Федеральное агентство по рыболовству
БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»
Калининградский морской рыбопромышленный колледж

Утверждаю
Заместитель начальника колледжа
по учебно-методической работе
А. И. Колесниченко

Подписано цифровой подписью: Колесниченко Андрей Игоревич
Причина: Я утвердил этот документ
Дата: 29 Август 2025 г. 9:00:17
DN: E=uc_fk@roskazna.ru, S=77 Москва, ИНН ЮЛ=7710568760, ОГРН=1047797019830, STREET="Большой Златоустинский переулок, д. 6, строение 1", L=г. Москва, C=RU, O=Казначейство России, CN=Федеральное казначейство

ОП.05 МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА

Методическое пособие для практических и лабораторных занятий

по специальности

35.02.10 Обработка водных биоресурсов

МО-35 02 10-ОП.05.ПЗ.ЛЗ

РАЗРАБОТЧИК	Н.А. Морозова
ЗАВЕДУЮЩИЙ ОТДЕЛЕНИЕМ	Н.А. Судьбина
ГОД РАЗРАБОТКИ	2025

Содержание

ВВЕДЕНИЕ 3
Практическое занятие № 1 Правила работы и оборудование микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа 6
Лабораторные работы № 1-2 Исследование основных форм бактерий. Способы окрашивания бактериальных клеток 9
Лабораторная работа № 3. Морфология плесневых грибов и дрожжей 12
Тема 2 Общая физиология микроорганизмов 16
Практическое занятие № 2. Подготовка посуды к стерилизации и приготовление питательных сред. Методы стерилизации посуды и питательных сред 16
Лабораторная работа № 4. Изучение микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения 20
Лабораторная работа № 5 Микробиологическое исследование охлажденной 24
и мороженой рыбы 24
Лабораторные работы № 6–7. Посев микроорганизмов и микробиологические исследование соленой и копченой рыбы 27
Лабораторные работы № 8-9. Посев микроорганизмов пищевых материалов и консервов. Анализ выросших посевов 31
Лабораторная работа № 10. Микробиологическое исследование воздуха 35
Лабораторная работа № 14. Микробиологическое исследование питьевой воды 39
Лабораторная работа № 12 42
Приложение 1 48

ВВЕДЕНИЕ

Рабочей программой дисциплины «Микробиология, санитария и гигиена» предусмотрено 28 академических часов на выполнение 2 практических и 12 лабораторных занятий.

Целью проведения практических и лабораторных занятий является закрепление теоретических знаний и приобретение необходимых практических навыков и умений по отдельным темам курса.

Перед проведением занятий обучающиеся должны проработать соответствующий материал, уяснить цель занятия, ознакомиться с последовательностью его проведения, а преподаватель должен проверить знания студентов и готовность к выполнению задания. На каждом лабораторном занятии проводится фронтальная беседа, цель которой – проверить готовность группы к выполнению лабораторной работы.

На первом лабораторном занятии преподаватель проводит вводный инструктаж по правилам поведения и работы в микробиологической лаборатории, правилам обращения с бактериальными культурами, химической посудой и реактивами, оказанию первой доврачебной помощи. После получения инструктажа каждый обучающийся расписывается в журнале по технике безопасности. Кроме того, перед началом каждой лабораторной работы преподаватель напоминает основные безопасные приемы работы, раскрывает значение и содержание работы, последовательность и технические приемы ее выполнения.

После каждого занятия проводится зачет, как правило, на следующем занятии перед выполнением последующей работы. На зачете студент должен: знать теорию по данной теме; сущность и технику выполнения анализа; пояснить как проводится расчет; уметь проанализировать полученные результаты (в соответствии с основными требованиями к знаниям и умениям по данной теме).

Для ведения записей (отчетов) по выполнению практических и лабораторных занятий каждый студент должен иметь отдельную тетрадь с полями. В нее записывается номер и название работы, цели, краткий перечень необходимого оборудования, инструментов, правила техники безопасности. Результаты лабораторных исследований оформляются как «Протокол лабораторных испытаний».

Изображения фиксированных окрашенных бактериальных препаратов, полученные с иммерсией под микроскопом, зарисовываются в круге и дается описание морфологических признаков исследуемых микроорганизмов.

В выводе указывается род исследуемых бактерий по-латыни. Записи должны вестись аккуратно, разборчивым подчерком. В конце работы (отчета) делаются основные выводы по изучаемой теме.

Документ управляется программными средствами 1С: Колледж
Проверь актуальность версии по оригиналу, хранящемуся в 1С: Колледж

Перечень практических и лабораторных занятий

№ п/п	Практические и лабораторные занятия	Кол-во часов
1	Практическое занятие № 1 Правила работы и оборудование микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа	2
2	Лабораторные работы № 1-2 Исследование основных форм бактерий. Способы окрашивания клеток	4
3.	Лабораторная работа № 3 Морфология плесневых грибов и дрожжей	2
4.	Практическое занятие № 2 Подготовка посуды и материалов к стерилизации. Приготовление питательных сред. Методы стерилизации посуды, материалов, питательных сред	2
5.	Лабораторная работа № 4 Исследование микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения. Количественное определение молочной кислоты	2
6.	Лабораторная работа № 5 Микробиологические исследования охлажденной и мороженой рыбы	2
7-8	Лабораторные работы № 6 -7 Посев микрооганизмов соленой и копченой рыбы. Анализ и микробиологические исследования выросших посевов	4
10-11.	Лабораторная работа № 8-9 Посев микроорганизмов консервов и пищевых материалов. Анализ и микробиологические исследования выросших посевов	4
12.	Лабораторная работа № 10 Посев микроорганизмов питьевой воды и воздуха	2
13.	Лабораторная работа № 11 Анализ и микробиологические исследования выросших посевов микроорганизмов питьевой воды и воздуха	2
14.	Лабораторные работы № 12 Санитарно-микробиологические исследования смывов с рук, одежды, инвентаря и оборудования	2
ИТОГО		**28**

1.1 Морфология микроорганизмов

Практическое занятие № 1 Правила работы и оборудование микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа

Цели занятия:

- знать правила обращения с бактериальными культурами;

- знать технику безопасности и основное оборудование микробиологической лаборатории;

- знать устройство и правила работы с микроскопом.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01–ОК 05, ОК 07, ОК 09.

Материальное обеспечение:

Микроскоп биологический, теневой осветитель, чашки Петри с культурами бактерий на РПА, бактериологическая петля, предметные стекла, спиртовка.

Используемые источники: [1]; [2].

Теоретическая часть:

Работа в микробиологической лаборатории, специфика микробиологических исследований требуют строгого соблюдения чистоты и порядка для обеспечения асептики анализа и для избежания загрязнений культур микроорганизмов.

При работе в микробиологической лаборатории необходимо строго соблюдать следующие п р а в и л а:

1. Работу проводить только в халатах.

2. Каждый студент должен иметь в лаборатории постоянное рабочее место.

3. В лаборатории запрещается прием пищи.

4. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов, все реактивы и растворы должны иметь этикетки и стоять на определенных местах.

5. Все предметы, использованные при работе с живыми микробами, должны быть обезврежены либо сжиганием в пламени горелки (спиртовки), либо погружением в дезинфицирующий раствор.

6. В конце занятия студент должен привести в порядок рабочее место, тщательно вымыть руки.

Светлопольный микроскоп и правила работы с ним

Морфологию и строение клеток микроорганизмов, размеры которых измеряются в микрометрах (1 мкм = 0.001 мм = 10^{-6} м), можно изучить только с помощью оптических

приборов – *биологических микроскопов*, дающих увеличение исследуемых объектов в 1000 и более крат.

Световые биологические микроскопы, обеспечивающие увеличение в сотни раз, позволяют исследовать объекты в проходящем свете в светлом поле. Для изучения морфологических характеристик бактерий микроскопирование проводят с применением *масляной иммерсии* – объектив 15х90.

Иммерсионным (х90) называется объектив, при работе с которым между препаратом и объективом помещается капля иммерсионного масла.

После окончания микроскопирования поднимают тубус, снимают препарат и протирают линзу объектива сначала сухой салфеткой, а затем смоченной спиртом. *Оставлять масло на поверхности линзы нельзя, так как оно способствует фиксированию пыли, высыхает и может привести к повреждению оптики микроскопа*.

Микроскоп имеет механическую и оптическую части.

Механическая часть включает штатив с предметным столиком и тубус, макро- и микровинты.

Оптическая часть микроскопа состоит из осветительного аппарата, конденсора, объективов и окуляра.

Объективы представляют собой систему линз. Объективы имеют обозначение, указывающее увеличение, даваемое объективом: х8, х40, х90. Объективы, дающие увеличение в 8 и 40 раз, называются *сухими*, так как при работе между объективом и препаратом находится слой воздуха. *Иммерсионным* (х90) называется объектив, при работе с которым между препаратом и объективом помещается капля *иммерсионного масла*.

Общее увеличение, которое дает микроскоп, определяется произведением величины увеличения объектива на величину увеличения окуляра.

Для изучения морфологических характеристик бактерий микроскопирование проводят с применением *масляной иммерсии* – объектив 15х90.

