



Федеральное агентство по рыболовству
БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»

Калининградский морской рыбопромышленный колледж

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

ОП.03 МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА

Методическое пособие для выполнения практических занятий
по специальности

35.02.09 Водные биоресурсы и аквакультура

МО-35 02 09-ОП.03.ПЗ

РАЗРАБОТЧИК

Морозова Н.А.

ЗАВЕДУЮЩИЙ ОТДЕЛЕНИЕМ

Судьбина Н.А.

ГОД РАЗРАБОТКИ

2025

Содержание

Введение.....	3
Перечень практических занятий.....	5
Тема 1 Общая морфология микроорганизмов	Ошибка! Закладка не определена.
Практическое занятие № 1 Правила работы и оборудование микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа	5
Практическое занятие № 2-3 Исследование основных форм бактерий. Способы окрашивания клеток	7
Практическое занятие № 4 Морфология плесневых грибов и дрожжей	10
Практическое занятие № 5 Подготовка посуды, материалов к стерилизации. Приготовление питательных сред. Методы стерилизации посуды, материалов, питательных сред.....	14
Тема 1.4 Ферментативная деятельность микроорганизмов	17
Практическое занятие № 6-7. Исследование микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения. Количественное определение молочной кислоты.....	18
Тема 2 Микробиологический контроль производства продукции из водных биоресурсов	20
Практическое занятие №8 Микробиологические исследования сырья водных биоресурсов.....	20
Практическое занятие № 9 Количественные методы определения бактериальной обсемененности сырья. Микробиологические исследования выросших посевов.....	23
Тема 2.2. Производственная санитария на предприятиях аквакультуры.	27
Практическое занятие №10 Санитарно-бактериологический анализ воздуха.	27
Практическое занятие №11 Микробиологические и химические методы анализа воды. Отбор проб и посев микроорганизмов воды	30
Практическое занятие № 12 Санитарно-бактериологический анализ воды.....	33
Практическое занятие № 13 Санитарно-микробиологические исследования смывов с рук, одежды, инвентаря и оборудования	36
Приложение 1	41
Приложение 2	43
Приложение 3	46
Литература	59

МО-35 02 10-ОП.03.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С.3/58

ВВЕДЕНИЕ

Методическое пособие составлено в соответствии с рабочей программой ОП.03 МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА.

Рабочей программой дисциплины «Микробиология, санитария и гигиена» предусмотрено выполнение 11 практических занятий.

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

Перед проведением практических 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 занятии проводится фронтальная беседа, цель которой – проверить готовность группы к выполнению лабораторной работы.

На первом 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 студент 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 (практического 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 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.

ПЕРЕЧЕНЬ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

№ п/п	Практические занятия	Кол-во часов
1	Практическое занятие № 1 Правила работы и оборудование микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа	2
2	Практическое занятие № 2-3 Исследование основных форм бактерий. Способы окрашивания клеток	4
3.	Практическое занятие № 4 Морфология плесневых грибов и дрожжей	4
4.	Практическое занятие № 5 Подготовка посуды и материалов к стерилизации. Приготовление питательных сред. Методы стерилизации посуды, материалов, питательных сред	2
5.	Практическое занятие № 6-7 Исследование микроорганизмов, вызывающих различные виды брожения. Количественное определение молочной кислоты	4
6.	Практическое занятие № 8 Микробиологические исследования сырья водных биоресурсов	2
7	Практическое занятие № 9 Количественные методы определения бактериальной обсемененности сырья. Микробиологические исследования выросших посевов	4
8	Практическое занятие № 10 Санитарно-бактериологический анализ воздуха	2
9	Практическое занятие № 11 Микробиологические и химические методы анализа воды. Отбор проб и посев микроорганизмов	2
10	Практическое занятие № 12 Санитарно-бактериологический анализ воды	2
11	Практическое занятие № 13 Санитарно-микробиологические исследования смывов с рук, одежды, инвентаря и оборудования	2
Всего		30

Тема 1 Общая 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 компетенций: ПК 2.4.

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 правила:

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 ($1 \text{ мкм} = 0.001 \text{ мм} = 10^{-6} \text{ м}$), 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

МО-35 02 10-ОП.03.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С.6/58

поле. Для изучения морфологических характеристик бактерий микрофотографируют с применением *масляной иммерсии* – объектив 15х90.

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

После окончания микрофотографирования 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.*

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 микрофотографируют с применением *масляной иммерсии* – объектив 15х90.

После окончания микрофотографирования 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.*

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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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?

Практическое занятие № 2-3 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 компетенций: ПК 2.4.

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 Граму

Способность бактерий окрашиваться по Граму 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 Граму 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 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*.

