



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


УТВЕРЖДАЮ
Заместитель начальника колледжа
по учебно-методической работе
М.С. Агеева

ОП.01 МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА

Методическое пособие для лабораторных занятий
по специальности 43.02.15 «Поварское и кондитерское дело»


МО-43 02 15-ОП.01.ЛЗ

РАЗРАБОТЧИК	Н.А .Морозова
ЗАВЕДУЮЩИЙ ОТДЕЛЕНИЕМ	Н.А. Судьбина
ГОД РАЗРАБОТКИ	2021
ГОД ОБНОВЛЕНИЯ	2022

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 2/51

Содержание

Введение	3
Лабораторное занятие № 1-2 Устройство микоскопа. Микроскопирование бактерий	Ошибка! Закладка не определена.
Лабораторное занятие № 3 Морфология плесневых грибов, дрожжей.....	10
Лабораторное занятие № 4 Изучение микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения	13
Лабораторное занятие № 5 Качественные методы микробиологического анализа пищевых продуктов.....	24
Лабораторные занятия № 6-7 Количественные методы микробиологического анализа пищевых продуктов.....	Ошибка! Закладка не определена.
Лабораторное занятие № 8 Посев микроорганизмов воды, воздуха.....	Ошибка! Закладка не определена.
Лабораторное занятие № 9 Анализ выросших посевов воды, воздуха.....	24
Лабораторное занятие № 10 Санитарно-бактериологические смывы с рук, оборудования.....	Ошибка! Закладка не определена.
Приложение 1.....	33
Приложение 2.....	37
Литература	51

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 3/51

ВВЕДЕНИЕ

Методическое пособие составлено в соответствии с рабочей программой дисциплины ОП.01 «Микробиология, физиология питания, санитария и гигиена». Рабочей программой дисциплины ОП.01 «Микробиология, физиология питания, санитария и гигиена» предусмотрено 20 академических часов на проведение 10 лабораторных занятий.

Целью проведения лабораторных занятий является закрепление теоретических знаний и приобретение необходимых практических навыков и умений в проведении микробиологических исследований.


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 каждого нового лабораторного занятия преподаватель напоминает основные безопасные приемы работы, раскрывает значение и содержание работы, последовательность и технические приемы ее выполнения.

Вначале каждого лабораторного занятия проводится фронтальная беседа, цель которой – проверить готовность группы к выполнению лабораторных исследований.


Перед проведением лабораторных испытаний обучающиеся должны проработать теоретический материал по данной работе, уяснить цели работы, ознакомиться с содержанием и порядком проведения.

Каждое лабораторное занятие проводится зачет, как правило, на следующем занятии перед выполнением последующей работы. На зачете обучающийся 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 лабораторных занятий каждый обучающийся должен иметь отдельную тетрадь с полями. В нее записывается номер и название занятия, цели, краткий перечень необходимого оборудования инструментов, протокол лабораторных исследований. Фиксированные окрашенные препараты исследуемых микроорганизмов зарисовываются в кружке, дается описание морфологических признаков, в выводе указывается род исследуемых микроорганизмов


	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 4/51

по-латыни. Записи должны вестись аккуратно, разборчивым подчерком. В конце отчета делаются основные выводы по изучаемой теме.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 5/51

Перечень лабораторных занятий

№ п/п	Лабораторные занятия	Кол-во часов
1	Лабораторное занятие № 1-2 Устройство микроскопа. Микроскопирование бактерий	4
2	Лабораторное занятие № 3 Микроскопирование плесневых грибов, дрожжей	2
3	Лабораторное занятие № 4 Изучение микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения	2
4	Лабораторное занятие № 5 Качественные методы микробиологического анализа пищевых продуктов	2
5	Лабораторное занятие № 6-7 Количественные методы микробиологического анализа пищевых продуктов	4
6	Лабораторное занятие № 8 Посев микроорганизмов воды, воздуха	2
7	Лабораторное занятие № 9 Анализ выросших посевов микроорганизмов воды, воздуха	2
8	Лабораторное занятие № 10 Санитарно-бактериологические смывы с рук, оборудования	2
ИТОГО		20

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 6/51

1 ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ

1.1 Морфология микроорганизмов

Лабораторное занятие № 1-2

Устройство микроскопа. Микроскопирование бактерий

Цели работы:

- знать правила обращения с бактериальными культурами;
- знать устройство и правила работы с микроскопом;
- освоить методику приготовления фиксированного препарата бактерий путем простого и сложного окрашивания;
- получить навыки микроскопирования в светлом поле с иммерсией.

Работа направлена на формирование следующих профессиональных компетенций: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.

Материальное обеспечение:

Чашки Петри с культурами палочковидных и шаровидных форм бактерий в чашках Петри на РПА, иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница, Микроскоп биологический.


Используемые источники: [1]; [2].

Теоретическая часть:

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

Морфологию и строение клеток микроорганизмов, размеры которых измеряются в микрометрах ($1 \text{ мкм} = 0.001 \text{ мм} = 10^{-6} \text{ м}$), 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 15x90.

Иммерсионным (x90) называется объектив, при работе с которым между препаратом и объективом помещается капля иммерсионного масла.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 7/51

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 фиксации пыли, высыхает и может привести к повреждению оптики микроскопа.*

Морфологические особенности клеток микроорганизмов изучают, используя различные методы микроскопии и дифференциальной окраски. Морфологическая характеристика микроорганизмов включает форму, взаимное расположение клеток, их размеры, органы движения (жгутики) и их тип, наличие спор, капсул, клеточных включений

Для выявления морфологических особенностей 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 анилиновым красителем *фуксин*.


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

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.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 8/51

В технологии пищевых продуктов отношение к окраске по Граму 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.

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с правилами работы в микробиологической лаборатории. Изучить правила обращения с бактериальными культурами (Приложение № 1). *Поставить подпись в журнале по технике безопасности.*

2. Ознакомиться с теоретической частью к работе. *Кратко законспектировать в отчет по работе:*

- устройство микроскопа и правила обращения с ним (Приложение № 2);
- определение фиксированного препарата бактерий;
- методику приготовления фиксированного окрашенного препарата бактериальных клеток (Приложение № 3);
- назначение и сущность сложного окрашивания по Грамму (При.

3. Выполнить лабораторные исследования:

3.1 Опыт 1 Изучение морфологии шаровидных форм бактерий

Исследуемая культура – колонии бактерий в чашке Петри на РПА.

Сделать описание культуральных признаков исследуемой колонии, в чашке Петри, пользуясь схемой.


Приготовить фиксированный препарат из культуры микрококков (блестящие круглые колонии), окрасить фуксином. Микроскопировать с масляной иммерсией, объектив 15х90. Зарисовать в отчет и описать морфологические признаки – форма клеток, размеры, взаимное расположение клеток, наличие спор.

3.2 Опыт 2 Изучение морфологии палочковидных форм бактерий

Исследуемая культура – колонии бактерий в чашке Петри на РПА.

Сделать описание культуральных признаков исследуемой колонии, в чашке Петри, пользуясь схемой.

Приготовить фиксированный препарат из культуры палочковидных бактерий, имеющей ризоидную форму молочного цвета без блеска, окрасить фуксином. Микроскопировать с масляной иммерсией, объектив 15х90. Зарисовать в отчет и описать морфологические признаки – форма клеток, размеры, взаимное расположение клеток, наличие спор.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 9/51

4. Оформить результаты исследования, сделать зарисовки. В выводе по каждому опыту указать 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.

Контрольные вопросы:

1. Каковы основные правила поведения и работы в микробиологической лаборатории?

2. Каковы основные правила обращения с бактериальными культурами?

3. Что представляет собой бактериологическая петля? Каковы правила работы?

4. Каковы правила работы с биологическим микроскопом?

5. Что понимают под механической системой микроскопа? Каково назначение основных частей микроскопа?

6. Где располагаются и назначение макро- и микрометрических винтов?

7. Что понимают под оптической системой микроскопа?

8. Где находится и каково назначение конденсора?

9. Как обозначаются и классифицируются объективы? Каково их назначение?

10. Каковы преимущества и правила работы с иммерсионным объективом?

11. Как находится общее увеличение микроскопа?

12. Каковы морфологические признаки бактерий?

13. Какие виды шаровидных форм бактерий существуют?


14. Какие типы спорообразования бактерий Вам известны?

15. Что понимают под фиксированным препаратом микроорганизмов?

16. Каковы основные этапы приготовления фиксированного препарата?

17. Как выполняется фиксация мазка, с какой целью?

18. Каковы способы обезжиривания предметного стекла? Как проверить?

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 10/51

19. Каково назначение и сущность сложной окраски мазков по Граму?
20. Каково значение сложной окраски по Граму в пищевой промышленности?
21. Какие красители применяются для сложной окраски по Граму?

Лабораторное занятие № 3 Морфология плесневых грибов, дрожжей

Цели работы:

- знать морфологические особенности плесневых грибов и дрожжей;
- уметь готовить фиксированный окрашенный препарат дрожжей;
- знать методику приготовления препарата «раздавленная капля» для изучения органов спорообразования плесневых грибов.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.

Материальное обеспечение:

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


Используемые источники: [1].

Теоретическая часть:

М о р ф о л о г и я дрожжей. Большинство дрожжей относится к классу *аскомицетов*, имеются представители класса *базидомицетов* и *несовершенных грибов*.

Клетки разных видов дрожжей морфологически довольно разнообразны: круглые, яйцевидные, лимонovidные, овальные, 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, напоминающих пчелиные соты*. Дрожжи являются неподвижными организмами, грамположительны, размножаются 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, рассматривают под микроскопом с масляной иммерсией (15x90).

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 11/51

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 органы размножения.

