varnost končnega izdelka,
2. določitev točk (postopkov ali operativnih stopenj) v procesu, ki so kritične za nadzor identificiranega tveganja v kritičnih kontrolnih točkah (CCP),
3. določitev kriterijev, norm in toleranc, ki zagotavljajo nadzor nad kritičnimi kontrolnimi točkami (CCP),
4. postavitve in delovanje nadzornega sistema (potrebne meritve in analize) za nadzor kritičnih kontrolnih točk,

5. določitev in izvedba preventivnih mer in ukrepov, ki so potrebni za korekcijo, kadar nadzorni sistem pokaže, da kritična kontrolna točka ni pod nadzorom,
6. verifikacija, ki potrdi (z dodatnimi testi), da HACCP sistem deluje učinkovito,
7. postavitve dokumentacijskega sistema, ki vsebuje vse podatke o pogojih od 1 do 6 in njihovi uporabi.

### 11.1.1 Prvi princip

Tveganje v tem sistemu predstavljajo biološke, kemijske in fizikalne lastnosti živil ali surovin, ki ogrožajo varnost hrane.

#### 11.1.1.1 Biološke lastnosti živil in surovin

To so tudi število in vrste mikroorganizmov, ki jih to vsebuje. Glede na tveganje, ki ga mikroorganizmi in paraziti predstavljajo za kakovost živila, jih delimo na tri skupine:

1. vsebnost mikroorganizmov iz prve skupine pomeni veliko tveganje za kakovost živila, ali drugače: če v živilu dokažemo katerega od mikroorganizmov iz prve skupine, je malo verjetno, da bo živilo ustrezalo zahtevam, ki smo jih postavili,
2. če živilo vsebuje mikroorganizme iz druge skupine, je tveganje zmerno, vendar se pogosto pojavlja,
3. pri mikroorganizmih in parazitih iz tretje skupine je tveganje zmerno, vendar je njihovo širjenje omejeno.

Preglednica: Mikroorganizmi in paraziti, razvrščeni na podlagi tveganja

VELIKO TVEGANJE	ZMerno tveganje zelo pogosto	ZMerno tveganje omejeno širjenje
<i>Clostridium botulinum</i> A,B,E,F	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Salmonella typhi</i> ; <i>Sall. paratyphi</i> A,B	Enterovirulentna <i>E.coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Brucella abortus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	Rotavirus	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Taenie solium</i> (trakulja)	Norwalk virus	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Entamoeba histolytica</i> (ameba)	<i>Yersinia enterocolitica</i>
	<i>Ascaris lumbricoides</i> (gliste)	<i>Taenia saginata</i> (trakulja)
	plesni, ki tvorijo mikotoksine	



**11.1.1.2 Kemično tveganje**

To predstavljajo snovi, ki so v osnovni surovini ali jih dodajamo živilu. Lahko so tudi druge strupene snovi, ki kakor koli pridejo vanj. Vse te snovi lahko delimo v dve skupini. V prvi skupini so naravne toksične snovi, ki jih živilo vsebuje že samo po sebi. V drugo skupino spadajo dodane kemijske spojine; snovi, ki smo jih živilu dodali za izboljšanje senzoričnih lastnosti ali kot konzervanse. V to skupino spadajo tudi tiste, ki v živilo pridejo med pridelavo surovin za živila; torej med rastjo rastlin in med rejo živali, ki so osnovne surovine za živila. Lahko pa v živila pridejo tudi med procesom predelave kot aditivi ali čistila in razkužila.

Preglednica: Kemično tveganje

NARAVNE TOKSIČNE SPOJINE	DODANE KEMIJSKE SPOJINE
scombrotoksin (histamin), ciguatoksin, toksini gob, paralitična zastrupitev s školjkami, diarejična zastrupitev s školjkami, fitohemoglutinini.	agrotehnične kemikalije: pesticidi, fungicidi, insekticidi, antibiotiki, razni hormoni; toksični elementi in spojine: svinec, arzen, živo srebro, kadmij; aditivi: umetne arome, ojačevalci okusa Na-glutaminat), barvila, sladila, gostila ((tragant, arabeni, sorgom); konzervansi: nedovoljeni ali dovoljeni, ki jih dodamo več, kot je dovoljeno; čistila in razkužila.

**11.1.1.3 Fizikalno tveganje**

Predstavljajo ga vsi postopki in surovine, zaradi katerih lahko pride do poškodb potrošnikov ali zaposlenih.

Preglednica: Fizikalno tveganje

MATERIAL	POŠKODBE	IZVOR
steklo	vreznine, krvavitve, potrebni kirurški posegi za odstranitev	steklenice, kozarci
kamni	zlomljeni zobje	palete, zaboji, stavbe
insekti, iztrebki glodavcev	obolenja, travma	polje, predelovalni obrati, skladišča
filtrabilni ostanki	zastrupitve z azbestom	filtri za bistenje
kosti	vbodi, infekcije, kirurški posegi	embalirni material
plastični drobc	vreznine, infekcije, kirurški posegi	embalirni material
osebni defekti	vreznine, zlomljeni zobje, psihični učinki	zaposleni v industriji

Razvrščanje živil glede na značilnosti tveganja temelji na ocenjevanju proizvodnje živil po teh merilih:

1. ali izdelek vsebuje mikrobiološko občutljive sestavine,
2. če proces izdelave ne zajema nadzornega postopka toplotne obdelave, s katerim bi učinkovito uničili škodljive mikroorganizme,
3. ali obstaja možnost rekontaminacije s škodljivimi mikroorganizmi ali njihovimi toksini,
4. če obstaja možnost za malomarno ravnanje z živilom med distribucijo ali za nepravilno ravnanje potrošnika z živilom, pri katerem lahko živilo postane zdravju škodljivo,
5. če v procesu izdelave ni postopka toplotne obdelave po embaliranju.

Razvrstitev glede na pet značilnosti ali dejavnikov tveganja lahko izrazimo s kategorijami tveganja. Tveganje lahko ocenimo glede na to, koliko dejavnikov tveganja je prisotnih. Kategorije tveganja določimo že pri sestavinah živil ter ugotovimo, kako mora biti voden tehnološki proces, da zmanjšamo tveganje za živilo med proizvodnjo in distribucijo.

### 11.1.2 Drugi princip

Določitev kontrolnih točk je potrebna za nadzor tveganja. Kritična kontrolna točka je definirana kot katera koli točka v proizvodnem procesu ali distribuciji, v kateri bi slabši nadzor povzročil nesprejemljivo tveganje za zdravstveno neoporečnost živila. Vsa možna tveganja, ki jih določimo z analizo tveganja, je potrebno nadzorovati na nekaj mestih od sprejema surovine preko proizvodnje živila do konzumiranja.

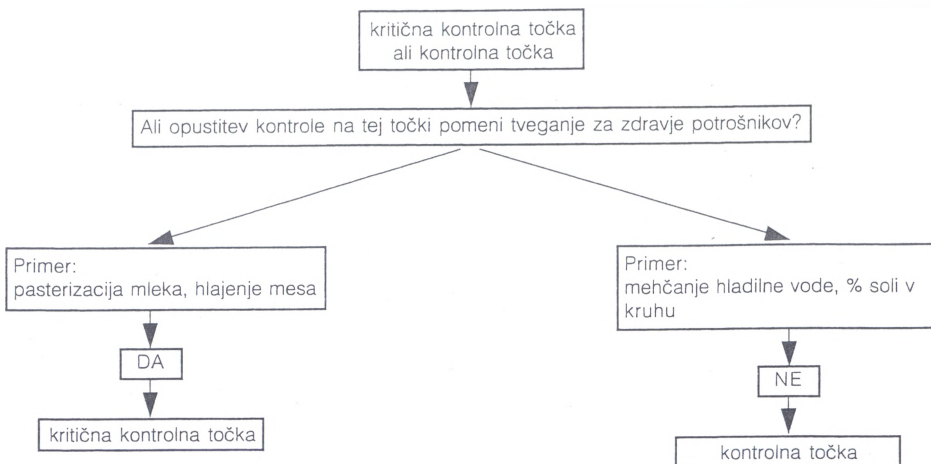
Kritične kontrolne točke so postavljene na vseh mestih v proizvodnji živil, kjer morajo biti patogeni mikroorganizmi uničeni ali njihovo število nadzirano. Na primer: določen postopek toplotne obdelave, pri katerem mora v določenem času pri določeni temperaturi odmrzeti določeno število mikroorganizmov, je kritična kontrolna točka. Ravno tako je kritična kontrolna točka postopek hlajenja, ki preprečuje rast mikroorganizmov na živilu. Tudi postopek doseganja primerne kislosti (pH) živila je kritična kontrolna točka.

Kritične kontrolne točke so: postopki toplotne obdelave, hlajenje, zamrzovanje, sanitacije, preprečevanja navzkrižne okužbe, higiena zaposlenih in varovanje okolja; torej vsaka stopnja od nabave surovin do skladiščenja in prodaje, na kateri tveganje zmanjšamo, se mu izognemo ali ga preprečimo.

Vsaka stopnja procesa ni kritična kontrolna točka, ampak le kontrolna točka, na kateri opravimo mikrobiološko, kemijsko ali fizikalno analizo, če ne predstavlja tveganja v proizvodnji. V vsakem procesu izdelave živila je veliko kontrolnih točk, vendar so samo nekatere med njimi kritične kontrolne točke. To so tiste, ki vplivajo na kateri koli vidik kakovosti živila.

Pri odločanju, ali bomo določeno točko opredelili kot kontrolno ali kot kritično kontrolno točko, nam pomaga enostavno vprašanje: Ali opustitev kontrole na tej točki pomeni tveganje za zdravje potrošnika?

SHEMATSKI PRIKAZ: Določanje kritične kontrolne točke oziroma kontrolne točke



Kritične kontrolne točke v vsaki panogi predstavljajo surovine in dodatki. Pri teh moramo upoštevati, da je biološko, kemijsko in fizikalno tveganje vezano že na pridelavo poljščin, sadja, vrtnin in na vzrejo živali. Zato moramo občutljive surovine mikrobiološko, kemijsko in fizikalno pregledati, preden vstopijo v proizvodnjo.

Med samo predelavo si moramo na proizvodni shemi označiti kritične kontrolne točke, ki smo jih določili z analizo vmesnih izdelkov, brisov linij, izpiskov embalaže (line check ali stopenjska kontrola). Na vsaki kritični kontrolni točki moramo ugotoviti, kakšen učinek ima posamezna faza proizvodnega procesa na mikrobnó populacijo v živilu. To naredimo z ugotavljanjem števila in vrst mikroorganizmov, ki preživijo določen proizvodni postopek ali fazo. Pri končnem izdelku ugotavljamo njegovo biološko stabilnost v določenih razmerah (temperatura, vlažnost, prisotnost kisika ipd.). Iz teh podatkov izdelamo smernice in navodila za skladiščenje, prodajno mrežo in potrošnika.

### 11.1.3 Tretji princip

Za vsako kontrolno točko je potrebno določiti kritične norme. Te so opredeljene kot eden od predpisanih kriterijev, ki omogočajo učinkovit nadzor mikrobiološke neoporečnosti živil. Če enega od teh kriterijev ne nadzorujemo, izgubimo nadzor nad celotno kritično kontrolno točko. To pomeni veliko tveganje.

Kritične norme (meje ali okvire) največkrat postavljamo za kriterije, ki jih merimo na kritičnih kontrolnih točkah. Ti kriteriji so: temperatura, čas, vlažnost, vodna aktivnost, pH, titracijska kislost, koncentracija soli, konzervansi, viskoznost in v nekaterih primerih senzorične lastnosti. Za učinkovit nadzor kritičnih kontrolnih točk je potrebnih veliko različnih podatkov. Izbira kriterijev, ki jih bomo nadzorovali v posamezni kritični kontrolni točki, je odvisna od vrste izdelka, tehnološke opreme, ki je na razpolago, od tehnološkega postopka...

Na primer: toplotna obdelava mesnih pastet mora biti načrtovana tako, da uniči vegetativne oblike najbolj toplotno rezistentnega (odpornega) mikroorganizma, ki ga lahko pričakujemo v izdelku. Določene morajo biti norme za temperaturo, čas in debelino izdelka. Za tehnično vzdrževanje teh norm so potrebni sprotni podatki o številu takih mikroorganizmov v mesu, o uporabi dodatkov in o možnosti ponovne okužbe (rekontaminacije).

#### **11.1.4 Četrty princip**

Nadzor nad kritičnimi kontrolnimi točkami je sestavljen iz zaporedja meritev in analiz za nadzor določene kritične kontrolne točke in norm, ki so zahtevane zanjo. Vsi izidi teh zahtevanih meritev morajo biti dokumentirani. Če ni nadzora nad kritičnimi kontrolnimi točkami, je to kritična napaka. Posledice kritične napake so lahko zelo nevarne za uporabnike izdelka. Zaradi možnih resnih posledic za uporabnike izdelka je potreben resnično učinkovit nadzor nad celotnim procesom proizvodnje.

Idealen bi bil popoln nadzor. Stalen (neprekinjen) nadzor je mogoč z različnimi fizikalnimi in kemijskimi metodami. Na primer: nadzorovanje temperature in časa toplotne obdelave živil je mogoče, ker se vrednosti obeh parametrov samodejno zapisujejo na temperaturni list, ki je vložen v napravo, v kateri toplotna obdelava poteka. Če je temperatura nižja od predvidene ali čas prekratek, se izdelke zadrži. Tudi kislost (pH) v nalivu lahko merimo nepretrgoma pred dodajanjem v živilo ali pa v seriji živil pred obdelavo.

Obstaja veliko načinov za stalni ali serijski (šaržen) nadzor vrednosti parametrov v kritičnih kontrolnih točkah. Bolj zanesljiv je stalen ali neprekinjen nadzor, zato ga uporabljamo, kjer je le mogoče. Če ni mogoče vzpostaviti neprekinjenega nadzora, je potrebno najti tak časovni interval nadzora, da bo tveganje v kritični kontrolni točki pod nadzorom  $V$  ta namen so uporabni statistično zasnovani sistemi zbiranja podatkov. Ti sistemi so primerni za merjenje in zmanjševanje odstopanj v proizvodnji živila, pri tehnični opremi in merilnih napravah. Zato statistični postopki povečujejo zanesljivost sistema. Pri uporabi statističnega nadzora se je potrebno zavedati, da ne sme biti tolerance za prekoračitev kritične meje.

Če je na primer za varnost izdelka zahtevan pH 4,6 ali manj, niti ena enota izdelka ne sme imeti pH nad to vrednostjo. Za izravnavo nihanj v višini pH je potrebno najvišjo

zahtevano vrednost pH postaviti nižje od 4,6. Statistično procesno kontrolo lahko zasnujemo tako, da spremlja nihanja in zagotavlja, da se vrednost pH ne bo dvignila nad 4,6. Večina postopkov za nadzor mora biti hitra, ker so del tekočega procesnega nadzora in ni časa za dolgotrajne analitske teste. Zaradi dolgotrajnosti so mikrobiološke analize redko primerne za nadzor kritičnih kontrolnih točk. Uporabnejše so fizikalne in kemijske

metode, ki so hitrejše. S takimi meritvami in analizami lahko nadzorujemo:

1. temperaturo,
2. čas,
3. kislost,
4. stopnjo vlažnosti,
5. sanitacijo na kritičnih kontrolnih točkah,
6. preventivne analize za ugotavljanje navzkrižne okužbe,
7. procese v proizvodnji živil.

Naključni preizkusi so uporabni kot podpora nadzora nekaterih kritičnih kontrolnih točk.

Lahko jih uporabimo za:

1. preizkus vhodnih surovin in dodatne opreme,
2. sanitacije,
3. kontaminacije iz zraka,
4. čiščenja in sanitacije vsakega mesta, kjer je to posebej pomembno.

Naključni preizkusi so lahko sestavljeni iz fizikalnih in kemijskih analiz in kjer je potrebno tudi iz mikrobioloških analiz. Za nekatera živila, ki vsebujejo mikrobiološko občutljive sestavine, so nujno potrebne mikrobiološke analize. Kljub temu je le redko mogoča taka frekvenca (pogostost) jemanja vzorcev, ki bi zagotavljala zanesljivo ugotavljanje števila patogenih mikroorganizmov. Za zanesljivo ugotavljanje števila patogenih mikroorganizmov je potrebno veliko število vzorcev. Zato je uporaba mikrobioloških analiz v sistemu HACCP omejena. Uporabne so kot način ugotavljanja učinkovitosti nadzora kritičnih kontrolnih točk v HACCP sistemu.

Vse podatke, ki so v zvezi z nadzorom kritičnih kontrolnih točk, morata podpisati oseba, ki ta nadzor opravlja, in odgovorna oseba v delovni organizaciji.



### 11.1.5 Peti princip

Vzpostaviti je potrebno sistem ukrepov, ki jih je potrebno uporabiti, če se pokaže odstopanje od določb, postavljenih za posamezne kritične kontrolne točke. Predvideni ukrepi morajo odstraniti prisotno ali možno tveganje, ki nastane zaradi odstopanj od norm, postavljenih s HACCP sistemom. S tem omogočimo izdelavo kakovostnega živila. Zaradi različnosti možnih odstopanj pri kritičnih kontrolnih točkah v izdelavi različnih živil je potrebno predvideti korektivne ukrepe za vsako kontrolno točko posebej.

Sistem mora biti postavljen tako, da je kontrolna točka takoj po predvidenem ukrepanju pod nadzorom. Postopki, ki morajo potekati ob odstopanjih od norm, morajo biti zapisani v načrtu HACCP sistema. Vse analize, ki jih uporabljamo za ugotavljanje odstopanj, in korektivni ukrepi za njihovo popraviljanje morajo biti v skladu z zakoni in pravilniki. Vsa ugotovljena odstopanja in korektivni ukrepi morajo biti zapisani v dokumentacijskem sistemu HACCP, dokler ne poteče rok trajnosti tega izdelka.

### 11.1.6 Šesti princip

Postaviti je potrebno dokumentacijski sistem, ki vsebuje vse podatke o postopkih, ukrepih in analizah, ki jih nadzoruje HACCP sistem ali so del njegovega nadzora. V tem sistemu morajo biti zapisani vsi zaporedni podatki o proizvodnji živila, ki ga nadzoruje. Vključevati in dokumentirati mora vse podatke, ki se tičejo kritičnih kontrolnih točk. Posebej morajo biti navedeni podatki, ki jih za nadzor potrebujejo inšpekcijske službe. To so predvsem podatki, ki zadevajo dogajanja na kritičnih kontrolnih točkah. Ni potrebno, da so inšpekcijskim in drugim službam, ki skrbijo za zdravstveni nadzor nad živili, na voljo podatki, ki zadevajo samo delovanje in sestavo sistema HACCP.

Podatki, ki morajo biti na vpogled državnim nadzornim službam:

1. sestavine:
  - a) potrdilo dobavitelja, s katerim dokaže primernost surovine za živilo z določeno proizvodno specifikacijo,
  - b) podatke o procesu predelave, ki potrdijo primernost surovine,
  - c) podatke o temperaturnem režimu skladiščenja surovin, ki so občutljive na temperaturo,
  - d) podatke o času skladiščenja surovin, ki imajo omejen rok trajanja,
2. podatki, povezani z varnostjo živila:
  - a) dovolj podatkov, da se ugotovi učinkovitost postopkov za vzdrževanje varnosti izdelka,
  - b) dovolj podatkov, da se ugotovi ustreznost časa obstojnosti določenega živila,

- c) dokumentacija o primernosti procesov predelave, ki jo mora imeti primerno izobražena odgovorna oseba v predelavi,
- 3. predelava:
  - a) zapiski in podatki z vseh kritičnih kontrolnih točk,
  - b) zapiski in podatki, ki dokazujejo stalno ustreznost vseh procesov v predelavi,
- 4. embalaranje:
  - a) podatki, ki dokazujejo primernost uporabljenega embalirnega materiala (specifikacije embalirnega materiala in proizvodne specifikacije živila),
- 5. skladiščenje in distribucija:
  - a) podatki o temperaturnem režimu,
  - b) podatki, ki dokazujejo, da noben izdelek ni bil izdan po preteku roka trajnosti.

### 11.1.7 Sedmi princip

Vzpostaviti je treba sistem, ki z dodatnimi testi potrdi učinkovito delovanje HACCP sistema. Z njim preverjamo, če HACCP deluje po načrtu. V tako preverjanje so vključeni proizvajalec in ustrezne inšpekcijske službe. Preverjanje mora potrditi, da so v sistem nadzora nad živilom zajeta vsa možna tveganja za kakovost in zdravstveno neoporečnost živila. Metode preverjanja lahko zajemajo fizikalne, kemijske in senzorične ter po potrebi tudi mikrobiološke analize. Nekatere od metod preverjanja so:

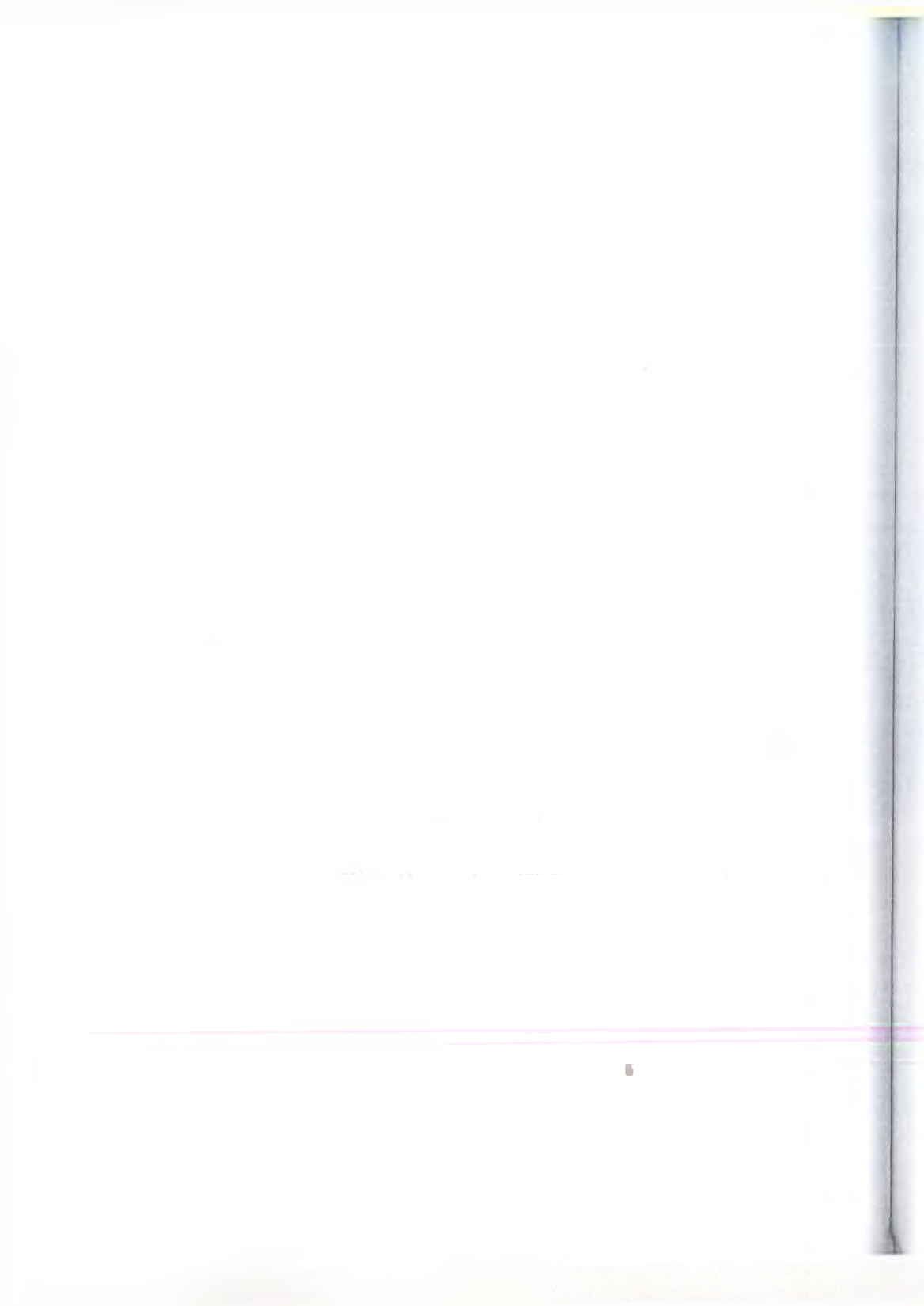
- 1. vzpostavitev primerne razporeda inšpekcijskih pregledov,
- 2. pregled načrta HACCP sistema,
- 3. pregled zapiskov o nadzoru kritičnih kontrolnih točk,
- 4. pregled odstopanj in dispozicij,
- 5. vizualna kontrola delovnih operacij, da se preveri, če so kritične kontrolne točke pod nadzorom,
- 6. naključno jemanje vzorcev in analiza.

Pristojne inšpekcijske službe se vključijo:

- 1. z rutinskimi ali nenapovedanimi pregledi, da preverjajo nadzor nad kritičnimi kontrolnimi točkami,
- 2. kadar se pojavi nova informacija, ki zadeva varnost živila, in je potreben poostren nadzor nad določeno sestavino, je potrebno preveriti učinkovitost HACCP sistema,
- 3. kadar se pojavi sum, da so določena živila prenešalci alimentarnih toksikoinfekcij,
- 4. kot posvetovalno telo, ko kriteriji za nadzor še niso postavljeni.

Vprašanja:

1. Razloži, kaj pomenita kratici TQM in HACCP.
2. Opiši sistem HACCP (naštej njegovih sedem principov).
3. Razloži, kaj v sistemu HACCP predstavlja tveganje.
4. Opiši biološko tveganje in razloži, kdaj je veliko in kdaj zmerno.
5. Poskusi razložiti, kaj pomeni kemično tveganje v sistemu HACCP.
6. Poskusi ugotoviti, po kakšnih kriterijih so mikroorganizmi in paraziti glede tveganja za kakovost živil razdeljeni v tri skupine.
7. Razloži, kako lahko v živilo pridejo snovi, ki pomenijo kemično tveganje.
8. Razloži, po kakšnih kriterijih delimo snovi, ki pomenijo kemično tveganje, na dve skupini.
9. Razloži, kaj pomeni kategorija tveganja in kako jo ocenimo.
10. Razloži, kaj je kontrolna in kritična kontrolna točka, ter opiši razliko med njima.
11. Ugotovi, kje v proizvodnem procesu morajo biti postavljene kontrolne točke.
12. Razloži, kaj so kritične norme in zakaj jih je potrebno določiti za vsako kritično točko.
13. Razloži, katere kriterije (lastnosti) merimo na kritičnih kontrolnih točkah in od česa je odvisna njihova izbira.
14. Ugotovi, zakaj morajo biti izidi vseh meritev in analiz za nadzor kritičnih kontrolnih točk zapisani (dokumentirani).
15. Opiši neprekinjen in serijski nadzor nad parametri v kritičnih kontrolnih točkah ter navedi primere.
16. Razloži, zakaj so za nadzor bolj uporabne kemijske in fizikalne metode kot mikrobiološke.
17. Ovrednoti uporabnost mikrobioloških analiz v HACCP sistemu.
18. Razloži, zakaj je potrebno vzpostaviti sistem ukrepov, ki jih uporabijo ob odstopanju rezultatov analiz od norm, postavljenih za posamezno kritično kontrolno točko.
19. Ugotovi, zakaj mora biti v sistem HACCP vključen tudi dokumentacijski sistem.
20. Razloži, kako preverjamo, če HACCP deluje po načrtu.



---

# ALIMENTARNE TOKSIKOINFEKCIJE

**Ključne besede:** zastrupitev z živilom, razmnoževanje mikroorganizmov, specifične patogene lastnosti mikroorganizmov, invadiranje mikroorganizmov, infekcijska doza, izbruh bolezni, obrambna sposobnost človeka, toksini, infekcija, intoksikacija, virulenca, patogeni mikroorganizmi, viri okužbe, primarna okužba, patogeni mikroorganizmi, fakultativno patogeni mikroorganizmi

Ali bo določen mikroorganizem povzročil zastrupitev z živilom, je odvisno od več dejavnikov. Med te dejavnike spadajo:

1. sposobnost mikroorganizmov, da v živilu ostane ali se v njem razmnožuje,
2. prisotnost specifičnih patogenih lastnosti mikroorganizmov, npr. sposobnost tvoriti toksine,
3. sposobnost mikroorganizmov, da se širijo (invadirajo) v tkivu človeka,
4. dovolj veliko število mikroorganizmov, da se doseže infekcijska doza.

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 razmnožijo. Pogosto se mikroorganizmi v živilu ne morejo razmnoževati, ostanejo pa sposobni povzročiti okužbo. Pomembna prenašalca takih povzročiteljev okužb sta surovo mleko in voda. Tipični mikroorganizmi iz te skupine so npr.: *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, A-streptokoki, *Leptospira*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, virusi in paraziti.

Prvi pogoj za invazivnost mikroorganizmov je njihova sposobnost, da se oprimejo celic gostiteljevega tkiva (*E. coli* ima v ta namen fimbrije). Z njegove površine prodrejo v globlje sloje tkiva. Razširjanje in razmnoževanje mikroorganizmov v človeškem tkivu je odvisno od odpornosti mikroorganizmov na obrambne mehanizme človeškega telesa (npr. fagocitozo).

Večina vnetij, ki jih povzročijo invazivni mikroorganizmi (npr. *Campylobacter jejuni*), je prostorsko omejenih (lokalne infekcije) na določenem področju (na črevo). Nekateri povzročitelji zastrupitev (npr. *Salmonella typhi* ali virusi) pa povzročijo sistemske infekcije. 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 vsidrajo v nekaterih organih.

Zastrupitve z živili povzročajo mikroorganizmi, ki so sposobni tvoriti toksine in se običajno lahko razmnožujejo v živilih. Lahko tvorijo endo- in eksotoksine.

Endotoksini so termorezistentni lipopolisaharidi, ki so normalna sestavina celičnih sten gramnegativnih bakterij (npr. *Salmonella* sp.). Ob smrti celice se sprostijo. Že v majhnih koncentracijah povzročajo diarejo, povišano telesno temperaturo, padec krvnega tlaka in druge bolezenske znake.

Eksotoksini so proteini, ki jih mikroorganizmi tvorijo v živilu (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*) ali pa se tvorijo šele v človeškem organizmu (*Clostridium perfringens*). Eksotoksini največkrat delujejo v črevesju in jih imenujemo tudi enterotoksini. Izjema je neurotoksin (živčni strup), ki ga tvori *Clostridium botulinum*. Ker so proteini, je večina eksotoksinov termolabilnih (visoka temperatura jih uniči). Izjemni sta enterotoksina, ki ju tvorita *Staphylococcus aureus* in *Escherichia coli* ter sta relativno odporna na povišano temperaturo.