После окончания микроскопирования поднимают тубус, снимают препарат и протирают линзу объектива сначала сухой салфеткой, а затем смоченной спиртом. *Оставлять масло на поверхности линзы нельзя, так как оно способствует фиксированию пыли, высыхает и может привести к повреждению оптики микроскопа*.

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с правилами работы в микробиологической лаборатории - методическое пособие, приложение № 1. *Поставить подпись в журнале по технике безопасности.*

2. Ознакомиться с теоретической частью к работе, пользуясь методическим пособием, с.32. *Кратко законспектировать в отчет по работе*:

- устройство микроскопа и правила обращения с ним (Приложение № 2);
- основные правила работы с культурами микроорганизмов;
- правила обращения с бактериальной петлей;

3. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема практического занятия

Цели занятия

Краткий конспект теоретической части

Рисунок микроскопа, устройство

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каковы основные правила поведения и работы в микробиологической лаборатории?
2. Каковы основные правила обращения с бактериальными культурами?
3. Что понимают под «чистой», «накопительной» культурой микроорганизмов?
4. Что представляет собой бактериологическая петля? Каковы правила работы?
5. Каковы правила работы с биологическим микроскопом?
6. Что понимают под механической системой микроскопа? Их назначение.
7. Где располагаются и назначение макро- и микрометрических винтов?
8. Что понимают под оптической системой микроскопа?
9. Где находится и каково назначение конденсора?
10. Как обозначаются и классифицируются объективы? Каково их назначение?
11. Каковы преимущества и правила работы с иммерсионным объективом?
12. Как находится общее увеличение микроскопа?

Лабораторные работы № 1-2 Исследование основных форм бактерий. Способы окрашивания бактериальных клеток

Цели работы:

- освоить методику приготовления фиксированного препарата бактерий путем простого и сложного окрашивания;

- знать основные формы бактериальных клеток;

- получить навыки микроскопирования в светлом поле с иммерсией.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01–ОК 05, ОК 07, ОК 09.

Материальное обеспечение:

Чашки Петри с культурами палочковидных и шаровидных форм бактерий на РПА, пробирки с чистыми культурами сарцин на скошенном агаре, микроскоп, осветитель, иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, раствор генцианвиолета, раствор Люголя, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница.

Используемые источники: [1]; [2].

Техника безопасности:

1. ……..
2. ……..

Теоретическая часть:

Морфологические особенности клеток микроорганизмов изучают, используя различные методы микроскопии и дифференциальной окраски. Морфологическая характеристика микроорганизмов включает форму, взаимное расположение клеток микроорганизмов, их размеры, подвижность, способность к образованию спор, капсул, наличие клеточных включений.

Для выявления некоторых морфологических особенностей и количественного учета микроорганизмов, проверки чистоты культуры и ряда других целей готовят фиксированные окрашенные препараты, которые могут храниться длительное время. *Фиксированный препарат (мазок)* – это препарат, в котором микроорганизмы зафиксированы (прикреплены к стеклу) и окрашены.

Приготовление фиксированных окрашенных препаратов включает следующие этапы: приготовление мазка, высушивание, фиксацию и окраску, чаще анилиновым красителем *фуксином*.

Препарат готовят, как правило, на предметных стеклах толщиной не более 1.2 – 1.4 мм. Поверхность этих стекол должна быть чистой и *обезжиренной*.

Для простого окрашивания клеток микроорганизмов чаще всего пользуются анилиновыми красителями: фуксином, генцианвиолетом, метиленовым синим.

В правильно окрашенном и хорошо промытом препарате поле зрения остается светлым и чистым, а окрашиваются только клетки микроорганизмов.

Сложное окрашивание по Грамму

Способность бактерий окрашиваться по Грамму связана с молекулярной организацией и химическим составом клеточной стенки. *Эта окраска является важным диагностическим признаком*. *Сущность* сложной окраски заключается в том, что препарат окрашивают не одной, а двумя и большим количеством контрастных красителей.

Способность окрашиваться по Грамму является важным *дифференцированным* признаком, что позволяет разделить все бактерии на две группы: *грамотрицательные* и *грамположительные.*

Грамотрицательные бактерии после последовательной обработки препарата раствором генцианвиолета и йода легко обесцвечиваются спиртом и приобретают *малиновый* (красный) цвет, тогда как *грамположительные* более прочно удерживают *темно-фиолетовую окраску*.

В технологии пищевых продуктов отношение к окраске по Грамму позволяет выявить ранние признаки порчи. *Обнаружение грамотрицательных палочковидных клеток под микроскопом свидетельствует о наличии гнилостных бактерий в продукте.*

Грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый цвет, а грамотрицательные – красный.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью работы. По методическому пособию изучить и *кратко законспектировать в отчет по работе*:

- определение фиксированного препарата бактерий;

- методику приготовления фиксированного окрашенного препарата бактериальных клеток;

- назначение и сущность сложного окрашивания по Грамму.

2. Выполнить лабораторные исследования.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 1 - *Изучение морфологии шаровидных форм бактерий*

Исследуемая культура -

Культуральные признаки колонии: (сделать описание культуральных признаков исследуемой колонии, пользуясь схемой).

Приготовить фиксированный препарат из окрашенной культуры микрококков, культивированных в чашке Петри на РПА (*блестящие круглые* колонии), окрасить фуксином и по Граму. Микроскопировать с масляной иммерсией, объектив 15х90.

Опыт 2 - *Изучение морфологии сарцин*

Исследуемая культура -

Культуральные признаки колонии:

Приготовить фиксированный препарат из желтой колонии сарцин, выращенных на скошенном агаре в пробирке на РПА, окрасить *фуксином* и по Грамму. Микроскопировать с масляной иммерсией, объектив 15х90.

Опыт 3 - *Изучение морфологии палочковидных форм бактерий*

Исследуемая культура -

Культуральные признаки колонии:

Приготовить фиксированный препарат из культуры палочковидных бактерий, имеющей ризоидную форму молочного цвета без блеска, окрасить фуксином. Микроскопировать с масляной иммерсией, объектив 15х90.

4. Оформить результаты исследования, сделать зарисовки бактериальных клеток в круге. Описать *морфологические* признаки – форма клеток, размеры, взаимное расположение клеток, наличие спор, отношение к окраске по Грамму. В выводе по каждому опыту отметить род бактерий (по-латыни) согласно систематике.

5. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цели работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Протокол лабораторных исследований

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каковы морфологические признаки бактерий? Перечислить.
2. Какие виды шаровидных форм бактерий существуют? К какому роду относятся?
3. Что понимают под спорообразованием бактерий?
4. Какие типы спорообразования бактерий Вам известны?
5. Что понимают под фиксированным препаратом микроорганизмов?
6. Каковы основные этапы и сущность приготовления фиксированного препарата?
7. Как выполняется фиксация мазка, с какой целью?
8. Каковы способы обезжиривания предметного стекла? Как проверить?
9. Каково назначение сложной окраски мазков по Грамму?
10. В чем сущность сложной окраски по Грамму?
11. Каково значение сложной окраски по Грамму в пищевой промышленности?
12. Какие красители применяются для сложной окраски по Грамму?

Лабораторная работа № 3. Морфология плесневых грибов и дрожжей

Цели работы:

- знать знание морфологических особенностей плесневых грибов и дрожжей;
- уметь готовить фиксированный окрашенный препарат дрожжей;
- уметь готовить препараты живых микроорганизмов (плесневые грибы) для изучения их морфологических признаков.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01–ОК 05., ОК 07., ОК 09., ПК 1.4., ПК 2.4., ПК 3.4.

Материальное обеспечение:

Чашки Петри с чистыми культурами одноклеточных и многоклеточных плесневых грибов на РПА, пробирки с жидкой культурой дрожжей, микроскоп, иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница.

Используемые источники: [1].

Техника безопасности:

1. …….

2. ……

Теоретическая часть:

Морфология дрожжей

В группу дрожжей объединяются грибные организмы, которые существуют преимущественно в виде отдельных клеток. Большинство дрожжей относится к классу аскомицетов, имеются представители класса базидомицетов и несовершенных грибов.

Клетки разных видов дрожжей морфологически довольно разнообразны: круглые, яйцевидные, лимоновидные, овальные. Дрожжевые клетки значительно крупнее бактериальных, длина их варьирует от 2 до 20 мкм, а ширина – от 1.5 до 10 мкм. Некоторым видам дрожжей свойственно образование скоплений различной формы.

Дрожжи являются неподвижными организмами, грамположительны. Размножаются дрожжи вегетативным и половым способом. Вегетативное размножение осуществляется путем почкования (род Saccharomyces) или деления (род Schizosaccharomyces).

Для изучения морфологических признаков дрожжевых клеток под микроскопом, готовят фиксированные окрашенные препараты на предметных стеклах.

Методы изучения плесневых грибов

Морфологию плесневых грибов изучают в живом виде. Клетки этих микроорганизмов довольно крупные, и обычно при микроскопировании в живом виде хорошо выявляются их форма, размеры, некоторые детали их внутреннего строения, а также характер размножения.