Изучение плесневых грибов начинают с осмотра выросших в чашках Петри (на плотной среде Сабуро) чистых культур совершенных плесневых грибов без увеличения или с помощью ручных луп. При этом отмечают *культуральные признаки* роста:

- *тип мицелия* - несептированный (одноклеточные), септированный;
- *степень пышности мицелии* - 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 х8, обращая внимание на характер мицелия (септированный, несептированный), отмечают наличие ядер в цитоплазме мицелия.

Подробное изучение *спорообразующего аппарата* проводят при увеличении с объективом х40. Для этого готовят *препарат «раздавленная капля»*.

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

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 под объективом 15х40.

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

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 12/51

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. *Кратко записать в отчет по работе:*

- методы исследования плесневых грибов;
- методику приготовления препарата «раздавленная капля».

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

3. Выполнить лабораторные исследования:

Опыт 1 Изучение морфологии дрожжей

Исследуемая культура – жидкая культура дрожжей в пробирке

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

Опыт 2 Изучение морфологии одноклеточных плесневых грибов.

Исследуемая культура – чистая культура *Mucor* в чашке Петри на среде Сабуро

Произвести осмотр чистой культуры плесневых грибов рода *Mucor* и 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 15х40.

Опыт 3 Изучение морфологии многоклеточных плесневых грибов


1-я исследуемая культура – чистая культура плесеней рода *Penicillium* в чашке Петри на среде Сабуро

2-я исследуемая культура – чистая культура плесеней рода *Aspergillus* в чашке Петри на среде Сабуро

Произвести осмотр чистых культур плесневых грибов рода *Aspergillus* и рода *Penicillium*. Исследование культуры проводить по опыту 2.

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

5. Ответить на контрольные вопросы.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 13/51

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.

Контрольные вопросы:

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


1.3 Важнейшие микробиологические процессы и их хозяйственная роль

Лабораторное занятие № 4

Изучение микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения

Цели работы:

- знать практическое использование процессов брожения при консервировании пищевого сырья;
- закрепить навыки приготовления фиксированного препарата микроорганизмов;
- знать и уметь микроскопировать возбудителей брожения.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 14/51

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.

Материальное обеспечение:

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

Используемые источники: [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, молочнокислое, маслянокислое, лимоннокислое, щавелевокислое брожение* и другие виды.

Содержание и порядок выполнения работы:

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

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 при увеличении 15х90. При исследовании под микроскопом отметить крупные овальной формы клетки, образующие скопления в виде пчелиных сот. Препарат зарисовать. Записать в отчет уравнение спиртового брожения, морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Saccharomyces*.

Опыт 2 Изучение возбудителей молочнокислого гомоферментативного брожения

Исследуемая культура – сыворотка кислого молока

Приготовить фиксированный препарат из накопительной культуры микроорганизмов молочнокислого брожения, окрасить фуксином. Микроскопировать с иммерсией при увеличении 15х90. При исследовании под микроскопом отметить

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 15/51

беспоровые клетки круглой формы, с образованием цепочек. Препарат зарисовать. Записать в отчет уравнение молочнокислого гомоферментативного брожения, морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Streptococcus*.

Опыт 3 Изучение возбудителей молочнокислого гетероферментативного брожения

Исследуемая культура – огуречный рассол (сок квашеной капусты)

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

Опыт 4 Изучение возбудителей маслянокислого брожения

Исследуемая культура – накопительная, жидкая часть прогорклого молока

Приготовить фиксированные препараты из чистой культуры маслянокислых бактерий, выращенных на твердой питательной среде в чашках Петри. Окрасить мазки по Граму, микроскопировать с иммерсией при увеличении 90х. При исследовании под микроскопом отметить крупные палочковидные споровые клетки. Препараты зарисовать. Записать в отчет уравнение маслянокислого брожения, морфологическую характеристику возбудителей брожения рода *Clostridium*.

3. Оформить результаты исследования, сделать вывод по каждому опыту.
4. 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.

Контрольные вопросы:

1. Что называют спиртовым брожением? Напишите уравнение брожения.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 16/51

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, характеристика.

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

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

1.6 Микробиология важнейших пищевых продуктов

Лабораторное занятие № 5

Качественные методы микробиологического анализа пищевых продуктов

Цели работы:

- знать нормативные документы по микробиологическому контролю пищевой продукции из продовольственного сырья;
- знать правила взятия проб 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: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.

Материальное обеспечение:


Образцы свежей рыбы и мяса, микроскоп, предметные стекла, пинцет, спиртовка, скальпель, простоквашница, промывалка, песочные часы, анилиновые красители для окраски по Граму, иммерсионное масло.

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

Теоретическая часть:

Качество свежей, охлажденной и мороженой рыбы и мяса контролируют визуально при поступлении их на предприятия общепита ежедневно. Если доброкачественность сырья вызывает сомнение, то для объективной оценки проводят исследование мазков-отпечатков бактериостатическим способом.

Исследование микрофлоры поверхности рыбы (мяса). К влажной поверхности рыбы (мяса) прикладывают предметное стекло и прижимают на 2-3 минуты, затем

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 17/51

стекло осторожно снимают, сушат, фиксируют и окрашивают по Грамму. Препарат просматривают и просчитывают все микробы не менее, чем в десяти полях зрения.

Исследование микрофлоры мышечной ткани рыбы (мяса). В теле рыбы стерильным скальпелем (фламбируют) делают надрез, вводят предметное стекло и прижимают на 2-3 минуты, затем стекло осторожно вынимают, очищают с одной стороны и готовят препарат «мазок». Мазок сушат, фиксируют, окрашивают по Грамму. Препарат просматривают и просчитывают все микробы не менее, чем в десяти полях зрения. Или: стерильным скальпелем вырезают кусочек тканей размером примерно в 1 см, берут его стерильным пинцетом и прикладывают к стеклу разными гранями на 2-3 минуты. Получается 8 препаратов-отпечатков. Препарат сушат, фиксируют и окрашивают по Грамму. Каждый отпечаток просматривают и просчитывают все микробы в десяти полях зрения.

Обработка результатов. *Рыба (мясо) считается свежей*, если в поле зрения микроорганизмы отсутствуют совсем (мышечная ткань здоровой рыбы стерильна) или встречаются одиночные грамположительные бактерии;

- *рыба сомнительной свежести*, если в поле зрения десятки в основном грамотрицательных клеток;

- *рыба испорченная* – все поле усеяно грамотрицательными бактериями, встречаются волокна полуразложившихся тканей.


Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе, законспектировать в отчет:
 - методику исследования микрофлоры поверхности и мышечной ткани рыбы, (мяса) способом препаратов-отпечатков;
 - обработку результатов исследования по результатам микроскопирования.
2. Повторить методику, применяемые реактивы для сложной окраски клеток по Грамму.
3. Получить у лаборанта исследуемый образец рыбы (мяса), записать в отчет.
4. Провести лабораторные испытания микрофлоры предложенного образца рыбы (мяса):

4.1 *Опыт 1 - Отпечатки с кожи рыбы (мяса)*

4.2 *Опыт 2 - Отпечатки с мышечной ткани рыбы (мяса)*

К влажной поверхности рыбы (мяса) прикладывают предметное стекло и прижимают на 2-3 минуты, затем стекло осторожно снимают, сушат, фиксируют и окрашивают по Грамму. Микроскопируют с иммерсией, отмечают цвет окраски клеток

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 18/51

по Грамму (малиновый, фиолетовый). Просчитывают все микробы не менее, чем в десяти полях зрения. По каждому опыту указать морфологические признаки бактерий, сделать зарисовки, количество клеток бактерий в поле зрения.

5. Произвести оценку качества исследуемого образца по результатам микроскопирования, сделать вывод.

6. 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.

Контрольные вопросы:

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

2. Каковы источники обсеменения микроорганизмами поверхности и тканей охлажденного и мороженого рыбного и мясного сырья?

3. Как влияет охлаждение на развитие микрофлоры и почему? Каков качественный состав микрофлоры охлажденного сырья?


4. Как влияет замораживание на количественный состав микрофлоры и почему? Каков качественный состав микрофлоры мороженого сырья?

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

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.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 19/51

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?

Лабораторное занятие № 6-7 **Количественные методы микробиологического анализа пищевых продуктов**

Цели работы:

- знать правила отбора проб пищевого продукта для микробиологического анализа;
- научиться готовить среднюю пробу продукта для микробиологического анализа;
- получить навыки в определении общей бактериальной обсемененности пищевых продуктов;
- научиться давать оценку полученным результатам лабораторного анализа.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.


Материальное обеспечение:

- образцы пищевых продуктов и материалов, пинцет, спиртовка, скальпель, стерильные колбы, пипетки, чашки Петри, пробирки с физиологическим раствором, питательный агар, предметные стекла, простоквашница, промывалка, песочные часы, анилиновый краситель фуксин, иммерсионное масло, микроскоп.

Используемые источники: [2], [3]

Теоретическая часть:

Микробиологические показатели. Микробиологический контроль готовой продукции включает определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, наличия бактерий группы кишечных палочек, золотистых стафилококков, сульфитредуцирующих клостридий, салмонелл, плесневых грибов, а также по эпидемиологическим показаниям паразитических

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 20/51

вибрионов. Нормативы микробиологических показателей регламентированы СанПиН 2.3.2. 1078-01.

Определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ).


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

2 Подготовка пробы к анализу. Подготовку проб, разведения продуктов готовят согласно ГОСТ 26669-85 «Пищевые и вкусовые продукты». Перед анализом из всей отобранной пробы подготавливают однородную массу путем измельчения, перемешивания, растирания. Образцы измельчают ножницами, скальпелем, в электрических гомогенизаторах, в ступках. Выбор способа измельчения зависит от вида продукта, его консистенции. Растирание продуктов твердой консистенции успешно производится с помощью стерильного кварцевого песка.