Mikotoksini, ki jih tvori veliko število plesni, so po zgradbi zelo različni. Bolezenski znaki, ki jih povzročijo, so zelo različni. Običajno so termostabilni.

Meje med infekcijo (okužbo) in intoksikacijo (zastrupitvijo) ni vedno mogoče ločiti. Mnogi mikroorganizmi proizvajajo toksine in so hkrati tudi invazivni. Takšni so: salmonele, ki povzročajo enteritise; *Shigella*, enteropatogena *Escherichia coli* in *Vibrio cholerae*. Zato vsa obolenja, ki nastanejo zaradi invazije mikroorganizmov z živili v človekov organizem ali uživanja njihovih metabolnih produktov z živili, imenujemo alimentarne toksikoinfekcije. Virulenca je značilna lastnost določene vrste mikroorganizmov, pomeni pa prisotnost patogenih dejavnikov.

Minimalna infekcijska doza je najmanjše število celic patogene vrste mikroorganizmov, ki lahko izzove bolezenske znake. To število je odvisno od:

1. vrste mikroorganizmov,
2. zdravstvenega stanja človeka,
3. količine želodčne kisline,
4. vsebine prebavnih sokov človeka.

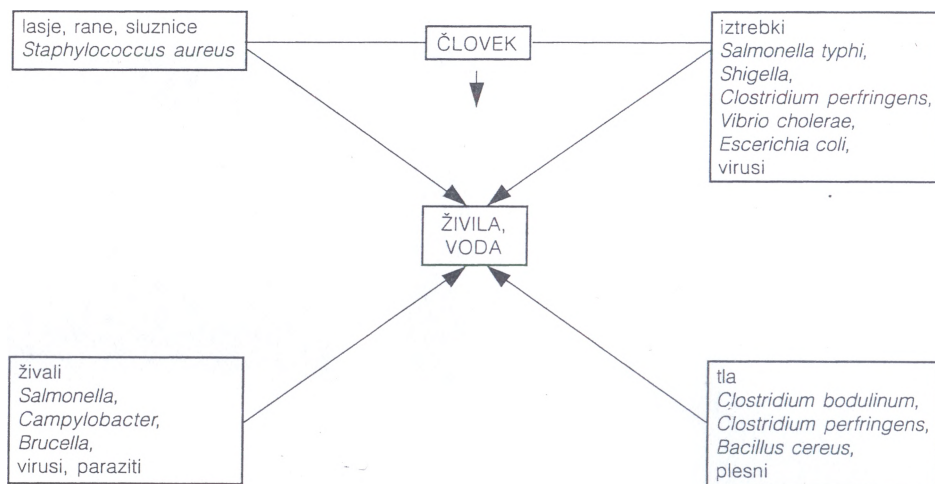


## 12.1 VIRI OKUŽBE

Živila so lahko z mikroorganizmi okužena primarno a ti sekundarno. Primarna okužba živil živalskega izvora je lahko intravitalna (nastopi v času življenja živali) ali intramortalna (nastopi med zakolom živali). Rastline se lahko okužijo pred žetvijo (med rastjo) ali med samo žetvijo.

Sekundarna okužba je tista, do katere pride med predelavo surovin v živilo. Pomembni viri za sekundarno okužbo živil so človeški in živalski iztrebki, sluznice, lasje, rane na koži, zemeljski prah in tla. Torej so za sekundarno okužbo najpogosteje neposredno ali posredno krivi ljudje, ki delajo z živili.

SHEMATSKI PRIKAZ: Viri okužb



Obrambna sposobnost človeka lahko močno vpliva na potek infekcije in težo obolenja.

Obrambna sposobnost organizma je odvisna od zunanjih dejavnikov.

Bolezniški znaki zaradi infekcije ali zastrupitve z živili se prej pojavijo pri majhnih otrocih, dojenčkih in zelo starih ljudeh; pri ljudeh, ki imajo kronična obolenja (diabetes); pri ljudeh z aktivnimi boleznimi; pri izčrpanih in nezadostno hranjenih ljudeh. Na pojav bolezenskih znakov vplivajo tudi: letni čas, podnebje in prehranjenost ljudi.

Pri ljudeh, katerih splošno zdravstveno stanje ni dobro, se veliko prej pokažejo bolezenski znaki kot pri zdravih in odpornih ljudeh. Pri ljudeh z zmanjšano odpornostjo se pokažejo tudi bolezenski znaki, ki jih povzročijo fakultativno patogeni mikroorganizmi. Ti delujejo

patogeno le redko in pod določenimi pogoji. V to skupino spadajo številni mikroorganizmi, ki so, tako kot *Escherichia coli*, normalni del črevesne mikroflore ljudi ali pa so pogosti v okolju, npr. na vrtninah (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*).

## 12.2 VPLIV ZUNANJIH DEJAVNIKOV NA POJAV BOLEZENSKIH ZNAKOV

**Ključne besede:** prehranske navade, temperatura skladiščenja živil, zmanjšanje števila zastrupitev, primarna okužba, sekundarna okužba, toplotna obdelava, skladiščenje

Sprememba načina življenja in prehrabnenih navad je močno povečala število obolenj, ki so posledica zastrupitev ali okužb s hrano. Povečalo se je število velikih industrijskih kuhinj (kantin, gastronomskih obratov, bolnišnic, domov), iz katerih s hrano oskrbujejo veliko število ljudi. Če v taki kuhinji pride do zastrupitve s hrano, je prizadetih veliko ljudi. V takih industrijskih kuhinjah morajo jedi primerno shraniti, ker je čas od priprave jedi do porabe dolg. Zato morajo biti jedi pravilno skladiščene, da je čim manj možnosti za razmnoževanje mikroorganizmov v že toplotno obdelanih (skuhanih) jedeh.

Dejansko število obolenj zaradi zastrupitve z živili je težko oceniti, ker je pristojnim službam potrebno javiti le mikroorganizme, ki lahko povzročijo smrtno nevarne zastrupitve. Veliko je masovnih obolenj zaradi zastrupitve s *Staphylococcus aureus* in sporogenima *Bacillus cereus* in *Clostridium perfringens*.

Najpogostejši vzrok zastrupitve z živili so previsoke temperature hlajenja gotovih živil, v katerih se razmnožujejo bakterije, ki so kot spore preživele toplotno obdelavo živila. Drugi vzroki so lahko še prenizka temperatura ali prekratek čas toplotne obdelave ali shranjevanje toplih živil pri temperaturah, nižjih od 65° C. Gotova jedila, ki jih želimo hraniti topla, morajo biti shranjena pri temperaturah, višjih od 70° C, da se v njih ne razmnožujejo patogeni mikroorganizmi.

Na večji pojav zastrupitev in okužb z živili vpliva tudi vedno večji turistični promet. V deželah v razvoju imajo slabe življenjske razmere velik vpliv na resnost in število obolenj. Do okužb in zastrupitev prihaja zato, ker preveč ljudi živi na premajhnem prostoru, zaradi slabe oskrbe s pitno vodo, zaradi neurejene kanalizacije, neorganiziranega odstranjevanja smeti. Poleg tega je pogosta nedohranjenost (pomanjkanje beljakovin), pogoste so parazitarne črevesne infekcije, kar poveča dovzetnost za okužbe z živili. Pri otrocih in dojenčkih, ki so najbolj ogroženi, štejejo bolezni s prebavnimi motnjami (driskami) med najpogostejše vzroke smrti.

Če želimo zmanjšati število zastrupitev in okužb z živili, je potrebno delovati na štirih področjih:

1. z gojenjem zdravih klavnih živali se lahko izognemo primarni okužbi,
2. preprečiti je potrebno sekundarno okužbo živil v predelavi in pripravi živil,
3. povzročitelje zastrupitev in okužb je potrebno uničiti z zadostno toplotno obdelavo ali drugimi tehnološkimi operacijami v proizvodnji živil,
4. skladiščenje živil mora biti primerno, da se povzročitelji okužb in zastrupitev ne morejo razmnoževati v živilih (hlajenje, zamrzovanje, topla živila hraniti pri temperaturah nad 65°C).

Vprašanja:

1. Poišči vzroke za povečanje števila zastrupitev s hrano.
2. Predlagaj ukrepe, s katerimi bi lahko v industrijskih kuhinjah zmanjšali možnost okužbe s hrano.
3. Ugotovi, zakaj so zastrupitve s hrano pogostejše v manj razvitih deželah.

## 12.3 BAKTERIJE POVZROČITELJI ALIMENTARNIH TOKSIKOINFEKCIJ

### 12.3.1 ENTEROBACTERIACEAE

Bakterije, ki spadajo v to družino in povzročajo alimentarne intoksikacije, so lahko obligatno patogene ali fakultativno patogene. Obligatno patogene so: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica* in *Yersinia pseudotuberculosis*. Fakultativno patogene so: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwardsiella* in *Yersinia*, ki normalno živijo v prebavnem traktu ljudi in živali.

V tleh (prsti), v vodi in na rastlinah najdemo predstavnike iz rodov: *Erwinia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Enterobacter* in *Yersinia*. Povzročitelji zastrupitev so pogosto: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica* in enterotoksična *Escherichia coli*.

#### 12.3.1.1 *Salmonella*

Med salmonele spada več kot 2000 seroloških tipov. Skoraj vsi tipi tega rodu so potencialno patogeni, zato poznamo in uporabljamo biokemične in serološke teste za njihovo identifikacijo in izolacijo. So običajni prebivalci prebavnega trakta različnih vrst živali,

predvsem perutnine in goveda. Zaradi slabe higiene oziroma slabega higienskega režima lahko pride do okužbe živil s salmonelami.

*Salmonella typhi* lahko povzroči tifus, ki je najresnejša bolezen, ki jo lahko povzroči kakšna vrsta iz rodu *Salmonella*. Manj nevarne gastrointestinalne bolezni, ki jih povzročajo druge vrste salmonel, imenujemo salmoneloze. Salmoneloze so najpogostejše vrste zastrupitev s hrano. Alimentarne toksikoinfekcije se pojavijo, če se s hrano v telo vnese veliko število bakterij. Izjema je *Salmonella typhi*. V črevesju se hitro razmnožujejo in povzročijo vnetje črevesja. Včasih vdrejo v krvni obtok in povzročijo abscese. Zaradi sprememb v črevesju so bolezenski znaki: driska, bolečine v trebuhu, bruhanje in skoraj vedno tudi povečana telesna temperatura.

Danes sodijo, da temperaturo zvišajo endotoksini, ki so polisaharidne komponente celične membrane. Izvor salmonel je najpogosteje živalska krma, človeški in živalski iztrebki, onesnažena voda ter okužene klavne živali. Infekcija se širi s okuženimi surovinami in v nehigijskih delovnih razmerah (z onesnaženimi rokami, opremo, predmeti in orodjem). Pot infekcije je navadno naslednja: živalska krma – živali – živila – človek. Pri širjenju salmoneloz so pomembni tudi glodavci, divje ptice, mrčes, psi in mačke.

Preglednica: Salmoneloze

	AKUTNI GASTROENTERITIS	TIFUS , PARATIFUS
POVZROČITELJ	povzroči ga lahko več kot 2000 serotipov salmonel	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> A,B,C
BOLEZEN	lokalna infekcija, intoksikacija	celična infekcija celotnega organizma
VIR POVZROČITELJEV	živali	ljudje (bolniki, klicenosci)
PRENOS	živila	neposredna okužba, voda, živila
INKUBACIJSKI ČAS	1-2 dneva	1-2 tedna
ČAS BOLEZNI	nekaj dni	2-4 tedne
TERAPIJA	simptomatična	zdravljenje z antibiotiki
DIAGNOSTIKA	prisotnost povzročiteljev v iztrebkih in živilih	prisotnost povzročiteljev v krvi, iztrebkih (blatu in urinu); prisotnost protiteles
IMUNOST PO BOLEZNI	ne	da
PROFILAKSA	higiena živil	higiena živil, cepljenje

Glede na značaj in potek bolezni delimo obolenja, ki jih povzročajo salmonеле, v tri skupine:

1. epidemična in sporadična obolenja ljudi in živali:
  - a) pri ljudeh trebušni tifus in paratifus,
  - b) pri živalih salmoneloze (septikemične),
2. alimentarne intoksikacije, ki nastanejo zaradi delovanja toksina iz hrane. Pokažejo se kot gastroenteritis, včasih pa kot splošna infekcija,
3. enteritisi, ki trajajo dlje časa.

Ljudje in živali predstavljajo glavni rezervoar salmonel. Množično so s salmonelami okužene domače živali, ribe, ptice in reptili. V organizmu ljudi in živali lahko dlje časa parazitirajo, preko blata in urina pa se izločajo v okolje. Takšne živali in ljudje so klicenosci. Živila in surovine se lahko okužijo na več načinov:

1. če izhajajo iz bolnih živali. Tako meso, mleko in jajca so vir okužbe za ljudi,
2. lahko se okužijo med izdelavo, pogosto v skladiščih, kjer so vir okužbe ljudje (klicenosci) in glodavci (nosilci salmonel).

Salmonele proizvajajo endotoksin. Patogene so za ljudi in živali. Nekateri serotipi salmonel so bolj patogeni za določeno vrsto živali. Tako *S. abortus ovis* povzroča abortuse pri ovcah, *S. abortus equi* pri kobilah, *S. suis* najdemo pri prašičih, *S. bovis morbificans* pa pri govedu. *S. typhi* in *S. paratyphi*, ki pri ljudeh povzročata tifus, ne najdemo pri živalih. Nekatere salmonele pa povzročajo bolezen pri ljudeh in živalih, takšni sta *S. typhimurium* in *S. enteridis*.

Bolezni znaki in inkubacijska doba pri salmonelozah. Salmoneloze imajo inkubacijski čas od 12 do 36 ur. Pri tifusu je inkubacijski čas do 10 dni. Salmonele najprej napadejo črevesno sluznico in se v njej razmnožujejo. Včasih uspejo prodreti skozi črevesno sluznico in pridejo v krvnožilni (kardiovaskularni) sistem, po katerem se razpršijo po telesu in lahko poškodujejo druge organe. Povišana telesna temperatura, ki je posledica infekcije s salmonelami, je lahko posledica delovanja endotoksina, ki se izloči iz liziranih (razgrajenih) celic, vendar ta povezava še ni potrjena. Običajno se pojavi rahlo povečana telesna temperatura, spremljajo jo bruhanje, bolečine v trebuhu in krči ter driska (diareja).

Med akutno fazo bolezni lahko v 1 gramu fecesa bolnika najdemo do 1 bilijon celic salmonel. Smrtnost te infekcije je majhna (do 1 %). Najbolj ogroženi so majhni otroci in stari ljudje, vzrok smrti je dehidracija. Ljudje so na okužbe s salmonelo različno občutljivi. Intenzivnost okužbe in inkubacijska doba sta odvisni od števila vnesenih celic salmonel. Običajno človek ozdravi v nekaj dneh, veliko bolnikov pa z blatom (feces) izloča salmonele še 6 mesecev ali tudi do dve leti po ozdravitvi. Zdravljenje z antibiotiki ni uspešno pri

salmonelozah, pomembna je predvsem rehidracija.

Živila, ki so pogosto vir okužbe s salmonelo, so: meso klavnih živali in perutnine ter izdelki iz mesa, jajca in jajčni izdelki.

Preprečevanje okužb s salmonelami je odvisno predvsem od dobre sanitacije (čiščenja, dezinfekcije), s katero preprečimo vdor salmonel v živila, in od primerne režima hlajenja živil, s katerim preprečimo ali zmanjšamo razmnoževanje salmonel. Običajno jih lahko uničimo s toplotno obdelavo, če je središčna temperatura vsaj 10 minut 68°C. Okuženo živilo lahko okuži tudi delovno površino, s katere se bakterije prenesejo na drugo živilo.

Nekateri serotipi salmonel lahko povzročajo tudi tifus ali paratifus. Te bakterije pridejo skozi črevesno steno v krvni obtok. Inkubacijska doba je do dva tedna. Bolnik ima sprva visoko telesno temperaturo (40°C) in stalen glavobol. Driska se pojavi drugi ali tretji teden, ko začne telesna temperatura padati. Bakterije lahko izoliramo iz bolnikove krvi, urina in blata. Smrtnost bolezni je 1 do 2 %. V deželah, kjer sta zdravstveni nadzor nad živili in higiena slabša, je tifus pogost vzrok smrti. Veliko ozdravljenih bolnikov postane klicenoscev. Bolniki, ki so tifus preboleli, so nanj imuni do smrti.

#### **12.3.1.2 *Escherichia coli***

Normalno se nahaja v črevesju sesalcev in ptic, na svežem mesu ter tudi na toplotno obdelanih živilih. Obstajata dva tipa *E. coli*, in sicer infektivni in toksinogeni, in več seroloških tipov *E. coli*.

Infektivni tip prodira v steno črevesja in povzroča bolezenske spremembe. Toksikogeni tip oblikuje toksine, ki izzovejo hude driske z veliko izgubo tekočine. Znana sta dva enterotoksina. Prvi je visoko molekularna termolabilna beljakovina, ki se inaktivira med 30-minutnim segrevanjem pri 60°C. Drugi, nizko molekularen in termorezistenten zdrži 15-minutno segrevanje pri 100°C. Infektivne doze so običajno 10<sup>5</sup> do 10<sup>6</sup> celic v 1 g živila. Nekateri tipi povzročajo driske dojenčkov, drugi pa obolenja odraslih. Na kuhano hrano prispejo po enakih poteh kot salmonele. Prisotnost *E. coli* v hrani je znak fekalne okužbe. *E. coli* povzroča tudi infekcije sečnih poti. Je tudi povzročitelj gastroenteritisov, ki jih imenujejo "traveler's disease". Nekateri enterohemoragični soji *E. coli* povzročijo hemoragične kolitise (krvavo grižo ali vnetje debelega črevesa s krvavitvami). En serotip iz te skupine (*E. coli* serotip O157 : H7) povzroča izločanje krvi z blatom, vendar brez povišane telesne temperature. Toksin, ki ga ta serotip *E. coli* izloča, je podoben toksinu (Shiga toxin), ki ga izloča zelo virulentna *Shigella dysenteriae*. Toksin lahko povzroči tudi izločanje krvi z urinom, ker so ledvice poškodovane zaradi njegovega delovanja. Zelo podobne bolezenske znake (simptome) kot "traveller's disease", ki jo povzročijo



enterotoksikogene *E. coli*, imajo tudi bolezn, ki jih povzročajo bakterije iz rodov: *Shigella*, *Salmonella* in *Campylobacter*.

### 12.3.1.3 *Shigella*

*Shigella* je rod patogenih bakterij, ki so bolj razširjene v toplih podnebnih predelih kot v hladnih. Živijo v prebavnem traktu ljudi in ti ga prenašajo v svoje okolje. Vir infekcije so lahko tudi psi in opice. Zelo pomembni prenašalci šigel pa so muhe in drug mrčes ter glodavci. Večina infekcij s šigelami pri ljudeh se razvije zaradi okužene hrane ali vode. Lahko jih uničimo z desetminutnim segrevanjem pri 70°C. Mnoga dezinfekcijska sredstva jih učinkovito uničujejo. Šigele lahko tvorijo toksine. Nekatere tvorijo vrsto endotoksina, druge pa eksotoksin. V rodu *Shigella* so štiri vrste patogene: *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* in *S. boydii*. Te bakterije živijo le v človeškem prebavnem traktu. Virulentne vrste izločajo eksotoksine, ki delujejo tako, da preprečujejo sintezo proteinov, s tem pa povzročajo smrt celic. Bakterije se razmnožujejo v tankem črevesu. Škoda, ki jo povzročijo, pa se pokaže v debelem črevesu. Delovanje toksina povzroči poškodbe črevesne sluznice, kar se pokaže kot močna driska s krvjo in sluzjo v blatu. Poškodbe sluznice se zarastejo, vendar je površina zabrazgotinjena. Dodatni simptomi infekcije so še trebušni krči in vročina. Smrtnost infekcij s *S. dysenteriae* je višja v toplih tropskih predelih in znaša 20%.

### 12.3.1.4 *Yersinia enterocolitica*

Živi v prebavnem traktu več vrst domačih živali. Lahko se razmnožuje tudi pri temperaturah hlajenja (4°C). Bolezenski znaki, ki jih povzroča, so: driska, povišana telesna temperatura, glavobol in bolečine v trebuhu. Bolečina je lahko tako huda, da jo lahko zamenjamo z vnetjem slepega črevesa. Včasih je okužba z *Y. enterocolitico* povezana z drugimi obolenji, kot so: vnetje bezgavk, ileitis, septikemija, artritis, abscesi na vranici in jetrih. Lahko se prenaša z mlekom, sladoledom, vodo in perutninskim mesom, vendar živila niso pogost izvor obolenja, ki ga povzroča ta mikroorganizem.

#### Vprašanja:

1. Razloži, kakšna obolenja lahko povzročijo salmonеле.
2. Opiši bolezenske znake, ki jih povzročijo salmonеле.
3. Razloži, na kakšne načine se širi okužba s salmonelami.
4. Razloži, kaj so salmoneloze.
5. Razloži, kdo je klicenosec.
6. Ugotovi, katera živila so pogosto vir okužbe s salmonelo in zakaj.

7. Razloži, v čem se razlikujeta infektivni in toksikogeni tip *E. coli*.
8. Razloži, zakaj je prisotnost *E.coli* v živilih znak fekalne okužbe.
9. Opiši toksine, ki jih izločajo toksikogeni tipi *E.coli*.
10. Opiši vire infekcij in načine razširjanja infekcij šigel.
11. Poišči način za uničevanje šigel.
12. Ugotovi, katere toksine lahko izločajo šigele.
13. Opiši delovanje toksina na črevesje.
14. Ugotovi, s katerimi živili se prenaša *Yersinia enterocolitica*.
15. Opiši bolezenske znake pri zastрупitvi z *Yersinia enterocolitica*.

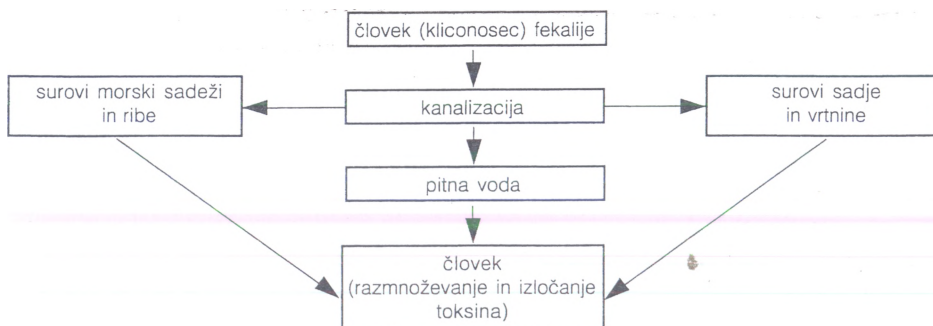
### 12.3.2 VIBRIONACEAE

V družino *Vibrionaceae* spadajo rodovi: *Vibrio*, *Plesiomonas* in *Aeromonas*.

V rod *Vibrio* spadajo vrste: *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* in *Vibrio fluvialis*.

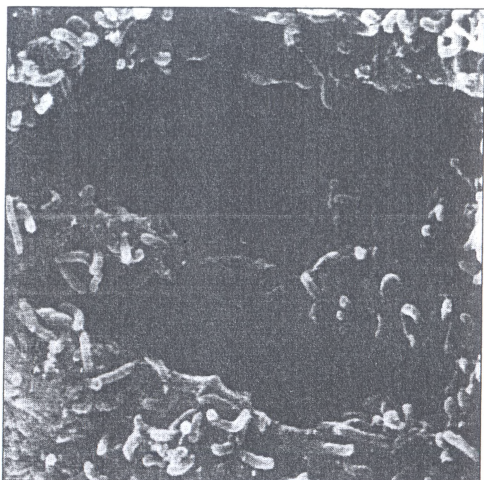
*V. cholerae* in *V. vulnificus* sta označena kot biotipa, ki pa se med seboj razlikujeta po več biokemijskih lastnostih. Obolenja, ki jih povzroči *V. vulnificus*, so blažja kot pri *V. cholerae*, vendar se *V. vulnificus* po ozdravitvi dlje časa izloča z blatom in je bolj odporen na vplive okolja. Vir okužbe je vedno prebavni trakt človeka. Z iztrebki klicenoscev ali bolnikov se okužijo voda (pitna, sanitarna in kanalizacijska) in živila. Največkrat so povzročitelji okužb živila, ki so v prodaji in uporabi surova (sadje in zelenjava) ter morski sadeži in morske živali, ki jih gojijo, lovijo ali nabirajo v bližini izpustov kanalizacije v morje.

SHEMATSKI PRIKAZ: Prenos povzročiteljev kolere *V. cholerae* in *V. vulnificus*



Slika 60

*Vibrio cholerae*, ki povzroča kolero.



a) Vidne so rahlo upognjene celice *V. cholerae*.

5  $\mu$ m



b) Normalna stena črevesa mladega zajca.

5  $\mu$ m



c) Črevesna stena mladega zajca po okužbi z *V. cholerae*.

5  $\mu$ m

Bolezenska slika. Ko zaužijemo okuženo živilo, pridejo povzročitelji bolezni v želodec, kjer jih večino uniči želodčna kislina. Zato je infekcijska doza (število celic, ki je potrebno, da se pokažejo bolezenski znaki) visoka, in sicer več kot  $10^6$  celic v 1 g živila. To velja za okuženo vodo. Pri drugih živilih pa je infekcijska doza nižja, ker več celic preživi.

V tankem črevesu se vibrioni pritrdijo na epitelno sluznico in se začnejo zelo hitro razmnoževati, ker jim alkalno okolje ustreza. Bolezenske znake povzroča enterotoksin, ki ga celice izločajo. Inkubacijska doba je 2 do 5 dni. Ob izbruhu bolezni človek zaradi driske in bruhanja izgubi 10 in več litrov tekočine na dan. Tako velika izguba tekočine in elektrolitov je življenjsko nevarna. Smrtnost bolezni je 30 do 50 %, če je ne zdravimo. S pravočasnim in pravilnim zdravljenjem pa smrtnost pade pod 1 %.

V družino *Vibrionaceae* spadajo tudi halofilni vibrioni, ki potrebujejo vsaj 1 % NaCl v okolju, da se lahko razmnožujejo. Najdemo jih v obrežnih slanih vodah. Razmnožujejo se šele pri temperaturah višjih od  $15^{\circ}\text{C}$ , zato se alimentarne toksikoinfekcije, ki jih povzročajo ti vibrioni, pojavljajo predvsem poleti in v toplejših podnebnih razmerah. Najpogostejša povzročitelj gastroenteritisov sta *Vibrio parahaemolyticus* in *Vibrio fluvialis*.

*Vibrio parahaemolyticus* živi v obrežnih vodah oceanov in je halofilen. Potrebuje visok osmotski pritisk (2–4 % NaCl v okolju) in natrij. Enteropatogeni *V. parahaemolyticus* izločajo ekso toksin, ki deluje hemolitično. Izvor okužbe človeka z *V. parahaemolyticus* so običajno surovi ali pri prenizki temperaturi toplotno obdelani morski sadeži in ribe. Inkubacijska doba je od 2 do 48 ur.

Bolezni znaki ob toksikoinfekcijah z *V. parahaemolyticus* so driska, bruhanje, bolečine v trebuhu in povišana telesna temperatura. Bolezenski znaki se po 2 do 5 dneh ponovijo.

V družino *Vibrionaceae* spadajo tudi rodovi *Plesiomonas* in *Aeromonas*. Predstavniki obeh rodov živijo v površinskih vodah. Živila se običajno okužijo z vodami, ki vsebujejo te mikroorganizme. *Aeromonas* se lahko prenašajo tudi z napravami in splakovalno vodo (podobno kot *Pseudomonas aeruginosa*), na primer v bolnišnicah (bolnišnične infekcije). Rodovi *Aeromonas*, ki povzročajo driske, pogosto tvorijo enterotoksin, ki je soroden koleratoksinu.

Tudi *Plesiomonas shigelloides*, ki povzroča gastroenteritise pri ljudeh, živi v površinskih vodah. Z njim se okužimo neposredno z vodo ali posredno preko živil, ki smo jih v okuženi vodi oprali ali jih z njo zalili. *P. shigelloides* se razmnožuje pri temperaturah, višjih od  $8^{\circ}\text{C}$ , zato so alimentarne toksikoinfekcije, ki jih povzroča, pogostejše poleti in v toplejših podnebnih predelih.

## Vprašanja:

1. Poišči skupne lastnosti obolenj, ki jih povzročajo mikroorganizmi iz rodu *Vibrio*.
2. Ugotovi, s katerimi živali se največkrat prenašajo mikroorganizmi iz rodu *Vibrio*.
3. Opiši bolezenske znake ob toksikoinfekcijah z *V. cholerae* in *V. vulnificus*.
4. Ugotovi, kateri mikroorganizmi iz rodu *Vibrio* potrebujejo visok osmotski pritisk.
5. Razloži, na kako se lahko ljudje okužijo z mikroorganizmi iz rodov *Plesiomonas* in *Aeromonas*.

**12.3.3 *Campylobacter* (aerobni, mikroaerofilni vibrioni)**

(Bergey 1994)

V rod *Campylobacter* spadajo vrste: *Campylobacter fetus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lariidis*, *Campylobacter jejuni*.

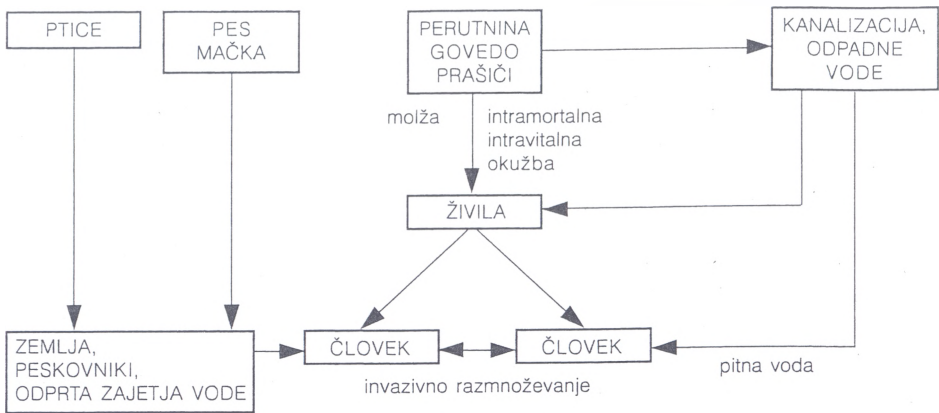
Vrste *C. fetus*, *C. coli*, *C. lariidis* in predvsem *C. jejuni* pri ljudeh povzročajo gastroenteritise. Bolezen se pogosteje pojavlja v tropskih deželah, večkrat tudi kot mešana infekcija več različnih povzročiteljev. *C. jejuni* spada med najpogostejše povzročitelje obolenj z driskami. V razvitih deželah obolevajo enako pogosto ljudje vseh starostnih skupin, v tropskih deželah in manj razvitih pa obolevajo predvsem majhni otroci.