Изучение плесневых грибов начинают с осмотра выросших в чашках Петри на РПА (плотные среды) чистых культур совершенных плесневых грибов без увеличения или с помощью ручных луп. При этом отмечают:

- степень пышности мицелия: пышный, высокий, стелющийся, низкорослый;

- окраску мицелия: в молодом возрасте мицелий молочно-белого цвета, а в зрелом – по мере развития органов спороношения – окраска изменяется.

Хорошо видны отдельные воздушные гифы, а у плесневых грибов рода Aspergillus и Mucor хорошо видны черной окраски многочисленные спорангии со спорами, образующиеся на воздушных гифах.

Затем исследование плесеней производят под микроскопом, для этого чашку Петри с культурой помещают на предметный столик, предварительно сняв с неё крышку. Выбирают самые крайние колонии и изучают общий вид мицелия при увеличении с объективом х 8, обращая внимание на характер мицелия (септированный, несептированный), отмечают наличие ядер в цитоплазме мицелия.

Подробное изучение спорообразующего аппарата проводят при увеличении с объективом х 40. Для этого готовят препарат «раздавленная капля».

Препарат «раздавленная капля». На предметное стекло наносят маленькую каплю водопроводной воды и переносят в неё небольшое количество культуры изучаемых микроорганизмов, размешивают и покрывают покровным стеклом.

Если микроорганизмы растут на плотной питательной среде, то микробную массу переносят в приготовленную каплю воды с помощью бактериологической петли.

Если исследуется культура, выращенная в жидкой среде, то на предметное стекло суспензию клеток наносят с помощью стерильной пипетки. В этом случае каплю воды на предметное стекло не наносят.

Капля с исследуемым материалом должна быть настолько мала, чтобы после прижимания её покровным стеклом не было избытка жидкости, выступающего из под покровного стекла.

Если имеется избыток жидкости, то его удаляют фильтровальной бумагой. Приготовленный таким образом препарат помещают на предметный столик микроскопа и рассматривают его с сухой системой.

Препарат «раздавленная капля» позволяет установить форму клеток изучаемых микроорганизмов, их размеры, расположение способ спорообразования, а также наличие или отсутствие подвижности.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. Кратко записать в отчет по работе методику приготовления препарата «раздавленная капля».

2. Повторить методику приготовления фиксированного окрашенного препарата по предыдущей лабораторной работе.

3. Выполнить лабораторные исследования.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИИЙ

Опыт 1 - ***Изучение морфологии дрожжей***

Приготовить фиксированный препарат из жидкой культуры дрожжей, окрасить фуксином, микроскопировать с иммерсией (объектив х90). Отметить морфологические признаки исследуемой культуры (форму и размеры клеток, расположение клеток).

Опыт 2 - ***Изучение морфологии одноклеточных плесневых грибов.***

Произвести осмотр выросших в чашке Петри на РПА чистой культуры плесневых грибов рода Mucor. При этом отметить культуральные признаки: окраску и степень пышности мицелия. Затем исследовать общий вид мицелия под микроскопом (объектив х8), отметить: характер мицелия (септированный или несептированный) и общий вид органов спорообразования.

Приготовить препарат «раздавленная капля» и подробно изучить спорообразующий аппарат при увеличении х40.

Опыт 3 - ***Изучение морфологии многоклеточных плесневых грибов***

Произвести осмотр выросших в чашке Петри на РПА чистой культуры плесневых грибов рода Aspergillus и рода Penicillium. Исследование культуры проводить по опыту 1.

4. Оформить результаты исследования, сделать зарисовки. В выводе по каждому опыту отметить род дрожжей и плесневых грибов (по-латыни).

5. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Результаты исследования

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каковы морфологические особенности дрожжей?
2. В чем отличие морфологических признаков дрожжей от бактерий?
3. Каковы способы размножения у дрожжей?

4. Каковы методы исследования морфологии дрожжей?
5. Что понимают под совершенными плесневыми грибами? Примеры.
6. Что такое септированный мицелий? Для каких грибов характерен?
7. Что такое несептированный мицелий? Для каких грибов характерен?
8. Что понимают под несовершенными плесневыми грибами? Примеры.
9. Как называются органы спорообразования у одноклеточных плесневых грибов? Покажите на рисунке.
10. Как называются органы спорообразования у многоклеточных плесневых грибов? Покажите на рисунке.
11. Каков порядок изучения морфологии плесневых грибов?
12. В чем сущность и методика приготовления препарата «раздавленная капля»?
13. В чем значение дрожжей и плесневых грибов в пищевой промышленности?
14. Каковы признаки порчи продуктов при развитии на них плесневых грибов?

Тема 2 Общая физиология микроорганизмов

Практическое занятие № 2. Подготовка посуды к стерилизации и приготовление питательных сред. Методы стерилизации посуды и питательных сред

Цели занятия:

- знать классификацию, состав и назначение питательных сред, растворов для разведений
- знать методы и режимы стерилизации посуды и питательных сред;
- получить навыки подготовки посуды и инструментов к стерилизации.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01–ОК 05., ОК 07., ОК 09.

Материальное обеспечение:

Автоклав, сушильный шкаф, образцы сухих питательных сред, колбы круглые на 50 $см^3$, мерные пипетки на 1 $см^3$, пробирки, чашки Петри, оберточная бумага, нитки, вата, марля.

Используемые источники: [1]; [3].

Теоретическая часть:

Принципы приготовления питательных сред

Для накопления, выделения, культивирования и сохранения микроорганизмов пользуются питательными средами, которые не только содержат необходимые питательные вещества, но и являются средой обитания микроорганизмов. Поэтому при составлении сред учитывают, как потребности микроорганизмов в веществах, необходимых для их жизни, так и физико-химические условия, в которых микроорганизмы могут осуществлять обмен между клеткой и средой.

Основными компонентами любой питательной среды для культивирования микроорганизмов являются соединения углерода и азота, именно эти соединения определяют специфичность большинства питательных сред. Помимо источников углерода и азота многие микроорганизмы требуют наличия в среде так называемых факторов роста, к которым относятся витамины, аминокислоты, и азотистые основания.

Для построения вещества клетки микроорганизма необходимы также сера, фосфор, калий, натрий, железо и другие минеральные компоненты.

Способы стерилизации питательных сред, посуды, инструментов, приборов

Стерилизация является одним из важнейших и необходимых приемов в микробиологической практике. Под «стерилизацией» понимают уничтожение живых микроорганизмов и их спор. Микробиологи стерилизуют среды, посуду, инструменты и другие необходимые предметы с целью не допустить развития посторонних микроорганизмов в исследуемых культурах.

Существуют следующие способы стерилизации: термическая стерилизация: прокаливание в пламени; стерилизация горячим воздухом; стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование); дробная стерилизация (тиндализация).

Холодная стерилизация: фильтрованием; ультрафиолетовыми лучами.

Возможность и целесообразность применения того или иного способа определяются особенностями материала, подлежащего стерилизации, его физическим и химическим составом, целью исследования.

Таблица 1 – Способы стерилизации питательных сред, посуды, материалов

Стерилизуемый материал	**Метод стерилизации**	**Режим стерилизации**	**Примечание**
Питательные среды с почвенной вытяжкой; картофельные среды	Автоклавирование	1.5 – 2.0 атм, 30 мин	В колбах, пробирках, бутылях,

Стерилизуемый материал	Метод стерилизации	Режим стерилизации	Примечание
			закрытых ватными пробками
Жидкие и агаризованные среды, не содержащие сахаров и других веществ, разлагающихся при 120 ^{0}C	Автоклавирование	1 атм, 20 мин	То же
Жидкие и агаризованные среды, с сахарами и другими соединениями, не выдерживающими нагревания при 120 ^{0}C	Автоклавирование	0,5 атм, 15 –30 мин	То же
Среды или компоненты сред, не выдерживающие нагревания выше 100 ^{0}C	Дробная стерилизация	Текучий пар 3 раза по 30-40 мин через сутки	То же
Среды или компоненты сред, не выдерживающие нагревания, например, белки, витамины и др.	Фильтрование через бактериальные фильтры	-	-
Чашки Петри, пипетки, шпатели	Горячим воздухом	165 –170 ^{0}C, 2 час	Завернутые в бумагу (отверстия пипеток закрыты ватными тампонами)
Колбы, пробирки, химические стаканы, флаконы, стеклянные центрифужные пробирки	Горячим воздухом	165 –170 ^{0}C, 2 час	Закрытые ватными пробками
Держатели бактериальных фильторов, резиновые пробки и шланги	Автоклавирование	1 атм, 20 мин	Завернутые в бумагу
Центрифужные пробирки из	Ультрафиолето-	Время	Пробирки после

Стерилизуемый материал	Метод стерилизации	Режим стерилизации	Примечание
термолабильных пластмасс	выми лучами	экспозиции устанавливают эксперимен-тально	облучения хранят в стерильной посуде

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. По методическому пособию, с. 41 изучить и записать в отчет по работе:

- классификацию питательных сред для микроорганизмов;
- методику приготовления рыбной воды из рыбы, рыбопептонного бульона (РПБ), рыбопептонного агара (РПА);
- методику приготовления РПА из сухого агара;
- рецептуру среды Сабуро (для плесневых грибов);
- примеры растворов для разведений;
- способы и режимы стерилизации питательных сред, стеклянной посуды, инструментов, материалов.