Навеску отбирают в количестве 10 г из усредненной подготовленной пробы и добавляют к ней постепенно 90 см³ жидкости для разведения (пептонно-солевой или физиологический раствор хлорида натрия), получая, таким образом, исходное разведение 1:10. Полученную взвесь хорошо перемешивают или взбалтывают и оставляют при комнатной температуре на 3-5 минут. Исследуют надосадочную жидкость. При необходимости приготавливают последующие разведения, при этом используют каждый раз новую пипетку.

Массу пробы можно определять и *объемным способом*. Для этого берут специально подготовленные стаканы (колбы), на стенках которых наносится нарезка-черта на уровне 100 см³. В стакан наливают 90 см³ стерильной жидкости или разведения. Среднюю пробу размельченного продукта вносят в стаканы в количестве, обеспечивающем подъем жидкости до уровня нанесенной черты по нижнему мениску, получая разведение 10⁻¹.

3. Проведение анализа. Подготовленную пробу тщательно перемешивают. Взвесь отстаивают в течение 5 минут. Надосадочную жидкость используют для приготовления последующих разведений. 1 см³ материала из исходного разведения (10⁻¹) переносят в пробирку с 9 см³ стерильного раствора для разведений, не прикасаясь к поверхности жидкости в этой пробирке, перемешивая новой стерильной пипеткой и содержимое в количестве 1 см³ переносят в следующую пробирку и т.д. В результате исследуемый продукт оказывается разведенным в 10, 100 и более раз.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 21/51

Степень разведения навески для высева на плотные среды выбирают так, чтобы общее количество колоний, выросших на чашке, колебалось в пределах от 30 до 300. В чашку Петри вносят по 1 см³ разведения, заливают расплавленным и остуженным до 45 °С агаром (15-20 см³), перемешивают. После застывания агара чашки переворачивают и помещают в термостат при температуре 30 °С на 72 часа.

4 Обработка результатов. Обработку результатов культивирования проводят по ГОСТ 26670-85.

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

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

$$a_1 \cdot 10 + a_2 \cdot 100 + a_3 \cdot 1000 + \dots + a_n \cdot 10^n$$

$$\text{МАФАНМ} = \frac{\dots}{m \cdot n};$$

$$m \cdot n$$

где: a_1, a_2, a_3, a_n – число колоний в чашке;

10, 100, 1000 – разведение;

n – количество чашек Петри;

m – масса навески продукта.


Для вычисления среднего арифметического нельзя использовать посева, где количество выросших колоний на чашках меньше 30 колоний, о результатах анализа следует написать: «Рост единичных колоний при посеве (указать количество засеянного продукта)». При отсутствии роста колоний результаты выражают таким образом: «Количество микроорганизмов менее 1». Если на чашках, более чем на 1\2 их площади, имеется рост спорообразующих микроорганизмов или за счет спорных микроорганизмов подсчет изолированных колоний невозможен, в результате анализа следует написать: «Рост спорообразующих микроорганизмов».

Результаты выражают в колониобразующих единицах – КОЕ (г, см², см³) и округляют следующим образом:

- если результат находится в пределах чисел от 1 до 100, то записывают полученные числа;

- если результат находится в пределах чисел от 101 до 1000, то результат округляют до целого однозначного числа и умножают на 10ⁿ.

Содержание и порядок выполнения работы:

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 22/51

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе. *Законспектировать в отчет по работе:*

- правила отбора проб пищевых продуктов, материалов;
- подготовку образцов для анализа, приготовление разведений;
- сущность и методику определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ);
- формула для расчета МАФАНМ, обозначения, обработка результатов.

2. Провести лабораторные испытания

2.1 *Опыт 1 – Подготовка средней пробы продукта для анализа*

Исследуемый образец продукта -

Масса навески образца продукта -г

- приготовить исходное разведение 1:10 в колбе объёмным способом;
- приготовить последующие разведения 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} в пробирках с физиологическим раствором, соблюдая правила асептики. Пробирки подписать.

2.2 *Опыт 2 – Высев микроорганизмов на плотные среды*

Выполнить посевы по 1 см³ приготовленных разведений в стерильные чашки Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 °С агар (15-20 см³), перемешать. После застывания агара подписанные чашки Петри с посевами поместить в термостат при температуре 30 °С на 72 часа.

2.3 *Опыт 3 – Анализ микробиологических посевов*

Подсчитать выросшие колонии бактерий в чашках Петри. Результаты оформить в таблицу 1.


Таблица 1 – Подсчет и характеристика выросших колоний бактерий

Обозначение (номер чашки)	Разведение	Число колоний КОЕ	Культуральные признаки колоний бактерий
a ₁	1:100		
a ₂	1:1000		
a ₃	1: 10000		

2.4 *Опыт 4 – Количественное определение МАФАНМ*

Рассчитать МАФАНМ по формуле. Обработать результаты вычислений, руководствуясь методическими рекомендациями. Оформить результаты расчетов в отчете.

2.5 *Опыт 4 – Морфологическая характеристика посевов*

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 23/51

Исследовать морфологические признаки наиболее характерных колоний микроорганизмов, для чего приготовить 2 фиксированных препарата, окрасить фуксином, микроскопировать с масляной иммерсией 15х90. Выполнить зарисовки, указать морфологические признаки, сделать вывод с указанием рода бактерий п-латыни.

3 Сделать вывод о микробиологической безопасности исследуемого образца продукта по результатам анализа на соответствие требованиям СанПиН 2.3.2.1078-01.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цели работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Схема приготовления разведений


Протокол лабораторных испытаний

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя

Контрольные вопросы:

1. Каковы источники обсеменения пищевых продуктов микроорганизмами?
2. Какие показатели определяются при м/б контроле пищевых продуктов, материалов?
3. Каков порядок отбора проб пищевых продуктов, материалов для м/б анализа?
4. Каков порядок подготовки средней пробы продукта для определения общей бактериальной обсемененности (МАФАНМ)?
5. В чем сущность определения МАФАНМ? Каковы единицы выражения?
6. Каковы основные этапы определения МАФАНМ?
7. Каким документом регламентируется содержание МАФАНМ пищевых продуктов?
8. Каковы пути снижения микробиальной обсемененности пищевых продуктов на предприятиях пищевой отрасли?

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 24/51

2.2 Санитарно-эпидемиологические требования к устройству и содержанию предприятий общественного питания

Лабораторное занятие № 8 Посев микроорганизмов воды, воздуха

Цели работы:

- изучит качественный состав микрофлоры воздуха;
- освоить методику определения бактериальной загрязненности воздуха;
- уметь разрабатывать профилактические мероприятия по снижению загрязненности воздуха;
- изучить показатели и нормативы эпидемиологической безопасности питьевой воды;
- научиться производить отбор проб питьевой воды для лабораторных исследований;
- освоить методику определения микробного числа воды.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.


Материальное обеспечение:

- стерильные чашки Петри, стерильные колбы с ватно-марлевыми пробками на 100 см³, стерильные пробирки и пипетки на 1 см³, расплавленный РПА, карандаш по стеклу, термостат, микроскоп
- иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница.

Используемые источники: [2], [4]

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

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 25/51

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».

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 (*микробное число воды*), 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 °С в течение 24 часов, видимые с увеличением в 2 раза.*

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью работы. *Законспектировать в отчет по работе:*

- производственное значение воды и воздуха для предприятий общепита;

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 26/51

- качественный состав воздуха и питьевой воды;
- микробиологические показатели воды и воздуха и их нормативы;
- правила отбора проб воды для микробиологических исследований;
- методику определения общего микробного числа воды и воздуха, условия термостатирования микроорганизмов, подсчет выросших колоний.

2. Провести лабораторные испытания, при этом:

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

Отобрать пробу исследуемой воды объемом 100 см³ из водопроводного крана в колбу с пробкой, соблюдая правила асептики.

2.2 Опыт 2 – Посев микроорганизмов питьевой воды по ГОСТ

Сущность метода:

Техника посева: Произвести посев микроорганизмов исследуемой воды стерильной пипеткой по 1 мл в две чашки Петри и залить расплавленным и охлажденным до 45 °С питательным агаром. Чашки Петри подписать. После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре (37 + 1) °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.

2.3 Опыт 3 – Посев микроорганизмов воздуха седиментационным методом

Сущность метода:


Техника посева: В две стерильные чашки Петри с соблюдением правил асептики залить по 10-15 см³ расплавленного и охлажденного до 45 °С питательного агара. Закрыв крышками, равномерно распределить среду по дну чашек. Подготовленные и подписанные 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 м^ло инкубировать в термостате 72 часа при температуре 30 °С.

3. Оформить протокол лабораторных исследований, сделать вывод.

4. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 27/51

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части

Протокол лабораторных исследований

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя

Контрольные вопросы:

1. Каково санитарное значение воздуха и воды для пищевых производств?
2. Каков качественный состав микрофлоры воздуха и питьевой воды? От каких факторов зависит количество микрофлоры?
3. По каким показателям определяется эпидемиологическая безопасность питьевой воды?
4. Как правильно отобрать пробу воды для микробиологических исследований?
5. В чем сущность седиментационного метода анализа воздуха?
6. Каковы способы обеззараживания питьевой воды?
7. Каковы меры профилактики и снижения бактериальной обсемененности воздуха производственных помещений?


Лабораторное занятие № 9 **Анализ выросших посевов микроорганизмов воды, воздуха**

Цели работы:

- знать показатели и нормативы эпидемиологической безопасности питьевой воды;
- знать методику определения общей бактериальной загрязненности воздуха седиментационным способом, условия термостатирования посевов;
- знать методику определения микробного числа воды, условия термостатирования посевов;
- уметь производить подсчет выросших колоний, обработку результатов.