Izvor infekcij s *C. jejuni* (rezervoar bakterij) so živali, predvsem perutnina in ptiči. Močno je razširjen tudi med govedom, svinjami in ovčami. Pogosto ga lahko izoliramo tudi iz fecesa (iztrebka) mačke ali psa. Zunaj živalskega ali človeškega organizma lahko preživi več tednov v iztrebkih, mleku ali maslu pri nizkih temperaturah (+4°C). Zato se človek lahko okuži tudi posredno s pitno vodo, okuženo s fekalijami, s sadjem, z vrtninami ter z mlekom, sladoledom in s perutninskim mesom.

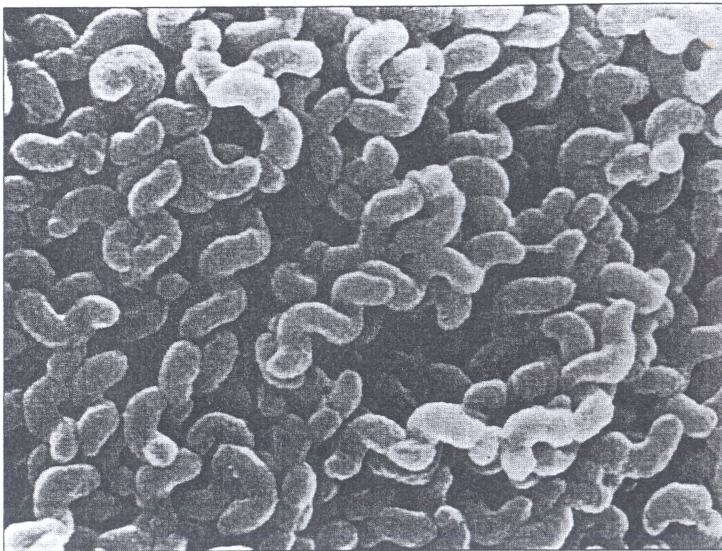
*C. jejuni* se v živilih ne razmnožuje. Bolezenske znake pa lahko izzove že nekaj sto celic povzročitelja. Je mikroaerofil, zato lahko preživi v živilih, ki so embalirana v vakuumsko embalažo in ovita s plastičnimi folijami. Preživi tudi v notranjosti živila.



SHEMATSKI PRIKAZ: Prenos *C. jejuni* na človeka



Slika 61  
Skenirana elektronska mikrofografija, ki prikazuje spiralno zavite bacile *Campylobacter jejuni*.



Bolezniški znaki. *C. jejuni* s svojo invazijo v sluznico povzroči vnetja v končnem delu tankega črevesa in v debelem črevesu (enterokolitis). Izloča vsaj dva, na toploto odporna eksotoksina ter citotoksin in enterotoksin, ki so povzročitelji bolezenskih znakov. Ker



delujejo na črevesno steno, povzročajo močne driske. *C. jejuni* vdre skozi črevesno steno v limfne vozle in lahko povzroči tudi boleznj zunaj območja črevesja, kot sta meningitis in vnetje sečnih poti.

Inkubacijska doba gastroenteritisa je 1 do 7 dni. Bolezenski znaki so driska (pogosto vodeno, krvavo blato), povišana telesna temperatura, trebušni krči in bruhanje. Bolezenski znaki izginejo po nekaj dneh tudi brez zdravljenja, vendar se pojavljajo v časovnih razmakih. Povzročitelji se tudi do 6 mesecev po ozdravitvi izločajo z blatom.

#### Vprašanja:

1. Ugotovi najmanjšo infekcijsko dozo za *C. jejuni*.
2. Razloži, kako se *C. jejuni* prenaša na človeka.
3. Opiši bolezenske znake pri okužbi s *C. jejuni*.

### 12.3.4 Listeria

V rod *Listeria* spada vrsta *Listeria monocytogenes*. Bakterije tega rodu najdemo v človeških in živalskih fekalijah, na rastlinah in v silaži. Izolirali so jih tudi iz razsoljenega in prekaženega mesa. Tipična vrsta je *Listeria monocytogenes*, ki povzroča obolenja pri ljudeh in živalih.

Znaki okužbe z *L. monocytogenes* so različni: od znakov gripe, driske, meningitisa, pri nosečnicah povzroča splav, pri novorojenčkih smrt. Okužba se prenaša z uživanjem surovega mleka bolnih živali, jajc, bolne perutnine in nezadostno kuhanega ali drugače pri prenizkih temperaturah in premalo časa toplotno obdelanega mesa bolnih živali ter tudi z rastlinskimi živili, kot so vrtnine in kislo zelje. *Listeria* povzroča abortuse pri živalih in ljudeh. Človek, ki bolni živali pomaga ob abortusu ali porodu, se z listerijo lahko okuži kontaktno. *Listeria monocytogenes* je bila izolirana pri govedih, konjih, prašičih, ovcah, srnah, lisicah, činčilah, zajcih, kuncih, morskih prašičkih, miših, fazanih in piščancih. Klicenosci so glodalci, lahko pa tudi domače živali (psi in mačke).

*L. monocytogenes* ima dve temeljni značilnosti:

1. napade predvsem otroke in starejše ljudi, katerih imunski sistem je oslavljen ter nosečnice in rakave bolnike,
2. lahko raste v vseh tkivih in organih v človeškem telesu.

Okužbe osrednjega živčevja potekajo kot absces in kot meningitis. Če pa se okuži nosečnica, v večini primerov pride do splava zaradi rasti bakterij na placenti (posteljici).

Novorojenček, ki preživi, ima lahko akutno sepso in meningitis. Smrtnost take okužbe preko placente je 60 %.

### Vprašnji:

1. Ugotovi, na kakšne načine se lahko prenaša *L. monocytogenes*.
2. Opiši posledice okužbe z *L. monocytogenes* pri ljudeh.

### 12.3.5 *Leptospira*

V rod *Leptospira* spada vrsta *Leptospira interrogans*. So zelo gibljive, spiralno zavite bakterije. Najdemo jih lahko v mesu nekaterih živali. Nekatere vrste so saprofiti, lahko pa so patogene za ljudi in živali.

*Leptospira interrogans* je povzročitelj leptospiroze. To je zoonoza in je poklicna bolezen mesarjev, veterinarjev in rejcev domačih živali. Za leptospirozo obolevajo glodavci, prašiči, govedo in psi. Ljudje se lahko okužijo kontaktno, skozi rane, npr. mesarji, delavci v kanalizaciji, ribiči, rudarji... Izjemoma se ljudje lahko okužijo z uživanjem mesa bolnih živali ali z živili, ki so okužena z urinom okuženih miši in podgan.

### Vprašnji:

1. Opiši načine okužbe z *Leptospira interrogans*.
2. Razloži, kaj je zoonoza.

### 12.3.6 *Micrococcaceae*

V družino *Micrococcaceae* spadajo rodovi: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* in *Pediococcus*.

#### 12.3.6.1 *Staphylococcus*

Bakterije rodu *Staphylococcus* naseljujejo kožo in sluznico ljudi ter živali in tudi živila. Pomembnejše vrste so: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus*, *S. capitis*, *S. saprophyticus* in *S. intermedium*. Nekatere vrste uporabljajo v mesni industriji kot starter kulturo pri izdelavi presnih klobas. Nekatere vrste oziroma nekateri sevi vrste *Staphylococcus aureus* so lahko povzročitelji alimentarnih toksikoinfekcij, ker izločajo različne enterotoksine.

### 12.3.6.2 *Staphylococcus aureus*

Je prebivalec zgornjih dihalnih poti in kože človeka in živali. Najdemo jih v okuženih ranah, svežem kravjem mleku in sirih, izdelanih iz surovega mleka. Nekateri sevi tvorijo eksotoksine. Splošno mnenje je, da 15 do 20 % ljudi nosi v svojem telesu enteropatogene seve te bakterijske vrste.

Najpomembnejši izvor in rezervoar te bakterijske vrste je človek. S površine mesa se prenaša v globino z noži in drugo opremo, z onesnaženimi predmeti, z okuženih rok in predpasnikov osebja ali s kapljicami iz dihalnih poti med kihanjem, kašljanjem in govorjenjem. Znaki obolenja so slabost, bruhanje, driska in trebušne bolečine brez povišane telesne temperature. Do dehidracije in kolapsa pride le v težjih primerih.

Največja nevarnost za infekcijo so: pogrete jedi, kuhana perutnina, kuhano meso, gotove jedi, kreme in sladoledi. Shranjevanje teh jedi pri temperaturah od 10 do 40°C omogoča razmnoževanje stafilokokov in oblikovanje enterotoksina. Posebno nevarnost za okužbo predstavljata mleko mastitisnih krav in perutninsko meso, ki je bilo okuženo med zakolom.

Infekcijska doza je  $10^6$  celic v 1 g živila. To število celic izloči dovolj enterotoksina, da se pokažejo bolezenski znaki. Rast in razmnoževanje stafilokokov je olajšano, če so drugi mikroorganizmi uničeni ali je njihovo razmnoževanje zavrtlo s kuhanjem, sušenjem, povišanim osmotskim pritiskom ali z manjšo vsebnostjo vode. *Staphylococcus aureus* je v teh razmerah bolj odporen od večine bakterij.

Vsako živilo, ki je vnaprej pripravljeno in shranjeno pri previsoki temperaturi, je možen vir okužb s stafilokoki. Ker se okužbi živil s stafilokoki ne moremo popolnoma izogniti, je potrebno živila shranjevati pri dovolj nizkih temperaturah, da preprečimo oblikovanje enterotoksina. Sam toksin je termostabilen in prenese visoke temperature (30 min pri temperaturi 135°C). Ko je toksin oblikovan, ga s segrevanjem živila ne moremo uničiti, lahko uničimo samo vegetativne celice bakterij.

Bolezni znaki se pokažejo 1-6 ur po zaužitju okužene hrane. Toksin prizadene vegetativno živčevje v zgornjem delu prebavnega trakta in sproži delovanje možganskega centra, ki povzroči bruhanje. Bolezenski znaki običajno izginejo v 24 urah. Ker zaradi driske in bruhanja izgubi bolnik veliko tekočine in elektrolitov, je med zdravljenjem te potrebno nadomestiti.

Za preprečevanje toksikoinfekcij s *S. aureus* je potrebna predvsem temeljita osebna higiena vseh, ki pridejo v stik z živilom. Delavci z ranami ali gnojnimi vnetji na rokah ali drugih delih telesa (npr. na vratu), z vnetji ali infekcijami v predelu nosa in žrela ne smejo prihajati v stik z živilom. Nevarnost okužbe živil preko zdravih (brez bolezenskih znakov) klicenoscev lahko zmanjšamo s skrbnim in rednim umivanjem in dezinfekcijo rok (v

Slika 62

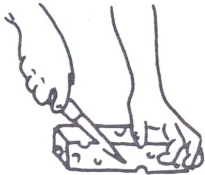
Zaporedje dogodkov, ki vodijo do intoksikacije s stafilokoki.



1



2



3



4



5

ali



6

7



8

- 1 – Beljakovinska živila
- 2 – Toplotna obdelava (večina bakterij uničenih)
- 3 – Živilo okuži delavec s stafilokoki na rokah (kompetitivne bakterije v živilu so že uničene)
- 4 – Neprimeren temperaturni režim; tvorba toksina (ponovno segrevanje uniči celice stafilokokov, ne uniči toksina)
- 5 – Počasno hlajenje velikih količin
- 6 – Hlajenje na sobni temperaturi
- 7 – Čas
- 8 – Intoksikacija (zastrupitev) s stafilokoki

sanitarnem in proizvodnem delu), s čisto in večkrat zamenjano delovno obleko ter z uporabo rut in kap, ki preprečijo okužbo z lasmi.

Živila je potrebno tudi toplotno obdelati pri dovolj visoki temperaturi in jih hraniti pri dovolj nizki temperaturi, da preprečimo tvorbo toksina. Izogibati se je potrebno hranjenju živil pri temperaturah od +10 do +65°C.

### 12.3.6.3 *Streptococcus*

Bakterije tega rodu živijo na ljudeh in živalih, najdemo jih v fekalijah, vodi, zemlji in živilih. Živila, v katerih jih največkrat najdemo, so: presne ali trajne klobase, pasterizirani mesni izdelki, mleko in mlečni izdelki ter tudi vrtnine, ki se okužijo z vodo in zemljo.

Te bakterije kvarijo mesne izdelke. Če jih najdemo v živilih, to kaže na nehigiensko in nestrokovno proizvodnjo živil. So termotolerantni in preživijo blage režime toplotne obdelave. Odporni so na sušenje in čistila.

Bolezni znaki okužbe s streptokoki so blagi in se kažejo kot bolečine v trebuhu, driska in včasih kot bruhanje.

#### Vprašanja:

1. Ugotovi, s katerimi živali se lahko okužimo s *Staphylococcus aureus*.
2. Razloži, kako lahko preprečimo okužbo s stafilokoki.
3. Ugotovi, kaj so enterotoksini, kateri mikroorganizmi jih izločajo in kako uničimo mikroorganizme in toksin.
4. Opiši bolezenske znake, ki se pojavijo ob okužbah s *Staphylococcus aureus*.
5. Ugotovi, zakaj so ljudje najpogostejši povzročitelji okužb živil s *Staphylococcus aureus*.
6. Ugotovi, kakšne so razlike med bolezenskimi znaki, ki jih povzročijo streptokoki in stafilokoki.

### 12.3.7 *Mycobacteriaceae*

V družino *Microbacteriaceae* spada tudi rod *Mycobacterium*. V njem so vrste: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* in *Mycobacterium leprae*.

Najdemo v patološko spremenjenem tkivu in bezgavkah. V rod *Mycobacterium* spadajo:

1. *M. tuberculosis* povzroča tuberkulozo pri ljudeh,
2. *M. bovis* je povzročitelj TBC pri domačih živalih in ljudeh,
3. *M. avium* povzroča TBC pri perutnini, domačih živalih in redkeje pri ljudeh,
4. *M. leprae* pa je povzročitelj lepre ali gobavosti.

### 12.3.7.1 *Mycobacterium bovis*

Prenaša se z uživanjem surovega, toplotno neobdelanega mleka molznic, ki so zbolele za tuberkulozo vimena, pljuč, črevesja ali urogenitalnih organov; z uživanjem toplotno neustrezno obdelanih notranjih organov (jeter) klavnih živali. Okužba se redko prenaša s človeka na človeka. Pri ljudeh povzroča kostno tuberkulozo in tuberkulozo limfnega sistema.

#### Vprašani:

1. Ugotovi, katere bolezni povzročajo mikroorganizmi iz rodu *Mycobacterium*.
2. Opiši, kako se prenaša *M. bovis* z živali na človeka.

### 12.3.8 *Pseudomonadaceae*

V družino *Pseudomonadaceae* spada rod *Pseudomonas*, vanj pa vrste: *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fragi* in *P. fluorescens*. Bakterije rodu *Pseudomonas* dobimo v zemlji, vodi, zraku in živilih, bogatih z beljakovinami (v mesu, mleku, jajcih in vrtninah – gnitje).

Pomembnejše vrste so: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *P. fragi* in *P. fluorescens*. Te bakterije pri nizkih temperaturah in visoki vlažnosti povzročajo kvar svežega mesa, ki se kaže kot sluzavost, proteoliza, žarkost mastnine in oblikovanje pigmenta.

*P. aeruginosa* je lahko povzročitelj zastrupitve s hrano, če je okužba velika (več kot  $10^6$  celic na 1 g ali 1 ml). *P. aeruginosa* povzroča pri majhnih otrocih in dojenčkih, ki imajo zmanjšano odpornost, napade bruhanja in vodeno blato. Je zelo odporen na zunanje dejavnike in se lahko razmnožuje tudi ob majhni količini hrane v vlažnem okolju (pitni vodi, umivalnikih, zarezah v tleh, raztopinah za infuzijo, vlažilcih zraka ipd.). Je odporen na veliko število dezinfekcijskih sredstev, zato ga je zelo težko odstraniti z okuženih mest. Zato se lahko prenaša tudi v bolnišnicah. Najdemo ga v tleh, v površinskih vodah, na rastlinah in sadju ter predvsem na vrtninah ter jedeh iz okuženih vrtnin.

#### Vprašanja:

1. Ugotovi, v kakšnih razmerah lahko rastejo mikroorganizmi iz rodu *Pseudomonas*.
2. Ugotovi, na kakšne načine se lahko prenašajo mikroorganizmi iz rodu *Pseudomonas*.
3. Razloži, zakaj se prenaša tudi v bolnišnicah.



### 12.3.9 *Bacillus*

V rod *Bacillus* spadajo vrste: *B. coagulans*, *B. stearothermophilus*, *B. psychrophilus*, *B. insolitus*, *B. globisporum*, *B. subtilis* in *B. cereus*. Lahko so v zemlji, zraku, vodi, rastlinah ter človeških in živalskih iztrebkih. So sporogene.

Sem spadata tudi vrsti *Bacillus coagulans* in *Bacillus stearothermophilus*, ki sta termofilni, ter *B. psychrophilus*, *B. insolitus* in *B. globisporum*, ki so psihofilne. Večina teh vrst je mezofilnih. Vrste rodu *Bacillus* kvarijo živila, na primer kruh (*B. subtilis*), klobase in mesne konzerve.

#### 12.3.9.1 *Bacillus cereus*

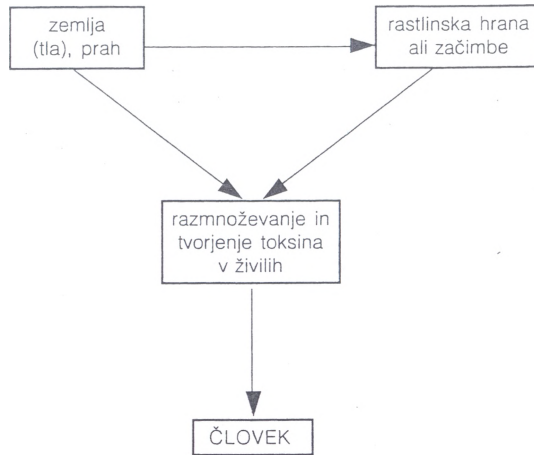
Je patogena vrsta rodu *Bacillus* in povzročča alimentarne toksikoinfekcije. Najdemo ga v zemlji in na rastlinah. Izoliran je iz številnih živil, mesnih izdelkov, juh, začimb, vrtnin, pudingov, omak in riža. Povzročča tudi kvar pasteriziranega mleka in krem.

Čprav ga pogosto najdemo v mesnih izdelkih, postane nevaren za zdravje šele, če živila hranimo pri višjih temperaturah, ker se razmnožijo. Spore vzklijejo že pri +6°C in pH 4. Razmnožujejo se do velikega števila, ko se začne oblikovanje toksina.

Ločimo dva tipa *B. cereus*. Eden oblikuje termorezistenten toksin, ki prenese 90 min pri +121°C. Za obolenje, ki ga povzročča, je značilna kratka inkubacija (1–5 ur), prevladujoč simptom je bruhanje. Drugi tip povzročča obolenje po daljši inkubaciji (8–16 ur), značilen simptom je driska. Obolenje ne traja dlje kot 12 ur. Ta toksin se uniči pri +60°C v nekaj minutah.

Za izbruh bolezni mora biti v gramu živila od 10<sup>5</sup> do 10<sup>6</sup> bakterijskih celic. Pogosto je *B. cereus* poleg *Clostridium perfringens* povzročitelj masovnih zastrupitev v industrijskih kuhinjah (restavracijah, ustanovah, menzah...). Toksin nastaja v temperaturnem območju od +4 do +43°C (optimum +32–+37°C). V živilih, ki vsebujejo veliko kislin (nizek pH), se toksin ne tvori, že nastali pa se inaktivira.

SHEMATSKI PRIKAZ: Prenos in tvorjenje toksina *Bacillus cereus*



Vprašanja:

1. Ugotovi, katere vrste rodu *Bacillus* so patogene in kvarijo živila.
2. Ugotovi, s katerimi živili se lahko človek okuži z *Bacillus cereus*.
3. Opiši bolezenske znake pri toksikoinfekciji z *Bacillus cereus*.

### 12.3.10 *Clostridium*

Bakterije rodu *Clostridium* so v zemlji, zraku, vodi, fekalijah človeka in živali ter na rastlinah. So sporogene. Sem spadajo: *C. perfringens*, *C. botulinum*, *C. butyricum*, *C. pasteurianum*, *C. roseum*, *C. putrefaciens*, *C. thermosaccharolyticum* in drugi.

So obligatni termofili. Povzročajo kvar živil (mesnih izdelkov). Patogeni vrsti sta *C. botulinum* in *C. perfringens*, ki povzročata alimentarne toksikoinfekcije.

#### 12.3.10.1 *Clostridium botulinum*

Nahaja se v zemlji, blatu, živalski krmi, ribah, nepravilno konzerviranih živilih, ribjih izdelkih ipd. Po seroloških značilnostih njihovih toksinov ločimo sedem tipov *C. botulinum*, ki povzročajo botulizem pri človeku, ptičih in divjih živalih.

Za *C. botulinum* je značilno, da tvori toksine v hrani, pri dojenčkih pa toksin lahko nastane v črevesju. Spore te bakterije so termorezistentne, toksine pa visoka temperatura uniči. Toksikoinfekcija s *C. botulinum* nastopi, če uživamo živila, ki niso bila dovolj toplotno obdelana in se v njih med skladiščenjem tvori toksin botulin. Toksini učinkujejo smrtno že v majhni količini. Toksin botulin je do danes najmočnejši znan biološki toksin. Deluje nevrotoksično, ker blokira prenos dražljajev po živčnih vlaknih. Smrtnost je 50% in več. Rehabilitacija preživelih traja 6 do 8 mesecev.

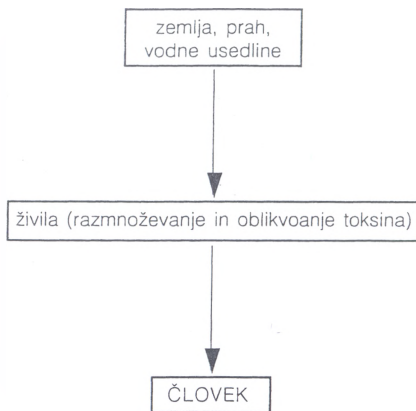
*C. botulinum* je anaerobna bakterija, zato spore vzklijejo v anaerobnih razmerah, kakršne so v živilih v pločevinkah, steklenih kozarcih, vakuumsko zaprti plastični embalaži in v krčljivi foliji. Ugodne razmere za rast lahko najde tudi v živilih, ki niso embalirana v embalažo, ki ne prepušča zraka. V mesu in mesnih izdelkih so že nekaj milimetrov pod površino zadovoljive razmere za rast *C. botulinum*. Optimalna temperatura za razmnoževanje je 45°C za oblikovanje toksina pa +30°C.

Zastrupitve s *C. botulinum* v industrijsko izdelanih živilih so redke. Večja možnost okužbe pa je pri doma pripravljenih (konzerviranih) živilih, kot so: razsoljena šunka ali klobase, vložena zelenjava, živila živalskega izvora in ribe.

Preglednica: Živila, ki so pogosto vzrok toksikoinfekcij s *C. botulinum*

ŽIVILO	DEJAVNIKI TVEGANJA
doma vložena zelenjava	segrevanje do največ 100°C, skladiščenje brez hlajenja, visoko število spor na surovini (zemlja)
doma pripravljene kuhane klobase (krvavice, jetrne klobase)	segrevanje pri največ 100°C, skladiščenje brez hlajenja, s sporami okužena surovina, premalo aktiven dodan nitrit
razsoljena ali sušena živila (trajni in poltrajni suhomesnati mesni izdelki)	prepočasna difuzija soli v notranjost živila
marinirane ali fermentirane ribe	okužba s sporami, prepočasno ali nezadovoljivo zakisanje (znižanje pH)

SHEMATSKI PRIKAZ: Prenos in oblikovanje toksina *Clostridium botulinum*



Bolezniški znaki pri intoksikaciji s *C. botulinum*. Ko pojemo okuženo živilo, se toksin resorbira v zgornjem delu tankega črevesa preko limfnega sistema v krvni obtok. Inkubacijska doba je odvisna od vrste toksina in zdravstvenega stanja okuženega človeka. Inkubacijska doba je od 12-36 ur (redkeje od 4 ur do 4 dni). Boleznikiški znaki:

1. ker toksin povzroči paralizo očesnih mišic, pride do motenj v vidu (dvojna slika ipd.),
2. toksin povzroči tudi paralizo žrelne mišice in mišičevja jezika, kar povzroči motnje v govoru in požiranju,
3. sluznice ust, jezika in žrela postanejo suhe, ker se zmanjša izločanje sline. Hkrati lahko pride do paralize udov,
4. smrt bolnika nastopi zaradi paralize dihalnih mišic, ki onemogoči dihanje.

Za zdravljenje je zelo pomembno, da pacient čim hitreje dobi antitoksin, ki nevtralizira prost toksin, ki se še ni vezal na živčevje. Toksin poskušajo razredčiti s praznjenjem želodca in črevesja in z infuzijami. Poleg tega bolnik dobiva zdravila, s katerimi želijo preprečiti sekundarne okužbe in kisik.

Preprečevanje toksikoinfekcij s *C. botulinum*:

1. segrevanje živil, ki so skladiščena pri temperaturah, višjih od  $+10^{\circ}\text{C}$ , pri  $+121^{\circ}\text{C}$  za najmanj 30 minut, če so v enokilogramskih embalažnih enotah. Živila, ki so skladiščena pri temperaturah nižjih od  $+10^{\circ}\text{C}$ , je potrebno segreti na  $+90^{\circ}\text{C}$  za najmanj 5 minut;

2. živila, ki vsebujejo kisline, morajo imeti pH nižji od 4;
3. živila, ki imajo vrednost vodne aktivnosti  $a_w$  višjo od 0,97, morajo biti skladiščena pri temperaturah pod  $+3^{\circ}\text{C}$ . Živila, ki imajo vrednost vodne aktivnosti  $a_w$  nižjo od 0,97, pa pri temperaturah, nižjih od  $+10^{\circ}\text{C}$ ;
4. s soljenjem, razsoljevanjem, slajenjem, sušenjem in zamrzovanjem je potrebno vrednosti vodne aktivnosti  $a_w$  v živilih znižati pod 0,932.

Dodatni ukrepi so še:

1. uporaba surovin, ki niso onesnažene s prstjo,
2. uporaba konzervansov, kot je nitrit.

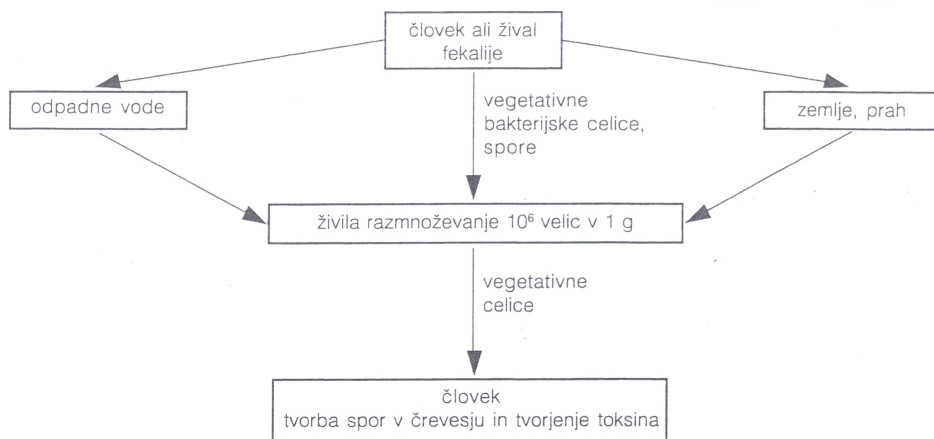
### **12.3.10.2 *Clostridium perfringens***

Je bakterija, ki se nahaja v prahu, zemlji (prsti), v živalskih in človeških iztrebkih, v začimbah, v posušenih živilih, v mesu klavnih živali in perutnine. Je sporogena bakterija. Poznamo pet seroloških tipov, od katerih so za človeka patogeni trije. Spore preživijo kuhanje in lahko vzklijejo med zmernim in dolgotrajnim hlajenjem. *C. perfringens* se razmnožuje v temperaturnem območju od  $+6,4$  do  $+50^{\circ}\text{C}$ . Če človek s hrano vnese tudi veliko število bakterij te vrste, se razmnožujejo in tvorijo spore v črevesju.

Enterotoksini, ki se tvorijo na celični membrani, so visokomolekularni in jih celice izločajo v medij, v katerem rastejo. Enterotoksini povzročajo izločanje tekočine in Na- ter Cl-ionov v črevesju, zato pride do "luščenja" epitelskih celic od črevesne stene. Povečana količina tekočine povzroči driske. Bolezenski znaki so: driska, bolečine v trebuhu, slabost, vendar brez bruhanja. Telesna temperatura navadno ni povišana. Najpogostejši vzrok alimentarne toksikoinfekcije so pogrete jedi, ker lahko gretje pospeši klitje spor.

Vegetativne celice *C. perfringens*, ki pridejo s hrano v prebavni trakt, se v kratkem času razmnožijo in začnejo sporuflirati. Ob rasti se oblikuje enterotoksin, ki povzroči večjo prepustnost krvnih kapilar. Posledica povečane prepustnosti je povečana količina tekočine, ki pride iz krvi v črevo. V 8-20 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.