2. Подготовить к стерилизации две чашки Петри, 4 пипетки.

3. Изготовить две ватно-марлевые пробки для пробирки и две пробки для колбы. Пробки и подготовленную к стерилизации посуду сдать лаборанту.

4. Приготовить 100 $см^3$ РПА из сухого питательного агара, профильтровать через вату и разлить в стерильные пробирки по 20 $см^3$, закрыть тампонами-пробками и сдать лаборанту на стерилизацию.

5. Изучить устройство и работу автоклава, сушильного шкафа.

6. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема практического занятия

Цель занятия

Краткий конспект теоретической части

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что понимают под питательными средами для микроорганизмов?

2. Какие компоненты составляют основу питательных сред для микроорганизмов?

3. Какие питательные среды используют для количественного учета бактерий?

4. В каких случаях используют дифференциально-диагностические среды?

5. Какие примеры эллективных сред Вам известны?

6. Какие среды применяют при исследовании плесневых грибов? Чем эти среды по составу отличаются от сред для бактерий?

7. Как приготовить рыбную воду? Основные этапы приготовления.

8. В чем отличие РПБ от РПА? Обосновать.

9. Методика приготовления РПА из рыбы и сухого порошка.

10. Каково назначение растворов для разведений? Примеры растворов.

11. Зачем питательные среды подвергают стерилизации? Каковы режимы?

12. Как подготавливается стеклянная посуда к стерилизации?

13. Почему в микробиологической практике применяют только ватно-марлевые пробки?

14. Каковы способы стерилизации стеклянной посуды, инструментов?

15. Что такое фламбировка? В каких случаях ее применяют?

Тема 1.4 Ферментативная деятельность микроорганизмов

Лабораторная работа № 4. Изучение микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения

Цели работы:

- знать практическое использование процессов брожения при консервировании пищевого сырья;

- закрепить навыки приготовления фиксированного препарата микроорганизмов;

- уметь микроскопировать и давать морфологическую характеристику возбудителей брожения.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01–ОК 05., ОК 07., ОК 09., ПК 1.4., ПК 3.4.

Материальное обеспечение:

Накопительные культуры бактерий – возбудителей брожения, микроскоп, предметные стекла, пинцет, спиртовка, бактериальная петля, простоквашница, промывалка, песочные часы, анилиновый краситель фуксин, иммерсионное масло, 0.1 н

раствор щелочи, индикатор фенолфталеин (спиртовой 1 % раствор), раствор хлорного железа, пипетка на 10 мл, бюретка для титрования, конические колбы на 10 мл.

Используемые источники: [1]; [2].

Техника безопасности:

1. ……..
2. ……

Теоретическая часть:

Многие микробы способны к дыханию в среде, не содержащей свободного кислорода. Такой тип дыхания называется *брожением*. В зависимости от преимущественно накапливающихся при брожении веществ различают *спиртовое, молочно*кислое, *маслянокислое*, лимоннокислое, щавелевокислое брожение и другие виды.

Ход выполнения работы:

1. Повторить методику приготовления фиксированного окрашенного препарата по предыдущим лабораторным работам
2. Выполнить лабораторные исследования

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 1 - ***Изучение возбудителей спиртового брожения***

Исследуемая культура – забродивший фруктовый сок

Приготовить фиксированный препарат из жидкой накопительной культуры микроорганизмов спиртового брожения, окрасить фуксином. Микроскопировать с иммерсией, объектив 90х. При исследовании под микроскопом отметить *крупные овальной формы клетки, образующие скопления в виде пчелиных сот*. Препарат зарисовать. Записать в отчет уравнение спиртового брожения, дать морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Saccharomyces*.

Опыт 2 - ***Изучение возбудителей молочнокислого гомоферментативного брожения***

Исследуемая культура – сыворотка кислого молока

Записать *уравнение молочнокислого гомоферментативного брожения*

Приготовить фиксированный препарат из накопительной культуры микроорганизмов молочнокислого брожения, окрасить фуксином. Микроскопировать с иммерсией при увеличении 15х90. При исследовании под микроскопом отметить *бесспоровые клетки круглой формы, с образованием цепочек*. Препарат зарисовать, дать морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Streptococcus*.

Опыт 3 - ***Изучение возбудителей молочнокислого гетероферментативного брожения***

Исследуемая культура – огуречный рассол (сок квашеной капусты)

Записать *уравнение молочнокислого гетероферментативного брожения*

Приготовить фиксированные препараты из накопительной культуры микроорганизмов молочнокислого брожения, окрасить фуксином, микроскопировать с иммерсией при увеличении 15х90. При исследовании под микроскопом отметить палочковидные бесспоровые клетки, их скопление, размеры. Препараты зарисовать, дать морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Lactobacterium*.

Опыт 4 - ***Открытие масляной кислоты***

Техника анализа. В пробирку отобрать 2-3 мл *сыворотки прогорклого* кипяченого молока, добавить 5 капель раствора *хлорного железа.* Содержимое пробирки нагреть в пламени спиртовки. В присутствии масляной кислоты выпадает *темный осадок оранжевого цвета* маслянокислого железа. Записать в отчет уравнение качественной реакции, наблюдение, сделать вывод.

Уравнение реакции …

Наблюдение …

Вывод: ……

Опыт 5 - ***Изучение возбудителей маслянокислого брожения***

Исследуемая культура – накопительная, *сыворотка прогорклого молока*

Записать *уравнение маслянокислого брожения*

Приготовить фиксированные препараты из чистой культуры маслянокислых бактерий, выращенных на твердой питательной среде в чашках Петри. Окрасить мазки *фуксином*, микроскопировать с иммерсией, объектив 90х.

При исследовании под микроскопом отметить крупные палочковидные споровые клетки. Препараты зарисовать, дать морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Clostridium*.

Опыт 6 - ***Количественное определение молочной кислоты***

Сущность метода: Накопление молочной кислоты ведут по разности объемов едкой щелочи, израсходованной на титрование *кислого и свежего молока*.

Проведение анализа. В две конические колбы объемом 100 мл отбирают по 10 мл молока: в одну – *свежего* в другую – сыворотки *кислого*. В колбы добавляют 2-3 капли индикатора *фенолфталеина* и титруют 0.1 н раствором *едкой щелочи* до появления слабо-розового окрашивания раствора.

Накопление молочной кислоты в процессе брожения рассчитывают по формуле:

$$X = (a_2 - a_1)kB/V,$$

где:

a_2 – количество 0.1 н раствора щелочи, израсходованное на титрование *кислого* молока;

a_1 – количество 0.1 н раствора щелочи, израсходованное на титрование *свежего* молока;

к – поправочный коэффициент на точно 0.1 н раствор едкой щелочи;

В – количество г молочной кислоты, соответствующее 1 мл 0.1 раствора едкой щелочи, В = 0.0090 г/мл;

V – объем молока, взятого на титрование, V = 10 мл.

3. Ответить на контрольные вопросы

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Протокол лабораторных исследований

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что называют спиртовым брожением? Напишите уравнение брожения.

2. Какие микроорганизмы вызывают спиртовое брожение? Морфологическая характеристика. Значение процесса в пищевой отрасли.

3. В чем сущность гетероферментативного молочнокислого брожения? Продукты реакции. Значение в пищевой отрасли?

4. Возбудители молочнокислого брожения, морфологическая характеристика.

5. Каковы области применения молочнокислого гомоферментативного брожения? Реакция брожения в суммарном виде.

6. В чем сущность качественной реакции открытия масляной кислоты?

7. Какие микроорганизмы вызывают маслянокислое брожение? Морфологическая характеристика. Значение процесса в пищевой отрасли.

Тема 2. Микробиологический контроль производства продукции из водных Биоресурсов

Лабораторная работа № 5 Микробиологическое исследование охлажденной и мороженой рыбы

Цели работы:

- привить навыки работы с нормативными документами по микробиологическому контролю пищевой продукции из рыбного сырья;
- знать правила взятия проб рыбного сырья для микробиологического анализа;
- получить навыки в определении качества сырья бактериологическим способом;
- уметь давать оценку полученным результатам лабораторного анализа.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01-ОК 05., ОК 07.; ОК 09., ПК 1.4; ПК 3.4.

Материальное обеспечение:

Образцы охлажденной и мороженой рыбы, микроскоп, теневой осветитель, предметные стекла, пинцет, спиртовка, скальпель, простоквашница, промывалка, песочные часы, аналиновые красители для окраски по Грамму, иммерсионное масло.

Используемые источники: [1]; [2]; [4]; [5].

Техника безопасности:

1. ……..

2. …….

Теоретическая часть:

Качество свежей, охлажденной и мороженой рыбы контролируют визуально при поступлении их на рыбообрабатывающее предприятие и ежедневно. Если доброкачественность рыбного сырья вызывает сомнение, то для объективной оценки проводят исследование мазков-отпечатков.