Работа направлена на формирование следующих компетенций: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.

Материальное обеспечение:

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 28/51

Биологический микроскоп, иммерсионное масло, спиртовой раствор фуксина, бактериологическая петля, предметные стекла, пинцет, спиртовка, промывалка, простоквашница.

Используемые источники: [1]; [4]; [10]; [12]; [13]; [14].

Содержание и порядок выполнения работы:

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

2. Законспектировать методику определения общего микробного числа воды по ГОСТ 18963-73, условия термостатирования микроорганизмов, подсчет выросших колоний, обработку результатов.

3. Провести лабораторные испытания, при этом:

3.1 *Опыт 1 - Определение микробного числа воды*

Произвести подсчет количества выросших колоний микроорганизмов, руководствуясь ГОСТ 18963-73, обработать результаты и выразить общее микробное число (ОМС) в колониеобразующих единицах (КОЕ). Результаты занести в отчет в таблицу 1 .

Таблица 1 – Анализ и характеристика выросших колоний бактерий воды

Обозначение чашки	Количество колоний	Культуральные признаки выросших колоний бактерий
Чашка № 1		
Чашка № 2		
Среднее значение		

Общее микробное число (ОМС) исследуемой воды равно КОЕ/см³

3.2 *Опыт 2 - Морфологическая характеристика выросших посевов м\о воды*


Приготовить 2 мазка из выросших колоний, окрасить фуксином и микроскопировать с иммерсией 15х90. Записать морфологические признаки, сделать зарисовки, вывод.

3.3 *Опыт 3 – Определение бактериальной загрязненности воздуха*

Произвести подсчет количества выросших колоний м\о в чашках, обработать результаты и выразить загрязненность воздуха в колониеобразующих единицах (КОЕ\20 мин.). Результаты занести в отчет в таблицу 2.

Таблица 2 – Анализ и характеристика выросших колоний бактерий воздуха

Обозначение (номер чашки)	Число колоний КОЕ	Культуральные признаки выросших колоний бактерий

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 29/51

a ₁		
a ₂		
a 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.

3.4 Опыт 3 - Морфологическая характеристика выросших посевов микроорганизмов воздуха

Приготовить 2 мазка из выросших колоний, окрасить фуксином и микроскопировать с иммерсией 15х90. Указать морфологические признаки, сделать зарисовки, вывод.

4. Оформить протокол лабораторных исследований, вывод.
5. Ответить на контрольные вопросы.

Содержание отчета:

Номер и тема лабораторной работы

Цель работы

Материальное обеспечение

Техника безопасности

Краткий конспект теоретической части


Протокол лабораторных исследований

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Контрольные вопросы:

1. По каким показателям определяется эпидемиологическая безопасность питьевой воды?
2. Что означает показатель «общее микробное число воды»? Какова норма для воды централизованного водоснабжения? В каких единицах выражается?
3. Какова методика определения общего микробного числа воды?
4. Каковы правила подсчета и обработки результатов выросших колоний м^ло?
5. Каковы способы обеззараживания питьевой воды?
6. Что обозначает показатель МАФАНМ? В каких единицах выражается?
7. Каковы нормативы общей бактериальной загрязненности воздуха?

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 30/51

2.3 Санитарно-эпидемиологические требования к оборудованию, инвентарю, посуде, таре

Лабораторное занятие № 10 Санитарно-бактериологические смывы с рук, 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: ПК 1.1, ПК 3.1, ПК 5.1.

Материальное обеспечение:

Стерильные чашки Петри, ватно-марлевые тампоны, пинцет, спиртовка, стерильные колбы и пипетки, пробирки с физиологическим раствором, трафарет, пробирки со средой Кода (Хейфеца),


Используемые источники: [1]; [4]; [10]; [11].

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 мастером (бригадиром, технологом) смены 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

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 31/51

оборудования, тары, инвентаря, спецодежды и рук рабочих, соприкасающихся с продуктом. Результаты визуального 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.

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

Наличие кишечных палочек в смывной воде не допускается.

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью к работе, законспектировать в отчет:

- порядок взятия смывов с поверхности оборудования, инвентаря, спецодежды и рук,

- применяемые для анализа среды, обработка результатов.

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

2.1 *Опыт 1- Выявление бактерий группы кишечной палочки в смывах с рук*

Выполнить смывы с рук с соблюдением правил асептики. Стекланную палочку (смыв с рук) поместить в пробирку со средой Кода. Пробирку подписать.

2.2 *Опыт 2 - Выявление бактерий группы кишечной палочки в смывах с оборудования*

Выполнить смывы с оборудования (стола, инвентаря) с соблюдением правил асептики. Стекланную палочку (смыв с оборудования) поместить в пробирку со средой Кода. Пробирку подписать.

3. Пробирки с посевами поместить в термостат.


4.1 *Опыт 3 – Анализ выросших посевов*

После термостатирования в пробирках отметить рост кишечной палочки по изменению цвета среды.

Результаты оформить в таблицу 1.

Таблица 1 – Анализ выросших посевов

Объект исследования	Показатель	Наблюдения	Заключение
---------------------	------------	------------	------------

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 32/51

Оборудование	Кишечная палочка		
Руки	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

Теоретическая часть

Протокол лабораторных исследований

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи обучающегося и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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


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

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?

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 33/51

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Гигиенические требования безопасности сырья и пищевых продуктов

Пищевые продукты должны удовлетворять физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии, отвечать обычно предъявляемым к пищевым продуктам требованиям в части органолептических и физико-химических показателей и соответствовать установленным нормативными документами требованиям к допустимому содержанию химических, радиоактивных, биологических веществ и их соединений, микроорганизмов и других биологических организмов, представляющих опасность для здоровья нынешнего и будущих поколений.

Безопасность пищевых продуктов в микробиологическом и радиационном отношении, а также по содержанию химических загрязнителей и наличию паразитов определяется их соответствием гигиеническим нормативам, установленным СанПиН 2.3.2.1078-01.

Определение показателей безопасности производится по основному (ым) виду (ам) сырья как по массовой доле, так и по допустимым уровням нормируемых контаминантов. Гигиенические нормативы распространяются на потенциально опасные химические соединения и биологические объекты, присутствие которых в пищевых продуктах не должно превышать допустимых уровней их содержания в заданной массе (объеме) исследуемого продукта.


В пищевых продуктах контролируется содержание основных химических загрязнителей, представляющих опасность для здоровья человека:

- токсичные элементы (свинец, мышьяк, ртуть, кадмий, олово);
- нитрозамины, пестициды (гексахлорциклогексан, ДДТ и его метаболиты);
- гистамин (в рыбе семейств сельдевых, лососевых и скумбриевых);
- полихлорированные бифенилы - бенз(а)пирен – в копченой продукции.

В пищевых продуктах контролируются гигиенические нормативы содержания радионуклидов. Радиационная безопасность пищевых продуктов определяется их допустимыми уровнями удельной активности радионуклидов по *цезию -137 и стронцию-90*.

В пищевых продуктах не допускается наличие патогенных микроорганизмов и *возбудителей паразитарных заболеваний, их токсинов*, вызывающих инфекционные и паразитарные болезни или представляющих опасность для здоровья человека.

Гигиенические нормативы по *микробиологическим показателям* включают контроль за 4 группами микроорганизмов:

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 34/51

- санитарно-показательные, к которым относятся: количество мезофильных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) и бактерии группы кишечных палочек - БГКП (колиформы), бактерии семейства Enterobacteriaceae, энтерококки;
- условно-патогенные микроорганизмы, к которым относятся: E. coli, S. aureus, бактерии рода Proteus, B. cereus и сульфитредуцирующие клостридии;
- патогенные микроорганизмы, в том числе салмонеллы, бактерии рода Yersinia;
- микроорганизмы порчи - дрожжи и плесневые грибы, молочнокислые микроорганизмы.

Нормирование микробиологических показателей безопасности пищевых продуктов питания осуществляется для большинства групп микроорганизмов по альтернативному принципу, т.е. нормируется масса продукта, в которой не допускаются бактерии группы кишечных палочек, большинство условно-патогенных микроорганизмов, а также патогенные микроорганизмы, в т.ч. салмонеллы. В других случаях норматив отражает количество колониеобразующих единиц в 1 г (мл) продукта (КОЕ/г, мл).

Гигиенические нормативы микробиологической безопасности сырья и продуктов даны в таблице 1 (выборочно)

Микробиологические нормативы продукции, вырабатываемой организациями общественного питания (выписка из СанПиН 2.3.2.1078-01).