Preglednica: Prenos in tvorjenje toksina *C. perfringens*



**Vprašanja:**

1. Ugotovi, kje vse živijo bakterije rodu *Clostridium*.
2. Ugotovi, katere vrste iz rodu *Clostridium* tvorijo toksine.
3. Opiši lastnosti in način delovanja toksina botulina.
4. Razloži, na kakšne načine bi lahko preprečili razvoj oziroma razmnoževanje *C. botulinum* v živilih.
5. Razloži, zakaj je tudi od vrste embalaže odvisno, ali se bo *C. botulinum* v živilu razvijal ali ne.
6. Ugotovi, v katerih živilih so najugodnejše razmere za razvoj *C. botulinum* in zakaj.
7. Opiši bolezenske znake pri toksikoinfekciji s *C. botulinum*.
8. Opiši lastnosti *C. perfringens*.
9. Ugotovi, v katerih živilih je *C. perfringens* najpogosteje prisoten in kako pride vanje.
10. Opiši posledice tosikoinfekcije s *C. perfringens*.

**12.4 PLESNI, KI TVORIJO MIKOTOKSINE**

**Ključne besede:** mikotoksini, metabolni produkti, kvar živila, toksini v živilu

Mikotoksini so metabolni produkti nekaterih plesni, ki se tvorijo med rastjo in se nabirajo v živilih in v hranilnih podlagah, na katerih rastejo. So strupeni (toksični) za ljudi in živali. Toksikološko so najpomembnejši oblikovalci mikotoksinov plesni iz rodov *Aspergillus*,



*Penicillium* in *Fusarium*. Prisotnost teh plesni na živilih ima lahko naslednje posledice:

1. kvar živil zaradi rasti plesni na živilu,
2. predelava surovin in polizdelkov, ki vsebujejo toksine zaradi rasti plesni na njih. Ker so termostabilni in imajo maksimalno temperaturo 125-130°C, so živila iz okuženih surovin ali polizdelkov okužena,
3. krmljenje živali s plesnivo hrano vodi do prenosa mikotoksinov v mleko in meso,
4. izdelava živil, v katerih so namesto plemenitih plesni, ki ne tvorijo mikotoksinov, toksikogene plesni.

Preglednica: Pregled pomembnih mikotoksinov

TOKSIN	POVZROČITELJ	POSLEDICE ljudje in živali	ŽIVILO PRENAŠALEC
AFLATOKSIN	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> <i>Penicillium</i>	rak na jetrih, Reyev sindrom, teratogeno delovanje, Kwashiorkor	vsí oreški, (olje) siri, živalska krmila (jetra živali, mleko)
OCHRATOKSIN A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>	obolenje ledvic, bolezenske spremembe črevesja	svinjsko meso, žita, zemeljski oreški
PATULIN	<i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Byssochlamys nivea</i> <i>Byssochlamys fulva</i>	slabost, toksično delovanje na notranje organe (ledvice, jetra, pljuča idr.)	sadje, sokovi, vino, paradižniki, sadni kolači
FUSARIUM TOKSINI zearaienon	<i>Fusarium</i> <i>graminearum</i>	abortus, bruhanje, sterilnost (estrogen)	žita, koruza, pivo
TRICHTHCENI	<i>Fusarium</i> spp., <i>Trichoderma lignorum</i> , <i>F. sporotrichoides</i> , <i>Fusarium pade</i> , <i>F. moniliforme</i>	vnetja kože in sluznice, bruhanje, izguba teka, driska	žita, paradižnik, koruza
VMESNI PRODUKTI AFLATOKSINOV sterigmatocistin	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>P. citreoviride</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. versicolor</i>	toksičen za ledvice, srčne motnje, rak na jetrih	žita, kava, siri, riž, oreški, žita

Vprašanja:

1. Razloži, kaj so mikotoksini.
2. Ugotovi, na katerih živilih se najpogosteje pojavljajo plesni, ki tvorijo mikotoksine.
3. Opiši posledice uživanja živil, na katerih rastejo plesni, ki tvorijo mikotoksin.

### 12.4.1 Lastnosti mikrotoksinov

**Ključne besede:** termostabilni, inaktivacija, toksičnost, kopičenje v telesu, teratogenost, kancerogenost, posledice uživanja okuženih živil

#### 12.4.1.1 Aflatoksini

Ime so dobili po plesni *Aspergillus flavus*, ki te toksine tvori. Aflatoksini so termostabilni in se inaktivirajo šele po daljšem delovanju toplote (temp. od +100 do +120°C) pri toplotni obdelavi v avtoklavih ali pri pečenju (mesa, slanine). Delovanje toplote pri pasterizaciji ali med peko kruha (središčna temperatura je največ +100°C) ne zadostuje za popolno inaktivacijo aflatoksinov. Bolj so občutljivi na močne kisline in luge (baze). V tehnoloških procesih, kot je ekstrakcija prostih maščobnih kislin z NaOH med rafiniranjem olja, je stopnja inaktivacije toksinov zadovoljiva.

Toksičnost aflatoksinov je enaka strupenosti strihnina in ciankalija. Vendar so akutna obolenja kot posledica uživanja aflatoksinov redka, ker bi bilo potrebno jesti veliko količino s plesnijo okuženega živila, da bi v telo vnesli dovolj toksinov za povzročitev akutnega obolenja. Pomembnejša za ljudi so obolenja, ki so posledica uživanja manjših doz aflatoksinov daljši čas. Ta obolenja so različne ciroze in fibroze. Enaka obolenja lahko povzroča tudi vdihavanje prahu, ki se dviga pri pretovarjanju plesnivih žitaric ali zemeljskih oreškov.

Toksini se kopičijo v jetrih, srcu in mišicah ter s tem še okrepijo svoje delovanje. Poleg poškodb jeter povzročajo aflatoksini še teratogenost (odmiranje ekstremitet ali druge vrste spačenosti pri zarodkih) predvsem pri živalih. So kancerogeni in povzročajo predvsem raka na jetrih in ledvicah.

Vrste plesni iz rodu *Aspergillus* rastejo v temperaturnem območju od +4 do +50°C. Njihova optimalna temperatura je med +25 in +40°C, zato prevladujejo predvsem v toplejših podnebnih razmerah. Za rast in tvorjenje toksinov potrebujejo naslednje pogoje:

1.  $a_w$  večjo od 0,95,
2. pH vrednost od 2,5 do 6,0 (najugodnejša),
3. opazno je zaviranje rasti plesni pri koncentraciji kisika, manjši od 0,1 %.

Plesni, ki oblikujejo aflatoksine *Aspergillus flavus* in *Aspergillus parasitus*, najdemo v tleh (prsti), 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.

#### 12.4.1.2 Patulin

Je mikotoksin, ki ga oblikujejo različne vrste rodu *Penicillium* (*P. expansum*, *P. urticae* in *P. patulum*), rodu *Aspergillus* (*A. clavatus* in druge) in nekatere vrste rodu *Byssoclamys* (*B. fulva* in *B. nivea*). Patulin nastaja predvsem v sadju. Pri živalih povzroča prebavne motnje pa tudi edeme in hemoragije različnih organov. *P. expansum* in *P. patulum* lahko rasteta in oblikujeta patulin pri temperaturah od 0 do +40°C in v pH območju od pH 3 do pH 6,5.

#### 12.4.1.3 Ochratoxin A

Oblikujejo ga različne vrste rodov *Aspergillus* in *Penicillium*, in sicer med rastjo na žitu (pšenici, koruzi, ječmenu, ovsu, rži, prosu, rižu idr.), vseh lupinastih sadežih in vrtninah (fižolu). S plesnivo krmo lahko pride Ochratoxin A v meso prašičev in perutnine, s plesnivim sladom pa pride v pivo. Toksin je strupen predvsem za ledvice. V višjih dozah lahko pri živalih opazimo tudi drugačne posledice (teratogeno delovanje, nekroze ipd.).

#### 12.4.1.4 Fusarium toksini

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

#### Vprašanja:

1. Opiši lastnosti aflatoksinov (inaktivacija, vpliv toplote in toksičnost).
2. Razloži, kako uživanje aflatoksinov vpliva na človeški organizem.
3. Opiši ugodne razmere za rast plesni iz rodu *Aspergillus* in za tvorjenje aflatoksinov.
4. Razloži, katere vrste plesni lahko tvorijo aflatoksine in patulin.
5. Opiši ugodne razmere za rast plesni, ki tvorijo patulin.
6. Razloži, katere toksine izločajo vrste plesni iz rodu *Fusarium* in v kakšnih razmerah rastejo.

7. Opiši posledice delovanja toksinov, ki jih izločajo vrste *Fusarium*, na človeški organizem.

### 12.4.2 Rast mikotoksiogenih plesni na različnih živilih

Ključne besede: lupinasto sadje, aflatoksin, žita, količina vode, kruh, okuženo žito, sadje, sadni sokovi, vrtnine, začimbe, zaviranje tvorjenja toksina, marmelada, vsebnost sladkorja, mleko, plesniva krma, meso, mesni izdelki

#### 12.4.2.1 Lupinasto sadje

Na lupinastem sadju, predvsem nazemeljskih oreških ali arašidih, prevladuje od plesni *Aspergillus flavus*, zato v plesnivih arašidih praviloma najdemo aflatoksine. Tudi drugi izdelki iz arašidov, kot so arašidno maslo in mleti arašidi, pogosto vsebujejo aflatoksine. Pogosto raste *A. flavus* tudi na pistacijah, manj pogosto pa ga najdemo na orehah, lešnikih in kokosovih kosmičih.

#### 12.4.2.2 Žita in žitni izdelki

V žitih se lahko oblikuje veliko število mikotoksinov, ker ga plesni iz rodu *Fusarium* napadajo že pred žetvijo. Stopnja okužbe je zelo odvisna od pridelovalnih ukrepov med rastjo rastlin in vremenskih razmer. Z gnojenjem rastlin z dušičnimi gnojili lahko pospešimo širjenje in razmnoževanje plesni. Nekatere plesni (*Fusarium*) potrebujejo relativno visok odstotek vode v substratu, zato njihova rast po žetvi upade. Razmnoževati pa se začnejo plesni, ki potrebujejo manj vode (*Penicillium* in *Aspergillus*). Aflatoksini se v žitih (pšenici, ječmenu, koruzi in rižu) oblikujejo zaradi rasti plesni vrst *Aspergillus*, in to predvsem v toplejših podnebni razmerah.

#### 12.4.2.3 Kruh in drugi pekarski izdelki

V kruh in pekarske izdelke lahko pridejo aflatoksini z moko iz žit, okuženih s toksikogenimi plesnimi. Pogosteje pa se toksini oblikujejo pri rasti plesni na kruhu. Ta se po peki lahko okuži s sporami plesni iz zraka med hlajenjem, skladiščenjem, rezanjem in pakiranjem. Plesni, ki pogosteje rastejo na kruhu in so sposobne tvoriti mikotoksine, so: *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *Penicillium expansum* in *A. versicolor*. Aflatoksine večkrat dokažejo v kruhu iz mešanic mok različnih vrst žit. V rženem kruhu *A. flavus* lahko raste, vendar v njem ne tvori toksina.

**12.4.2.4 Sadje in sadni sokovi**

K mikotoksinom, ki se tvorijo v sadju in sadnih sokovih, spada patulin, ki ga tvorijo vrste *Byssoschlamya*. Nastaja v porjavelih delih sadja (jabolk, hrušk, marelic, breskev, grozdja, ananasa, citrusov in drugih). Nastajanje toksina lahko zmanjšamo s skladiščenjem sadja v kontrolirani atmosferi (2-5% kisika, 2-3% CO<sub>2</sub>), rasti plesni pa s temi ukrepi ne zmanjšamo bistveno.

V kislem okolju je patulin odporen na visoko temperaturo in prenese temperaturo pasterizacije (+80°C). Zato je potrebno pri predelavi gnilega in plesnivega sadja v sok vedno računati na pojav patulina. Nekatere vrste *Byssoschlamys* tvorijo askospore, ki so odporne na visoke temperature (+92°C) in kvarijo sadne sokove s tvorbo patulina. Ta je prisoten tudi v vinu iz gnilega grozdja.

**12.4.2.5 Vrtnine**

Med rastjo plesni pri sobnih temperaturah na papriki, paradižniku, kumarah, korenju in drugi zelenjavi se lahko tvorijo patulin in *Fusarium* toksini. Ker se potrošniki izogibajo kupovanju plesnivih in gnilih vrtnin, je zastrupitev s patulinom zaradi vrtnin zelo malo.

**12.4.2.6 Začimbe**

Začimbe lahko vsebujejo do 10<sup>6</sup> spor plesni v 1 g. Veliko teh plesni je sposobnih tvoriti mikotoksine. Poper in cimet zavirata tvorbo mikotoksinov pri plesnih.

**12.4.2.7 Marmelade in med**

V medu in marmeladah, ki vsebujejo od 50-60 utežnih % sladkorja, ne morejo nastajati mikotoksini. Lahko pa toksikogene plesni rastejo v marmeladah in v medu z manjšo vsebnostjo sladkorja. V marmeladi so zelo pogosto. Če je na površini marmelada plesniva, jo je treba zavreči v celoti.

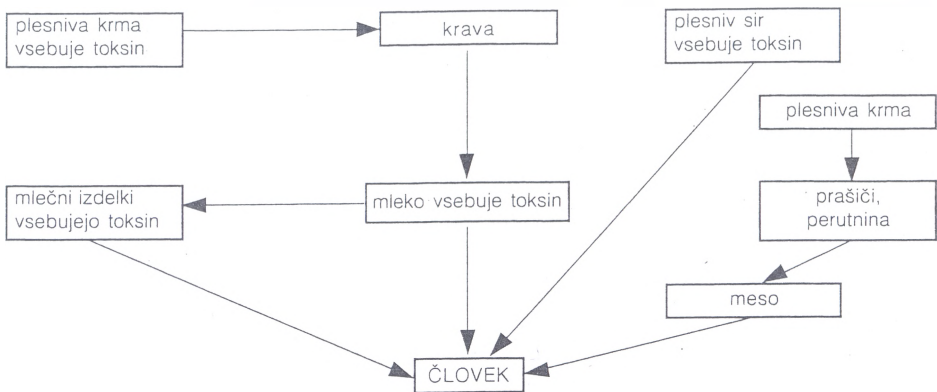
**12.4.2.8 Pivo in vino**

V pivo lahko pridejo mikotoksini s plesnivim sladom. V vinu so patulin pogosto dokazali. Vanj pridejo mikotoksini s stiskanjem gnilega in plesnivega sadja (grozdja, jabolk).

**12.4.2.9 Mleko**

Če kravo molznico krmimo s hrano, ki vsebuje plesni, ki tvorijo mikotoksine, se ti izločajo z mlekom. Izdelki, izdelani iz tega mleka, tudi vsebujejo mikotoksine.

SHEMATSKI PRIKAZ: Prenos toksinov z žvili živalskega izvora v človeka



#### 12.4.2.10 Meso in mesni izdelki

Če živali krmimo s krmo, ki vsebuje toksine, se lahko ti nalagajo v nekaterih organih ali tkivih, in sicer v jetrih, v mišičnem in maščobnem tkivu. Med izdelavo mesnih izdelkov lahko pride do zaplesnitve površine teh izdelkov. Na njih lahko zrastejo vrste *Penicillium*. Na mesnih izdelkih, ki se dalj časa sušijo, pa tudi vrste *Aspergillus*. Med njimi so lahko tudi vrste, ki oblikujejo mikotoksine. Mesni izdelki, na katerih pustimo rasti plesni, ne vsebujejo mikotoksinov, če smo nanje sami cepili plemenite plesni in s tem drugim preprečili rast.

#### Vprašanja:

1. Ugotovi, kako vplivajo pogoji rasti rastlin na rast toksikogenih plesni na plodovih.
2. Ugotovi, kako vplivajo postopki predelave živil na rast plesni in inaktivacijo mikotoksinov.
3. Ugotovi, zakaj so redke zastrupitve s patulinom zaradi uživanja nepredelanega sadja in vrtnin.
4. Razloži, kako lahko pridejo mikotoksini v pivo in vino.
5. Razloži, kateri dejavnik poveča možnost rasti toksikogenih plesni v marmeladah.
6. Razloži, kako mikotoksini pridejo v mleko in meso ter mlečne in mesne izdelke.



### 12.4.3 Preprečevanje okužb živil s toksikogenimi plesnimi in mikotoksini

**Ključne besede:** ukrepi, zmanjšanje verjetnosti okužbe, surovine, tehnološki postopki, nadzor  
S primernimi ukrepi lahko zmanjšamo verjetnost vsebnosti mikotoksinov v rastlinskih živilih. Ti ukrepi so:

1. pridelava manj okuženih surovin (žit, sadja, orehov in začimb):
  - a) z agrokemičnimi ukrepi (zdravo seme, pravilno gnojenje, primerna zaščita rastlin, pravilna žetev),
  - b) najprimernejše skladiščenje in transport žitne letine,
  - c) sortiranje (izločevanje) plesnivih surovin,
2. inaktivacija mikotoksinov, ki so že v živilih, s tehnološkimi operacijami:
  - a) praženjem pri temperaturah višjih od +240°C,
  - b) filtracijo,
  - c) ekstrakcijo s solno raztopino,
  - d) uporabo SO<sub>2</sub>,
  - e) uporabo C-vitamina,
3. uničevanje plesni v polizdelkih in končnih izdelkih.

#### Vprašnji:

1. Razloži, kateri ukrepi so primerni za zmanjšanje možnosti rasti toksikogenih plesni med pridelavo surovin za živila.
2. Ugotovi, s katerimi tehnološkimi operacijami lahko inaktiviramo mikotoksine in zakaj.

## 12.5 VIRUSI

**Ključne besede:** virusi, živila, razmnoževanje, okužene surovine, primarna okužba, sekundarna okužba

Virusi se razmnožujejo samo v živih celicah, zato je povečanje njihovega števila v živilih nemogoče. Živila in voda so lahko prenašalci samo tistih virusov, ki lahko dlje časa preživijo zunaj žive celice. Dober medij za ohranjanje živih virusov je mleko.

Živilo, ki izvira iz bolne, z virusi okužene živali, je tudi okuženo. Okuženo je intravitalno, v času življenja živali. To je primarna okužba. Do sekundarne okužbe živil z virusi lahko pride med predelavo živil.

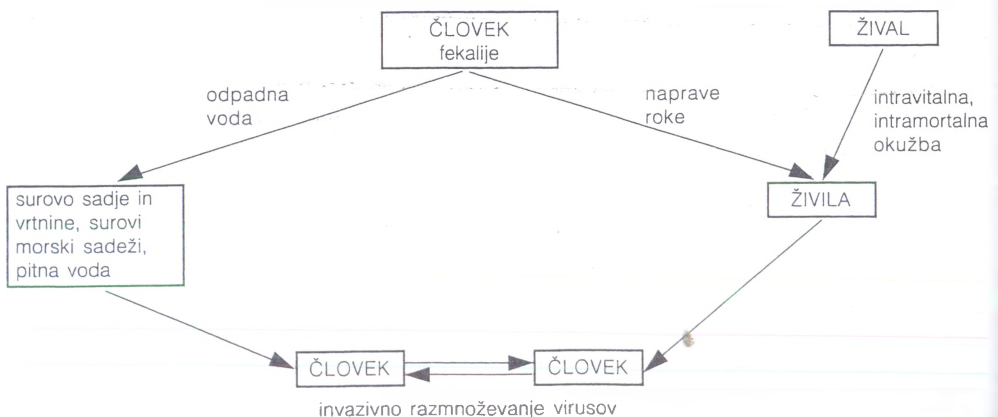
### 12.5.1 Prenos virusov z živil

**Ključne besede:** virusi, hlajenje živil, toplotna obdelava živil, prebavni trakt, prenos z živil, okužba z virusi, prisotnost virusov, štetje virusov

Večina virusov lahko v živilih ostane živa in sposobna povzročiti bolezen pri nizkih temperaturah: pri temperaturah hlajenja (do +4° C) več tednov in pri temperaturi zamrzovanja (-18° C) več mesecev. Veliko jih je odpornih proti nizki pH vrednosti, proti izsušitvi in predvsem proti visokim temperaturam. Zato je zadostna toplotna obdelava živil hkrati s preprečevanjem fekalne okužbe najpomembnejši ukrep pri preprečevanju okužb z virusi. Beljakovine in maščoba v živilih povečajo njihovo toplotno odpornost. Da lahko povzročijo bolezen, morajo biti virusi, ki jih pojemo z živil, odporni na želodčne in druge prebavne sokove. Posebej odporni so tisti brez ovoja (goli) virusi. Mednje spadajo Picorna virusi (pico = majhen + RNA), Reo-virusi, Adeno-virusi in Parvovirusi. Med Picorna viruse spada virus hepatitisa A.

Dokazan je prenos z živil za virus hepatitisa A in za Polio-viruse. Tudi prenos virusa klopnega encefalitisa z mlekom je večkrat opisan. V zadnjih letih je postalo jasno, da so virusi, ki se lahko prenašajo z živil, večkrat povzročitelji "zastрупitev" z živil, kot so mislili do zdaj. Med tiste, ki se lahko prenašajo z živil, sodijo: Norwalk-virusi, Rota-virusi, Ademo-virusi, Corona-virusi, ECHO-virusi, Coxsackie-virusi in drugi.

SHEMATSKI PRIKAZ: Prenos virusov z živil



Viruse v živilih ali v človeških vzorcih lahko dokažejo z razmnoževanjem v živalih, kurjih jajcih ali v tkivnih kulturah. Te metode so zelo drage in predvsem dolgotrajne. Hitreje lahko viruse opazimo in ocenimo njihovo število z elektronskim mikroskopom ali serološko s pomočjo encimskih imunskih testov.

Najpogosteje se z živilo prenaša virus hepatitisa A, ki povzroča bolezen hepatitis A ali zlatenico. Poznamo še virus hepatitisa B in virus hepatitisa neA in neB, za katera ni dokazano, da se prenašata z živilo. Virus hepatitisa A je zelo odporen na zunanje vplive. Odporen je na dezinfekcijska sredstva, na kloriranje pitne vode in šele z daljšim kuhanjem (dlje kot 5 minut) se inaktivira. Izvor infekcijske verige je človek, ki je nosilec povzročitelja bolezni. Prenaša se po oralno-fekalni poti. Virus se izloča z blatom že 1-2 tedna prej, preden se pojavijo bolezenski znaki (zlatenica). Tudi pri 40-60 % infekcij, ki potekajo brez bolezenskih znakov, se izloča z blatom. Do okužbe lahko pride z neposrednim stikom, predvsem pa s pitno vodo in z živilo, ki so okužena s fekalijami.

Preprečevanje ali zmanjševanje možnosti za okužbo z virusom hepatitisa A je možno predvsem s higienskimi ukrepi, ki preprečijo fekalno-oralno okužbo. Aktivno cepljenje še ni mogoče, možna pa je pasivna imunizacija z imunoglobini (ponavljamo jo na 3 do 5 mesecev).

Po okužbi se virusi najprej razmnožujejo v črevesnem epitelu, nato pa se razširijo po celem organizmu. Inkubacijska doba traja od 2-6 tednov. Bolezen se začne z akutnimi znaki, kot so: bljuvanje, slabost, glavobol, bolečine v sklepkih in členkih, povečana jetra in zlatenica. Poveča se odpor do mastnih in ocvrtih jedi. Po ozdravljenju ostane človek imun in varen pred ponovno okužbo.

Virus, ki povzroča otroško paralizo, se prenaša s fekalijami bolnikov in nebolelih klicenoscev, in sicer kontaktno, ter z onesnaženimi vodami (npr. v bazenih) in živilo. Pojav bolezni je z uvedbo cepljenja prebivalstva močno upadel, posebej v zahodnoevropskih in severnoameriških državah. Virusi, ki so povzročitelji otroške paralize, spadajo med polio-viruse, ti pa v skupino picorna virusov v rod *Enterovirus*.

Bolezni, ki jih povzročajo nekateri virusi (povzročitelji driske), se pokažejo po 1-2 dni trajajoči inkubacijski dobi. Bolezenski znaki so: huda driska, bolečine v spodnjem delu trebuha, vrtoglavica in visoka telesna temperatura. Bolezen se v nekaj dneh pomiri. Med najpomembnejše povzročitelje bolezni spadajo Norwalk virusi. Ti povzročajo izbruhe bolezni, prenašajo pa se s fekalno onesnaženo vodo (pitno vodo in vodo v bazenih) in z živilo (školjkami). Ti virusi so izredno majhni, brez ovojnice in jih do zdaj niso uspeli vzgojiti (kultivirati) v laboratorijskih razmerah.

Fekalno-oralni je tudi prenos Rota-virusov (spadajo v skupino Reo-virusov), ki povzročajo bolezni predvsem pri otrocih do 2 let. Odrasli redko zbolijo, so pa lahko prenašalci virusov. Predvidevajo, da so Rota-virusi povzročitelji 30-40 % vseh črevesnih okužb pri dojenčkih in majhnih otrocih. Rota-virusi so odporni na fizikalne in kemijske dejavnike v okolju.

Driske lahko povzročajo tudi virusi ECHO in Coxackie, ki spadajo med enteroviruse. Ti virusi lahko povzročijo tudi druge bolezni, npr. bolezni dihalnih poti.

Adeno-virusi, ki so razdeljeni v 39 serotipov, so pogosto povzročitelji akutnih prehladnih obolenj, ki so povezana z okužbami oči in dihalnih poti. Pri dojenčkih in majhnih otrocih lahko povzročijo okužbo prebavnega trakta. Ti virusi preživijo prehod skozi prebavni trakt in se izločajo z blatom. Sposobni so dlje časa preživeti zunaj živega organizma, zato je z njimi mogoča kapljična okužba. Prenašajo se tudi kontaktno in s fekalno okužbo živil in pitne vode.

### Vprašanja:

1. Razloži, kako lahko čim bolj zmanjšamo ali preprečimo možnost okužbe z virusi preko živil.
2. Ugotovi, kateri virusi se lahko prenašajo s pitno vodo in katere bolezni povzročajo.
3. Ugotovi, za katere viruse pravimo, da so glavni vir okužbe z njimi ljudje klicenosci.
4. Razloži, kaj pomeni fekalno-oralna pot okužbe.
5. Ugotovi, kateri virusi se lahko prenašajo z žvili.
6. Ugotovi, zakaj nekateri virusi, ki pridejo v prebavni trakt, povzročijo bolezenske znake, drugi pa ne.
7. Razloži, kaj pomeni kontaktna okužba.

## 12.6 PARAZITI

**Ključne besede:** protozoji, helminti, artropodi, ektoparaziti, endoparaziti, fakultativni paraziti, obligatni paraziti, specifičnost zajedanja, specifičnost gostitelja, prilagajanje gostitelju

Med parazite spadajo:

1. protozoji,
2. helminti (trihinele, gliste, trakulje),
3. artropodi (klopi, bolhe).

Parazitizem je oblika simbioze, pri kateri živi manjše bitje na večjem, na njegov račun ali v njem. Parazit dobiva od gostitelja pomembno hrano, kritje ali pa ga gostitelj širi in prenaša. Pri tem mu zajedavec ničesar ne vrača. V ožjem pomenu pa govorimo o parazitizmu, le kadar živi parazit na tkivih gostiteljevega telesa ali v njem.

Parazite delimo v skupine po različnih vidikih:

1. glede na del na gostitelju, na katerem paraziti živijo, poznamo EKTOPARAZITE (zunanje) in ENDOPARAZITE (notranje). Poznamo pa tudi številne vmesne oblike med zunanjimi in notranjimi paraziti. Takšne so na primer drobne pršice, ki lahko živijo na koži raznih sesalcev ali tako, da vdirajo vanjo;
2. glede na trajanje zajedanja lahko parazite delimo v ZAČASNE in TRAJNE. Trakulje in mnoge druge živali so paraziti vse svoje življenje. Vse stopnje življenjskega ciklusa trakulj so parazitne. Pri mnogih drugih živalih pa so ličinke lahko svobodne in vrsto širijo;
3. paraziti so lahko tudi FAKULTATIVNI in OBLIGATNI (obvezni). Pri fakultativnih parazitih lahko odrasla žival živi popolnoma neodvisno. Pri obligatnih parazitih pa so vse stopnje razvoja parazitne;
4. o SPECIFIČNOSTI ZAJEDANJA govorimo, kadar paraziti zajedajo samo določene gostitelje, drugih pa ne. Lahko prehajajo iz enega končnega gostitelja v drugega iste vrste. Najpogosteje preživijo paraziti spolno nezrelo stopnjo v vmesnem gostitelju ali v več vmesnih gostiteljih;
5. SPECIFIČNOST GOSTITELJA pomeni navadno nagnjenost mnogih parazitov, da napadajo samo posamezne vrste ali majhno število sorodnih živalskih vrst. Posebno pri helmintih poznamo veliko vrst parazitov, ki so specializirani za skupine.

Podobno kot svobodne živali tudi paraziti poskušajo čim bolje rešiti temeljne potrebe v svojem ekološkem položaju. Potrebujejo hrano in kritje, hkrati pa si morajo priskrbeti še možnost razširjanja in razmnoževanja. Gostitelji jim pomagajo reševati vse temeljne potrebe razen razmnoževanja.

V nekaterih stopnjah razvoja izgubljajo nekateri paraziti veliko število osebkov, ki si ne najdejo pravočasno novega gostitelja ali pa so hudo občutljivi na okolje. Mnogi helminti nadomestijo velike izgube s tem, da zležejo neverjetno količino jajčec. Drugi se izognejo težavam z zarodom pri iskanju novih gostiteljev z menjavanjem spolne in nespolne stopnje svojega življenjskega kroga.

Med prilagajanjem svojemu gostitelju parazit navadno izgubi zmožnost za samostojno gibanje. Najpogosteje se prenaša pasivno. Pomislimo na številne parazite, s katerimi se človek in živali okužijo z iztrebki ali s hrano, v katero so iztrebki zašli. Nekateri končni gostitelji žrejo vmesne gostitelje in se pri tem okužijo s paraziti. V teh primerih gostitelj ne more prebaviti parazitov, ki se nemoteno razvijajo v odrasle osebke v njegovem črevesju. Tudi zrak in voda sta pomembni poti za širjenje okužb s paraziti. Nekateri pridejo na človeka z dotikom (na primer okužba s pasjo trakuljo pri božanju psa). Mnoge parazite prenašajo žuželke in drugi vektorji (plazmodiji, ki so povzročitelji malarije). Nekateri preidejo na plod sesalca skozi posteljico še v maternici.

Mnogi glodavci so v naravi vir okužbe z nekaterimi bakterijami, med drugimi tudi povzročitelji kuge in tularemije. Z glodavcev na človeka prenaša bakterije običajno mrčes, posebno bolhe. Prašiči in podgane so v naravi rezervoar za okužbo s *Trichinella spiralis*, ki povzroča pri človeku trihinelozo. Bolezen je lahko zelo huda, čeprav je redko smrtna.

Paraziti, naj bodo živalski, bakterijski ali virusni, vedno poškodujejo gostitelja ali ga celo uničijo, kadar ta ni odporen proti njim.