При стойкой повышенной обсемененности готовой продукции для выявления источника обсеменения проводят микробиологический анализ сырья. Контроль включает определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. По требованию заказчика и эпидемпоказаний дополнительно определяют наличие бактерий группы кишечной палочки, золотистых стафилококков, салмонелл и парагемолитических вибрионов. Микробиологический анализ свежей, охлажденной и мороженой рыбы, используемой в качестве сырья при производстве продукции, проводят при дополнительном контроле.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью работы. Пользуясь методическим пособием, с. 5, изучить и законспектировать:

- методику исследования микрофлоры поверхности и мышечной ткани рыбы способом препаратов-отпечатков;
- обработку результатов исследования под микроскопом.

2. Повторить методику, применяемые реактивы для сложной окраски клеток по Грамму.

3. Получить у преподавателя исследуемый образец рыбы, записать.

4. Провести лабораторные испытания микрофлоры предложенного образца рыбы.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследуемый образец рыбы -

Опыт 1 - ***Отпечатки с кожи рыбы***

Техника анализа:

Опыт 2 - ***Отпечатки с жабр***

Техника анализа:

Опыт 3 - ***Отпечатки с мышечной ткани рыбы***

Техника анализа:.

По каждому опыту приготовить фиксированные препараты, окрасить по Грамму. Микроскопировать с иммерсией, отметить окраску и форму клеток, просчитать количество клеток в десяти полях зрения.

Изучить морфологические признаки бактерий, сделать зарисовки и вывод.

5. Произвести оценку качества рыбы по результатам микроскопирования.

6. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Результаты исследования, зарисовки

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. В каком случае охлажденное (мороженое) сырье подвергают микробиологическим исследованиям? Какие определения выполняют?

2. Каковы источники обсеменения микроорганизмами поверхности и тканей охлажденной и мороженой рыбы?

3. Как влияет охлаждение на развитие микрофлоры и почему? Каков качественный состав микрофлоры охлажденной рыбы?

4. Как влияет замораживание на количественный состав микрофлоры и почему? Каков качественный состав микрофлоры мороженой рыбы?

5. В чем заключается методика взятия препаратов-отпечатков с поверхности и тканей рыбы?

6. Почему при микробиологическом исследовании сырья методом препаратов-отпечатков производят сложное окрашивание мазков по Грамму?

7. Каков порядок обработки результатов м/б исследования сырья методом препаратов-отпечатков?

8. Сделать заключение о качестве сырья и пригодности его для пищевого использования, если при м/б исследовании выявлены единичные грамотрицательные кокки и палочки.

9. В каком случае исследуемое сырье по результатам микробиологических исследований методом препаратов-отпечатков считается задержанным, но пригодным для пищевого использования?

10. В каком случае исследуемое сырье по результатам м/б исследований методом препаратов-отпечатков считается недоброкачественным и непригодным для пищевого использования?

11. В каком случае исследуемое сырье по результатам микробиологических исследований методом препаратов-отпечатков считается вполне доброкачественным и пригодным для пищевого использования?

Лабораторные работы № 6–7. Посев микроорганизмов и микробиологические исследование соленой и копченой рыбы

Цели работы:

- закрепить навыки работы с нормативными документами по микробиологическому контролю пищевой продукции из рыбного сырья;
- знать правила отбора проб рыбы для микробиологического анализа;
- научиться готовить среднюю пробу для микробиологического анализа;
- получить навыки в определении общей бактериальной обсемененности соленой и копченой рыбы;
- уметь давать оценку полученным результатам лабораторного анализа.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01-ОК 05, ОК 07.; ОК 09., ПК 1.4.

Материальное обеспечение:

Соленая и копченая рыба, пинцет, спиртовка, скальпель, стерильные колбы, пипетки, чашки Петри, пробирки с физиологическим раствором, питательный агар, предметные стекла, простоквашница, промывалка, песочные часы, аналиновые красители для окраски по Грамму, иммерсионное масло, микроскоп, теневой осветитель.

Используемые источники: [1]; [4]; [5]; [6]; [7].

Техника безопасности:

1. ……
2. …….

Теоретическая часть:

Микробиологический контроль соленой продукции. Микробиологический контроль соленой, рыбы пряного посола и маринованной рыбы проводится при дополнительном контроле.

Микробиологический контроль копченой продукции. Основной микробиологический контроль копченой рыбы предусматривает контроль готовой продукции и проведение санитарно-микробиологических анализов.

В случае стойкой повышенной обсемененности проводится дополнительный контроль, включающий анализы сырья после разделки и мойки, полуфабрикатов по технологическому процессу и вспомогательных материалов. Для определения источника обсеменения повторно контролируется санитарное состояние производства.

Микробиологические показатели. Микробиологический контроль готовой продукции включает определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, наличия бактерий группы кишечных палочек.

По требованию заказчика, по эпидемиологическим показаниям дополнительно определяют сальмонеллы и содержание парагемолитических вибрионов.

Нормативы микробиологических показателей регламентированы СанПиН 2.3.2. 1078-01.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. По методическому пособию [4] изучить и законспектировать:

- правила отбора проб соленой и копченой продукции, подготовку образцов рыбы для микробиологического анализа;

- методику определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов – МАФАнМ, формулу для расчета и обработку результатов.

2. Получить у преподавателя исследуемый образец рыбы.

3. Провести лабораторные испытания.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследуемый образец продукции –

Опыт 1 - ***Подготовка средней пробы, разведений***

- подготовить среднюю пробу предложенного образца продукта для анализа;
- приготовить исходное разведение 1:10 в колбе объёмным способом;

- приготовить разведения 10^{-2}; 10^{-3}; 10^{-4} в пробирках с физиологическим раствором, соблюдая правила асептики. Пробирки подписать.

В отчет записать результаты опыта, схему приготовления разведений.

Опыт 2 - ***Определение количества МАФАнМ***

Сущность метода. Метод основан на подсчете колоний микроорганизмов, выросших на питательных средах при термостатировании посевов при температуре 30 ^{0}С с образованием колоний в течение 72 часов, видимых при увеличении в 2 раза.

Выполнить посевы по 1 см^3 приготовленных разведений в стерильные чашки Петри, затем влить расплавленный и охлажденный до 45 ^{0}С агар (15-20 см^3), перемешать.

После застывания агара подписанные чашки переворачивают и помещают в термостат при температуре 30 ^{0}С на 72 часа.

В отчет записать сущность метода, технику посевов.

Опыт 3 – ***Анализ выросших колоний микроорганизмов***

Произвести подсчет выросших колоний в чашках Петри.

Результаты оформить в таблицу 1.

Таблица 1 – Анализ выросших колоний

Обозначение	Разведение	Число колоний КОЕ	Культуральная характеристика колоний
a_1	1:100		
a_2	1:1000		
a_3	1: 10000		

Опыт 4 – ***Количественное определение МАФАнМ***

Метод определения МАФАнМ основывается на предположении, что микробные клетки, присутствующие в образце, при смешивании с агаровой средой каждая образует видимую отдельную колонию.

Записать формулу для расчета МАФАнМ с обозначениями. Рассчитать МАФАнМ по формуле.

Количество микроорганизмов (КОЕ) в 1 г рассчитывают по формуле:

$$МАФАнМ = \frac{a_1 * 10 + a_2 * 100 + a_3 * 1000 + \ldots + a_n * 10^n}{м * n},$$

где

a_1, a_2, a_3, $a_п$ – число колоний в чашке;

10, 100, 1000 – разведение;

п - количество чашек Петри;

м - масса навески продукта.

Обработку результатов культивирования проводят по ГОСТ 26670-85.

Опыт 4 – *Морфологическая характеристика выросших посевов*

Исследовать морфологические признаки наиболее характерных колоний микроорганизмов, для чего приготовить 2-3 фиксированных препарата, окрасить фуксином, микроскопировать с иммерсией. Сделать зарисовки, вывод (определить род).

4. Сделать вывод о микробиологической безопасности образца продукта по результатам расчета в соответствии требованиям СанПиН 2.3.2.1078-01.

5. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Схема приготовления разведений, формула

Результаты исследования, зарисовки

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. В чем заключается влияние коптильного дыма на микроорганизмы?
2. Что понимают под бактериостатическим действием коптильного дыма?
3. Что понимают под бактерицидным действием коптильного дыма?
4. Каково влияние поваренной соли на микроорганизмы?
5. Каковы источники обсеменения соленой и копченой рыбы м/о?

6. Каков качественный состав микрофлоры соленой и копченой рыбы?

7. Почему рыба холодного копчения хранится дольше, чем рыба г/копчения?

8. Каковы причины и микробиологические дефекты соленой, копченой рыбы?

9. Какие показатели определяются при м/б контроле соленой и копченой рыбы?

10. Какова периодичность м/б контроля соленой, копченой рыбы (х/к, г/к)?

11. В каких случаях проводится дополнительный микробиологический контроль копченой рыбы? Каковы объекты контроля?

12. Каковы правила отбора проб соленой и копченой рыбы для анализа?

13. Каков порядок подготовки пробы рыбы для определения МАФАнМ?

14. Какова методика определения общей бактериальной обсемененности?

15. Какова формула для расчета МАФАнМ? Обработка результатов.

Тема 2.2 Микробиологический контроль производства продукции из водных биоресурсов

Лабораторные работы № 8-9. Посев микроорганизмов пищевых материалов и консервов. Анализ выросших посевов

Цели работы:

- привить навыки работы с нормативными документами по микробиологическому контролю рыбных консервов;

- знать правила отбора, подготовку пробы пищевых материалов и консервов для микробиологического анализа;

- уметь выполнять простые микробиологические анализы пищевых материалов и консервов.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01-ОК 05., ОК 07.; ОК 09., ПК 1.4.