Таблица 1 – Микробиологические показатели безопасности

Группа продуктов	Кол-во МАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г/см ³), в которой не допускаются					Примечание
		БГКП (колиформы)	E.coli	S. aureus	Proteus	Патогенные, салмонеллы	
<i>Салаты из сырых овощей и фруктов</i>							
- без заправки	1x10 ⁴	0.1	1.0	1.0	-	25	
- с заправками (майонез, соусы и др.)	5x10 ⁴	0.1	1.0	1.0	-	25	дрожжи- 500, с консервантами- 200 КОЕ/г плесени- 50 КОЕ/г, не более
<i>Горячие блюда из творога, из мяса:</i>							
- вареники ленивые	5x10 ²	1.0	-	1.0	-	25	
- сырники	1x10 ³	1.0		1.0	0.1	25	

Группа продуктов	Кол-во МАФАММ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г/см ³), в которой не допускаются					Примечание
		БГКП (колиформы)	E. coli	S. aureus	Proteus	Патогенные, сальмонеллы	
<i>Салаты из сырых овощей и фруктов</i>							
творожные, запеканки, пудинг							
- мясо тушеное, жареное, пловы, пельмени	1x10 ³	1.0	-	1.0	0.1	25	
Компоты, кисели	5x10 ²	1.0	-	1.0	-	25	

Таблица 2 – Микробиологические показатели безопасности (промышленная стерильность) полных консервов групп А и Б

Микроорганизмы, выявленные в консервах	Консервы общего назначения	Консервы детского и диетического питания
1. Спорообразующие мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы группы <i>B. subtilis</i>	Отвечают требованиям промышленной стерильности. В случае определения количества этих микроорганизмов оно должно быть не более 11 клеток в 1 г (см ³) продукта	
2. Спорообразующие мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы группы <i>B.cereus</i> (или) <i>B.polymyxa</i>	Не отвечают требованиям промышленной стерильности	
3. Мезофильные клостридии	Отвечают требованиям промышленной стерильности, если выявленные мезофильные клостридии не относятся к <i>Cl.botulinum</i> и (или) <i>Cl.perfringens</i> . В случае определения мезофильных клостридий их количество должно быть не более 1 клетки в 1 г (см ³)	Не отвечают требованиям промышленной стерильности при обнаружении в 10 г см ³) продукта
4. Неспорообразующие микроорганизмы и (или) плесневые грибы, и (или) дрожжи	Не отвечают требованиям промышленной стерильности	
5. Плесневые грибы, дрожжи, молочнокислые микроорганизмы (при посеве на эти группы)		Не отвечают требованиям промышленной стерильности
6. Спорообразующие термофильные анаэробные, аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы	Отвечают требованиям промышленной стерильности, но температура хранения не должна быть выше 20 °С.	Не отвечают требованиям промышленной стерильности



	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 36/51

Таблица 3 – Допустимое количество МАФАНМ в консервах до стерилизации

Наименование консервов	Допустимое количество МАФАНМ в 1 г (см ³) продукта, КОЕ, не более
Рыбные консервы с предварительной термообработкой сырья в томатном соусе, в масле, рыба растительные	1.0×10^4
Рыбные консервы без предварительной термообработки сырья – натуральные, в томатном соусе, натуральные с добавлением масла, «Уха», тушенка	8.0×10^4
Фарши, пудинги, паштеты, рыба растительные фаршковые: - с предварительной термообработкой сырья - без предварительной термообработки сырья - паштеты из копченой рыбы	5.0×10^4 1.0×10^5 3.0×10^5

Ссылка на нормативный документ: Инструкция о порядке санитарно-технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания; утверждена Госкомсанэпиднадзором России, 21 июля 1992 г. № 01-19/9-11.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 37/51

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

1 Микроорганизмы, влияющие на качество продовольственного сырья и пищевых продуктов

Во время хранения сырье и продукты подвергаются порче вследствие попадания и развития в них микроорганизмов. Видовой состав микроорганизмов, выделяемый из пищевых продуктов, весьма разнообразен (гнилостные бактерии, плесневые грибы, дрожжи, актиномицеты, микрококки, молочнокислые, маслянокислые бактерии).

Наряду с сапрофитными микроорганизмами в продуктах обнаруживают патогенные и условно-патогенные микроорганизмы – возбудители пищевых отравлений.

Попав в продукт и обильно размножаясь в нем, сапрофитные микроорганизмы могут обусловить возникновение различных пороков: гниение, плесневение, ослизнение сырья и продуктов и др.

6.1. Гнилостные микроорганизмы

Гнилостные бактерии вызывают распад белков. В зависимости от глубины распада и образующихся конечных продуктов могут возникать различные пороки пищевых продуктов. Они встречаются в почве, воде, воздухе, на пищевых продуктах, а также в кишечнике человека и животных.


К гнилостным микроорганизмам относятся аэробные споровые и бесспоровые палочки, спорообразующие анаэробы, факультативно-анаэробные бесспоровые палочки.

1.1.1 Аэробные споровые палочки

Гнилостные аэробные споровые палочки *Bac. cereus*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megatherium*, *Bac. subtilis* наиболее часто вызывают пороки пищевых продуктов.

Bac. mycoides. Палочки (иногда образуют цепочки) длиной 1.2..6 мкм, шириной 0.8 мкм (рис. 1), подвижны до начала спорообразования (признак характерен для все гнилостных спорообразующих аэробов), образуют споры, капсул не образуют, по Граму красятся положительно (некоторые разновидности *Bac. mycoides* грамотрицательны).

Аэроб, на МПА вырастают корневидные колонии серо-белого цвета, напоминающие мицелий гриба. На росте на МПА все разновидности *Bac. mycoides*

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 38/51

образуют пленку и трудно разбирающийся осадок, бульон при этом остается прозрачным. Диапазон рН для роста и размножения *Vas. mycoides* широк. В интервале рН от 7 до 9.5 интенсивный рост дают все без исключения штаммы этого микроорганизма. Кислая среда приостанавливает развитие. Температурный оптимум для их развития 30...32 °С. Могут развиваться в широком диапазоне температур (от 10 до 45 °С).

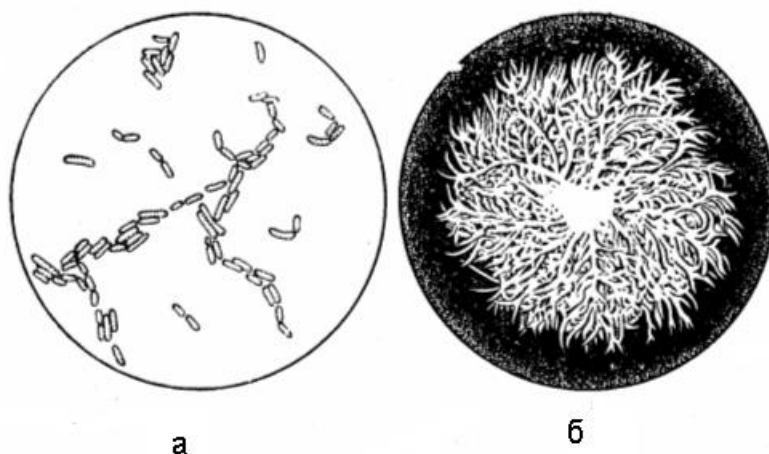


Рисунок – 1 *Vas. mycoides*
 а – клетки; б – колонии.

Ферментативные свойства *Vas. mycoides* ярко выражены: разжижает желатин, вызывает коагуляцию и пептонизацию молока. Выделяет аммиак, иногда сероводород, Индола не образует. Вызывает гидролиз крахмала, ферментирует углеводы (глюкозу, сахарозу, галактозу, лактозу) но не расщепляет маннита. Расщепляет глицерин.

Vac. mesentericus. Грубая палочка с закругленными концами длиной 1.6...6 мкм, шириной 0.5...0.6 мкм (рисунок – 2), подвижна, образует споры, капсул не образует, грамположительна.

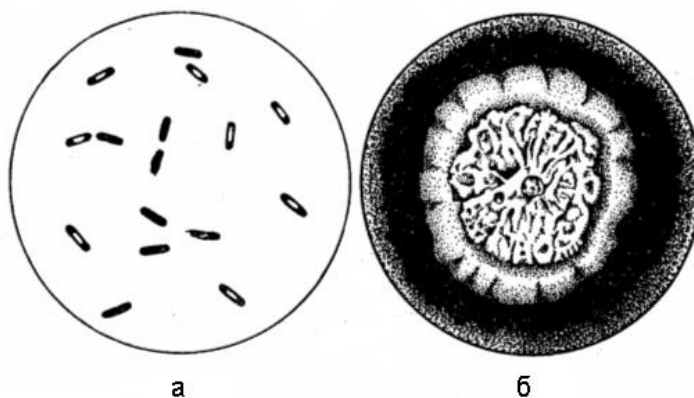



Рисунок – 2 *Vac. mesentericus*
 а – клетки; б – колонии.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 39/51

Аэроб, на МПА вырастают сочные, с морщинистой поверхностью, слизистые колонии матового цвета (серо-белые) с волнистым краем. Вызывает слабое помутнение МПБ и образование пленки. Оптимальная реакция рН = 6.5...7.5, при рН = 5.0 жизнедеятельность приостанавливается. Оптимальная температура роста 36-45⁰С.

Разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко. При разложении белков выделяет много сероводорода. Индол не образует. Вызывает гидролиз крахмала. Не ферментирует глюкозу и лактозу.

Bac. megatherium. Грубая палочка размером 3.5...7 x 1.5...2 мкм. Располагается одиночно, попарно или цепочками, подвижна. Формирует споры, капсул не образует, грамположительна.

Аэроб, на МПА вырастают колонии матового цвета (серо-белые). Гладкие, блестящие, с ровными краями. Вызывает помутнение МПБ с появлением незначительного осадка. Микроб чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 25...30⁰С.

Быстро разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко. При разложении белков выделяет сероводород, аммиак, но не образует индола. Вызывает гидролиз крахмала. На средах с глюкозой и лактозой дает кислую реакцию.

Bac. subtilis. Короткая палочка с закругленными концами, размером 3 ... 5 x 0.6 мкм, иногда располагается цепочками, подвижна, образует споры, капсул не образует, грамположительна.