### Vprašanja:

1. Opiši parazitizem kot vrsto simbioze.
2. Razloži, glede česa se razlikujejo med seboj notranji in zunanji paraziti in naštej nekaj primerov.
3. Razloži, kdaj je neki organizem začasen in kdaj trajen parazit.
4. Razloži razliko med specifičnostjo zajedanja in specifičnostjo gostitelja.



5. Ugotovi, katere temeljne potrebe parazita rešuje njegov gostitelj.
6. Razloži razliko med fakultativnimi in obligatnimi paraziti.
7. Razloži, na kako lahko parazit pride do vmesnega ali končnega gostitelja.

### 12.6.1 Praživali ali protozoi

**Ključne besede:** enoceličarji, amebiaza, cistonosec, razkroj tkiv, prebavni trakt

Praživali so enocelični organizmi. Živijo v vodah in tleh ter se hranijo z bakterijami in majhnimi delci hranilnih snovi. Nekatere so del normalne flore v prebavnem traktu živali, npr. v prebavnem traktu termitov pomagajo prebavljati celulozo. Na rodove so razdeljene glede na način premikanja.

Ti rodovi so:

1. *SARCODINA* – vanj so razvrščene amebe, ki se premikajo s pseudopodi. Patogen predstavnik, ki se prenaša z okuženimi pijačami in živili, je *Entamoeba histolytica*. Okužba z njo se imenuje amebiaza,
2. *MASTIGOPHORA* – predstavniki tega rodu imajo flagele. Patogen predstavnik je *Giardia lamblia*,
3. *CILIATA* – predstavniki tega rodu imajo cilije. Patogen predstavnik, ki je parazit v človeškem telesu, je *Balantidium coli*,
4. *SPOROZOA* – vsi predstavniki te skupine so patogeni. S hrano se prenašata *Toxoplasma* in *Isospora*.

#### 12.6.1.1 *Entamoeba histolytica*

**Ključne besede:** amebiaza, debelo črevo, cista, oralna okužba, cistonosec, pitna voda, sveže sadje, bolezenski znaki, preventiva

Okužba z njo je amebiaza. Prvotne okvare so na debelem črevesju, sekundarno pa bolezen zapletajo kotišča bolezní v jetrih, na pljučih, v možganih in drugih organih. Zunajčrevesne okvare so pogostejše pri bolnikih, ki niso bolni na črevesju. *E. histolytica* je vedno možen vdiralec v tkiva in nevaren patogen parazit, vendar pogosto ne povzroča bolezenskih znamenj. Okužbe z *E. histolytica* so znane po vsem svetu. Zdi se, da je parazitov več v tropskih deželah kot v zmerno toplen podnebni pasu.

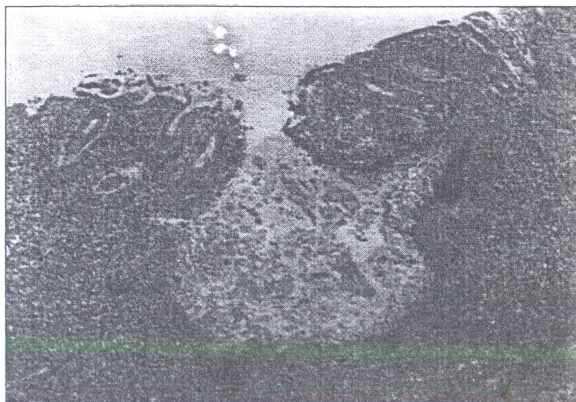
Človek se okuži s cistami skozi usta. Vedno je on vir okužbe. Ciste prehajajo od bolnika (cistonosca) na novega gostitelja z vodo, hrano ali z dotikom. Med živili je pogosto okuženo sveže sadje. Inkubacija traja lahko od nekaj dni do več mesecev in zato težko najdejo prvotni vir okužbe. Epidemije amebiaze so skoraj vedno posledica okužbe pitne vode. Ciste se pri prenašalcih izločajo z blatom. Želodčna kislina lahko uniči vegetativne celice, ne more pa uničiti cist. V prebavnem traktu ovoj ciste razpade in sprosti se vegetativna oblika, ki je po videzu ameba. Parazit razkrajja tkiva, v katerih živi, in se hrani z rdečimi krvničkami. Približno desetina svetovnega prebivalstva je okužena, večina pa nima bolezenskih znakov, so pa prenašalci.

Bolezniški znaki:

1. amebna dizenterija – značilni so vodeni iztrebki, v katerih so ostanki tkiva in kri. Začetno znamenje infekcije je splošno neugodno počutje v trebuhu, ki ga spremljajo pogosta tekoča in krvava iztrebljanja;
2. zunajčrevesna amebiaza – klinična znamenja se pokažejo, ko je absces že močno razvit. Znaki so bolečine v desnem zgornjem podrebrju. Bolnika sili na kašelj, ima bolečine pri dihanju in v prizadetem predelu. Je močno prizadet in ima visoko telesno temperaturo. Znamenja amebnega ognjoka v možganih so odvisna od velikosti in prizadetega področja v možganih.

Slika 63

Tipična oblika rane v črevesni steni, ki jo povzroči *Entamoeba histolytica*.



Ukrepi za preprečevanje okužb:

1. higiensko odstranjevanje iztrebkov,

2. čiščenje pitne vode s precejanjem, kuhanjem ali dodajanjem kemičnih sredstev,
3. zdravljenje bolnikov in cistonoscev,
4. izogibanje surovim živilom, ki bi bila lahko okužena,
5. poučevanje prebivalcev o nevarnosti ambiaze, načinu prenosa in ukrepih za preprečevanje okužb.

### 12.6.1.2 *Giardia intestinalis (lamblia)*

**Ključne besede:** parazit, črevesna stena, motena absorpcija hranilnih snovi, ciste, pitna voda, okužena živila

Je parazit, ki se prilepi na notranjo stran človeškega črevesa. Živi lahko kot neškodljiv parazit v človeških prebavilih, najdemo ga tudi pri vnetjih v prebavilih in žolčniku. Včasih povzroča tudi splošna bolezenska znamenja, kakor so: koprivnica, hujšanje, navzea, neješčnost, povišana telesna temperatura in podobno. Okužbo s tem parazitom imenujemo giardiazia. Paraziti včasih zasedejo tako površino črevesne stene, da je motena absorpcija hranilnih snovi. Prenaša se s cistami, ki se izločajo z blatom. Ljudje se okužijo, če uživajo s cistami okužena živila ali vodo.

### 12.6.1.3 *Balantidium coli*

**Ključne besede:** parazit, prašiči, človek, balantidiazia, redke okužbe

To pražival pogosto najdemo pri prašičih, za katere ni patogen. Prašiči so pomemben vir infekcije za človeka. Pogost je v toplih krajih, pri nas je okužba z njim zelo redka. Parazit povzroča balantidno grižo ali balantidiazio. *B. coli* ostane v debelem črevesu. Bolezenska znamenja so: bolečine v trebuhu, driska, bruhanje in izguba teže. Iztrebki bolnikov so sluzavi in krvavi. Bolezen se ozdravi tudi brez zdravljenja.

#### Vprašanja:

1. Razloži, kaj je amebiaza in kaj jo povzroča.
2. Opiši bolezenske znake pri okužbi z *Entamoeba histolytica*.
3. Opiši načine prenosa oziroma okužbe z *Entamoeba histolytica*.
4. Opiši ukrepe za preprečevanje okužb z *E. histolytica*.
5. Ugotovi, zakaj povzroča *Giardia lamblia* zdravstvene težave.
6. Ugotovi, v katerih podnebnih razmerah so okužbe s praživalmi pogostejše.
7. Ugotovi, s katerimi živilii se lahko prenašajo praživali, ki so človeški paraziti.

Preglednica: Bolezni prebavnega trakta, ki jih povzročijo bakterije, virusi, plesni, protozoi in paraziti ter se prenašajo z živil.

BOLEZEN	POVZROČITELJ	NAČIN PRENOSA
stafilokokna zastrupitev s hrano	<i>Staphylococcus aureus</i>	uživanje živil, ki vsebujejo eksotoksin, neprimeren način hlajenja živil
salmoneloze	<i>Salmonella</i> spp.	uživanje okuženih živil in pijač
tifoidna vročica – tifus	<i>Salmonella typhi</i>	uživanje okuženih živil in pijač kontaktni prenos
bakterijska dizenterija (šigeloz)	<i>Shigella</i> spp.	uživanje okuženih živil in pijač
kolera	<i>Vibrio cholerae</i>	uživanje okuženih živil in pijač
gastroenteritis	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	uživanje okuženih lupinarjev (školjk)
gastroenteritis	<i>Escherichia coli</i>	uživanje okuženih živil in pijač
gastroenteritis	<i>Campylobacter jejuni</i>	uživanje okuženih živil in pijač
gastritis	<i>Helicobacter pylori</i>	verjetno zaužit s hrano
gastroenteritis	<i>Yersinia enterocolitica</i>	uživanje okuženih živil in pijač
gastritis	<i>Clostridium perfringens</i>	uživanje okuženih živil in pijač
gastroenteritis	<i>Bacillus cereus</i>	uživanje okužene hrane
hepatitis A	<i>Hepatitis A virus</i>	uživanje okuženih živil in pijač kontaktni prenos
hepatitis E	<i>Hepatitis E virus</i>	uživanje okuženih živil in pijač kontaktni prenos
virusni gastroenteritisi	<i>Rotavirus, Norwalk virus</i>	uživanje okuženih živil in pijač
ergotizem	Mikotoksin <i>Claviceps purpurea</i>	uživanje okuženih živil (žitna zrna)
zastrupitve z aflatoksinom	Mikotoksin <i>Aspergillus flavus</i>	uživanje okuženih živil (arašidi)
giardiaz	<i>Giardia lamblia</i>	pitje okužene vode
balantidiaz	<i>Balantidium coli</i>	uživanje okuženih živil in vode
amebna dizenterija	<i>Entamoeba histolytica</i>	uživanje okuženih živil in vode

## 12.6.2 Helminti

Ključne besede: trakulja, progasta trakulja, ozka trakulja, pasja trakulja, široka trakulja, pritlikava trakulja; črevesni nematodi, gliste, podančice, *Trichuris trichura*, navadna glista, rudarska glista; tkivni nematodi

### 12.6.2.1 Trakulje

Ključne besede: paraziti, trakulje, gostitelj človek, glavica, vrat, telo, odrivki

Trakulje so najstarejši človekovi zajedavci. Nekatere so se tako dobro prilagodile na življenje v črevesu človeka, da ne povzročajo skoraj nikakršnih težav več. Druge, ki so manj prilagojene, so patogene. Za nekatere je človek naključni gostitelj (npr. za *Echinococcus granulosus*). Te lahko povzročijo hude bolezni.

Telo trakulje (strobila) je zgrajeno iz glavice ali pripone (scolex), vratu in odrivkov ali proglotid. Scolex ima organe za pritrnitev na steno tankega črevesa. Z izjemo široke trakulje (*Diphyllobothrium latum*) ima štiri sesalne ponvice, nekatere pa imajo še venec ali dva kaveljčka. *D. latum* ima sesalni vdolbinici (bothrium) na podolgovatem scolexu. Vrat ali vezni del veže glavico z verigo proglotid, ki vse brstijo iz vratu. Prve proglotide so še nedozorele, v sredini helminta so zrele, zadnji odrivki so polni jajčec; pravimo, da so gravidni.

Trakulje nimajo prebavil, imajo zakrnelo živčevje. Vsak odrivek je hermafrodit z moškimi in ženskimi spolnimi organi. Njihovi življenjski ciklusi so dokaj zapleteni in če ne bi proizvajale neverjetnega števila jajčec, bi najbrž kmalu izumrle. Njihovi organi za razploid so zelo razviti. Jajčeca ostanejo v gravidnem odrivku, dokler ta ne razpade. Proglotide se odtrgajo in izločajo iz telesa gostitelja z iztrebki.

Skoraj vse trakulje (izjema je *Hymenolepis nana*) terjajo razen človeka, ki je končni gostitelj, še vmesnega gostitelja. V nekaterih primerih (*E. granulosus*) so v človeku le larvalne stopnje, ne pa odrasle živali. V drugih primerih pa v človeku živita larvalna stopnja in odrasla trakulja (*Taenia solium*).

Pri človeku so opisali že več kot 20 trakulj, vendar imajo medicinski pomen le naslednje:

1. *Taenia saginata* (progasta trakulja),
2. *Taenia solium* (ozka trakulja),
3. *Echinococcus granulosus* (pasja trakulja),
4. *Diphyllobothrium latum* (široka trakulja),
5. *Hymenolepis nana* (pritlikava trakulja).

**TAENIA SAGINATA** ali progasta trakulja

**Ključne besede:** parazit, človek končni gostitelj, 4-12 m, vmesni gostitelj govedo, toplotno obdelano meso, zamrzovanje, preventiva, jajčeca, možnost okužbe

Spada med največje trakulje človeka. Včasih ima verigo iz nekaj tisoč odtrivkov in je dolga od 4 do 12 m. Odrasla živi tudi 10 let. Človek je edini končni gostitelj, z njo se okuži z uživanjem mesa okuženih živali.

Učinek progaste trakulje je pri različnih osebah različen. Pri nekaterih ne povzročajo nobenih bolezenskih znamenj in odkrijejo, da so z njo okuženi šele, ko najdejo odtrivke na spodnjem perilu. Pri drugih pa povzročata vrtoglavo, bolečine v trebuhu in druga splošna bolezenska znamenja.

Vmesni gostitelji so sorazmerno maloštevilne vrste živali, ponavadi je to govedo, ki je skoraj vedno vir okužbe za človeka. Jajčeca so edina oblika, ki živi v zunanjem svetu. Varuje jih čvrsta opna, kar je ekološka prednost tega zajedavca. Vendar jajčeca po naključju pridejo do vmesnega gostitelja. V tem se število parazitov ne poveča. Vsaka odrasla trakulja je hermafrodit in zadostuje okužba z enim osebkom, da se vrsta ohrani. Ves helmint je veriga hermafroditnih proglotid, ki delajo številna jajčeca.

Okužbo pri človeku najbolje preprečimo, če uživamo le dovolj toplotno obdelano govedino. Surovo ali na pol pečeno goveje meso je vedno nevarno. Ikre *T. saginata* uničimo s kuhanjem pri +56°C ali z zamrzovanjem pri -12,3°C do -13,3°C vsaj 10 dni.

**TAENIA SOLIUM** ali ozka trakulja

**Ključne besede:** cisticerkoza, okužba z ikrami, svinjina, toplotna obdelava, življenjska doba, bolezenski znaki, posledice zaužitja jajčec, fekalno-oralna okužba, človek, preventiva

Pri človeku povzročata cisticerkoza ali okužbo z ikrami. Razširjena je po vsem svetu, predvsem v deželah, kjer ljudje jedo premalo toplotno obdelano svinjino (južna Evropa, Severna in Latinska Amerika, Kitajska in Indija). Pri nas postajajo okužbe redkejše.

Ikre *T. solium* so v jeziku, vratnem mišičevju, plečih in medrebrnem mišičevju. Ko človek ikro zaužije, se razvije odrasla trakulja v tankem črevesu. Včasih jih je v človeku več. *T. solium* lahko živi do 25 let. Kadar človek ne zaužije ikre, ampak samo jajčeca, ta povzročijo hudo bolezen, imenovano cisticerkoza. Jajčeca potujejo po telesu in lahko tvorijo ciste oziroma ikre v različnih delih telesa. Posebno hude posledice povzročata naseelitev iker v možganih. Napadi so podobni božjastnim. Bolniku ne morejo pomagati, ker ni zdravila, ki bi uničilo ikre v človeškem telesu. Kirurško jih tudi ne morejo odstraniti, ker jih je



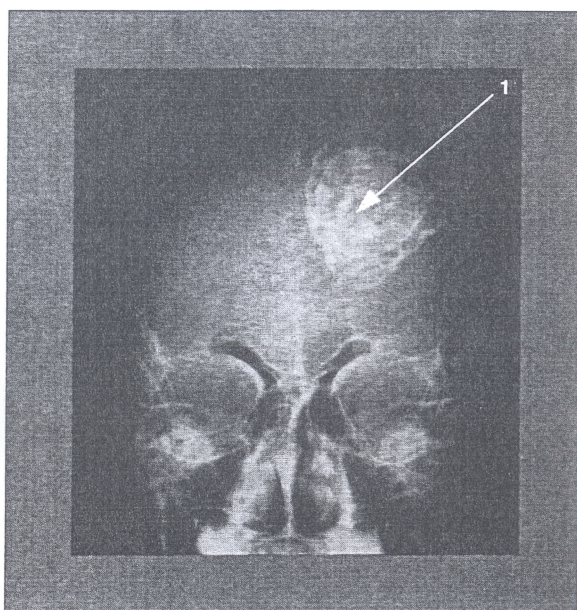
preveč. Odrasla *T. solium* je človeški zajedavec, zato se lahko okužimo le z jajčeci, ki jih z blatom izloča človek. Okužimo se lahko tudi s fekalno okuženo vodo, možna je tudi avtoinfekcija.

Okužbi z odraslo *T. solium* se izognemo, če uživamo samo dovolj toplotno obdelano svinjino. Ikre propadejo pri kuhanju na +45 do +50°C ali pri večdnevem zamrzovanju. Cisticerkozo preprečujemo tako, da vse osebe, okužene z odraslo *T. solium*, takoj zdravimo in jih poučimo o možnih nevarnostih.

Slika 65

Hiatidna cista

Na rentgenskem posnetku je vidna velika cista v možganih.



1 – Cista

### ***ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*** ali pasja trakulja

**Ključne besede:** pes končni gostitelj, človek vmesni gostitelj, ciste, življenjska doba cist, okvare organov, preventiva, kontaktna okužba

Razširjena je po vsem svetu kot vse druge trakulje. V Sloveniji je okužba ljudi z *E. granulosus* redka, pogosta je pri psih. Končni gostitelj pasje trakulje so: psi, lisice, mačke in divji sorodniki domačega psa.

Odrasla trakulja je majhna, ima samo tri odrivke in skoleks. Vmesni gostitelji so: človek, govedo, ovce, prašiči, konji in drugi sesalci. V njih se razmnožuje in tvori ciste. Te so lahko v katerem koli organu človeškega telesa. Najpogosteje so: v jetrih, pljučih in v trebušni votlini. Razvijejo se lahko tudi: pod kožo, v ledvicah, v vranici, v kosteh in v možganih. Mesec dni po okužbi so velike komaj 1 mm, pet mesecev pozneje lahko merijo že 10 mm. Ciste rastejo in pogosto so velike kot pomaranča. Včasih rastejo tudi 20 let in so zelo velike.

Oblike cist so odvisne od tkiva, v katerem rastejo. Večajo se in kvarijo organe vmesnih gostiteljev. Vsaka ne povzroča težav. Večkrat jih odkrijejo pri rentgenskem pregledu pljuč. Človek se okuži, ko boža psa ali mu ta polžiže roko. Nevarno je tudi, če pes onesnaži posteljnino ali jedilni pribor. Okužbo preprečimo z zdravljenjem trakuljavih psov. Zdravljenje ljudi je mogoče samo s kirurško odstranitvijo ciste.

### ***HYMENOLEPSIS NANA***

**Ključne besede: najmanjša trakulja, fekalno-oralna okužba, bolezenski znaki, glodavci, živila, preventiva**

Je ena najmanjših trakulj. Odrasla je velika od 7 do 100 mm in debela le 0,5 mm. Ne potrebuje vmesnega gostitelja. Pri hudih okužbah se pojavijo bolečine v trebuhu, nespečnost in včasih driske. Okužba je fekalno-oralna. Preprečimo jo lahko s primernim nivojem higijene. Vir okužbe so lahko tudi glodavci, ki okužijo živila, s katerimi se potem okužijo ljudje.

### ***DIPHYLLOBOTHRIUM LATUM*** ali široka trakulja

**Ključne besede: okužba z ribami, človek končni gostitelj, dva vmesna gostitelja, preventiva**

Imenujemo jo tudi ribja trakulja, ker se človek okuži z njo s sladkovodnimi ribami. Razširjena je v severni Evropi, azijskih deželah bivše Sovjetske zveze, ob velikih jezerih v Švici, Italiji, Podonavju in na Bavarskem.

Odrasla *D. latum* je največja človeška trakulja. Dolga je 10 m in več. Živi tudi 20 let v tankem črevesu človeškega gostitelja. Z iztrebki se iz črevesja izločajo samo jajčeca, ne pa tudi odrivki. Parazit dela več kot  $10^6$  jajčec na dan.

Potrebuje dva vmesna gostitelja, končni gostitelj je človek. Prvi vmesni gostitelj je vodna bolha, drugi sladkovodna riba, v kateri se razvije ličinka. Iz nje se razvije odrasla trakulja. Razen človeka so končni gostitelji še vse živali, ki se hranijo z ribami (medved, lisica in divji glodavci).

Človek se okuži, če uživa ribe, ki so bile premalo toplotno obdelane. Nevarna je tudi z iztrebki okuženih ljudi onesnažena voda. Možnost okužbe zmanjšuje tudi sanitarno odstranjevanje iztrebkov okuženih ljudi.

#### Vprašanja:

1. Opiši zgradbo telesa trakulje.
2. Ugotovi, na kako se lahko človek okuži s trakuljo.
3. Ugotovi, zakaj nekatere vrste trakulje povzročajo večje zdravstvene težave kot druge.
4. Ugotovi, s katerimi trakuljami se človek lahko okuži z živili.
5. Opiši načine za preprečevanje okužb s trakuljami.
6. Ugotovi, zakaj je dovolj en osebek trakulje, da se vrsta ohrani.
7. Ugotovi, kakšna je razlika med okužbo z jajčeci in okužbo z ikrami trakulje.
8. Razloži, kaj pomeni avtoinfekcija.
9. Opiši bolezenske spremembe, ki jih povzroča pasja trakulja.
10. Opiši razliko med končnim in vmesnim gostiteljem.
11. Ugotovi, kako dolgo lahko živijo različne trakulje v človeku.

#### 12.6.2.2 Črevesni nematodi ali gliste

**Ključne besede:** gliste, črevesje, tkivna stopnja, podančica, bičeglavec, navadna človeška glista, rudarska glista

Poznamo več sto vrst glist ali nematodov. Nekatere živijo v človeškem telesu, in to v črevesju in v različnih tkivih. Črevesni nematodi so:

1. gliste, ki živijo samo v črevesju:
  - a) *Enterobius vermicularis* (podančica),
  - b) *Trichuris trichura* (bičeglavec);
2. gliste, ki živijo predvsem v črevesju, imajo pa tudi eno ali dve tkivni stopnji:
  - a) *Ascaris lumbricoides* (navadna človeška glista),
  - b) *Ancylostoma duodenale* (rudarska glista),
  - c) *Strongyloides stercoralis* (lahko živi tudi svobodna v naravi).

Podančica je najbolj prilagojena človeku, *Strongyloides* pa najmanj. Manj prilagojene gliste delajo v organizmu večjo škodo kot bolj prilagojene. Jajčeca glist so v iztrebkih in so lahko:

1. že infektivna in je zarodek že v njih,

2. nerazvita in po inkubaciji v zunanjem okolju prehajajo v gostitelja kot jajčeca ali kot ličinke (vdirajo skozi kožo).

***ENTEROBIUS VERMICULARIS* ali podančica**

**Ključne besede:** glista, slepo črevo, debelo črevo, jajčeca, roke, hrana, edini gostitelj človek, zdravljenje

Samci so dolgi 2-5 mm, samice pa 8-13 mm. Odrasle gliste živijo v slepem ali v debelem črevesu. Samica leže jajčeca v gube okrog zadnjične odprtine. Pokriva jih lepljiva snov, s katero so prilepljena na kožo. S praskanjem spravi človek jajčece za nohte, z rokami pa na hrano, ki jo poje. Iz ust potuje v tanko in debelo črevo, kjer se razvije v odraslo žival. Pogosta je avtoinfekcija. Človek je edini gostitelj te gliste. Ker ne more živeti v živalih, se lahko okužimo z jajčeci podančice le od drugega človeka.

Pri hujši okužbi so znaki nespečnost, slabost, potrtost, hujšanje in tudi duševne motenosti. Včasih pridejo iz črevesa v druge organe in tkiva (ženska rodila). Zdravljenje okužbe je težavno, ker se zlahka širi med družinskimi člani. Hkrati je potrebno zdraviti vse člane gospodinjstva in se skrbno ravnati po pravilih osebne higiene: umivanje rok pred jedjo, vsakodnevna uporaba prhe, razkuževanje sedežev na straniščni školjki in drugih predmetov v kopalnici, zračenje posteljnine in kemično čiščenje oblačil.

***TRICHURIS TRICHURA***

**Ključne besede:** glista, jajčeca, iztrebki, tanko črevo, debelo črevo, poškodbe črevesa, slabokrvnost, nedohranjenost

Pogostejša je v toplih podnebnih pasovih, vendar je precej pogosta tudi pri nas. Dolga je 3-5 cm. Samica leže 2000 do 6000 jajčec na dan. Človek je njen edini gostitelj. Jajčeca se izločijo z iztrebki in v naravi lahko preživijo več let. Ličinka se izleže v želodcu, hrani se v tankem črevesu, doraste pa v debelem črevesu. V črevesu nastanejo okvare, ko se glista s tankim bičastim delom zabode v sluznico. Če je glist več, so okvare hujše. Okužbo lahko spremljajo slabokrvnost in nedohranjenost. Preprečimo jih, če preprečimo onesnaženje vode, živil in zemlje s človeškimi iztrebki.

***ASCARIS LUMBRICOIDES* ali navadna glista**

**Ključne besede:** glista, človek edini gostitelj, črevo, tkiva, ličinke, potovanje, poškodbe jeter, pljuča, ileus, preventiva, zdravljenje

V Evropi je okužba z njo pogosta v vseh deželah. Zajeda v tankem črevesu. Človek je edini gostitelj. Samica leže jajčeca v tankem črevesu in to 200.000 na dan. Imajo močno lupino, ki jim omogoča preživetje v zunanjem okolju.

Kadar človek s hrano zaužije jajčece, se iz njega v tankem črevesu razvije ličinka. Skozi črevesno steno prodre v drobne venske splete, iz katerih s krvjo potuje v jetra. Nekatere pridejo v jetra skozi druga tkiva. Tukaj ne ostanejo dolgo, vendar se jetra poškodujejo. Iz njih kri odplavi ličinke v srce in nato v pljuča. Večina jih ostane v pljučih, kjer se dvakrat levijo, prestopijo v pljučne mešičke in se po sapnicah, sapniku in požiralniku vrnejo skozi želodec v tanko črevo, kjer zrastejo v odraslo glisto. Glista je spolno zrela po dveh ali treh mesecih. Živi eno leto ali manj.

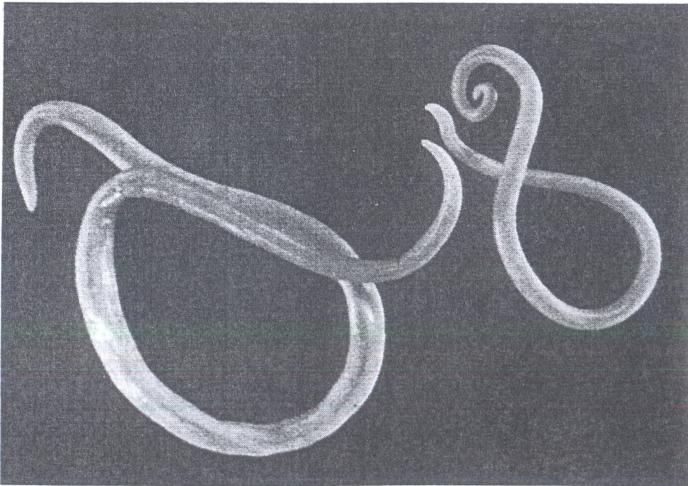
*Ascaris* človeku škoduje zaradi potovanja ličink, zaradi škode, ki jo dela odrasla glista, zaradi snovi, ki jih izloča, in zaradi preobčutljivosti, ki jo povzroča. Pri prehajanju skozi črevesno steno ličinke ne povzročajo hujše škode. V pljučih so večkrat vzrok za krvavitve, razraščanje veziva in sekundarne okužbe. Včasih povzročijo v pljučih rahlo vnetje. Če je glist v črevesju malo, ne povzročajo težav. Večje število povzroči draženje v črevesju, hujšanje in pomanjkanje teka. Najhujši zaplet je ileus – zamašitev črevesa zaradi velikega klobčiča glist.

Okužbe preprečimo z uvedbo ukrepov, ki izboljšajo sanitarno odstranjevanje odpadkov in preprečujejo okužbo vode z iztrebki. Zelo pomembna je osebna higiena.

Slika 66

*Ascaris lumbricoides*

Na sliki sta samec (manjši) in samica (večja).





### *STRONGLOIDES STERCORALIS*

**Ključne besede:** glista, sluznica tankega črevesa, dotik s kožo, krvni obtok, poškodbe kože, poškodbe tankega črevesa, stik z onesnaženo zemljo, klicenosci

Značilna je za tropske in subtropske kraje. V Evropi so jo našli v Grčiji, Italiji, Švici in Nemčiji. Je zelo majhen, komaj 2 mm velik helmint. Živi v sluznici dvanajsternika in tankega črevesa. V sluznico leže samica jajčeca, iz katerih se takoj izležejo ličinke, ki se izločajo z iztrebki. V zemlji se v 24 urah prelevi. Ob dotiku s kožo se zarije pod njo in pride v krvni obtok. Skozi srce potuje v pljuča, kjer se prerine v pljučne mešičke in po sapnicah, sapniku ter požiralniku skozi želodec nazaj v črevo.

Če so v zunanjem okolju ugodne razmere, se iz ličinke na prostosti razvijejo samci in samice, ki so sposobni živeti povsem neodvisno od človeka. Če so razmere slabe, nastanejo ličinke, ki se zarinejo človeku pod kožo. Parazit povzroči poškodbe na koži, v pljučih in tankem črevesu, posebno dvanajstniku. Potovanje odrasle gliste povzroči vnetje in lokalne mrtvine. Bolniki imajo navadno nedoločene bolečine v trebuhu in driske in so pogosto nedo hranjeni.

Najpomembnejši ukrepi za preprečevanje okužb so: pravilno odstranjevanje človeških iztrebkov, izogibanje stika z onesnaženo zemljo in pravilno in hitro zdravljenje bolnikov in klicenoscev.