Материальное обеспечение:

Образцы пищевых материалов и консервов, стерильные колбы, пипетки, чашки Петри, пробирки с физиологическим раствором, спиртовка, питательный агар, термостат.

Используемые источники: [1]; [5]; [6]; [7]; [9]; [10]; [11].

Техника безопасности:

1. …….

2. …….

Теоретическая часть:

Основой микробиологического контроля в производственных условиях является определение микробиологической обсемененности содержимого консервных банок перед стерилизацией, систематический контроль сырья, полуфабрикатов и пищевых материалов, входящих в состав консервов.

Определение количества МАФАнМ в содержимом консервных банок перед стерилизацией проводят ежедневно один раз в каждую смену по каждому виду вырабатываемых консервов. Для анализа отбирают одновременно три образца (банки) не ранее 1 часа работы линии. При микробиологическом контроле каждой партии готовых консервов допускается проводить определение количества МАФАнМ в содержимом консервных банок перед стерилизацией два раза в неделю.

Микрофлора пищевых материалов. На качественный и количественный состав микрофлоры в рыбных продуктах существенное влияние оказывает микробная обсемененность пищевых материалов. Томат-паста, соль, сахар обычно бывают обсеменены в пределах допустимых нормативов и не содержат специфических микроорганизмов, вызывающих порчу консервов, поэтому их исследуют при дополнительном контроле. Овощное сырье, крупа, мука и особенно сухие пряности часто содержат споровые формы, поэтому их подвергают систематическому микробиологическому контролю.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. По методическому пособию, с.11, изучить и законспектировать:

- порядок отбора и подготовку пробы пищевых материалов для микробиологического анализа;
- отбор проб консервов, подготовку образцов для микробиологического анализа;
- методику определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов – МАФАнМ;
- формулу для расчета и обработку результатов.

2. Получить у преподавателя (лаборанта) исследуемый образец пищевых материалов, средний образец консервов, записать номер банки, название, номер стандарта, изготовитель, дату выработки.

3. Провести лабораторные испытания.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследуемый образец - …….

Опыт 1 - ***Отбор и подготовка пробы пищевых материалов для анализа по ГОСТ 26669-85***

Техника анализа. Навеску продукта для посева отбирают весовым или объемным способом непосредственно после вскрытия пробы продукта стерильными инструментами в непосредственной близости от пламени горелки.

- отобрать и подготовить среднюю пробу материала массой 10 (5) г для анализа;
- приготовить исходное разведение 1:10 в колбе объёмным способом;

Исходное разведение навески готовят с соблюдением условий асептики:

- приготовить разведения 10^{-2}; 10^{-3}; 10^{-4} в пробирках с физиологическим раствором, соблюдая правила асептики. Пробирки подписать.

Интервал между приготовлением навесок продукта, их разведений и посева в питательные среды не должен превышать 30 минут.

Выбор степени разведения зависит от предполагаемого количества МАФАнМ в продукте. Разведение подбирают с таким расчетом, чтобы в посевах в чашках Петри вырастало от 30 до 300 колоний.

В отчет записать результаты опыта, схему приготовления разведений.

Опыт 2 - ***Подготовка средней пробы консервов для анализа по ГОСТ 26669-85***

Техника анализа. Непосредственно перед вскрытием банку с продуктом перемешивают 10-кратным переворачиванием тары с донышка на крышку или круговым движением.

Поверхность банок перед вскрытием протирают тампоном, пропитанным этиловым спиртом, тампон оставляют на крышке и перед вскрытием консервов зажигают. Банку вскрывают и отбирают массу продукта в количестве, необходимом для приготовления одной или нескольких навесок. Отобранные навески продукта переносят в пептонно-солевой раствор для приготовления разведения.

Порядок приготовления исходного разведения и десятикратных разведений готовят аналогично опыту 1.

В отчет записать результаты опыта, схему приготовления разведений.

Опыт 3 – ***Посев микроорганизмов пищевых материалов, консервов***

Выполнить посев микроорганизмов пищевых материалов и консервов по ГОСТ 26670.

Опыт *4 - Определение количества МАФАнМ пищевых материалов*

Сущность метода. Метод основан на подсчете колоний микроорганизмов, выросших на питательных средах при термостатировании посевов при температуре 30 ^{0}С с образованием колоний в течение 72 часов, видимых при увеличении в 2 раза.

Выполнить посевы по 1 см^3 приготовленных разведений в стерильные чашки Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 ^{0}С агар (15-20 см^3), перемешать. После застывания агара подписанные чашки переворачивают и помещают в термостат при температуре 30 ^{0}С на 72 часа.

В отчет записать сущность методики, технику посевов.

Опыт 5 - *Определение количества МАФАнМ стерилизованных консервов*

Сущность метода. Метод основан на подсчете колоний микроорганизмов, выросших на питательных средах при термостатировании посевов при температуре 30 ^{0}С с образованием колоний в течение 72 часов, видимых при увеличении в 2 раза.

Выполнить посевы по 1 см^3 приготовленных разведений в стерильные чашки Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 ^{0}С агар (15-20 см^3), перемешать. После застывания агара подписанные чашки переворачивают и помещают в термостат при температуре 30 ^{0}С на 72 часа.

В отчет записать сущность методики, технику посевов.

5. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Результаты лабораторных испытаний

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каково влияние микрофлоры пищевых материалов на качество готовой продукции?
2. Какие показатели определяют при микробиологическом исследовании пищевых материалов?
3. В каких случаях проводят анализ на присутствие споровой микрофлоры пищевых материалов?
4. В чем заключается м/б контроль растительного масла? Какова периодичность?
5. Каков порядок отбора проб пищевых материалов для микробиологических анализов?
6. Каковы виды микробиологического контроля консервного производства?
7. Что включает в себя основной микробиологический контроль консервного производства?
8. Что понимают под промышленной стерильностью стерилизованных консервов?
9. Какие определения выполняются в содержимом консервов до стерилизации?
10. Каков порядок отбора проб консервов для м/б анализа до стерилизации?
11. Какие физиологические растворы используются для приготовления разведений? От чего зависит количество разведений?
12. Как приготавливаются исходное разведение, десятикратные разведения?
13. Почему задерживать закатанные банки до стерилизации разрешается не более 30 минут?
14. Какова сущность и методика определения МАФАнМ пищевых материалов, общей обсемененности консервов до стерилизации?
15. В каком случае готовые консервы подвергаются микробиологическому контролю?
16. Каковы профилактические мероприятия по снижению обсемененности пищевых материалов?

Лабораторная работа № 10. Микробиологическое исследование воздуха

Цели работы:

- знать качественный состав микрофлоры воздуха;
- освоить методику определения бактериальной загрязненности воздуха

- уметь разрабатывать профилактические мероприятия по снижению загрязненности воздуха.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01-ОК 05, ОК 07.; ОК 09., ПК 1.4.

Материальное обеспечение:

Стерильные чашки Петри, расплавленный РПА, карандаш по стеклу, термостат, микроскоп, осветитель, иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница.

Используемые источники: [1]; [5]; [6]; [7]; [9]; [10]; [11].

Техника безопасности:

1. …….
2. ……..

Теоретическая часть:

Производственное значение воздуха. На пищевых предприятиях воздух является одним из источников обсеменения пищевых продуктов микроорганизмами. В воздухе содержится разнообразная микрофлора, попадающая в него в основном из почвы. Количественный и качественный состав микроорганизмов воздуха производственных помещений непостоянен и во многом определяется санитарным состоянием производства. В воздухе встречаются как сапрофитные, так и патогенные микроорганизмы. Среди микрофлоры наиболее часто встречаются спорообразующие палочки, пигментные бактерии (в основном кокки), грибы, дрожжи. Количество микроорганизмов находится в прямой зависимости от запыленности, влажности воздуха и других факторов. Из воздуха на пищевые продукты чаще всего попадают такие микроорганизмы, как: Bac.subtilis, Bac.mycoides, Micrococcus flavus, Sarcina alba, Penicillium, Aspergillus.

Методы определения загрязненности воздуха. В воздухе производственных помещений определяют количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАнМ), а в помещениях, где производится охлаждение и хранение готового продукта, определяют количество спор плесневых грибов. В зависимости от способа улавливания бактерий микробиологические методы исследования воздуха разделяют на седиментационный, фильтрационный и аспирационный.

Седиментационный метод является одним из самых простых. На поверхность застывшей твердой питательной среды в стерильной чашке Петри производится посев микроорганизмов по принципу «микробного дождя».

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью работы по методическому пособию с.20, законспектировать:

- производственное значение и качественный состав воздуха для рыбообрабатывающих предприятий;

- методику определения общей бактериальной загрязненности воздуха седиментационным способом, условия термостатирования посевов, подсчет выросших колоний, обработку результатов.

2. Провести лабораторные испытания.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 1- *Посев бактерий воздуха седиментационным способом*

Сущность метода: На поверхность застывшей твердой питательной среды в стерильной чашке Петри производится посев микроорганизмов по принципу «микробного дождя».