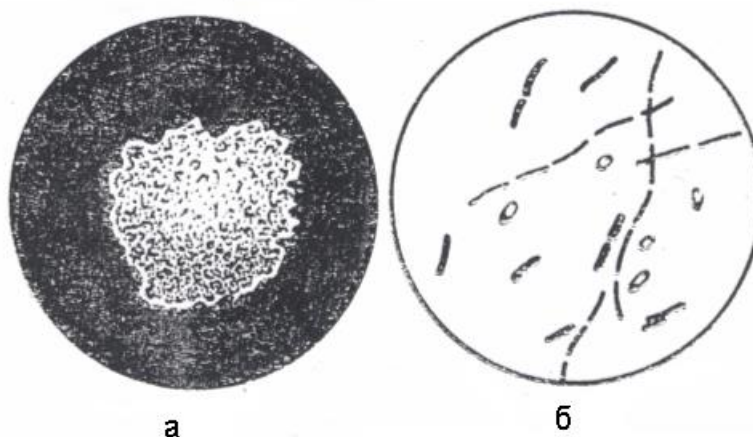



Рисунок – 3 *Bac. subtilis*
 а – клетки; б – колонии.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 40/51

Аэроб, при росте на МПА формируются сухие бугристые колонии матового цвета. В жидких средах на поверхности появляется морщинистая беловатая пленка. МПБ вначале мутнеет, а затем становится прозрачным. Вызывает посинение лакмусового молока. Микроб чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 37⁰С, но может развиваться и при температурах несколько выше 0⁰С.

Характеризуется высокой протеолитической активностью: разжижает желатин; свертывает и пептонизирует молоко; выделяет большое количество аммиака, иногда сероводород, но не образует индола. Вызывает гидролиз крахмала, разлагает глицерин; дает кислую реакцию на средах с глюкозой, лактозой, сахарозой.

1.1.2 Аэробные бесспорные палочки

Наибольшее влияние на качество пищевых продуктов оказывают следующие бактерии этой группы: *Bacterium prodigiosum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas ruosyanea* (*aeruginosa*).


Bacterium prodigiosum (*Serratia marcescens*) – очень мелкая палочка (1 x 0.5 мкм), подвижная, спор и капсул не образует.

Строгий аэроб, на МПА вырастают мелкие, круглые, ярко-красные, блестящие, сочные колонии. Низкие температуры наиболее благоприятны для образования пигмента. Пигмент не растворим в воде, но растворим в хлороформе, спирте, эфире, бензине. При росте в жидких средах также образует красный пигмент. Развивается при рН 6.5. Оптимальная температура развития 25⁰С (может расти и при 20⁰С).

Разжижает желатин послойно, молоко свертывает и пептонизирует; образует аммиак, иногда сероводород и индол; глюкозу и лактозу не ферментатирует.

Pseudomonas fluorescens. Небольшая тонкая палочка размером 1-2 x 0.6 мкм (рисунок – 4), подвижная, спор и капсул не образует, грамотрицательная.

Строгий аэроб, но встречаются разновидности, которые могут развиваться и при недостатке кислорода. На МПА и других плотных питательных средах вырастают сочные, блестящие колонии, имеющие тенденции. К слиянию и образованию зеленовато-желтого пигмента нерастворимого в воде; на жидких средах они также образуют пигмент. МПБ мутнеет, иногда появляется пленка. Чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 25⁰С, но может развиваться и при 5...8⁰С.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 41/51

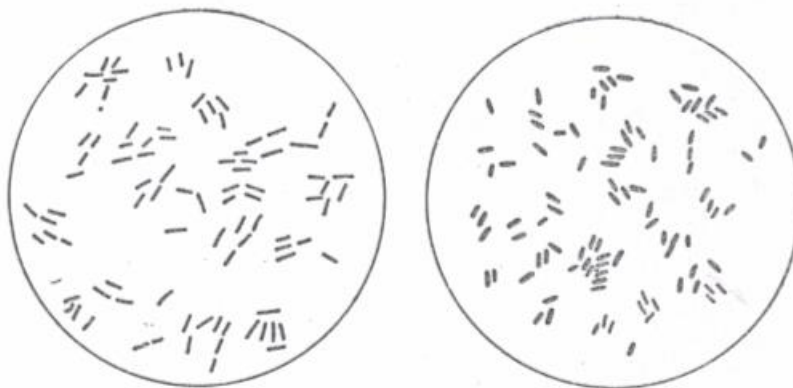


Рисунок – 4 *Ps. fluorescens*


Рисунок – 5 *Ps. pyocyanea*

Характеризуется высокой ферментативной активностью: разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко, лакмусовое молоко синеет. Образует сероводород и аммиак, не образует индола; большинство из них способны расщеплять клетчатку и крахмал. Многие штаммы *Pseudomonas fluorescens* продуцируют ферменты липазу и лецитиназу; дают положительные реакции на каталазу, оксидазу. *Pseudomonas fluorescens* – сильные аммонификаторы. Глюкозу и лактозу не ферментатируют.

Pseudomonas pyocyanea (aeruginosa). Небольшая палочка (2...3 x 0.6 мкм), подвижна, спор и капсул не образует, грамотрицательна (рисунок – 5).

Аэроб, на МПА дает расплывчатые, непрозрачные, окрашенные в зеленовато-синий или бирюзово-синий цвет колонии вследствие образования пигментов, растворимых в хлороформе. Вызывает помутнение МПБ (иногда появление пленки) и образование пигментов (желтого – флюоресцина и голубого - пиоцианина).

Как и все гнилостные бактерии, чувствителен к кислой реакции среды. Оптимальная температура развития 37 °С. Быстро разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко; лакмус синеет, образует аммиак и сероводород, не образует индола. Обладает липолитической способностью; дает положительные реакции на каталазу, оксидазу (эти свойства присущи представителям рода *Pseudomonas*). Некоторые штаммы расщепляют крахмал и клетчатку. Лактозу и сахарозу не ферментатирует.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 42/51

1.1.3 Спорообразующие анаэробы

Наиболее часто вызывает порчу пищевых продуктов *Clostridium putrificus* и *Clostridium sporogenes*, которые широко распространены в природе.

Clostridium putrificus. Длинная палочка (7...9 x 0.4...0.7 мкм), подвижна (иногда образует цепочки, формирует шаровидные споры, размер которых превышает диаметр вегетативной формы (рисунок – 6).

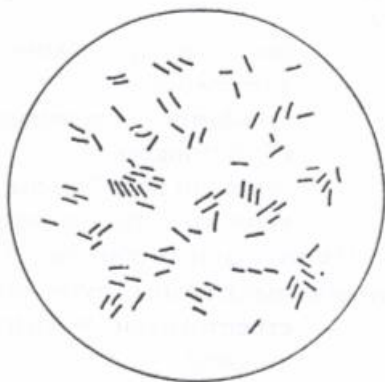


Рисунок – 6 *Clostridium putrificus*


Термоустойчивость спор довольно высокая; капсул не образует; по Граму красятся положительно Анаэроб, колонии на агаре имеют вид клубка волос, непрозрачные, вязкие; вызывает помутнение МПБ.

Протелитические свойства ярко выражены. Разжижает желатин, молоко свертывает и пептонизирует, образует сероводород, аммиак, индол; вызывает почернение мозговой среды, обладает липолитическими свойствами; не обладает сахаролитическими свойствами.

Clostridium sporogenes Круглая палочка с закругленными концами, размером 3-7 x 0.6-0.9 мкм, располагается отдельными клетками и в виде цепочек, подвижна, очень быстро образует споры.

Споры *Cl. sporogenes* сохраняют жизнеспособность после 30-минутного нагревания на водяной бане, а также после 20-минутной стерилизации в автоклаве при 120 °С. Капсул не образует. По Граму красится положительно. Анаэроб, колонии на агаре мелкие, прозрачные, в дальнейшем становятся непрозрачными.

Cl. sporogenes обладает очень сильными протелитическими свойствами, обуславливающими гнилостный распад белков с образованием газов. Разжижает желатин; вызывает пептонизацию молока и почернение мозговой среды; образует сероводород; разлагает с образованием кислоты и газа галактозу, мальтозу, декстрин, глицерин, маннит, сорбит. Оптимальная температура роста 37 °С, но может расти и при 50 °С.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 43/51

1.1.4 Факультативно-анаэробные бесспорные палочки

К факультативно-анаэробным бесспорным палочкам относятся *Proteus vulgaris* и *Escherichia coli*.

Бактерии группы кишечных палочек. Наиболее характерным представителем этой группы является – *Escherichia coli*. Это короткие (длина 1...3 мкм, ширина 0.5...0.8 мкм) полиморфные подвижные и неподвижные палочки, не образующие спор. На МПБ бактерии дают обильный рост при незначительном помутнении среды; осадок небольшой, сероватого цвета, легко разбирающийся. Образуют пристеночное кольцо, пленка на поверхности бульона обычно отсутствует. На МПА колонии прозрачные с серовато-голубым отливом, легко сливающиеся между собой. На среде Эндо образуют плоские красные колонии средней величины (*E. coli* образуют красные колонии с темным металлическим блеском).

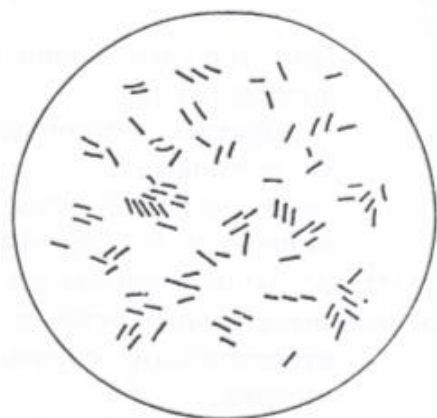



Рисунок – 7 *Escherichia coli*

Большинство бактерий группы кишечных палочек не разжижают желатин, свертывают молоко, расщепляют пептоны с образованием аминов, аммиак, сероводорода, обладают высокой ферментативной активностью в отношении лактозы, глюкозы и других сахаров, а также спирта. Бактерии обезвреживаются обычными методами пастеризации (63..75 °С), 1%-ный раствор фенола вызывает гибель микроба через 5...15 минут.