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 Граму.
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 Граму. 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 Граму. 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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 Граму?
10. В чем сущность сложной окраски по Граму?
11. Каково значение сложной окраски по Граму в пищевой промышленности?
12. Какие красители применяются для сложной окраски по Граму?

Практическое занятие №4 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 компетенций: ПК 2.4.

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 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 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 ИССЛЕДОВАНИЙ

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 Мисог. 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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 № 5 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: ПК 2.4

Материальное обеспечение:

Автоклав, сушильный шкаф, образцы сухих питательных сред, колбы круглые на 50 см³, мерные пипетки на 1 см³, 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, бутылках, закрытых ватными пробками
Жидкие и агаризованные среды, не содержащие сахаров и других веществ, разлагающихся при 120 °С	Автоклавирование	1 атм, 20 мин	То же
Жидкие и агаризованные среды, с сахарами и другими соединениями, не выдерживающими нагревания при 120 °С	Автоклавирование	0.5 атм, 15 – 30 мин	То же
Среды или компоненты сред, не выдерживающие нагревания выше 100 °С	Дробная стерилизация	Текущий 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 °С, 2 час	Завернутые в бумагу (отверстия пипеток закрыты ватными тампонами)
Колбы, пробирки, химические стаканы, флаконы, стеклянные центрифужные пробирки	Горячим воздухом	165 – 170 °С, 2 час	Закрытые ватными пробками
Держатели бактериальных фильтров, резиновые пробки и	Автоклавирование	1 атм, 20 мин	Завернутые в бумагу

шланги			
Центрифужные пробирки из термолабильных пластмасс	Ультрафиолетовыми лучами	Время экспозиции устанавливают экспериментально	Пробирки после 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 см³ РПА из сухого питательного агара, профильтровать через вату и разлить в стерильные пробирки по 20 см³, 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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?

МО-35 02 10-ОП.03.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С.17/58

5. Какие примеры элективных 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

Практическое занятие № 6-7 Исследование 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 компетенций: ПК 1.2., ПК 1.5.

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, молочнокислое, 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 *беспоровые 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 бесспорные 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 по *фуксину*, 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;

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

V – количество г молочной кислоты, соответствующее 1 мл 0.1 раствора едкой щелочи, $V = 0.0090$ 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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

Практическое занятие № 8 Микробиологические исследования сырья водных биоресурсов

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: 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, анилиновые красители для окраски по Граму, 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, сальмонелл и паразитических 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 Граму.
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 Граму. 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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 Граму?

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?

Практическое занятие №9 Количественные методы определения бактериальной обсемененности водных биоресурсов. Микробиологические исследования выросших посевов

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 компетенций: ПК 1.2., ПК 1.5.

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, анилиновые красители для окраски по Граму, 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 салмонеллы и содержание паразитических 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

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

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.

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

В отчет записать сущность метода, технику посевов.

Опыт 4 – 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 5 – 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:

$$МАФАНМ = \frac{a_1 * 10 + a_2 * 100 + a_3 * 1000 + \dots + a_n * 10^n}{m * n},$$

где

a₁, a₂, a₃, a_n – число колоний в чашке;

10, 100, 1000 – разведение;

n - количество чашек Петри;

m - масса навески продукта.

Обработку результатов культивирования проводят по ГОСТ 26670-85.

Опыт 6 – 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).

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

9. 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

1. В чем заключается влияние копильного дыма на микроорганизмы?
2. Что понимают под бактериостатическим действием копильного дыма?
3. Что понимают под бактерицидным действием копильного 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 Производственная санитария на предприятиях аквакультуры

Практическое занятие № 10 Санитарно-микробиологический анализ 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 компетенций: ПК 1.2, ПК 1.5, ПК 2.3.

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 см³ расплавленного и охлажденного до 45 °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).

3. Чашки Петри с посевами инкубировать в термостате 72 часа при температуре 30 °С.

4. 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		
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.

5. 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.

6. 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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 источников 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?

Практическое занятие №11 Микробиологические и химические методы анализа воды. Отбор проб воды и посев микроорганизмов 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 компетенций: ОК 02, ОК 05., ПК 1.2, ПК 1.5, ПК 2.3.

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, 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 °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 см³ 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 °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.

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/см³

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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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?

Практическое занятие № 12 Санитарно-бактериологический анализ 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 компетенций: ПК 1.2, ПК 1.5, ПК 2.3.

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, 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 °С в течение 24 часов, видимые с увеличением в 2 раза.

Ход выполнения работы:

1. 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 см³ 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 °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.