### *ANCYLOSTOMA DUODENALE* ali rudarska glista

**Ključne besede:** glista, ranica na koži, sesa kri, ličinka, vnetje, nekroze, anemija, izkrvavitev do smrti

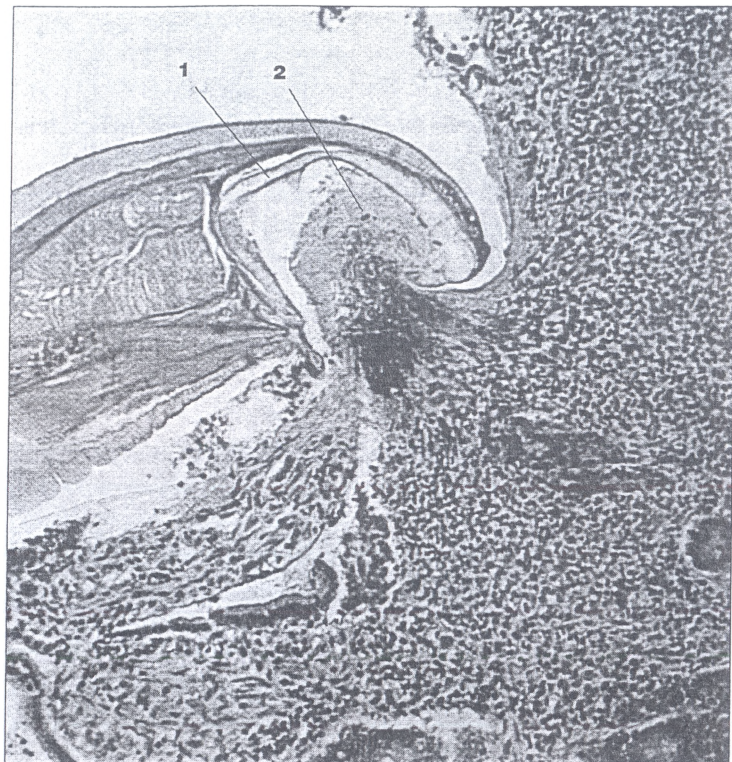
Razširjena je v južni Evropi, Severni Ameriki, Kitajski, Japonski, Maleziji, Indoneziji in Latinski Ameriki. Posamezne primere okužb so našli tudi v okolici Bosanskega Broda in Osijeka ter na področju Hrvaškega Zagorja.

Odrasel helmint je velik od 10-13 mm, debel pa 0,5 mm. Z zvonasto ustno kapsulo rani sluznico tankega črevesa in vanjo vbrizga snov, ki preprečuje strjevanje krvi. Ankilostome sesajo velike količine krvi. Samica leže nekaj 10.000 jajčec na dan.

Človek se okuži z ličinko, ki prodre v telo skozi kožo. Po venah potuje skozi srce v pljuča in po sapnicah in sapniku, skozi požiralnik in želodec v črevo. Škoda, ki jo povzroči rudarska glista, je odvisna od starosti in splošnega zdravstvenega stanja bolnika. Povzroči okvare na koži, kjer je ličinka vdrla v telo. V pljučih povzroči nekroze na mestih, kjer je pritrjena. Najhujši problem je anemija. Te gliste gostitelja dobesedno izkrvavijo do smrti.



Slika 67  
Rudarska glista (*Ancylostoma*)



*Ancylostoma* je pritrjena na črevesno sluznico. Oblika ust dovoljuje helmintu, da se hrani na tkivu. 1 – Helmintova usta 2 – Črevesna sluznica

#### Vprašanja:

1. Razloži, na kako se človek lahko okuži s podančico.
2. Opiši bolezenske znake, ki jih povzroča podančica.
3. Ugotovi, zakaj je potrebno ob okužbi s podančicami zdraviti vso družino, ne le posameznika.
4. Ugotovi, kakšne zdravstvene težave povzroča *Trichuris trichura*.
5. Ugotovi, na kakšne načine lahko preprečimo okužbo z glistami.
6. Opiši življenjski cikel navadne gliste.
7. Razloži, kakšne bolezenske znake povzročajo navadne gliste na svojem potovanju po človeškem telesu.
8. Ugotovi, katere gliste lahko v človeško telo pridejo skozi kožo.

9. Ugotovi, katere gliste lahko preživijo v zunanjem okolju kot jajčeca, kot ličinke ali kot odrasli organizmi.
10. Ugotovi, katere gliste povzročajo krvavitve in katere sesajo kri.

### 12.6.2.3 Tkivni nematodi

**Ključne besede:** živijo v tkivih, *Trichinella spiralis*, filarije, *Dracunculus medinensis*, *Larva migrans*, tropski podnebni pas

So nematodi, ki živijo kot odrasli ali kot ličinke v organih in tkivih človeškega telesa. Najpomembnejši so: *Trichinella spiralis*, filarije, *Dracunculus medinensis* in *Larva migrans*. Pri nas je razširjena *T. spiralis*, drugi nematodi so razširjeni predvsem v tropskem podnebnem pasu.

#### **TRICHINELLA SPIRALIS** ali lasnica

**Ključne besede:** svinjina, tanko črevo domačih mesojedih živali, ličinke v tkivu črevesa, ciste, vnetja, poškodba sluznice, preventiva, toplotna obdelava mesa

Razširjena je povsod tam, kjer jedo svinjino. Pogosta je v srednji Evropi in Severni Ameriki. Odrasla glista živi v tankem črevesu človeka in mnogih divjih in domačih mesojedih živalih.

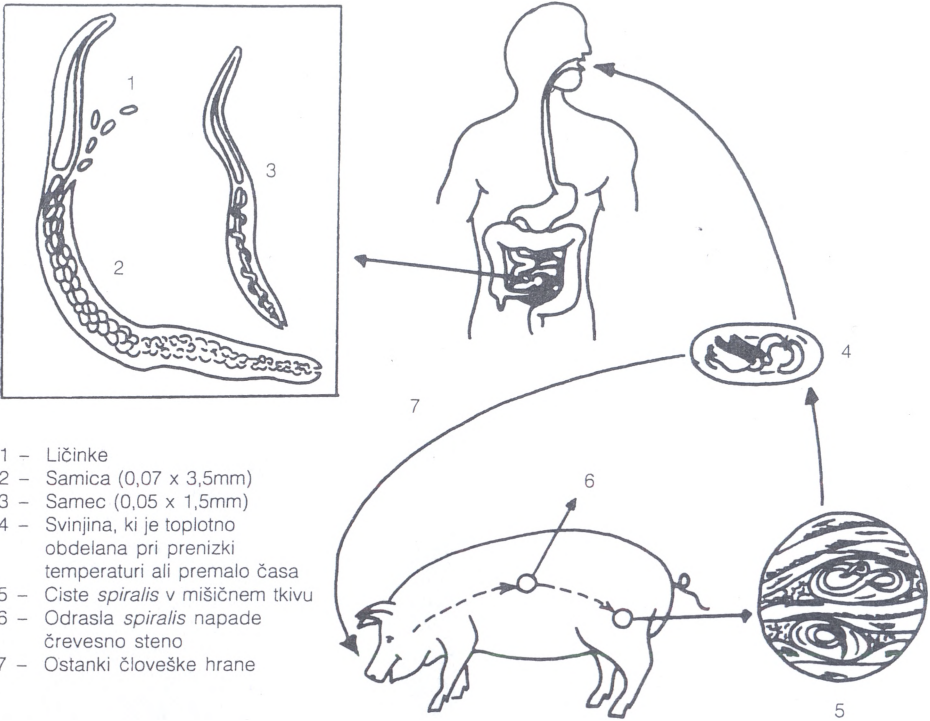
Po oploditvi samica odlaga žive ličinke v tkivo črevesa. Od tod pridejo v kri, ki jih raznese po vsem telesu. Navadno se ustavijo v skeletnem mišičevju, kjer nastanejo ciste. Take ličinke lahko preživijo več let in se sprostijo, ko jih z mesom požre drug gostitelj. Naglo vdrejo v sluznico črevesa, v enem tednu dorastejo in začnejo nov cikel. Za človeka so edini pomemben vir okužbe s *T. spiralis* prašiči oziroma njihovo meso.

Odrasle trihine poškodujejo sluznico dvanajsternika, ličinke povzročijo vnetje povsod, kamor pridejo. Če jih je veliko, ovirajo mišično gibljivost. Pri večini bolnikov se pojavijo: prehodne driske in bolečine v mišičevju in sklepih, oteklina, glavobol, motnje vida in sluha. Bolnik lahko zaradi slabosti ožilja tudi umre. Skoraj vedno zbolijo hkrati več oseb, ki so uživale okuženo meso.

Trihinozo preprečujemo tako, da skušamo preprečiti okužbo prašičev in ljudi. Obvezen del veterinarskega nadzora nad mesom je pregled trupov zaklanih prašičev na *T. spiralis* ali trihinoskopijo. Najbolj enostavno se varujemo pred okužbo s trihino, če jemo le dovolj kuhano ali drugače toplotno obdelano svinjino. Ličinke propadejo pri temperaturi 58,3°C pri toplotni obdelavi. Med zamrzovanjem ličinke odmrejo pri temperaturi -15°C v 20 dneh ali pri temperaturi -23,3°C v 10 dneh.

Slika 68

Življenjski cikelj *Trichinella spiralis*, povzročiteljice trihineloze



Vprašanja:

1. Opiši življenjski cikelj *Trichinella spiralis*.
2. Opiši bolezenske spremembe, ki jih povzroči *Trichinella spiralis*.
3. Ugotovi, katere dele preventive pred okužbo s *T. spiralis* opravlja veterinarska inšpekcija in kako.
4. Opiši, kako se varujemo pred okužbo s trihinelo.

### 12.6.5.3 Artropodi

**Ključne besede:** komarji, mušice, obadi, bolhe, pršice, okužba živil

Med artropode spadajo komarji, flebotomosi, mušice, obadi, muhe, bolhe in pršice. Nekateri lahko okužijo živila, z njim pa se okužijo ljudje.

#### PRŠICE

**Ključne besede:** okužba živil, prenos z živil, dermatitis

*ASCARUS SIRO* je drobna pršica, ki okuži nekatera živila, posebno sir. Pri osebah, ki delajo s stroki vanilije, povzroča izprišč (vanilizem). To je dermatitis, ki se mu pozneje pridružijo alergični pojavi. Podobne so pršice, ki živijo v žitu in povzročijo včasih prave epidemije srbečici podobne bolezni.

Med pršice spadajo še:

1. *SARCOPTES SCABEI* ali človeški srbec, ki povzroča srbečico ali garje,
2. *DEMODEX FOLLICULORUM* je pršica, ki zajeda v lasnih čebulicah in lojnicah.

Ti dve pršici se ne prenašata z živil.

#### MUHE

**Ključne besede:** hlevska muha, hišna muha, prenašalci povzročiteljev bolezni, jajčeca, živila, preventiva, higiena

*STOMOXYS CALCITRANS* ali hlevska muha

Sesa kri (samec in samica) in je mehanični prenašalec povzročiteljev mnogih bolezni (vraničnega prisada, tularemije, tetanusa in poliomielitisa). Zatiramo jo z insekticidi.

*MUSCA DOMESTICA* ali navadna hišna muha

Je razširjena po vsem svetu. Razmnožuje se izredno dobro. Izračunali so, da bi en sam par v idealnih razmerah od aprila do avgusta pokrtil Zemljo s 15 m debelo plastjo muh, če bi preživeli vsi njuni potomci.

Jajčeca leže v različne odpadke in iztrebke. Hrani se skoraj z vsem, kar lahko raztopi v svoji slini. S slino raztopljeno hrano poseša skozi rilček. Je zelo pomemben prenašalec povzročiteljev bolezni, in sicer virusov, bakterij in praživali, s katerimi lahko okuži hrano, ki je potem vir okužbe ljudi.

Seznam najpomembnejših povzročiteljev bolezni, ki jih prenaša muha:

1. virusi – infekcije z enterovirusi,

2. bakterije – streptokokne okužbe, salmoneloze, šigeloze, kolera, vranični prisad, bruceloza, tuberkuloza, tetanus,
3. paraziti – amebiaza.

Muhe lahko povzročajo tudi miiazo. To je infestacija z ličinkami muh, ki se razvijajo v tkivih in organih vretenčarjev in tudi človeka. Najpogosteje se ličinke razvijajo v zunajtelesnih votlinah (v nosu, ušesih), podkožne in črevesne miiaze so redkejše. Lahko jih povzročajo navadna hišna muha, debele brenčice, zlatice, mesarske muhe in goveji zolj. Preprečujemo jih tako, da pazimo, da mušja jajčeca ne pridejo v hrano, na kožo ali sluznice.

Nemogoče je zatreti muho na obsežnejših področjih, ker se tako uspešno množi. Najuspešnejša metoda je urejanje nehigienske okolice in odstranjevanje vsega, na čemer se muhe lahko plodijo.

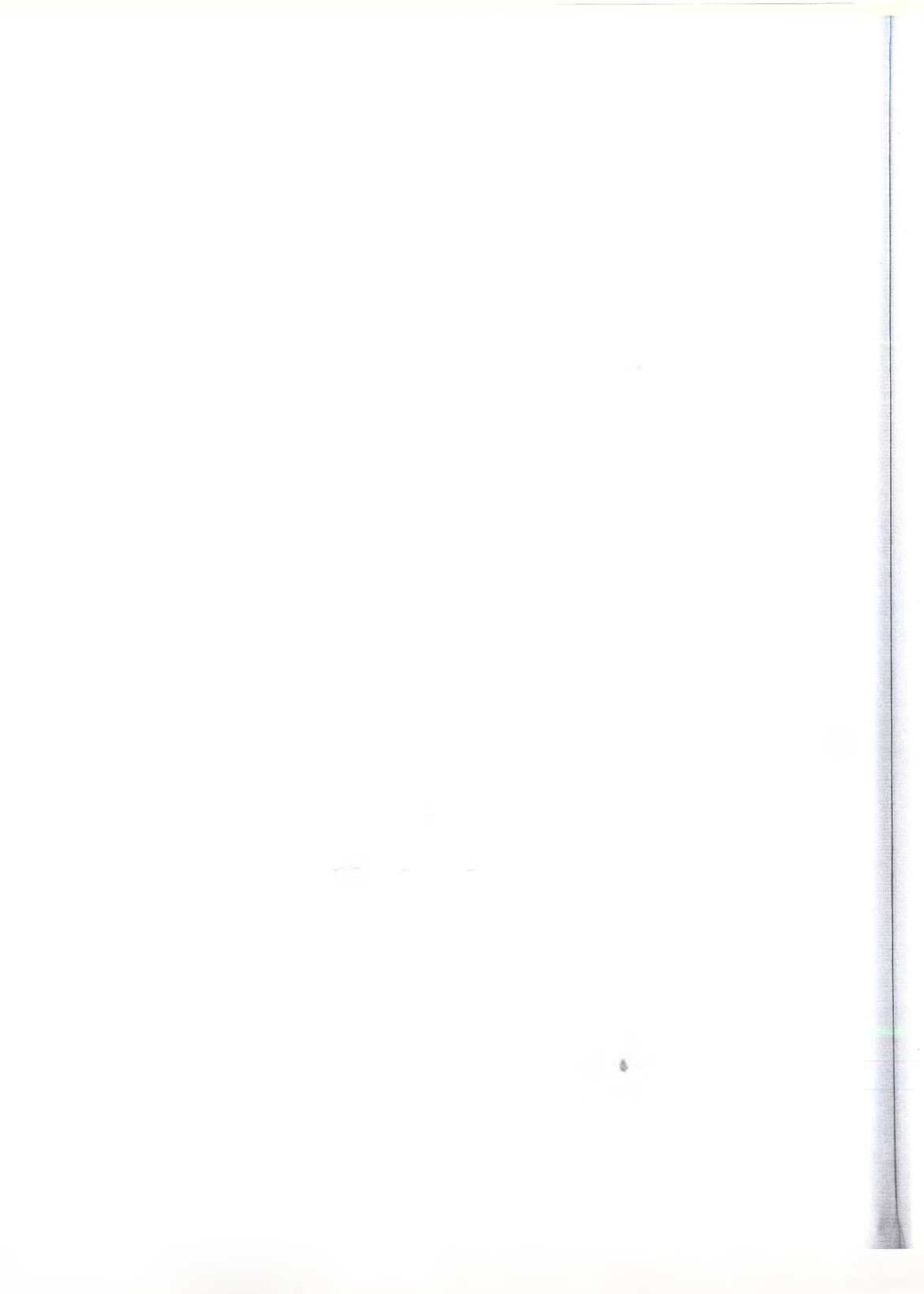
## **BOLHE**

**Ključne besede: kri vretenčarjev, ni prenosa z živali, prenos trakuljavosti**

Hranijo se s krvjo vretenčarjev. Ne prenašajo se z živali, so pa nadvse nadležen mrčes in prenašajo veliko število bolezni. Navadna človeška bolha prenaša bubonsko kugo, endemično pegavico in trakuljavost. Pasja bolha prenaša endemični tifus in trakuljavost.

### **Vprašanja:**

1. Ugotovi, kateri artropodi okužijo živila s povzročitelji bolezni.
2. Razloži, katere bolezni lahko prenaša muha (domača ali navadna muha).
3. Ugotovi, katere načine za preprečevanje okužb živil preko artropodov lahko uporabimo.





# HIGIENA V PROIZVODNIH PROSTORIH



**Ključne besede:** kakovost živila, mikrobiološka kakovost, število mikroorganizmov, patogeni mikroorganizmi, preventivni ukrepi, mikrobiološko higienske zahteve, nadzor, kontrolni ukrepi

Kakovost živila je odvisna od njegove hranilne vrednosti, organoleptičnih lastnosti, mikrobiološke kakovosti in od tega, da ne vsebuje zdravju škodljivih snovi. Živilo, ki je mikrobiološko kakovostno, vsebuje čim manjše število mikroorganizmov, ki povzročajo kvar živila in nobenega patogenega mikroorganizma ali njegovih toksičnih metabolnih produktov.

Mikrobiološko kakovost lahko dosežemo z mnogimi preventivnimi ukrepi na področju higiene v obratih. Ne moremo je doseči samo z nadzorom končnih izdelkov. Že pri načrtovanju proizvodnje je potrebno upoštevati mikrobiološko higienske zahteve. Med te spadajo:

1. oprema prostorov,
2. delovanje prezračevalnih naprav,
3. oskrba z vodo,
4. odvod odpadnih voda in odstranjevanje odpadkov,
5. zgradba strojev in možnost njihovega čiščenja,
6. organizacija delovnih faz in razporeditev prostorov v obratu,
7. stabilizacija mikrobiološke kakovosti polizdelkov in končnih izdelkov z odgovarjajočimi recepti in tehnološkimi postopki,
8. izdelava specifikacij z dobavitelji za vse surovine.

Poleg teh so pomembni še dejavniki, ki jih ni mogoče spreminjati. To je na primer lokacija ali način gradnje obrata ali podobno.

Dejavniki, ki vplivajo na mikrobiološko kakovost živila med izdelavo, so:

1. osebna higiena delavcev,
2. vhodni nadzor surovin,
3. nadzor delovanja strojev in proizvodnega procesa,
4. čiščenje in dezinfekcija,
5. nadzor končnih izdelkov.

Izvedbo in rezultate ukrepov morajo nadzirati izbrani delavci, ki ugotovitve redno 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 higiene v proizvodnih prostorih in kakovosti izdelka.

### Vprašanja:

1. Razloži, od česa je odvisna kakovost živila.
2. Razloži, kaj je mikrobiološka kakovost živila.
3. Ugotovi, kateri dejavniki vplivajo na mikrobiološko kakovost živila.

## 13.1 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA KAKOVOST ŽIVILA

**Ključne besede:** stalni dejavniki, lokacija obrata, oprema prostorov, voda, stroji in naprave, organizacija proizvodnega procesa

### 13.1.1 Lokacija obrata

**Ključne besede:** čisto ozračje, asfaltirane poti, odtekanje meteornih vod, sušenje površin

Lokacija obrata lahko močno vpliva na mikrobiološko kakovost živila. Pozitivno deluje okolje, v katerem je malo dima, smoga in smrada. Asfaltirane dovozne poti in ceste ter preostali deli uporabnih površin (dvorišče in parkirišče) in vozni površin okrog obrata zmanjšujejo količino prahu v zraku in s tem zmanjšajo možnost okužbe obrata z mikroorganizmi, ki živijo v tleh (npr. plesni in sporogene bakterije). Če so pravilno urejeni nakloni poti drugih površin, so te po dežju hitreje suhe, na njih ne nastajajo luže (po

osušitvi se iz njih dviga prah) in čiščenje takih površin je lažje. Slabo na obrat vpliva železniška proga, če teče v bližini, ker je večja možnost fekalne okužbe živil.

### 13.1.2 Oprema prostorov

**Ključne besede:** tla, odtoki vode, možnost čiščenja in dezinfekcije, stene, mokro čiščenje, fungicidi, okna in vrata, prezračevalne naprave

Talne obloge morajo biti iz materialov, ki ne prepuščajo vode in ne strohnijo ter se jih lahko čisti in dezinficira. Voda za čiščenje tal se mora stekati v pokrite odtoke, ki so opremljeni z loputami, ki preprečujejo vdor škodljivcev (glodavcev in žuželk) iz kanalizacije v proizvodni obrat.

Za boljše in lažje čiščenje in dezinfekcijo je dobro, da so stiki med tlemi in stenami zaobljeni. Stene morajo biti obložene ali prebarvane s svetlimi materiali, ki se jih lahko mokro čisti in dezinficira. V proizvodnih prostorih morajo biti stene obložene vsaj do višine 2 m, v hladilnicah in hladilnih celicah pa tako visoko, kot so naložena živila. Pri oblaganju sten s keramičnimi ploščicami je potrebno paziti, da v fugah med ploščicami ni razpok, ki bi omogočale naselitev plesni ali drugih mikroorganizmov. Pri izolacijskih materialih za stene je zelo pomembno, da ne omogočajo naselitve žuželk.

Pomembno je, da je izolacija položena tako, da ne nastajajo toplotni mostovi oziroma deli zidov, na katerih bi se kondenzirala vlaga, ki bi omogočila razvoj plesni. Možnost razvoja plesni na zidu lahko zmanjšamo z uporabo barve, ki vsebuje fungicidne snovi in z zadostnim zračenjem prostorov.

Za stropne veljajo enaki pogoji kot za stene. Tudi stropi morajo biti svetlo pobarvani, da se lahko oceni stopnja onesnaženosti. Transportni tiri, cevi, nosilci ali perforirani viseči stropi so lahko vir onesnaženja z mrčesom in glodavci kot tudi mesta, na katerih se nabira prah in razmnožujejo mikroorganizmi.

Okna in vrata morajo biti iz materialov, ki so odporni proti obrabi in koroziji. Vgrajena morajo biti tako, da preprečujejo vdor mrčesa in glodavcev ter umazanije v proizvodne prostore. To je posebej pomembno za kletne prostore.

Osvetljenost prostorov je lahko naravna ali umetna. Biti mora tako močna, da je nečistoča dobro vidna. Barve živil ne bi smele biti spremenjene zaradi osvetlitve.

Prezračevalne naprave uravnavajo temperaturo in vlago zraka v proizvodnih prostorih in z vgrajenimi filtri močno zmanjšajo število mikroorganizmov v njem. Te naloge lahko opravljajo samo redno vzdrževane in očiščene prezračevalne naprave. Tiste, ki niso redno mehansko čiščene in dezinficirane, lahko postanejo vir okužbe zraka v proizvodnih

prostorih in s tem tudi vir okužbe živil. Velike motnje v delovanju lahko povzroči predvsem preobremenjen, poškodovan ali slabo nameščen filter.

Prvi pogoj za mikrobiološko varno delovanje prezračevalnih naprav je poleg rednega vzdrževanja še stalen in sproten nadzor delovanja filtra. Delovanje tega lahko stalno nadziramo z merjenjem razlike v pritisku zraka pred in za njim ter z določanjem števila mikroorganizemskih celic v zraku v proizvodnih prostorih. To lahko določamo z napravami, izdelanimi posebej v ta namen, ali pa s postavljanjem plošč hranilnega agarja na kritičnih mestih. Plošče agarja po določenem času (10 min) pokrijemo in inkubiramo. Po inkubaciji preštejemo kolonije, ki so zrasle iz sedimentiranih celic.

### 13.1.3 Voda v živilskem obratu

**Ključne besede:** oskrba z vodo, neoporečna pitna voda, odstranjevanje odpadnih vod, čiščenje odpadnih vod

Oskrba z vodo: Vsa voda, ki se uporablja v živilskem obratu, mora biti pitna. To ne velja samo za tisto, ki jo dodajajo živilom ali pride z njimi v neposreden stik, ampak tudi za vodo, ki jo uporabljajo v avtoklavih, pretočnih izmenjevalcih toplote ter tudi za vso preostalo vodo, ki z živilih prihaja v posreden stik ali pa niti to ne. Tudi voda za čiščenje strojev in naprav, delovnih površin, tal in sten mora biti pitna. Lahko uporabljajo reciklirano vodo.

Odstranjevanje odpadnih voda: Te vsebujejo veliko število mikroorganizemskih celic, ki lahko povzročijo kvar živil ali različne bolezni. Kanalizacijski sistemi so primerni življenjski prostori za mrčes in glodavce. Odtoki in kanalizacijske cevi morajo biti položeni tako, da ne nastajajo mrtvi rokavi in zavoji, ki bi zaustavljali odtokanje odpadnih vod ali ustvarjali razmere za razmnoževanje škodljivcev.

### 13.1.4 Stroji in naprave

**Ključne besede:** zgradba strojev, higienski nivo, kritična mesta, neravne površine, porozni deli, mehanična čistilna sredstva, kemična čistilna sredstva

Izdelani morajo biti tako, da jih je znotraj in zunaj enostavno čistiti. Bolj ko sta stroj ali naprava zapleteno zgrajena, težje je vzdrževati primeren higienski nivo. Strojni deli, ki predstavljajo kritična mesta pri čiščenju (npr. ventili), morajo biti vgrajeni tako, da jih je mogoče enostavno in hitro razstaviti ter očistiti in dezinficirati.

Posebno pozornost je potrebno nameniti strojnim delom iz gume in plastičnih mas, na katerih po daljši uporabi nastajajo raze. V njih in v razpokah so mikroorganizmi zaščiteni pred delovanjem dezinfekcijskih snovi in pred čistili, zato se lahko nemoteno razmnožujejo. Lahko se razmnožujejo tudi na neravnih površinah kovinskih delov strojev. Razpoke nastanejo zaradi mehanskih poškodb površin med vzdrževanjem, popraviljanjem ali čiščenjem. Lahko so posledica uporabe žičnih krtač, kovinske volne ali korodirajočih čistilnih sredstev.

Pri napeljavi cevododov je pomembno, da ne nastajajo mrtvi rokavi in da je mogoče iz vseh cevi popolnoma odstraniti živila ter cevi očistiti in dezinficirati.

### **13.1.5 Organizacija proizvodnega procesa in razporeditev prostorov v proizvodnem obratu**

**Ključne besede: zmanjšanje kontaminacije, dolžina proizvodne poti, čiste in nečiste poti, sprejem surovin, skladišča, sanitarni prostori**

Cilj organizacije proizvodnega procesa je zmanjšati okužbo živil med samo izdelavo na najmanjšo možno mero. Če skrajšamo čas čakanja živil med posameznimi fazami predelave, lahko močno zmanjšamo možnost okužbe pred toplotno obdelavo in po njej ter močno omejimo razmnoževanje mikroorganizmov.

Čas čakanja zmanjšamo tako, da ob načrtovanju proizvodne linije pazimo, da so proizvodne poti kratke, da se izdelki ne vračajo po istih poteh in da se poti ne križajo. To je mogoče doseči s primerno razporeditvijo strojev in naprav v proizvodnih prostorih (npr. pri sprejemu surovin, v skladiščnih prostorih, hladilnicah in zamrzovalnicah, pri pripravi in obdelavi živil...). Pri načrtovanju proizvodnega procesa in proizvodnih poti je potrebno paziti, da sta nečisti del proizvodnje (sprejem surovin, odvoz odpadkov, priprava živil za predelavo – čiščenje, pranje) in čisti del proizvodnje (predelava živila – toplotna obdelava, polnjenje v čisto embalažo, hlajenje, zamrzovanje končnih izdelkov ali polizdelkov) prostorsko ločena med seboj.

Prostor za sprejem surovin mora biti na dovozni poti, ki ni prometna, da surovine zaščitimo pred izpušnimi plini in prahom. K tem prostorom morajo biti priključeni tudi skladiščni prostori za shranjevanje surovin. Glede na vrsto in stanje surovin so potrebne tudi hladilne in zamrzovalne komore. Oprema skladiščnih prostorov bi morala biti kovinska.

Sanitarni prostori morajo biti postavljeni in opremljeni tako, da lahko preprečimo prenos fekalnih mikroorganizmov v proizvodne prostore, če so delavci dovolj osveščeni. Ti prostori so lahko postavljeni tako, da je mogoče vanje priti samo skozi predprostor, v katerem je

oprema za umivanje in dezinfekcijo rok. Priporočljive so pipe za vodo, ki jih lahko vključimo z nogo ter vedno pripravljeno milo, dezinfekcijska sredstva in brisače za enkratno uporabo. Večja ko je higienska pregrada med sanitarijami in proizvodnimi prostori, večja je verjetnost, da bomo preprečili okužbo živil s fekalnimi mikroorganizmi.

### Vprašanja:

1. Razloži, kako lahko lokacija proizvodnega obrata vpliva na mikrobiološko kakovost živila.
2. Opiši, kakšna morajo biti tla v živilskem obratu in razloži zakaj.
3. Opiši, kakšne morajo biti stene v živilskem obratu in razloži zakaj.
4. Razloži, kako morajo biti konstruirani stroji, naprave in cevovodi, da je čiščenje in dezinfekcija čim bolj učinkovita.
5. Ugotovi, zakaj sta pomembna čiščenje in dezinfekcija strojev v živilski industriji.
6. Ugotovi, kje so kritične točke pri čiščenju strojev.
7. Ugotovi, na kakšen način postanejo površine, ki so v stiku z živili, razaste in porozne.
8. Razloži, zakaj je potrebno v živilskem obratu uporabljati samo neoporečno vodo.
9. Ugotovi, zakaj ne smemo odpadne vode iz živilskih obratov neočiščene spuščati v kanalizacijo in s tem v reke.
10. Razloži, na katere dejavnike je potrebno paziti pri načrtovanju proizvodnega procesa.
11. Ovrednoti pomen organizacije proizvodnega procesa za kakovost izdelka (živila).