Бактерии рода *Escherichia* являются постоянными обитателями кишечника человека и животных, и обнаружение их в воде, почве, на пищевых продуктах свидетельствует о свежем фекальном загрязнении этих объектов. Это имеет большое санитарное и эпидемиологическое значение.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 44/51

Proteus vuldaris. Относится к бактериям рода *Proteus* – полиморфные палочки размером 0.5...0.6 x 1.2...3 мкм, подвижны (перитрихи), грамотрицательные, не образуют спор и капсул (рисунок – 8). Факультативные анаэробы.

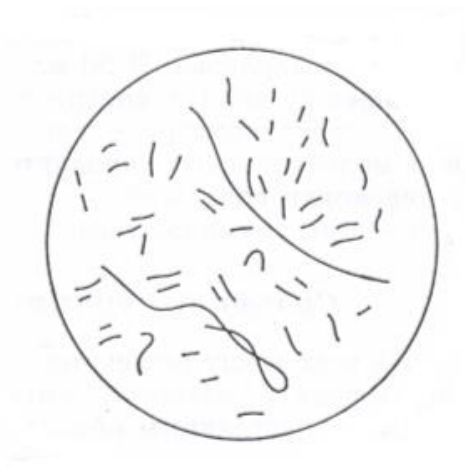


Рисунок – 8 - *Proteus vuldaris*

Микроб хорошо культивируется. На плотных углеводных средах (Эндо) дают прозрачные, округлые колонии. Бактерии рода *Proteus* сбраживают глюкозу с выделением кислоты и газа, не ферментируют лактозу и маннит, расщепляют мочевины. *Proteus vuldaris* обладают протелитической активностью, разжижают желатин; выделяют сероводород, образует индол, сбраживает мальтозу. Бактерии рода *Proteus* погибают при 60 °С в течение 1 часа, при 80 °С – за 5 минут.

Proteus устойчивы к низким температурам, переносят трехкратное попеременное замораживание и оттаивание. 1 %-ный раствор фенола вызывает гибель протея через 30 минут.

Proteus vuldaris в небольшом количестве встречается как в кишечнике человека и животного, так и во внешней среде. Он является возбудителем гнилостных процессов в природе. Обнаружение протея в пищевых продуктах свидетельствует о гнилостном процессе.

Доброкачественные продукты: колбасные изделия, студни, жареная птица, кулинарные изделия из рубленого мяса – не должны содержать бактерий рода *Proteus*.

1.2 Плесневые грибы

Плесневые грибы постоянно обитают в воздухе, почве, навозе, на поверхности различных предметов, стен сырых помещений и др. От бактерий они отличаются более сложным строением и способом размножения.

Плесневые грибы, у которых мицелий не септирован, называются фикомицетами, а те у которых септирован - микромицетами. От мицелия отрастают воздушные гифы - спорангиеносцы или конидиеносцы. У низших грибов спорангиеносцы заканчиваются спорангиями с эндогенно-развивающимися в них спорами. У микромицетов и у некоторых фикомицетов от мицелия отходят

конидиеносцы с экзогенно-развивающимися на них спорами (конидиями). У грибов со слабо развитым мицелием конидии образуются в результате перешнуровывания и почкования клеток (рисунок – 9).

Плесневые грибы на поверхности субстрата дают ползучие, стелющиеся, бархатистые, пушистые, войлокообразные колонии, которые сливаются в сплошной налет. Плесневые грибы имеют характерный, очень часто неприятный запах.

Наиболее благоприятные условия для их развития – свободный доступ кислорода и кислая реакция среды.

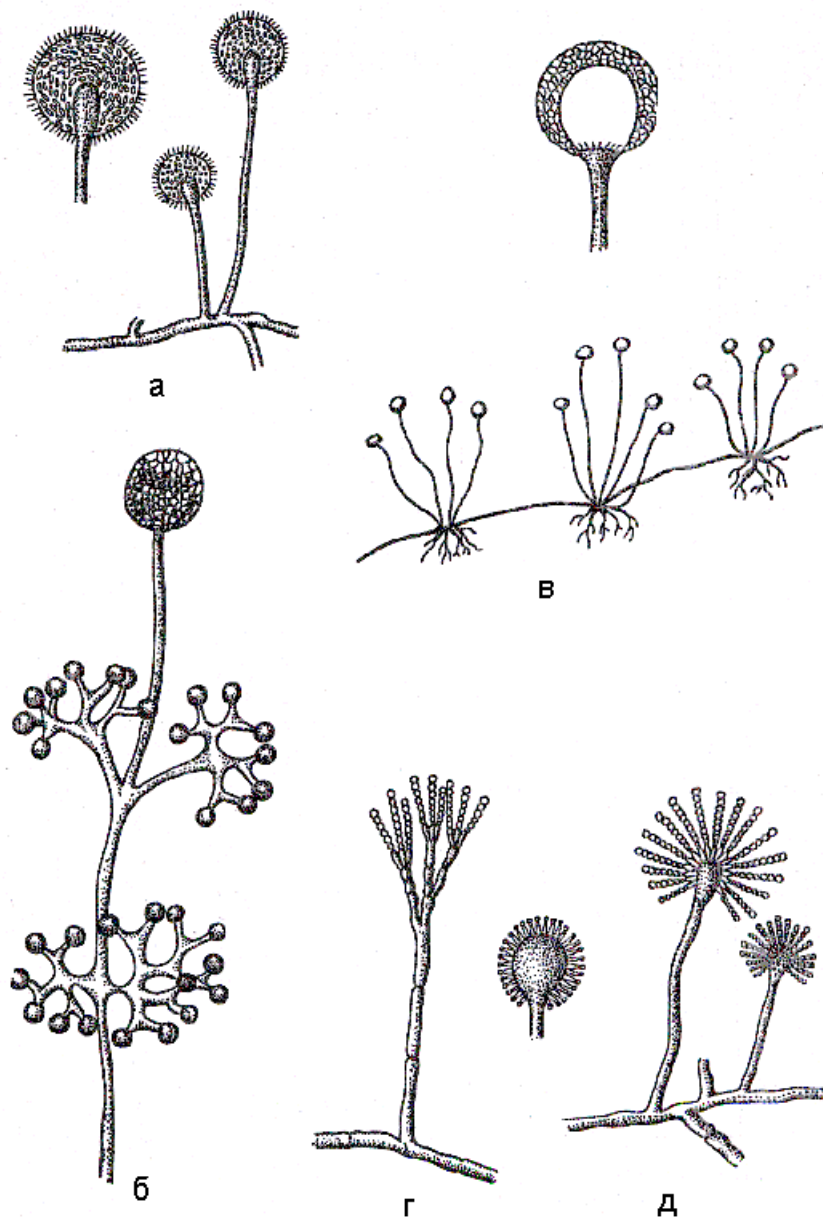



Рисунок – 9 Плесневые грибы
 а - Mucor; б - Thamnidium; в - Rhizopus; г - Penicillium; д - Aspergillus

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 46/51

Они могут развиваться и при влажности окружающей среды 10...15 %, pH от 1.5 до 11 единиц, при температуре до минус 11⁰С, высоком осмотическом давлении, а отдельные виды плесневых грибов - и при ограниченном доступе кислорода.

Плесневые грибы обладают ферментативной активностью (протелитической, липолитической и др.). Они являются возбудителями пороков пищевых продуктов, так как вызывают глубокий распад белков и белковых веществ, разлагают жиры до жирных кислот, альдегидов и кетонов. При их развитии происходит плесневение и ослизнение мяса, сопровождающиеся химическими превращениями, которые обуславливают изменения его запаха и вкуса. При этом снижается товарный вид мяса.

При хранении мяса и мясных продуктов размножаются плесневые грибы (некоторые развиваются даже при –10⁰С), относящиеся к следующим классам:

- фикомицетов (Phycomycetes), характеризующихся хорошо развитым многоядерным одноклеточным мицелием (мукоровые грибы);
- сумчатых грибов (или аскомицетов - Ascomycetes) с хорошо выраженным септированным мицелием – род *Aspergillus* и род *Penicillium*;
- высших несовершенных грибов (Fungi imperfecti), мицелий у которых большей частью септирован (многоклеточный). К высшим несовершенным грибам относят гроздевидную плесень *Cladosporium*, молочную плесень *Oidium lactis* и др.


Фикомицеты (Мукоровые грибы). Класс Phycomycetes, порядок Mucorales, семейство Mucoraceae. Из этого семейства в мясе чаще всего развиваются плесени трех родов: *Mucor*, *Thamnidium*, *Rhizopus* (рис.9, а, б, в).

Плесени семейства Mucoraceae растут на субстрате вначале в виде паутинного, а затем пушистого налета серовато-дымчатого цвета, иногда сильно поднимающегося над субстратом.

Mucor и *Rhizopus* прекращают рост при температуре минус 5...8⁰С, а *Thamnidium* при минус 8⁰С.

Сумчатые и плесневые грибы (аскомицеты). К ним относятся род *Penicillium* и род *Aspergillus*.

Penicillium (рисунок – 9, г) – кистевик, имеет ветвящийся, бесцветный септированный мицелий. Сначала над субстратом вырастают белые, расходящиеся от центра нити, которые, разрастаясь, образуют отдельные колонии. *Penicillium* обычно очень быстро формирует споры, в результате чего поверхность продукта становится порошистой, серовато-голубовато-зеленоватого цвета. Этот плесневый гриб

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 47/51

развивается на продуктах, находящихся в сырых, плохо вентилируемых помещениях. Хорошо развивается при температуре, близкой к 0 °С.

Aspergillus (рисунок – 9, д) – леечная плесень. По внешнему виду сходен с *Penicillium*. Мицелий септированный, в большинстве случаев образует окрашенные в черный цвет конидии. Это гриб вызывает порчу мясных и молочных продуктов.