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/см³

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

МО-35 02 10-ОП.03.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С.35/58

Результаты исследования, зарисовки

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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 3.2 Производственная санитария на предприятиях аквакультуры

Практическое занятие № 13 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 компетенций: ПК 1.2, ПК 1.5, ПК 2.3.

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

Материальное обеспечение:

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

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 требованиям инструкций по микробиологическому контролю для пищевых производств допустимое количество КОЕ на 1 см² 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 см³ смыва (разведение 1:10) внести в чашку Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 °С агар (15-20 см³), 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.

3. Выполнить санитарные смывы с рук, соблюдая правила асептики.

Опыт 3 - Определение общего микробного числа

Техника анализа. 1 см³ смыва (разведение 1:10) внести в чашку Петри, влить расплавленный и охлажденный до 45 °С агар (15-20 см³), 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.

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

5. 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		
--	------------------	--	--

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

7. 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 студента и преподавателя.

Контрольные вопросы:

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, санодержки, 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?

МО-35 02 10-ОП.03.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С.39/58

11. Дать оценку чистоты рук, если при посеве 1 см² 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 см².

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 см².

14. Дать оценку санитарного состояния внутренней поверхности металлических банок, если при посеве 1 см³ смывной воды при разведении 1:1 в чашке на питательной среде выросло 20 колоний.

15. Дать оценку чистоты рук, если при посеве 1 см² смывной воды при разведении 1:10 в чашке Петри на питательной среде выросло 420 колоний м/о при отсутствии кишечной палочки.

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 х90. 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 Граму.

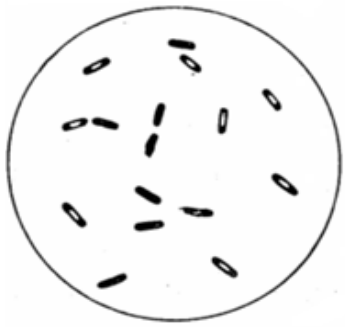
Пример записи в отчете. Приготовлен фиксированный окрашенный препарат из исследуемой колонии бактерий, окрашен *фуксином* (или произведена *сложная окраска по Граму*).

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 Граму* (грам «плюс» или грам «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).

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

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 загрязнителей. 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 (гексахлорциклопексан, 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:

- 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 рыбы и рыбных продуктов даны в таблице 1.

Таблица 1 – Микробиологические показатели безопасности

Индекс	Группа продуктов	КМАФАнМ КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются		Примечание
			БГКП (коли- формы)	Патогенные, в т.ч. салмонелл ы	
1.3.1.1	Рыба-сырец и рыба свежая	5x10 ⁴	0,01	25	
1.3.1.2	Рыба охлажд, мороженная	1x10 ⁵	0,01	25	
1.3.3.1	Рыба горячего копчения	1x10 ⁴	1,0	25	
1.3.3.2	Рыба холодного копчения	1x10 ⁴	0,1	25	плесени не более 50 КОЕ/г
1.3.3.5	Рыба вяленая	5x10 ⁴	0,1	25	
1.3.2.1	Пресервы п/п и спец/пос	1x10 ⁵	0,01	25	
1.3.2.2	Пресервы малосоленые	5x10 ⁴	0,01	25	
	Пресервы филе-кусочки в различных соусах, масле	2x10 ⁵	0,01	25	
6.1.1.1	Мясо свежее (все виды убойных животных):				Отбор проб из глубоких слоев
6.1.1.2	Мясо парное в отрубях (полутуши, четвертины)	10	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

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 x 10 ⁴
Рыбные консервы без предварительной термообработки сырья – натуральные, в томатном соусе, натуральные с добавлением масла, «Уха», тушенка	8.0 x 10 ⁴
Фарши, пудинги, паштеты, рыба растительные фаршевые:	
- с предварительной термообработкой сырья	5.0 x 10 ⁴
- без предварительной термообработки сырья	1.0 x 10 ⁵
- паштеты из копченой рыбы	3.0 x 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.

Микроорганизмы, влияющие на качество рыбного сырья и рыбных продуктов

Во время хранения сырье и продукты подвергаются порче вследствие попадания и развития в них микроорганизмов. Видовой состав микроорганизмов, выделяемый из рыбных 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 рыбы и др.

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 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* образуют пленку и трудно разбирающийся осадок, бульон при этом остается прозрачным. Диапазон pH для роста и размножения *Bac. mycoides* широк. В интервале pH 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).