## 13.2 OSEBNA HIGIENA DELAVCEV V ŽIVILSKEM OBRATU

**Ključne besede:** ljudje – prenašalci povzročiteljev bolezni, iztrebki, roke, lasišče, preventiva, kakovostno živilo

Mikroorganizmi, ki jih ljudje prenašamo, so lahko povzročitelji različnih bolezni in alimentarnih toksikoinfekcij.

V iztrebkih zdravih ljudi so vedno prisotne patogene bakterije, kot so: enterobakterije, klostridiji, stafilokoki in enterokoki. Nevarnost predstavljajo tudi klicenosci, ki prenašajo salmonele, šigele, viruse in druge patogene mikroorganizme.

Vir okužbe so lahko tudi lasje. Ti so pogosto okuženi z enterobakterijami, stafilokoki in spori plesni. *Staphylococcus aureus* se pogosto razmnožuje na sluznici v območju nosu, žrela in ust ter na gnojnih vnetjih na rokah, lasnih koreninah ali drugih delih kože.



Preprečevanje okužbe živil, do katere pride zaradi ljudi, je mogoče samo s strogo in natančno osebno higieno ljudi, zaposlenih v živilski industriji.

### 13.2.1 Bolezni

**Ključne besede:** proizvodnja živil, zdrave osebe, preventivni pregledi, izobraževanje, sanitarna inšpekcija

V proizvodnji živil lahko delajo samo osebe, ki so zdrave in nimajo nalezljivih bolezni, ki bi se prenašale z živili. Zakon o varstvu prebivalcev pred nalezljivimi boleznimi, ki ogrožajo vso državo, določa, da morajo vsi, ki so zaposleni v proizvodnji ali prodaji živil, opraviti pregled vsakih šest mesecev.

Pri tem pregledu ugotovijo, ali je delavec klicenosec ali ne. Splošni zdravniški pregled morajo opraviti enkrat na leto. Če oseba preboli nalezljivo bolezen, ki bi kot posledico lahko pustila klicenoštvo, mora pred vrnitvijo na delo s tremi zaporednimi preiskavami dokazati, da ni več klicenosec. Med tiste, ki morajo opravljati preventivni sanitarni pregled, sodijo:

1. osebe, ki so zaposlene v proizvodnji ali prometu živil ali v preskrbi prebivalstva s pitno vodo,
2. osebe, ki prihajajo na svojih delovnih mestih neposredno v stik z živili oziroma s pitno vodo,
3. osebe, ki so zaposlene v šolah in drugih šolskih in mladinskih zavodih,
4. osebe, ki so zaposlene pri določenih delih v zdravstvenih zavodih in v podjetjih, ki se ukvarjajo s proizvodnjo ali prometom zdravil,
5. osebe, ki delajo v zavodih ali obratih za higiensko nego prebivalstva (v javnih kopališčih, brivnicah, frizerstvu...),
6. osebe, ki delajo v proizvodnji ali prometu s kozmetičnimi sredstvi.

Zakon o varstvu prebivalstva pred nalezljivimi boleznimi določa sanitarni inšpekciji, da:

1. prepove osebam, ki zbolijo za določenimi nalezljivimi boleznimi in osebam, ki izločajo klice takih bolezni, delo na delovnih mestih, kjer lahko spravijo v nevarnost zdravje drugih,
2. odredi zdravstveni pregled oseb in materiala, da se razišče vir nalezljivih bolezni,
3. odredi izolacijo oseb, ki so zbolele za določenimi nalezljivimi boleznimi in njihovo zdravljenje.

### **13.2.2 Higijena rok**

**Ključne besede:** roke, stik z živilom, prenos patogenih mikroorganizmov, pravilno umivanje rok, zmanjšanje možnosti okužbe

Z rokami lahko v živila vnašamo mikroorganizme iz iztrebkov, z lasišča, s sluznic v nosu in žrelu. Zato morajo biti v bližini ali v prostorih, kjer se obdeluje meso ali druga občutljiva živila, dovolj veliko število umivalnikov za umivanje in dezinfekcijo rok. Že samo umivanje rok z milom močno zmanjša število mikroorganizemskih celic na rokah.

Za dezinfekcijo rok se uporabljajo dezinfekcijska sredstva na podlagi alkohola, ki morajo na rokah ostati 1 do 2 minuti, da je njihovo delovanje optimalno. Večinoma jih z rok sperejo prekmalu, zato njihov učinek ni zadosten. Pomembno je, da se ljudje, ki delajo z živil, zavedajo, da z dezinfekcijskimi sredstvi ne moremo nadomestiti čistilnih sredstev. Roke si je potrebno dobro in natančno umiti z milom in šele nato uporabiti dezinfekcijska sredstva. Posebno nevarnost predstavlja umazanija za nohti, v kateri se lahko razmnožijo mikroorganizmi. Da zmanjšamo možnost okužbe, morajo biti nohti na rokah čim krajši. Na rokah delavci ne bi smeli imeti nakita, predvsem prstanov, pod katerimi se lahko nabirajo ostanki živil. Ob uporabi rokavic se je v praksi pokazalo, da rokavic ne menjajo dovolj pogosto ali jih ne očistijo dovolj in so zato večji vir okužbe kot natančno očiščene in dezinficirane roke.

### **13.2.3 Delovna obleka**

**Ključne besede:** delovna obleka, material, barva, sestavni deli, garderobni prostor

Zakon o varstvu prebivalcev pred nalezljivimi boleznimi, ki ogrožajo vso državo, določa: "Osebe, ki prihajajo na delovnih mestih v proizvodnji ali prometu v neposreden stik z živil, morajo uporabljati posebno delovno obleko in obutev, ki zagotavlja higiensko varnost živil. Posebno delovno obleko in obutev mora priskrbeti in vzdrževati proizvajalec živil ali tisti, ki opravlja promet z njimi."

Pred vstopom v proizvodne prostore mora biti na razpolago garderobni prostor, v katerem se delavci lahko preoblečejo v delovno obleko in preobujejo obutev. V tem prostoru morajo biti tudi omare za shranjevanje obleke in obutve delavcev. Predeljene morajo biti tako, da sta ločena prostora za delovno in civilno obleko.

Delovna obleka mora biti svetlih barv ali bela, da se na njih vidi umazanija. Narejene morajo biti iz pralnega blaga. Krojene morajo biti tako, da človeka ne ovirajo pri delu. Biti

morajo primerne temperaturi delovnega mesta in težavnosti dela. Vsak delavec mora imeti 3 komplete delovne obleke. Tisti, ki prenašajo velike kose mesa na rami, morajo imeti še belo ogrinjalo s kapuco, da zaščitijo sebe in meso.

K delovni obleki sodijo: pokrivalo za glavo, halja, predpasnik, jopič ali bluza, krilo ali hlače in delovna obutev. Pokrivalo za glavo mora biti tako, da preprečuje padanje las in prhljaja v živilo (rute, kape ali mrežaste čepice). Lasje so običajno okuženi z mikroorganizmi, zato je pokrivalo pomembno za preprečevanje okužb z živili.

### Vprašanja:

1. Razloži, kako lahko z rokami okužimo živilo z mikroorganizmi, ki so v iztrebkih, na lasišču ali drugod na telesu.
2. Razloži, zakaj klicenosec ne sme delati v živilskem obratu.
3. Ugotovi, kaj je preventivni zdravstveni pregled, ki ga morajo opraviti vsi zaposleni v proizvodnji in prodaji živil.
4. Razloži, kdo vse mora opraviti preventivni zdravstveni pregled in zakaj.
5. Opiši pristojnosti sanitarne inšpekcije v zvezi z zdravjem oseb, zaposlenih v živilskem obratu.
6. Ugotovi pomen pravilne higiene rok zaposlenih v živilskem obratu.
7. Razloži, zakaj morajo biti nohti zaposlenih v živilskem obratu kratki in zakaj med delom ne smejo nositi prstanov.
8. Opiši pravilno umivanje rok delavcev v živilskem obratu.
9. Razloži namen delovne obleke za delavce v živilskem obratu.
10. Opiši sestavne dele delovne obleke za delavce v živilskem obratu.
11. Razloži pomen pokrivala delavcev v živilski industriji.
12. Ugotovi, zakaj je človek največkrat povzročitelj toksikoinfekcij z živili.

### **13.3 NADZOR IN OSVEŠČANJE TER IZOBRAŽEVANJE DELAVCEV V ŽIVILSKI INDUSTRIJI**

**Ključne besede:** nadzor nad delovno obleko, nadzor nad higieno delavcev, izobraževanje delavcev v živilski industriji, izpiti

Redno uporabo in menjanje delovnih oblek, primerno osebno higieno delavcev ter možnost za njeno vzdrževanje je potrebno stalno nadzirati. Bolj pomembno kot sam nadzor je

izobraževanje delavcev, katerega cilj je, povečati zavest delavcev o pomembnosti higijene za kakovost izdelka.

Izobraževanje delavcev je določeno s Pravilnikom o tečajih in izpitih za pridobitev temeljnega znanja o higieni živil in o osebni higieni za osebe, zaposlene v proizvodnji in prometu z živil. Ta je napisan na podlagi Zakona o zdravstvenem nadzoru nad živil in o osebni higieni za osebe, zaposlene v proizvodnji ali prometu z živil. Tečaji so lahko začetni ali obnovitveni. Organizira jih Zavod za socialno medicino in higieno ali enota za osnovno higiensko-epidemiološko dejavnost zdravstvenega doma.

Delavcem, ki s potrdilom dokažejo, da so v času šolanja pridobili znanje v skladu z 8. členom Pravilnika o tečajih in izpitih... in so bili iz teh predmetov tudi uspešno ocenjeni, ni potrebno opravljati osnovnega tečaja. Obnovitvene tečaje je potrebno opravljati vsakih 5 let.

Program osnovnih tečajev mora obsegati:

1. higieno živil in higieno prostorov, v katerih se živila proizvajajo ali dajejo v promet, razporeditev prostorov in funkcionalno povezanost,
2. splošna načela za senzorični pregled živil,
3. higieno opreme, pribora, posode, embalaže in vozil, ki se uporabljajo v proizvodnji ali prometu z živil,
4. osebno higieno in higieno delovne obleke,
5. čiščenje in dezinfekcijo, dezinsekcijo in deratizacijo,
6. temeljne pojme o mikrobiologiji in epidemiologiji za osebe, zaposlene v proizvodnji ali prometu z živil živalskega izvora, tudi temelje epizootologije,
7. temeljna zakonska določila o proizvodnji in prometu z živil in o zdravstvenem nadzoru nad živil.

Program mora obsegati vsaj 25 šolskih ur. Obnovitveni program mora obsegati najmanj 10 šolskih ur. Po končanem tečaju udeleženci opravljajo izpit.

### Vprašanja:

1. Razloži pomen izobraževanja delavcev v živilski industriji.
2. Ugotovi, zakaj so tečaji o higieni živil in osebni higieni delavcev v živilski industriji predpisani z zakonom oziroma pravilnikom ter zato obvezni.

### 13.4 ČIŠČENJE V OBRATIH ŽIVILSKE INDUSTRIJE

**Ključne besede:** cilj čiščenja, dezinfekcija, uspešnost, delovni postopki, čistilna sredstva, zmanjšana možnost okužbe

Cilj čiščenja in dezinfekcije je predvsem pretrgati poti, po katerih lahko pride do okužbe živila v samem obratu. S čiščenjem odstranimo umazanijo (ostanke živil in podobno) ter tako mikroorganizmom odvzamemo za življenje potrebne snovi (hranilno podlago), na katerih bi se lahko razmnoževali ali samo preživeli. Z različnimi metodami dezinfekcije mikroorganizme inaktiviramo in njihovo število tudi zmanjšamo.

Pogoj za uspešno dezinfekcijo je vedno uspešno in natančno čiščenje. V izjemnih primerih lahko čiščenje kombiniramo z dezinfekcijo in dosežemo zelen učinek. Tak izjemen primer je na primer uporaba mešanice aldehydov in površinsko aktivnih kvartarnih spojin, s katero dosežemo primerno čiščenje in dezinfekcijo malo onesnaženih površin.

Običajno sta čiščenje in dezinfekcija ločena med seboj. Izjema so novi preparati, ki so kombinirani in vsebujejo čistilne in dezinfekcijske snovi. Dezinfekcija mora slediti čiščenju in ga v nobenem primeru ne more nadomestiti. Način čiščenja, vrsta čistila, temperatura delovne raztopine, čas delovanja delovne raztopine in turbulenca so dejavniki, ki vplivajo na učinek čiščenja. Vse te dejavnike lahko nadziramo in spreminjamo. Kako jih bomo naravnali, je odvisno od:

1. vrste nečistoč, ki jih želimo odstraniti,
2. od materiala, ki ga želimo očistiti,
3. od zgradbe strojev in naprav, ki jih želimo čistiti.

Zaporedje delovnih postopkov pri čiščenju in dezinfekciji je lahko naslednje:

1. mehansko čiščenje (razen pri pijačah in mleku),
2. predčiščenje z vodo (+40 do +50°C za odstranjevanje velikih nečistoč),
3. čiščenje z delovno raztopino (primerno razredčeno čistilno sredstvo, ogreto na +60 do +80°C),
4. vmesno spiranje s toplo vodo, da odstranimo ostanke nečistoč in čistilnega sredstva,
5. dezinfekcija,
6. končno spiranje z mikrobiološko neoporečno vodo, s katero odstranimo ostanke dezinfekcijskega sredstva.

Za vsako vrsto nečistoče, ki jo želimo odstraniti, moramo izbrati:

1. primerno čistilno sredstvo,
2. primerno temperaturo vode pri predčiščenju,

3. primerno temperaturo delovne temperature (glede na vrsto čistilnega sredstva),
4. primeren čas delovanja delovne raztopine na čiščene površine,
5. turbulenco te raztopine v ceveh in tankih ter preostalih votlih delih strojev, ki jih želimo očistiti.

Dejavnikov, ki jih je potrebno upoštevati in uskladiti med seboj, da dosežemo zastavljen cilj, je zelo veliko. Cilj, ki smo si ga zastavili, so čiste in dezinficirane vse površine, ki pridejo v stik z živili med proizvodnim procesom.

S primernim čiščenjem ali sanitacijo zmanjšamo možnost okužbe živila, podaljšamo njegovo obstojnost in povečamo njegovo kakovost. Ravno izdelava čim bolj kakovostnih živil je cilj živilske industrije. Čiščenje ali sanitacija v živilski industriji je pomemben dejavnik za doseg tega cilja.

**Vprašanja:**

1. Razloži, kaj so cilji čiščenja in dezinfekcije v živilskem obratu.
2. Ugotovi, zakaj dezinfekcija ne more nadomestiti čiščenja.
3. Ugotovi, kateri dejavniki vplivajo na učinek čiščenja.
4. Opiši postopek čiščenja.
5. Razloži, glede na katere dejavnike izbiramo čistilno sredstvo.
6. Razloži, kako sta povezana učinkovitost čiščenja in kakovost izdelanega živila.

**13.4.1 Vplivi na učinkovitost čiščenja**

**Ključne besede:** delovna raztopina, nečistoča, čiščena površina, način čiščenja, voda, čistila, alkalna čistila, kislila čistila

Preglednica: Vplivi na učinek čiščenja

DELOVNA RAZTOPINA	NEČISTOČA	ČIŠČENA POVRŠINA	NAČIN ČIŠČENJA
trdota vode	vrsta nečistoče	vrsta materiala	temperatura delovne raztopine
sestava čistilnih sredstev	količina nečistoč	stanje materiala (spraskana površina)	čas delovanja
koncentracija posameznih sestavin	stanje nečistoče (prisušena, segreta)		postopki čiščenja



## DELOVNA RAZTOPINA ČISTILNEGA SREDSTVA

VODA: Trdoto vode določa količina magnezijevih in kalcijevih ionov v njej. Ti lahko reagirajo s sestavinami čistilnega sredstva. Več ko jih je, več aktivnih sestavin čistilnega sredstva vežejo nase in s tem zmanjšajo učinkovitost čistilnega sredstva. Zato je raztopina čistilnega sredstva z mehko vodo bolj učinkovita kot s trdo vodo. Kalcijevi in magnezijevi ioni se pri segrevanju izločajo kot vodni kamen, če je njihova koncentracija v vodi velika. Vodni kamen močno otežuje čiščenje in dezinfekcijo. Čistilu pogosto dodajajo snovi, ki vežejo nase ione, ki dajejo vodi trdoto.

Učinek čiščenja ali čistilna moč vode se lahko poveča z dejavniki, kot so višja temperatura, pritisk, čas delovanja, mehansko odstranjevanje delov nečistoč in dodajanje čistilnih sredstev. Nečistoče, ki vsebujejo maščobo, lahko z vodo odstranimo le, če je voda segreta na temperaturo višjo od tališča maščobe (cca. 50°C). Če pri tem odstranjevanju nečistoč, ki vsebujejo beljakovine, uporabljamo vodo, segreto na več kot 60°C, beljakovine koagulirajo in se prilepijo na podlago. Odstranimo jih lahko z uporabo visokega pritiska vode za čiščenje in uporabo primernih čistilnih sredstev.

ČISTILA: Alkalna čistila so tista, ki imajo kot osnovno aktivno snov natrijev hidroksid silikat (Na-meta ali Na-tetra silikat), fosfat (di-natrijev fosfat in tri-natrijev fosfat) in natrijevo bazo (natrijev hidroksid). Čistila z natrijevo bazo zelo dobro čistijo nečistoče, ki vsebujejo beljakovine, zato jih veliko uporabljajo v mesni industriji. Slaba stran teh čistil je, da slabo emulgirajo maščobo in so tudi močno korozivna (predvsem za aluminij). Bazični silikati slabše odstranijo beljakovine, vendar bolje emulgirajo maščobe, poleg tega pa ne korodirajo kovin.

Kisla čistila se uporabljajo predvsem za odstranjevanje mineralnih (neorganskih) oblog (vodnega kamna, mlečnega ali pivskega kamna). Kisline, ki so osnovna aktivna snov v teh čistilih, spremenijo v vodi netopne snovi v topne. Kot aktivna snov se uporabljajo: solna, vinska, očetna, citronska in dušikova kislina. Vse te kisline na aluminij delujejo močno korodirajoče.

Čistila vsebujejo poleg osnovne aktivne snovi še snovi, ki zmanjšajo tvorbo pen, znižajo trdoto vode in zmanjšajo površinsko napetost. Za znižanje trdote vode je potrebno uporabiti snovi, ki nase vežejo kalcijeve in magnezijeve ione. Zato uporabljajo polifosfate, ki so tudi sposobni raztapljati mineralne obloge. Polifosfate nadomeščajo z drugimi snovmi, ker povzročajo onesnaženje voda.

Tensidi so snovi, ki zmanjšajo površinsko napetost in omogočijo čiščenje tudi na težko dostopnih mestih. Z dodajanjem tensidov se izboljšajo tudi druge lastnosti čistilnih raztopin. Poveča se sposobnost vdora čistila v deice nečistoč in izrivanje (odluščanje) delcev nečistoč s površine. Z maščobami tvorijo tensidi agregate (skupke ali micle), ki so znotraj hidrofobni, zunaj pa hidrofilni in jih čistilna raztopina lahko sprejme. To imenujejo solubilizacija. Do nje lahko pride, ker vsebujejo tensidi hidrofilne in hidrofobne skupine. Za čistilne raztopine se uporabljajo predvsem anionski tensidi.

Sposobnost tensidov, da tvorijo peno, je pri nekaterih postopkih čiščenja zaželena, pri čiščenju v zaprtem sistemu (CIP) pa bi povzročila težave.

Način čiščenja, ki ga bomo izbrali, je odvisen:

1. od materiala, ki ga čistimo,
2. od vrste nečistoč,
3. od zgradbe naprav, ki jih čistimo.

Čiščenje je lahko ročno (mehansko) odstranjevanje nečistoč z drgnjenjem s krtačami in podobnim. Lahko pa čistimo strojno s curkom vode pod visokim pritiskom, s paro ali s peno. Za čiščenje z visokim pritiskom uporabljamo curek vode, ki izhaja iz cevi s pritiskom 30-70 barov. Učinek čiščenja ni odvisen samo od pritiska vode, ampak tudi od temperature čistilne raztopine, uporabe primerne čistila, uporabljene količine vode ter od razdalje med čistilno šobo in čiščeno površino.

Pri čiščenju s curkom pare uporabljamo mešanico vrele vode in pare, ki brizga na površino, ki jo želimo očistiti. Lahko dodamo tudi čistilo ali dezinfekcijsko sredstvo. Curek pare ima temperaturo 100°C ali več in izhaja iz čistilne šobe s pritiskom 5-10 barov. Pri čiščenju s peno se čistilno sredstvo nanese na čiščeno površino v debelem sloju in se po 10-30 minutah delovanja skupaj z nečistočo odstrani. Odstranimo jo lahko s curkom vode, navadno pa jo posesamo.

### Vprašanja:

1. Razloži, kako določamo trdoto vode.
2. Razloži, kako vpliva trdota vode na učinek čiščenja.
3. Ugotovi, kako višja temperatura delovne raztopine vpliva na učinek čiščenja.
4. Razloži, kako se med seboj razlikujejo alkalna in kislina čistila.
5. Ugotovi, kdaj uporabimo kislina čistila in kakšne nečistoče čistijo alkalna čistila.
6. Ugotovi, zakaj bi nastanek pene povzročal težave v zaprtem sistemu čiščenja (CIP).
7. Razloži, kakšne načine čiščenja poznamo.

### 13.4.2 Dezinfekcija

**Ključne besede:** dezinfekcijsko sredstvo, netoksičnost, biološko razgradljivo

Najpomembnejša lastnost dezinfekcijskega sredstva, ki ga želimo uporabiti v živilskem obratu, je netoksičnost v uporabljenih razredčitvah. Drugi pogoji za uporabo so:

1. dezinfekcijsko sredstvo mora v uporabljeni razredčitvi povzročiti hitro in nepopravljivo škodo na celicah mikroorganizmov, ki kvarijo živila,
2. učinkovitost dezinfekcijskega sredstva se ne sme bistveno zmanjšati zaradi tehnološkega procesa (pH, temperatura),
3. dezinfekcijsko sredstvo mora biti primerno za material, ki ga dezinficiramo,
4. dezinfekcijsko sredstvo mora biti biološko razgradljivo,
5. dezinfekcijsko sredstvo mora biti cenovno sprejemljivo.

Zdaj se uporabljajo predvsem halogeni (aktivni klor in jod), kvartarne amonijeve spojine in aldehidi.

#### 13.4.2.1 Vplivi na učinkovitost dezinfekcije

**Ključne besede:** čas delovanja, začetno število mikroorganizmov, koncentracija, temperatura, ostanke nečistoč

**Čas delovanja:** Pri delovanju dezinfekcijskega sredstva pride do inaktivacije oziroma uničenja mikroorganizmov. Število mikroorganizmov se manjša eksponentialno s časom. Daljši ko je čas delovanja dezinfekcijskega sredstva, večji je njegov učinek. Za dezinfekcijo rok običajno zadostuje od 0,5 do 3 minute. Za dezinfekcijo površin je potrebno delovanje od 1 do 6 ur.

**Začetno število mikroorganizmov:** Če je začetno število mikroorganizmov veliko, je potreben daljši čas delovanja dezinfekcijskega sredstva za doseg želenega učinka dezinfekcije.

**Koncentracija:** Hitrost uničenja mikroorganizemskih celic lahko pospešimo s povečanjem koncentracije dezinfekcijskega sredstva. Koncentracijo lahko večamo le do mejne (kritične) koncentracije, ki je ne smemo prekoračiti. Pri koncentracijah, višjih od mejne, nastopijo težave zaradi toksičnih snovi, ki jih dezinfekcijska sredstva vsebujejo. Močno se poveča možnost ostajanja dezinfekcijskega sredstva v živilih, hkrati se poveča tudi korozivno delovanje dezinfekcijske raztopine.

Temperatura: Dvigovanje temperature dezinfekcijskega sredstva poveča njegov učinek. Nekatera dezinfekcijska sredstva (jodofori) so na spremembe temperature manj občutljiva kot druga. Ta manj občutljiva dezinfekcijska sredstva lahko uporabljamo tudi pri nižjih temperaturah.

Ostanki beljakovinskih nečistoč: Dezinfekcijska sredstva reagirajo z organskimi snovmi v živih mikroorganizemskih celicah in z organskimi ostanki nečistoč na površinah, ki jih želimo dezinficirati. Reagirajo predvsem z beljakovinskimi snovmi. Učinek nekaterih dezinfekcijskih sredstev (z aktivnim klorom, jodofori) se zaradi tega močno zmanjša.

### Vprašanja:

1. Razloži, kako čas delovanja dezinfekcijskega sredstva vpliva na njegovo učinkovitost.
2. Ugotovi, kdaj moramo podaljšati čas delovanja dezinfekcijskega sredstva.
3. Razloži, kako koncentracija raztopine dezinfekcijskega sredstva vpliva na njegovo učinkovitost.

### 13.4.2.2 Postopek dezinfekcije

**Ključne besede:** nanašanje dezinfekcijskega sredstva, CIP, stopnja avtomatizacije, osnovni elementi

Tekoče raztopine dezinfekcijskih sredstev lahko na površine nanašamo ročno (s krpo ali krtačo) ali strojno. Lahko jih tudi razpršimo v zrak. Majhne dele, kot so ventili in cevi (kratke kovinske ali plastične), lahko razstavimo in položimo v raztopino dezinfekcijskega sredstva ali to sredstvo nalijemo vanje.

CIP – cleaning in place – čiščenje z enega mesta: S tem imenom označujemo avtomatsko čiščenje in dezinfekcijo notranjosti strojev, naprav, hranilnikov ter cevovodov, s katerimi so ti povezani med seboj. Notranje čiščenje poteka tako, da se po zaprtem sistemu črpa primerna raztopina čistila, dezinfekcijskega sredstva ali vode za splakovanje. Prednost tega načina čiščenja je, da ni potrebno razstavljati strojev, naprav in cevovodov ter jih čistiti in dezinficirati ročno. Pri CIP so posamezne stopnje oziroma faze čiščenja in dezinfekcije programirane in potekajo povsem avtomatizirano.

V zaprtem sistemu kroži raztopina dezinfekcijskega sredstva. V ceveh nastaja turbulenca (vrtinčenje) tekočine, ki pomaga pri čiščenju. V večjih posodah in tankih te raztopine brizgajo po vseh notranjih površinah iz šob pod pritiskom.

Čistilne in razkužilne raztopine se pripravijo na enem mestu, v zbirnih posodah. Od tu jih črpajo po zaprtem sistemu in jih po čiščenju vračajo v zbirne tanke. Po čiščenju se preveri učinkovitost čistilnih in razkužilnih raztopin in čistost vode po spiranju. Glede na rezultate preverjanj se čistilne in razkužilne raztopine nadomešča s svežimi ali samo dodaja čistilna oziroma dezinfekcijska sredstva. Vodo za spiranje pregledujejo po spiranju, da ugotovijo, ali je bilo spiranje učinkovito.

Naprave za CIP ločimo po stopnji avtomatizacije na ročno vodene in avtomatizirane. Glede na to, ali so v sklenjenem tokokrogu samo cevne napeljave ali tudi votli deli (ki jih čistijo z brizgalnimi glavami), ločimo odprte in zaprte sisteme. Glede na pritisk, s katerim brizgajo čistilne in razkužilne raztopine, ločimo visokotlačne naprave (10-100 barov) in nizkotlačne naprave (1-5 barov).

Vse naprave za CIP so sestavljene iz osnovnih elementov:

1. dezinfekcijske postaje (3 ali več tankov za pripravo čistilnih raztopin, dezinfekcijskih raztopin in tople vode),
2. sistema cevovodov in črpalk ter rotirajočih glav za pranje sten v tankih,
3. tankov (zbirnih posod) za zbiranje odpadne vode po čiščenju.

#### Vprašanja:

1. Opiši postopek čiščenja z enega mesta ali CIP.
2. Ovrednoti pomen CIP-a za čiščenje v živilski industriji.
3. Razloži, katere naprave so potrebne za izvajanje CIP-a, in opiši njihove naloge.

### 13.4.3 Dezinfekcijska sredstva

#### 13.4.3.1 Halogeni

Mednje spadajo preparati s klorom in jodom kot aktivno snovjo.

KLOR (Cl) – plin (Cl<sub>2</sub>) – in klordioksid se uporabljata predvsem za dezinfekcijo vode. Klora (plina) sme biti v pitni vodi največ 0,3 mg/l, v odpadnih vodah od 10 do 20 mg/l.

V živilskih obratih uporabljajo preparate z aktivnim klorom na anorganski bazi (podlagi), kot na primer Na-hipoklorit (NaOCl), ali na organski bazi, kot sta kloramin T in diklorisocianokislina.

Mikrobiciden učinek imajo preparati z aktivnim klorom zaradi nastanka HOCl, ki po vdoru v celico povzroči oksidacije in vodi k tvorbi N-halogenih spojin. Preparati z aktivnim klorom delujejo na bakterije, glive in viruse, pri višjih koncentracijah tudi na sporogene

organizme in plesni. Učinkoviti so tudi pri nižjih temperaturah. Lahko jih je sprati in zato ne puščajo sledov v živilih.

Njihova slaba lastnost je velika reaktivnost predvsem z nečistočami, ki vsebujejo beljakovine. Zaradi teh reakcij z beljakovinami v nečistočah se zmanjša učinkovitost dezinfekcijskega sredstva. Učinkovitost preparatov z aktivnim klorom je največja v kislem območju, ker v celice vdre več nedisociirane HOCl, vendar je v tem območju pH korozivnost preparatov večja. Zato te preparate uporabljamo v slabo kislem območju ali jim dodajajo snovi, ki ščitijo material pred korozijo.

JOD: Uporabljajo ga predvsem v raztopinah z neionogenimi tensidi (jodofori). Ti poškodujejo mikroorganizme zaradi svojih oksidativnih sposobnosti. Njihov spekter delovanja je zelo podoben kot pri preparatih z aktivnim klorom. Jodofori učinkujejo že pri temperaturi 5°C, višje temperature njihovo učinkovitost povečajo. Pri temperaturah nad 40°C začne elementarni jod sublimirati iz raztopine, zato se zmanjša učinkovitost in poveča korozivnost. Najbolj učinkoviti so pri pH 2,5 in 4,0, pri pH 7 se njihova učinkovitost močno zmanjša.