В три стерильные чашки Петри с соблюдением правил асептики залить по 10-15 $см^3$ расплавленного и охлажденного до 45 ^{0}С питательного агара. Закрыв крышками, равномерно распределить среду по дну чашек. Подготовленные чашки Петри с застывшей средой открыть для посева бактерий в исследуемом помещении (крышка должна опираться на бортик чашки) и выдержать в течение 20 минут (время экспозиции).

Чашки Петри с посевами инкубировать в термостате 72 часа при температуре 30^{0}С.

Опыт 2 - *Определение бактериальной обсемененности воздуха.*

Произвести подсчет количества выросших изолированных колоний бактерий, определить МАФАнМ в КОЕ. Результаты подсчета оформить в таблице 1.

Таблица 1 – Анализ и характеристика выросших колоний бактерий

Обозначение (номер чашки)	Число колоний КОЕ	Культуральные признаки колоний бактерий
$а_1$		
$а_2$		

Обозначение (номер чашки)	Число колоний КОЕ	Культуральные признаки колоний бактерий
а 3		
Среднее		

Воздух считается чистым, если на чашках с питательным агаром выросло до 200 колоний и на среде Сабуро - до 20 колоний проросших спор плесневых грибов.

Опыт 3 - *Морфологическая характеристика выросших посевов.*

Приготовить 2-3 мазка из выросших колоний, окрасить фуксином и микроскопировать с иммерсией. Изучить морфологические признаки, сделать зарисовки, вывод.

3. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Результаты исследования

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каково санитарное значение воздуха производственных помещений?

2. Каков качественный состав микрофлоры воздуха производственных помещений?

3. От чего зависит количественный состав микрофлоры воздуха?

4. По каким микробиологическим показателям оценивается загрязненность воздуха?

5. Почему воздух является одним из основных источником бактериальной загрязненности?

6. В чем сущность аспирационного метода анализа воздуха?

7. Что обозначает показатель МАФАнМ? В каких единицах выражается?

8. В чем сущность седиментационного метода анализа воздуха?

9. Какова методика определения общей бактериальной загрязненности воздуха?

10. Каковы нормативы общей бактериальной обсемененности воздуха?

11. Каковы меры профилактики и снижения бактериальной загрязненности воздуха производственных помещений?

12. Какова периодичность микробиологического исследования воздуха?

Лабораторная работа № 14. Микробиологическое исследование питьевой воды

Цели работы:

- знать показатели и нормативы эпидемиологической безопасности питьевой воды;
- уметь производить отбор проб питьевой воды для лабораторных исследований;
- освоить методику определения микробного числа воды.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01-ОК 05., ОК 07.; ОК 09., ПК 1.4.

Материальное обеспечение:

Стерильные чашки Петри, стерильные колбы с ватно-марлевыми пробками на 100 $см^3$, стерильные пробирки и пипетки на 1 $см^3$, расплавленный РПА, карандаш по стеклу, термостат, микроскоп, осветитель, иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница.

Используемые источники: [1]; [5]; [6]; [7]; [9]; [10]; [11].

Техника безопасности:

1…….

2……..

Теоретическая часть:

Производственное значение воды. Вода на пищевых предприятиях потребляется в больших количествах: для приготовления тузлуков, заливок, соусов; для первичной мойки сырья и материалов; санитарной обработки оборудования, инвентаря, помещений

и имеет важное технологическое и санитарно-гигиеническое значение. При использовании микробиологически загрязненной воды, через пищевые продукты, могут передаваться различные кишечные и инфекционные заболевания.

Гигиенические требования к качеству питьевой воды централизованных систем питьевого водоснабжения установлены СанПиН 2.1.4.1074-01. Вода должна быть прозрачной, бесцветной, без вкуса и запаха. Эпидемиологическая безопасность питьевой воды определяется по микробиологическим и паразитологическим показателям.

Определение общего числа микроорганизмов, образующих колонии на питательном агаре. Метод определяет в питьевой воде общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (ОМЧ), способных образовывать колонии на питательном агаре при температуре 37 ^{0}С в течение 24 часов, видимые с увеличением в 2 раза.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью работы.

1.1 Изучить санитарные требования к воде питьевой по СанПиН 2.1.4.1074-01, раздел 4 и законспектировать микробиологические показатели, характеризующие эпидемиологическую безопасность воды и их нормативы.

1.2 Изучить правила отбора проб воды для микробиологических исследований по ГОСТ Р 51592-2000 и методическому пособию, кратко законспектировать:

- общие требования к отбору проб и посуде;
- порядок отбора пробы воды для исследования;
- хранение и транспортирование проб (в конспект).

1.3 Изучить и законспектировать методику определения общего микробного числа воды по ГОСТ 18963-73, условия термостатирования микроорганизмов, подсчет выросших колоний, обработку результатов.

2. Провести лабораторные испытания.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 1 - *Отбор пробы воды по ГОСТ 18963-73*

Отобрать пробу исследуемой воды объемом 100 см^3 из водопроводного крана в колбу с пробкой, соблюдая правила отбора проб и правила асептики.

Опыт 2 - *Посев микроорганизмов воды*

Произвести посев микроорганизмов исследуемой воды стерильной пипеткой по 1 мл в две чашки Петри и залить расплавленным и охлажденным до 45 ^{0}С питательным агаром. Чашки Петри подписать. После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре (37 + 1) ^{0}С в течение 24 + 2 часов.

Тонкий слой агара увеличивает эффективность учета сапрофитной микрофлоры за счет лучших условий для роста аэробных бактерий, преобладающих в воде. Колонии вырастают более крупными, легко подсчитываемыми на фоне прозрачного тонкого слоя агара. Ограничен рост расплывчатых колоний.

В отчет записать сущность метода, технику посева.

Опыт 3 - *Определение микробного числа воды*

Произвести подсчет количества выросших колоний микроорганизмов, руководствуясь ГОСТ 18963-73 и методическим пособием, обработать результаты и выразить общее микробное число (ОМС) в колониеобразующих единицах (КОЕ). Результаты занести в отчет в виде таблицы.

Таблица 1 – Анализ выросших колоний

Обозначение чашки	**Количество колоний**	**Культуральная характеристика выросших колоний**
Чашка № 1		
Чашка № 2		
Среднее значение		

Общее микробное число исследуемой воды равно ….. КОЕ/см^3

Опыт 4 - *Морфологическая характеристика выросших посевов*

Приготовить 2-3 мазка из выросших колоний, окрасить фуксином и микроскопировать с иммерсией. Изучить морфологические признаки, сделать зарисовки.

3. Оформить результаты исследования, сделать зарисовки, вывод.

4. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Результаты исследования, зарисовки

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каково санитарное значение воды для рыбообрабатывающих производств?

2. Каков качественный состав микрофлоры питьевой воды? От каких факторов зависит количество микрофлоры воды?

3. По каким показателям определяется эпидемиологическая безопасность питьевой воды?

4. Что означает показатель «общее микробное число воды»? Какова норма для воды централизованного водоснабжения? В каких единицах выражается?

5. Что означает показатель воды «титр-коли», «индекс-коли»?

6. Каков порядок отбора проб воды для микробиологических исследований?

7. Как оформляется акт отбора пробы воды, что указывается в акте?

8. Каковы требования к посуде для отбора проб воды?

9. Каковы режимы хранения и транспортирования проб воды?

10. Какова методика определения общего микробного числа воды?

11. Каковы правила подсчета количества выросших бактерий в чашке Петри?

12. Каковы способы обеззараживания питьевой воды?

Тема 11 Санитарно-микробиологический контроль пищевого производства

Лабораторная работа № 12
Санитарно-микробиологические исследования смывов с рук, одежды, инвентаря и оборудования

Цели работы:

- закрепить теоретические знания по теме «Контроль санитарного состояния производства;

- закрепить навыки работы с нормативными документами по микробиологическому контролю;

- отработать технику проведения санитарных смывов с рук, оборудования, инвентаря;

- овладеть методами выявления бактерий кишечной палочки в смывной воде;

- уметь давать оценку полученным результатам лабораторного анализа.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ОК 01- ОК 05., ОК 07.; ОК 09., ПК 1.4.

Используемые источники: [1]; [5]; [6]; [7]; [9]; [10]; [11].

Материальное обеспечение:

Стерильные чашки Петри, ватно-марлевые тампоны, пинцет, спиртовка, стерильные колбы и пипетки, пробирки с физиологическим раствором, трафарет, пробирки со средой Кода, питательный агар, термостат, микроскоп, теневой осветитель, все для микроскопирования и окраски бактерий, иммерсионное масло.

Техника безопасности:

1……

2……

Теоретическая часть:

Значение санитарии для пищевых предприятий. Соблюдение норм и требований производственной санитарии является одним из самых основных условий выпуска доброкачественной продукции.

Порядок соблюдения санитарного режима, способы проведения дезинфекции и санитарные требования, в том числе санитарно-микробиологические, регламентируются нормативными документами по санитарии и гигиене, микробиологическому контролю для пищевых производств.