Высшие несовершенные грибы. Мицелий септирован, полового размножения у них не установлено. На этом основании их выделили в группу несовершенных грибов. К ним относятся: гроздевидная (*Cladosporium*), молочная (*Oidium lactis*) плесени, *Botrytis*, *Alternaria*, *Phoma*.

Cladosporium – на поверхности субстрата образует черные бархатные пятна (рисунок – 10, а). Хорошо растет при низких температурах и обладает высокой протели-тической активностью. Попадая на мясо, эта плесень может проникать в толщу мышечной ткани.

Alternaria – конидиеносцы короткие, простые, реже ветвистые, окрашенные в оливковый или черный цвет (рисунок – 10, в). Плесени этого вида могут развиваться на поверхности охлажденного и замороженного мяса.

Phoma. Этот плесневый гриб наружного мицелия не образует, в основном развивается внутри гниющего субстрата.

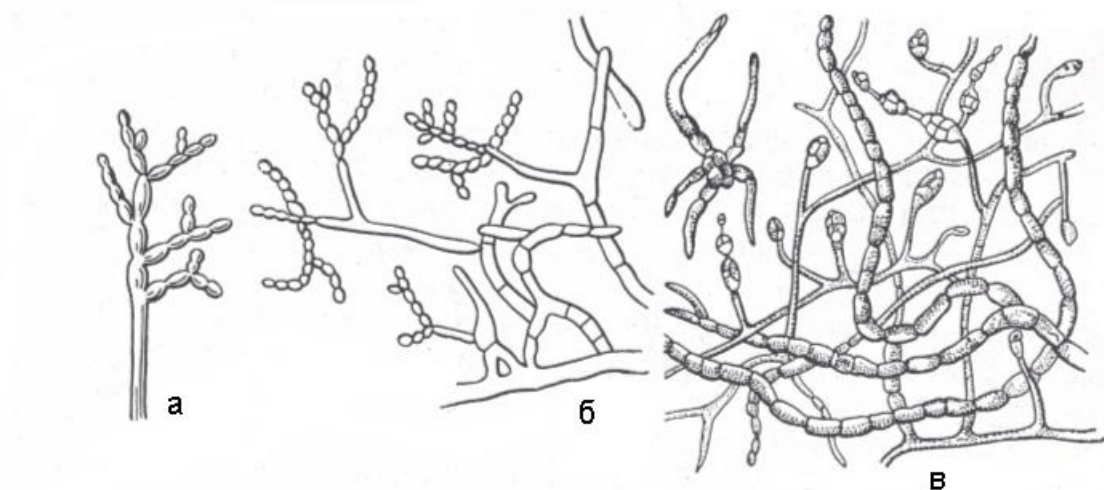



Рисунок – 10 Несовершенные грибы:
 а - *Cladosporium*; б - *Oidium lactis*; в - *Alternaria*

1.3 Дрожжи

Дрожжи - факультативные анаэробы, лучше развиваются в кислой среде, оптимальная температура развития 20...30 °С, но многие из них способны развиваться

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 48/51

и при -10°C . Вегетативные формы дрожжей погибают при $60...65^{\circ}\text{C}$, а споры – при $70...75^{\circ}\text{C}$. Они широко распространены в природе: в почве, на растениях, в кормах, в воздухе, - откуда попадают на пищевые продукты.

Дрожжи, попадая на мясо и развиваясь в нем, используют молочную кислоту, изменяют pH мяса, а также портят его товарный вид. При воздействии дрожжей на жиры образуются свободные жирные кислоты, что ведет к прогорканию продукта. Липолитической способностью обладают многие виды дрожжей, растущих на мясе. Дрожжи рода *Candida* и *Torulopsis* гнилостной порчи продуктов не вызывают, но в результате плесневения и ослизнения мяса при развитии на нем дрожжей сокращаются сроки его хранения в охлажденном и замороженном состоянии.

Представителей рода *Debarymyces* выделяют из мяса, колбас и других продуктов. Характерной особенностью этих дрожжей является их способность развиваться в средах с 24 % NaCl и возможность использовать белковые вещества мясных сред. Единичные клетки могут остаться в консервируемом продукте при нарушении процесса тепловой обработки. Они также могут обнаруживаться в готовых консервах, если тара оказалась негерметичной.

1.4 Актиномицеты

Актиномицеты (*Actinomycetales*), или лучистые грибы, - довольно распространенная группа микроорганизмов, сходных с бактериями и низшими грибами. Актиномицеты – организмы с нитевидным строением, их мицелий не септирован (не разделен перегородками). Споры формируются на ветках воздушного мицелия. Ширина и толщина мицелия, как и у бактерий, не превышает $0.5...1.2$ мкм. Они грамположительны, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями.

Актиномицеты обычно развиваются на плотных питательных средах, образуя небольшие, округлые, плотные, почти роговидные, прочно врастающие в среду колонии. Воздушные споры придают колониям актиномицетов характерный вид (они как бы посыпаны мелом). Определенные виды способны образовывать пигменты (синие, желтые, розовые и др.). Некоторые разновидности являются продуцентами антибиотиков. Большинство видов хорошо развивается при $25...30^{\circ}\text{C}$, для патогенных же видов температурный оптимум составляет $37...40^{\circ}\text{C}$. Актиномицеты широко распространены в природе – одни из наиболее многочисленных гнилостных микроорганизмов. Они способны вызывать гниение белковых субстратов, гидролиз жира. Так, причиной неприятного землистого запаха могут быть развивающиеся на мясе актиномицеты, которые хорошо растут при $-2; -3^{\circ}\text{C}$.

1.5 Маслянокислые бактерии

К маслянокислым бактериям относятся *Clostridium saccharobutyricum*, *Clostridium pasteurianum*. Это палочки цилиндрической формы, длиной от 4...5 до 7...12 и толщиной 0.5...1.5 мкм (рисунок – 11). Подвижны, образуют споры, капсул не образуют. Грамположительны. Перед образованием спор в них накапливается гранулеза (крахмалоподобное вещество), которое окрашивается йодом в синий цвет. Спора чаще всего располагается в центре клетки, и ее диаметр превышает размер вегетативной формы клетки. Клетка приобретает форму веретена (кlostридии); иногда спора располагается на конце клетки, форма которой приобретает вид ракетки (плектридии).

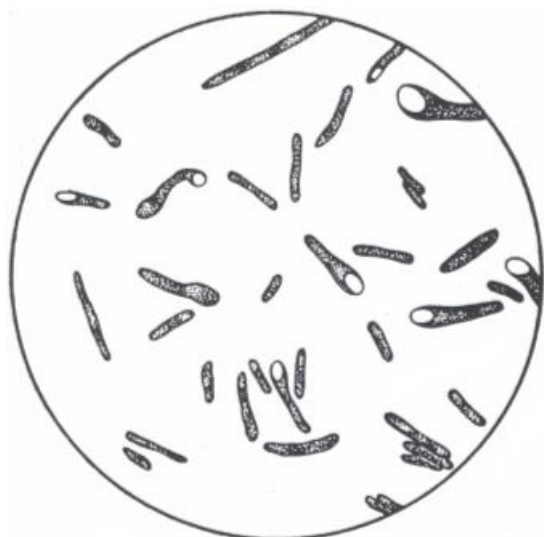



Рисунок – 11 – Маслянокислые бактерии

Споры выносят кипячение в течение 1...2 минут и не погибают при пастеризации. Относятся к анаэробам. Оптимальная температура развития 30...35 °С, минимальная 8...10 °С, максимальная 45 °С. Отличительные признаки этих бактерий: бурное газообразование при их развитии, неприятный запах масляной кислоты. Маслянокислые бактерии сбраживают молочный сахар и расщепляют соли молочной кислоты. При этом образуется пропионовая, муравьиная кислота и небольшое количество спирта.

Маслянокислые бактерии способны усваивать белковый, аминокислотный и аммонийный азот, а некоторые даже азот воздуха. Они чувствительны к кислой реакции среды.


Clostridium saccharobutyricum. Это строгий анаэроб, оптимальная температура развития 30...40 °С. Сбраживает многие углеводы (гексозы, пентозы, дисахариды, крахмал) и близкие к ним соединения с выделением водорода, углекислого газа и масляной кислоты.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 50/51

Clostridium pasteurianum. Он способен усваивать атмосферный азот. По многим признакам сходен с *Cl. saccharobutyricum*, но отличается тем, что не сбраживает крахмала.

Маслянокислые бактерии часто являются причиной порчи различных консервов (мясных, рыбных, овощных и др.) и длительно хранящихся молочных продуктов (сыр, творог, сливки и др.), так как в них постепенно снижается кислотность в результате разложения белков.

Споры маслянокислых бактерий термоустойчивы.

	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
МО-43 02 15-ОП.01. ЛЗ	МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ ПИТАНИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С. 51/51

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Рубина, Е.А. Микробиология, физиология питания, санитария [Текст]: учебное пособие/ Е.А. Рубина, В.Ф.Малыгина. - М.: ФОРУМ; М.: ИНФРА-М, 2020.
- 2.Мартинчик А.Н. Микробиология, физиология, санитария: учебник для студ. Учреждений сред. проф. образования. М.: Издательский центр «Академия», 2020
- 3.Матюхина З.П. Основы фитологии питания, микробиологии, гигиены и санитарии: - М.: Издательский центр «Академия», 2021.
- 4.Качурина Т.А. Основы физиологии питания, санитарии и гигиены – М.: Издательский центр «Академия», 2020.
- 5.Сборник рецептур блюд и кулинарных изделий для предприятий общественного питания, 2020
- 6.Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания. И.М. Скурихин, В.А. Тутельян, М., 2020
7. Гигиена и экология человека [Электронный ресурс]: учебник / ред. Н. А. Матвеева. - М.: КНОРУС, 2020.