#### **13.4.3.2 Vodikov peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Razpade na kisik in vodo, s svojo oksidacijsko sposobnostjo ireverzibilno poškoduje mikroorganizemsko celico. Ima zelo širok spekter delovanja, ne povzroča korozije in ne pušča ostankov na tretiranih površinah. Veliko ga uporabljajo za sterilizacijo embalažnega materiala pred aseptičnim polnjenjem. V ta namen uporabljajo 25-50% raztopino, ki nekaj sekund deluje pri temperaturi 60-100°C.

PEROCETNA KISLINA: Povzroči poškodbe celične stene, ob vstopu v celico nedisociirana kislina poškoduje tudi celične proteine. Kislina je slabše obstojna kot vodikov peroksid in se ob prisotnosti težkih kovin in beljakovinskih nečistoč hitro inaktivira. Raztopine v koncentracijah nad 60% lahko v zaprtih posodah povzročijo eksplozije zaradi eksotermne razgradnje. Kot dezinfekcijsko sredstvo ga uporabljajo v mlekarstvu in v pridelavi pijač, ker deluje na vegetativne mikroorganizme, endospore bakterij, viruse in bakteriofage. Ob stiku z organsko snovjo razpade na vodo in očetno kislino brez toksičnih ostankov. Dobro deluje že pri temperaturah do 0°C. Njena stabilnost se močno poveča, če je v raztopini z vodikovim peroksidom v razmerju 1 : 1.

#### **13.4.3.3 Kvartarne amonijeve spojine**

So brez vonja in okusa, malo korozivne (razen za železo), delujejo v širokem pH območju. So malo toksične. Njihova slabost je slabše delovanje na gramnegativne bakterije in



viruse. Ne deluje na sporogene mikroorganizme, ker ustvarjajo rezistenco. Stik z beljakovinskimi nečistočami močno zmanjša njihovo učinkovitost. Težko jih je sprati s tretiranih površin, zato je večja možnost, da se pojavijo v živilih. Če jih uporabljamo pri CIP-sistemu čiščenja, lahko tvorijo zelo veliko pene.

#### 13.4.3.4 Aldehidi

V to skupino snovi spada FORMALDEHID (HCHO), ki ga uporabljajo v 35 % raztopini kot FORMALIN. Aldehidi imajo širok spekter delovanja na bakterijske spore, viruse, plesni in kvasovke. Do uničenja celic pride zaradi reakcij aldehydov z različnimi funkcionalnimi skupinami v celičnih proteinih. Reagirajo tudi z beljakovinami v nečistočah, kar zmanjša njihov učinek. Dezinfekcijski učinek lahko povečamo, če jih kombiniramo z drugimi aldehydi, kot sta glioksal (OHC – CHO) in glutardialdehyd (OHC – (CH)<sub>2</sub> – CHO) ali s površinsko aktivnimi snovmi. S takimi kombinacijami lahko dobimo dezinfekcijska sredstva brez vonja in bolj sprejemljiva za kožo.

Formaldehid lahko uporabimo tudi za dezinfekcijo zraka in prostorov. Prvi pogoj za dobro mikrobicidno delovanje formaldehydnih par je visoka relativna vlažnost zraka in temperatura vsaj +18°C. V zadnjih letih je uporaba formaldehyda kot dezinfekcijskega sredstva močno omejena predvsem zaradi močno dražečega delovanja na kožo in sluznice ter možne kancerogenosti. Uporabljati ga smejo samo posebej izšolani dezinfektorji.

#### 13.4.3.5 Alkoholi

Uporabljajo jih predvsem za razkuževanje rok. Mikrobicidno delovanje alkoholov je odvisno od njihove molekulske teže. Višja ko je molekulska teža, bolj so učinkoviti. V eni minuti uničijo vegetativne celice bakterij. Za inaktiviranje virusov je potreben čas delovanja od 30-60 min. Z alkoholi ne moremo inaktivirati bakterijskih spor. Za dezinfekcijsko delovanje je potrebna prisotnost majhne količine vode. Absolutni alkohol deluje konzervirajoče, vendar ne baktericidno. Običajno se uporabljajo 65 % raztopine. Alkoholi delujejo baktericidno, ker uničijo citoplazmno membrano s tem, da iz nje topijo lipide; koagulirajo proteine, ki delujejo kot encimi, povzročijo dehidracijo celice.

Za dezinfekcijo rok in kože uporabljajo etanol in izopropil alkohol (izopropanol), ki je učinkovitejši in manj draži kožo.

#### 13.4.3.6 Baze in kisline

Koncentrirana in segreta natrijeva baza in dušikova kislina se na primer uporabljata za čiščenje cevovodov in tankov (zbirnih posod). Poleg dobrega učinka čiščenja delujejo baze in kisline močno baktericidno, fungicidno in virucidno. Kljub temu z njihovo uporabo

ne dosežemo takšnega zmanjšanja števila klic, kot ga želimo doseči z dezinfekcijskim sredstvom. Baze tudi pri višjih koncentracijah in višjih temperaturah ne korodirajo nerjavečega jekla.

### 13.4.3.7 Dezinfekcija z vodno paro in vročo vodo

Voda, ki jo uporabimo za dezinfekcijo, mora imeti od +75 do +95°C. S tako temperaturo mora na površino delovati 20-30 min, da je površina dezinficirana. Vodna para, ki jo uporabljajo za dezinfekcijo proizvodnih naprav, ima običajno temperaturo 140°C. V naprave in stroje jo uvajajo s pritiskom štirih barov. Za takšno vrsto dezinfekcije je potrebno veliko energije, poleg tega pa lahko pride do poškodb zaradi raztezanja tretiranega materiala. Taka dezinfekcija ne povzroča korozije. Hkrati očistimo in dezinficiramo težje dostopna mesta. Na površini materialov ne ostajajo nikakršne snovi, lahko jo uporabljamo brez kasnejšega spiranja, ki je običajno mikrobiološko problematično.

#### Vprašanja:

1. Ugotovi dobre in slabe strani uporabe halogenov kot razkužil.
2. Ugotovi, katera razkužilna sredstva delujejo baktericidno in katera samo zavirajo razmnoževanje mikroorganizmov.
3. Ugotovi, katera razkužilna sredstva so uporabna v živilski industriji.
4. Ugotovi dobre in slabe strani razkuževanja z vodno paro brez kemičnih sredstev.
5. Pojasni, katere kriterije je potrebno upoštevati pri izbiri razkužilnega sredstva.

### 13.4.4 Spiranje po dezinfekciji

#### Ključne besede: odstranitev ostankov razkužil, neoporečna pitna voda

S spiranjem po dezinfekciji želimo odstraniti ostanke dezinfekcijskih sredstev. Če to opravljamo z vodo, ki mikrobiološko ni neoporečna, povzročimo ponovno okužbo (rekontaminacijo) strojev, naprav in delovnih površin. Ponovno okužbo lahko povzročimo tudi z uporabo neustrezne pitne vode. V pitni vodi po pravilniku ne sme biti *E. Coli* in koliformnih bakterij, možna je prisotnost nekaterih mikroorganizmov, ki kvarijo živila.

Vprašanje:

1. Pojasni namen spiranja površin, ki pridejo v stik z živili, po razkuževanju.

### **13.4.5 Kontrola čiščenja in dezinfekcije**

**Ključne besede:** učinek čiščenja, število mikroorganizmov, brisi, mikrobiološki nadzor

Najlažje je uspeh oziroma učinek čiščenja in dezinfekcije kontrolirati z rednim določanjem števila mikroorganizmov na tretiranih površinah. Na gladkih površinah, kot so stroji, tla, stene, police, lahko število mikroorganizmov določamo tako, da pritisnemo nanje plošče hranilnega agarja. Po inkubaciji zrasle kolonije preštejemo. Po tem številu lahko sklepamo o številu mikroorganizmov na preiskovani površini. Z dostopnih površin lahko jemljemo brise in na sterilne plošče hranilnega agarja cepimo fiziološko raztopino brisa. Zaprte sisteme in daljše cevi nadziramo tako, da jih speremo s fiziološko raztopino, ki jo potem razlijemo po agarju.

Vprašanja:

1. Razloži, kako ugotavljamo učinek dezinfekcije.
2. Pojasni, kako dobimo vzorce za mikrobiološki nadzor učinka dezinfekcije.

## PRILOGA 1

### 1 ZDRAVSTVENI NADZOR ŽIVIL

Zdravstveni nadzor nad živilimi in s tem varovanje zdravja potrošnika je urejeno z Zakonom o zdravstveni neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe ter s pravilniki. V pravilnikih so opisane norme za higiensko in zdravstveno neoporečnost vsakega živila, poleg tega pa še metodologija kontrole zdravstvene neoporečnosti in načini jemanja vzorcev.

#### 1.1 Zakon o zdravstveni neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe

##### 1. člen

Živila in predmeti splošne rabe, ki se proizvajajo ali uvažajo, da bi bili dani v promet na domačem trgu, morajo glede zdravstvene neoporečnosti ustrezati pogojem, ki jih predpisujejo zakon in na njegovi podlagi izdani predpisi.

##### 2. člen

Z živilimi po tem zakonu (v nadaljnjem besedilu: živila) je mišljeno vse, kar uporabljajo ljudje za hrano, in pijače v predelanem ali nepredelanem stanju, prav tako pa tudi začimbe, barve in vse druge snovi, ki se dodajajo živilom, da se konzervirajo, da se jim popravi videz, okus in vonj, da se obogatijo ali da se doseže kakšna druga lastnost.

Z živilimi po tem zakonu je mišljena tudi voda, ki je namenjena za javno preskrbovanje prebivalstva kot pitna voda ali voda za proizvodnjo živil, namenjenih za prodajo.

##### 3. člen

Z zdravstveno neoporečnostjo živil po tem zakonu je mišljena higienska neoporečnost živil in neoporečnost njihove sestave, ki vpliva na biološko vrednost živil.

##### 4. člen

S predmeti splošne rabe po tem zakonu so mišljeni:

- 1) posoda, pribor in embalaža za živila,
- 2) otroške igrače,
- 3) sredstva za osebno higieno, nego in olepševanje obraza in telesa,
- 4) sredstva za vzdrževanje snage,
- 5) tobak, tobačni izdelki in pribor za kajenje.

## 5. člen

Za živila oziroma predmete splošne rabe se šteje, da higiensko niso neoporečni:

- 1) če so okuženi z bolezenskimi mikroorganizmi, bolezenskimi zajedavci ali z drugimi mikroorganizmi oziroma zajedavci, ki lahko škodljivo vplivajo na zdravje potrošnikov oziroma uporabnikov predmetov splošne rabe;
- 2) če vsebujejo tolikšne količine strupenih sestavin, antibiotikov, hormonov, mikrotoksinov ali drugih snovi, da lahko škodljivo vplivajo na zdravje potrošnikov;
- 3) če izvirajo od poginulih živali ali od živali, zbolelih za katero od bolezni, ki škodljivo vplivajo na zdravje ljudi;
- 4) če so mehanično onesnaženi s primesmi, ki so lahko škodljive za zdravje potrošnikov;
- 5) če so pobarvani z barvami ali konzervirani s kemičnimi sredstvi, ali če vsebujejo druge aditive, ki niso dovoljeni za barvanje, konzerviranje oziroma proizvodnjo živil ali predmetov splošne rabe, ali če vsebujejo večjo količino barv, konzervansov oziroma drugih aditivov, kot je dovoljeno;
- 6) če je njihova sestava ali če so njihove organoleptične lastnosti (okus, vonj, videz) zaradi kemičnih, mikrobioloških ali drugih procesov toliko spremenjene, da niso več uporabni za določene namene;
- 7) če so kontaminirani z radioaktivnimi snovmi ali če je sevanje, ki so mu bili izpostavljeni, preseglo mejo, ki jo določajo predpisi;
- 8) če lahko zaradi sestave ali zaradi drugih lastnosti škodljivo vplivajo na zdravje potrošnikov.

Ob pogojih iz prvega odstavka tega člena veljajo za higiensko oporečne tudi surovine, ki so namenjene za proizvodnjo živil oziroma predmetov splošne rabe.

## 5. člen

Za higiensko oporečna veljajo tudi živila oziroma predmeti splošne rabe, ki jim je iztekel rok uporabnosti, naveden v njihovi deklaraciji ali na ovitku, posodi oziroma etiketi, če se prodajajo v izvornem pakiranju.

Živila oziroma predmeti splošne rabe, ki veljajo za higiensko oporečne zato, ker jim je iztekel rok uporabnosti, naveden v njihovi deklaraciji ali na ovitku, posodi oziroma etiketi, se smejo z dovoljenjem pristojnega upravnega organa uporabiti kot surovine za proizvodnjo živil oziroma predmetov splošne rabe, če se z njihovo preiskavo ugotovi, da kot surovine niso zdravju škodljivi.

## 7. člen

Za oporečna glede sestave veljajo tista živila, ki ne vsebujejo toliko hranljivih sestavin,

kot jih določajo predpisi o njihovi kakovosti in jim je zaradi tega zmanjšana biološka vrednost.

### 8. člen

Zdravstvena neoporečnost živil in predmetov splošne rabe, ki se uvažajo, mora ustrezati pogojem, ki so za takšna živila oziroma za takšne predmete splošne rabe predpisani.

### 9. člen

Barvanje in konzerviranje živil in predmetov splošne rabe ter uporaba antioksidantov, sinergistov, umetnih sladil, arom, emulgatorjev in drugih aditivov so dovoljeni samo v proizvodnji ali prometu živil oziroma predmetov splošne rabe, za katere je to v predpisih o njihovi zdravstveni neoporečnosti izrecno dovoljeno.

V predpisih iz prvega odstavka tega člena se določijo barve, kemična sredstva za konzerviranje in drugi aditivi, ki se smejo uporabljati, količine aditivov, ki se smejo uporabljati, ter drugi pogoji za uporabo aditivov v proizvodnji in prometu posameznih živil oziroma predmetov splošne rabe.

### 10. člen

Posameznim živilom se smejo dodajati vitamini, mineralne soli in druge snovi, da se obogati sestava živil glede njihove biološke vrednosti.

Snovi iz prvega odstavka tega člena smejo dodajati posameznim živilom, da se obogati njihova sestava, samo ob pogojih, ki jih določajo predpisi o zdravstveni neoporečnosti posameznih vrst živil.

### 11. člen

Predmeti splošne rabe ne smejo vsebovati tolikšne količine snovi, da bi bile lahko zdravju škodljive.

Za izdelovanje posameznih vrst predmetov splošne rabe se smejo uporabljati samo tiste snovi, ki se smejo uporabljati za ta namen po posebnih predpisih, in le v tolikšnih količinah, kot jih določajo ti predpisi.



## 12. člen

Material za pakiranje živil in predmetov splošne rabe ne sme neugodno vplivati na sestavo ali na organoleptične, mikrobiološke, kemične ali fizikalne lastnosti živil oziroma predmetov splošne rabe.

## 13. člen

Živila in določeni predmeti splošne rabe, ki se na domačem trgu prodajajo v izvornem pakiranju in so bile v njihovi proizvodnji ali prometu uporabljene barve, konzervansi ali drugi aditivi, morajo imeti na ovitku, posodi ali etiketi označbo o skupini uporabljenih aditivov (na primer: "Barvano z dovoljenimi umetnimi barvami", "Konzervirano z dovoljenimi konzervansi").

V primerih, ki jih določajo predpisi o zdravstveni neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe, morajo imeti tudi označbo o imenu in količini uporabljenih aditivov.

## 14. člen

Prepovedano je reklamirati zdravilno lastnost živil in predmetov splošne rabe ter jih reklamirati s slikami, risbami, znamenji in izrazi ali besedili, ki bi potrošnika lahko zavajali glede njihove sestave, lastnosti, namena ali učinka.

Ne glede na prvi odstavek tega člena lahko zvezni upravni organ, ki je pristojen za zdravstvo, dovoli za posamezna živila oziroma posamezne predmete splošne rabe, da se v njihovo deklaracijo vpišejo podatki o njihovi zdravilni lastnosti, in določi, kako sme biti navedena njihova zdravilna lastnost.

## 15. člen

Prepovedano je reklamirati alkoholne pijače in tobačne izdelke po tisku, radiu, televiziji in drugih sredstvih javnega obveščanja.

Predpisi, izdani na podlagi tega zakona, določajo, kako in ob katerih pogojih je dovoljeno potrošnike obveščati o alkoholnih pijačah in tobačnih izdelkih po sredstvih javnega obveščanja.

## 16. člen

Živila in predmeti splošne rabe, ki se prodajajo na domačem trgu, so pod zdravstvenim nadzorom.

24. člen

Preizkušanje (analiza) vzorcev živil, predmetov splošne rabe oziroma surovin, da ugotovijo njihovo zdravstveno neoporečnost, opravljajo pooblaščené zdravstvene organizacije in druge pooblaščené organizacije združenega dela.

Izid analize vzorcev se more izpodbijati samo z zahtevo, naj se opravi njihova superanaliza v kakšni zdravstveni organizaciji ali kakšni drugi organizaciji združenega dela, ki ima ustrezne strokovne kadre, opremo in druge pogoje za opravljanje superanalize posameznih vrst živil oziroma predmetov splošne rabe.

Če se izid superanalize vzorca ne ujema z izidom njegove analize, je odločilen izid superanalize.

24. a člen

Stroške za preizkušanje zdravstvene neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe v proizvodnji plača organizacija združenega dela, ki jih proizvaja, ali druga organizacija oziroma delovni ljudje, ki jih proizvajajo samostojno pri opravljanju dejavnosti z osebnim delom z delovnimi sredstvi, ki so lastnina občanov.

Stroške za preizkušanje zdravstvene neoporečnosti živil in predmetov splošne rabe v prometu na domačem trgu plača organizacija združenega dela, ki jih daje v promet, ali druga organizacija oziroma oseba, ki se ukvarja s prometom samostojno z osebnim delom ali z delovnimi sredstvi, ki so lastnina občanov.

25. člen

Za varstvo zdravja prebivalstva imajo organi iz 17. člena tega zakona pravico in dolžnost ukreniti za zavarovanje tole:

- 1) prepovedati promet živil in predmetov splošne rabe, ki zdravstveno niso neoporečni, ter njihovo uporabo za prehrano;
- 2) odrediti, da se vzamejo in uničijo živila in predmeti splošne rabe, ki niso higiensko neoporečni, in objaviti o tem v sredstvih javnega obveščanja na stroške organizacije, ki je odgovorna za oporečnost živil in predmetov splošne rabe, ustrezno sporočilo;
- 3) prepovedati uvoz živil in predmetov splošne rabe, ki niso neoporečni, in odrediti, da se vrnejo pošiljatelju.

Ukrepi iz prvega odstavka tega člena se odredijo na podlagi odločbe, izdane v upravnem postopku. Pritožba zoper odločbo ne zadrži njegove izvršitve.

#### 26. člen

Zvezni upravni organ, ki je pristojen za zdravstvo, je odgovoren za nadzorstvo nad zdravstveno neoporečnostjo živil in predmetov splošne rabe.

Namen tega zakona in predpisov, ki so izdani na podlagi tega zakona, je zaščita potrošnika in njegovega zdravja. Z zakonom, s predpisi in s preventivnimi postopki (pregledi), ki jih predpisujejo, poskušajo zaščititi hrano pred okužbo s patogenimi mikroorganizmi in zdravju škodljivimi kemijskimi spojinami.

Da to lahko dosežemo, je treba hrano (živila) obravnavati z dveh zornih kotov:

1. zdravstveno-higienskega,
2. kakovostnega.

Zdravstveno neoporečnost in kakovost živil določa zelo veliko različnih parametrov, ki jih je potrebno regulirati oziroma standardizirati. Standardizacija in normiranje zdravstvene neoporečnosti in kakovosti živil postaja sestavni del proizvodnje in prometa z živili. Da pa lahko dosežemo pravilno delovanje te standardizacije, je potrebno pregledovanje živil po enotnih kriterijih in metodologiji. Samo tako lahko dosežemo, da bodo v prometu proizvodi različnih proizvajalcev z enakimi lastnostmi, ki bodo potrošnikom zagotovili tudi enake biološko-hranilne vrednosti živil.

**PRAVILNIK O POGOJIH, KI JIM MORAJO GLEDE  
MIKROBIOLOŠKE NEOPOREČNOSTI USTREZATI ŽIVILA  
V PROMETU [Ur. l. SFRJ, [t. 45-563183 z dne 26. 8. 1983]**

Živila morajo glede mikrobiološke neoporečnosti ustrezati pogojem, ki jih predpisuje Pravilnik o pogojih, ki jim morajo glede mikrobiološke neoporečnosti ustrezati živila v prometu.

Če niso za posamezna živila v tem pravilniku predpisani posebni pogoji glede mikrobiološke neoporečnosti, se zanje uporabljajo določbe, ki se nanašajo na mikrobiološko neoporečnost sorodnih živil.

Število mikroorganizmov v 1 g (ml) živila je po tem pravilniku število mikroorganizmov, zraslih na gojišču hranljivega agarja po predpisanih metodah za opravljanje mikrobioloških analiz in superanaliz živil.

Če ni s tem pravilnikom za posamezna živila drugače določeno, živila v prometu ne smejo vsebovati:

- 1) bakterij vrste *Salmonella* v 25 g (ml),
- 2) koagulaza pozitivnih stafilokokov v 0,01 g (ml),
- 3) sulfitoreduktornih klostridijev v 0,01 g (ml),
- 4) vrste *Proteus* v 0,001 g (ml),
- 5) *Escherichia coli* v 0,001 g (ml).

Posamezna živila imajo še posebne pogoje glede mikrobioloških lastnosti.

Sladoled in sladoledne mešanice ne smejo vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov v 1 g in ne sulfitoreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,1 g. Število mikroorganizmov ne sme biti večje od 50000 v 1 g.

Sveža jajca v lupini ne smejo vsebovati bakterij vrste *Salmonella* v 50 g in ne kvasovk in plesni v 1 g.

Jajca v prahu ne smejo vsebovati bakterij vrste *Salmonella* v 50 g, sulfitoreduktornih klostridijev v 0,1 g, *Escherichia coli* v 0,01 g in ne več kot 200.000 mikroorganizmov v 1 g.

Zamrznjeno testo ne sme vsebovati več kot 500.000 mikroorganizmov v 1 g in ne več kot 1000 kvasovk in plesni v 1 g.

Čokolada v ploščah, polnjena čokolada in čokoladni deserti, nougat, marcipan, industrijsko izdelane in pakirane slaščice ter drugi izdelki te vrste ne smejo vsebovati v 0,1 g: vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 1 g pa ne več kot 30.000 mikroorganizmov, več kot 1000 aerobnih sporogenih bakterij in ne več kot 1000 kvasovk in plesni.

Bonboni, draže bonboni, žvečilni gumi, keksi, vafli, pecivo, oblati in drugi izdelki te vrste ne smejo vsebovati v 0,1 g: koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfitreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli*, več kot 1000 aerobnih sporogenih bakterij v 1 g in ne več kot 1000 kvasovk in plesni v 1 g.

Mlečne industrijske kreme v izvirnem pakiranju ne smejo vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov v 1 g, sulfitreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,1 g, lipolitičnih bakterij v 0,01 g in ne več kot 30.000 mikroorganizmov v 1 g.

Slaščice s kremo in kreme ne smejo vsebovati *Escherichia coli* v 0,01 g in ne več kot 100.000 mikroorganizmov v 1 g.

Sladkor ne sme vsebovati v 0,1 g koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfitreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli*, več kot 10.000 mikroorganizmov v 1 g in ne več kot 100 kvasovk in plesni v 1 g.

Majoneza, gorčica in jušni koncentradi ne smejo vsebovati *Escherichia coli* v 0,1 g in ne več kot 500.000 mikroorganizmov v 1 g.

Margarina ne sme vsebovati v 0,01 g vrste *Proteus* in *Escherichia coli* in ne lipolitičnih bakterij v 0,001 g.

Mleko ne sme vsebovati več kot 50.000 mikroorganizmov v 1 ml.

Vse vrste mleka v prahu ne smejo vsebovati več kot 50.000 mikroorganizmov in ne koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfitreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,1 g.

Pasterizirano mleko v prodaji ne sme vsebovati več kot 100.000 mikroorganizmov v 1 g in ne koagulaza pozitivne stafilokoke, sulfidreduktorne klostridije, vrste *Proteus* in *E. coli* v 0,1 ml.

Kislo mleko, jogurt, kefir in fermentirane mlečne pijače v prodaji ne smejo vsebovati vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,01 ml.

Kisla smetana, sladka smetana, pasterizirana sladka smetana in pasterizirana kisla smetana ne smejo vsebovati v 0,1 ml koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfitreduktornih klostridijev vrste *Proteus*, kvasovk in ne *Escherichia coli*. Pasterizirana sladka smetana ne sme vsebovati več kot 50.000 mikroorganizmov v 1 ml.

Surovo maslo ne sme vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfidreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* in ne lipolitičnih bakterij v 0,001 g.

Trdi in topljeni siri ne smejo vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfitreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,1 g živila in topljeni siri ne več kot 10.000 mikroorganizmov v 1 g.

Surovo meso v manjših kosih in surovo meso perutnine ne sme vsebovati sulfidreduktornih klostridijev v 0,1 g. Sesekljano surovo meso in klobase za pečenje ne smejo vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov v 0,1 g in vrste *Proteus* v 0,01 g. Skupno število mikroorganizmov ne sme biti večje od 3.000.000 v 1 g.

Vse vrste suhomesnatih izdelkov ne smejo vsebovati vrste *Proteus*, *Escherichia coli*, koagulaza pozitivnih stafilokokov in ne sulfitreduktornih klostridijev v 0,1 g.

Poltrajne salame in klobase ne smejo vsebovati v 0,01 g vrste *Proteus* in *Escherichia coli*, sulfitreduktornih klostridijev pa ne v 0,1 g.

Kuhane klobase ne smejo vsebovati v 0,01 g vrste *Proteus* in *Escherichia coli*.

Zamrznjeno sadje ne sme vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfitreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,1 g, več kot 100.000 mikroorganizmov v 1 g in ne več kot 100 kvasovk in plesni v 1 g.

Suho sadje ne sme vsebovati v 0,1 g koagulaza pozitivnih stafilokokov, vrste *Proteus* in *Escherichia coli*, več kot 200.000 mikroorganizmov v 1 g in ne več kot 10.000 kvasovk in plesni v 1 g.

Zamrznjene vrtnine ne smejo vsebovati več kot 500.000 mikroorganizmov v 1 g.



Pasterizirani izdelki iz sadja, vrtnin in gob ne smejo vsebovati v 0,1 g koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfidreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli*, lipolitičnih bakterij v 0,001 g, več kot 10.000 mikroorganizmov v 1 g in ne več kot 100 kvasovk in plesni v 1 g.

Sadni sokovi in osvežilne sadne pijače ne smejo vsebovati koagulaza pozitivnih stafilokokov, sulfidreduktornih klostridijev, vrste *Proteus* in *Escherichia coli* v 0,1 ml, in ne več kot 100 mikroorganizmov v 1 ml.

Osvežilne gazirane brezalkoholne pijače ne smejo vsebovati vrste *Proteus* in *Enterococcus faecalis* v 100 ml, koagulaza pozitivnih stafilokokov in sulfidreduktornih klostridijev v 0,1 ml, več kot 100 mikroorganizmov v 1 ml in ne več kot 10 koliformnih bakterij v 100 ml, določenih kot najverjetnejše število.

Živila, za katera se z mikrobiološko preiskavo ugotovi, da glede mikrobiološke neoporečnosti ne ustrezajo pogojem, ki jih predpisuje ta pravilnik, so higiensko oporečna.

Živila niso higiensko oporečna, če vsebujejo v 1 g (ml) do 50% več mikroorganizmov ter kvasovk in plesni, kot jih po tem pravilniku smejo vsebovati, če glede mikrobiološke neoporečnosti ustrezajo drugim pogojem, ki jih predpisuje ta pravilnik.

## PRIPRAVA VZORCA ZA IZVEDBO MIKROBIOLOŠKIH ANALIZ

### 1. Priprava

Vse vrste vzorcev živil pripravljamo za mikrobiološke preiskave v aseptičnih razmerah, da bi tako preprečili kontaminacijo vzorcev z mikroorganizmi iz okolice.

Surovo maslo, margarina, majoneza, solate z majonezo, kreme, slaščice s kremo:

V Erlenmayerjevo bučko s steklenimi zrcni odtehtamo 20 g vzorca in dodamo 180 ml 2% raztopine (45°C) natrijevega citrata, nato vzorec med stresanjem dobro homogeniziramo. Tako dobimo osnovno razredčino.

Sladoled in prašek za sladoled:

V Erlenmayerjevo bučko s steklenimi zrcni odtehtamo 20 g vzorca, dodamo 180 ml 2% na 45°C segrete raztopine natrijevega citrata in vsebino s stresanjem dobro homogeniziramo. Tako dobimo osnovno razredčino.

Zamrznjeno testo:

Vzorec najprej odmrznemo. Nato prenesemo v Erlenmayerjevo bučko s steklenimi zrcni 20 g vzorca, vzetega na različnih mestih testa. Dodamo 180 ml fiziološke raztopine, segrete do 45°C in s stresanjem dobro homogeniziramo. Tako dobimo osnovno raztopino. Kakav v prahu, vse vrste čokolade, nougat, marcipan in žvečilni gumi:

Odtehtamo 20 g zdrobljenega vzorca v Erlenmayerjevo bučko s steklenimi zrcni, dodamo 180 ml fiziološke raztopine, segrete na 45°C. Dobro zamašimo z gumijastim zamaškom in stresamo, dokler raztopina ne postane homogena. Tako dobimo osnovno razredčino.

**LITERATURA:****1. Microbiology: an introduction**

Gerard J. Tortora, Berdcler R. Funke, Christine L. Case – 4<sup>th</sup> edition,  
The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc.

**2. Microbiology and Biotechnology**

Pauline Lowrie, Susan Wells, Cambridge University press 1994

**3. Brock Biology of Microorganisms**

M.T. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker, Prentice Hall, 1997

**4. Microbiology**

L. M. Prescott, J.P. Harley, D.A. Klein, Wm. C. Brown Publishers, 1996

**5. Mikrobiologija z epidemiologijo**

Ana Zlata Dragaš, DZS, 1998

**6. Razvoj življenja od molekule do človeka (Priročnik za učitelje)**

F. Sušnik (pripravil slovensko izdajo), Inštitut za biologijo Univerze v Ljubljani,  
DZS 1974

**7. Biokemija za studente kemije i medicine**

Peter Karlson, Šolska knjiga Zagreb 1989

MESTNI LOG

579

KAPUN-DOLINAR, A.  
Mikrobiologija



BIC LJUBLJANA



100005409

COBISS e

ISBN 961-234-389-6



9 789612 343897