Санитарное состояние производства и эффективность проведения санитарных мероприятий контролируются бактериологами ежедневно визуально перед началом работы и после санитарной обработки, а также путем периодического (1 – 2 раза в месяц) проведения комплекса микробиологических анализов, включающих проверку санитарного состояния технологического оборудования, тары, инвентаря, спецодежды и рук рабочих, соприкасающихся с продуктом. Результаты визуального и микробиологического контроля санитарного состояния производства регистрируют в журналах установленного образца.

Работники предприятия, соприкасающиеся с пищевыми продуктами и чистой тарой, должны строго соблюдать правила личной гигиены, периодически проходить

медицинские осмотры, носить чистую санитарную одежду, выполнять требования действующих санитарных правил.

При исследовании смывов определяют общее микробное число (МАФАнМ) и присутствие бактерий группы кишечных палочек (БГКП) и в особых случаях (пищевые отравления) обсеменение золотистым стафилококком.

Для выявления бактерий группы кишечных палочек применяют среду Кода или Хейфеца. Сине-фиолетовый цвет среды Кода при росте бактерий группы кишечной палочки приобретает желтый цвет.

Согласно требований инструкций по микробиологическому контролю для пищевых производств допустимое количество КОЕ на 1 $см^2$ поверхности оборудования не должно превышать 300. Наличие кишечных палочек в смывной воде не допускается.

Ход выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. По методическому пособию с.17, изучить и законспектировать:

- отбор проб и взятие смывов с поверхности оборудования, инвентаря, спецодежды и рук,
- определяемые показатели, нормативы, применяемые для анализа среды.

2. Выполнить санитарные смывы с оборудования (инвентаря), рук, соблюдая правила асептики.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 1 - *Определение общего микробного числа оборудования, инвентаря*

Техника анализа. 1 $см^3$ смыва (разведение 1:10) внести в чашку Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 ^{0}С агар (15-20 $см^3$), перемешать. Чашку подписать.

Опыт 2 - *Выявление бактерий группы кишечной палочки*

Техника анализа. Стеклянную палочку (смыв с оборудования) поместить в пробирку со средой Кода. Пробирку подписать.

Выполнить санитарные смывы с рук, соблюдая правила асептики.

Опыт 3 - *Определение общего микробного числа*

Техника анализа. 1 $см^3$ смыва (разведение 1:10) внести в чашку Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 ^{0}С агар (15-20 $см^3$), перемешать. Чашку подписать.

Опыт 4 - *Выявление бактерий группы кишечной палочки в смывах с рук*

Техника анализа. Стеклянную палочку (смыв с рук) поместить в пробирку со средой Кода. Пробирку подписать.

3. Чашки Петри и пробирки с посевами поместить в термостат.

4. После термостатирования произвести исследование выросших посевов:

- в чашках Петри определить общее микробное число;
- в пробирках отметить рост кишечной палочки по изменению цвета среды.

Результаты оформить в таблицу 1.

Опыт 5 – *Анализ выросших посевов микроорганизмов в санитарных смывах*

Таблица 1 – Анализ выросших посевов

Объект исследования	Показатель	КОЕ выросших посевов Наблюдения	Норматив
Оборудование	Микробное число		
	Кишечная палочка		
Руки	Микробное число		
	Кишечная палочка		

5. Сделать вывод о санитарном состоянии исследуемого оборудования (инвентаря), чистоты рук по результатам лабораторных исследований в соответствии требованиям нормативных документов.

6. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Техника выполнения санитарных смывов

Результаты исследования, выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какова цель и задачи проведения санитарно-микробиологического контроля на рыбообрабатывающих предприятиях?

2. Каковы объекты, периодичность и определяемые показатели при проведении санитарно-микробиологического контроля?

3. Какова техника выполнения санитарных смывов с оборудования, инвентаря, сандежды, рук?

4. По каким микробиологическим показателям оценивают чистоту рук, санодежды, оборудования, инвентаря, тары? Каковы допускаемые нормативы?

5. Что понимают под показателем «общая бактериальная обсемененность»? Единицы измерения.

6. Какие профилактические мероприятия выполняются для поддержания удовлетворительного санитарного состояния пищевых производств?

7. Каковы первоочередные мероприятия по снижению уровня обсемененности при завышенных показателях в смывах с рук, инвентаря?

8. Какие питательные среды используются для выявления кишечной палочки? Каковы режимы термостатирования посевов?

9. Какой результат анализа указывает на присутствие в смывной воде кишечной палочки?

10. Каковы действия мастера смены (технолога) при обнаружении кишечной палочки в смывах с оборудования, инвентаря?

11. Дать оценку чистоты рук, если при посеве 1 $см^2$ смывной воды при разведении 1:100 в чашке Петри на питательной среде выросло 65 колоний м/о при отсутствии кишечной палочки.

12. Дать оценку санитарного состояния оборудования, если после термостатирования в чашке на питательной среде выросло 258 колоний бактерий при разведении 1:100 с площади смывной поверхности 100 $см^2$.

13. Дать оценку санитарного состояния оборудования, если после термостатирования в чашке на питательной среде выросло 500 колоний бактерий при разведении 1:10 с площади смывной поверхности 25 $см^2$.

14. Дать оценку санитарного состояния внутренней поверхности металлических банок, если при посеве 1 $см^3$ смывной воды при разведении 1:1 в чашке на питательной среде выросло 20 колоний.

15. Дать оценку чистоты рук, если при посеве 1 $см^2$ смывной воды при разведении 1:10 в чашке Петри на питательной среде выросло 420 колоний м/о при отсутствии кишечной палочки.

Приложение 1

ПОРЯДОК МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БАКТЕРИЙ, ДРОЖЖЕЙ ПОРЯДОК ВЕДЕНИЯ ЗАПИСЕЙ В ОТЧЕТЕ

Изучение морфологии бактерий в микробиологических лабораториях предприятий пищевой отрасли проводят в *фиксированном состоянии на предметном стекле*, для чего готовят окрашенный препарат. Для микроскопирования используют иммерсионный объектив х 90. Бактерии культивируют на твердых питательных средах, чаще на РПА *(рыбопептонный агар*) в чашках Петри или в пробирках на *скошенном агаре*. Каждая бактериальная клетка в благоприятных условиях и наличии питания образует чистую изолированную окрашенную колонию на поверхности РПА в чашке Петри.

Результаты лабораторных испытаний оформляют в отчете, как «***Протокол лабораторных исследований».***

1 ЭТАП *- Культуральные признаки роста колоний бактерий на РПА в чашке*

Изучить наиболее характерные *культуральные* признаки колоний бактерий, выросшие на поверхности РПА в чашке Петри. Дать описание роста колоний по признакам, пользуясь схемой и рисунками (методическое пособие).

Пример записи в отчете. *Культуральные признаки роста колонии на РПА*:

форма колонии	- круглая, ризоидная
размер (диаметр) колонии	- средний, диаметр 5 мм (точечная, крупная)
цвет (окраска) колонии	- молочный (белый, розовый)
блеск колонии	- матовый, (тусклый)
край колонии	- зубчатый (ровный, изрезанный)
поверхность колонии	- с концентрическими кругами
профиль колонии	- выпуклый (плоский)
структура колонии	- мелкозернистая (крупнозернистая, однородная)

2 ЭТАП *- Приготовление фиксированного препарата*

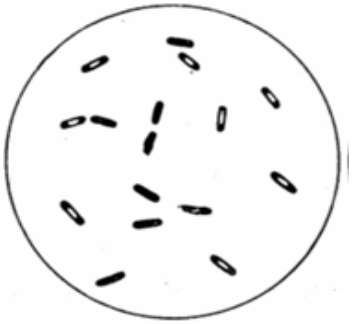
Приготовить фиксированный окрашенный препарат на *предметном стекле*. В зависимости от цели анализа окрашивание может быть *простым* – фуксином, или *сложным* – по Грамму.

Пример записи в отчете. Приготовлен фиксированный окрашенный препарат из исследуемой колонии бактерий, окрашен *фуксином* (или произведена *сложная окраска по Грамму*).

3 ЭТАП *- Изучение морфологических признаков бактерий под микроскопом*

Рассмотреть приготовленный фиксированный окрашенный препарат с *иммерсией* под микроскопом, объектив х90. Сделать зарисовку в тетради и описать наблюдаемые морфологические признаки: *форма* (шаровидная, палочковидная); *размеры клеток* (мелкие, средние, крупные); *скопления клеток* в поле зрения (одиночно, попарно, в виде цепочек и т. д.); *формы палочек* (короткие, длинные, тонкие, с обрубленными, заостренными, закругленными концами и т. д.); *наличие и тип спорообразования*; *отношение к окрашиванию по Грамму* (грам «плюс» или Грамм «минус»).

Пример записи в отчете. Фиксированный окрашенный препарат рассмотрен с иммерсией под микроскопом, увеличение 15х90. В поле зрения наблюдаем: (рисунок бактериальных клеток в круге с описанием морфологических признаков. Клетки закрашиваются красным цветом).

	***Морфологические признаки*:** *Форма клеток* – палочковидная, овальные *Размер* - средние *Скопления* – одиночно *Наличие спор* – образует бациллярный тип ***Вывод:*** Исследуемые бактерии по морфологическим признакам относятся к *роду* ***Bacillus***– (указать род по-латыни согласно классификатору).