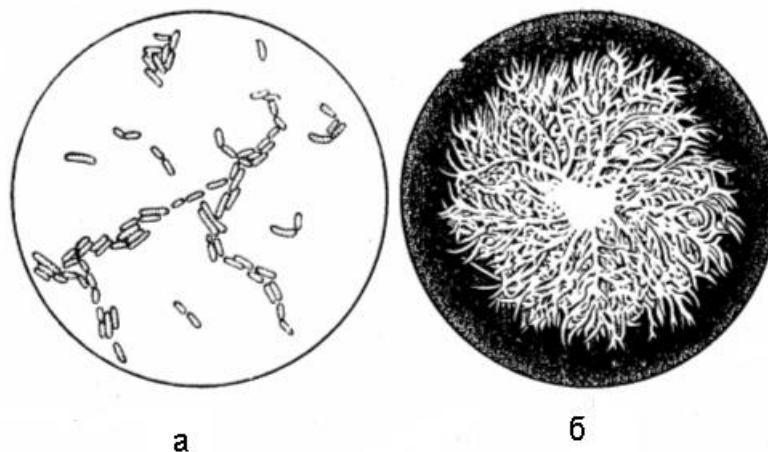


Рисунок – 1 *Bac. mycoides*
а – клетки; б – колонии.

Ферментативные свойства *Bac. 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.

Bac. 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.

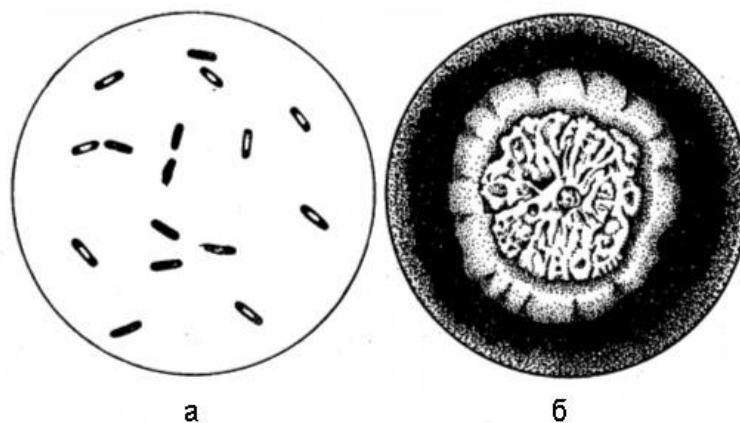


Рисунок – 2 *Bac. mesentericus*
а – клетки; б – колонии.

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 36-45°C.

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...30°C.

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.

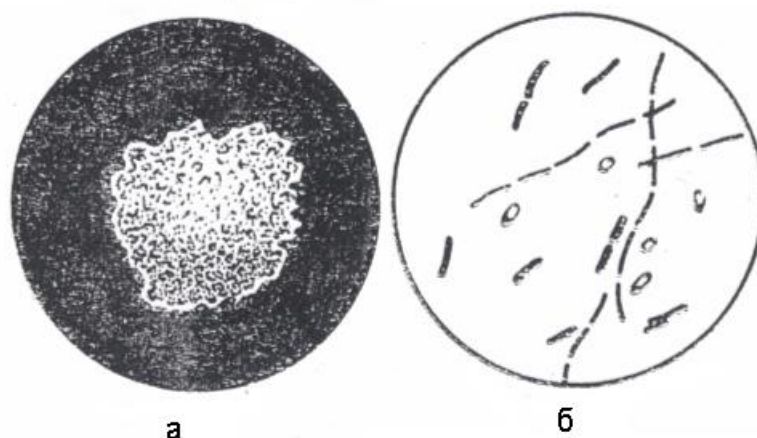


Рисунок – 3 *Bac. subtilis*
а – клетки; б – колонии.

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 37°C, но может развиваться и при температурах несколько выше 0 °C.

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.

1.2 Аэробные бесспорные палочки

Наибольшее влияние на качество пищевых продуктов оказывают следующие бактерии этой группы: *Bacterium prodigiosum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas pyocyanea* (*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 pH 6.5. Оптимальная температура развития 25 °C (может расти и при 20 °C).

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

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 25 °C, но может развиваться и при 5...8 °C.



Рисунок – 4 *Ps. fluorescens*

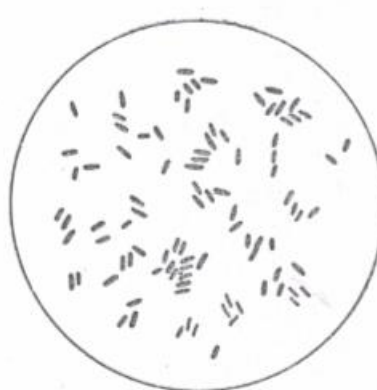


Рисунок – 5 *Ps. pyocyanea*

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

МО-35 02 10-ОП.03.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА	С.49/58

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.

1.1.1 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).

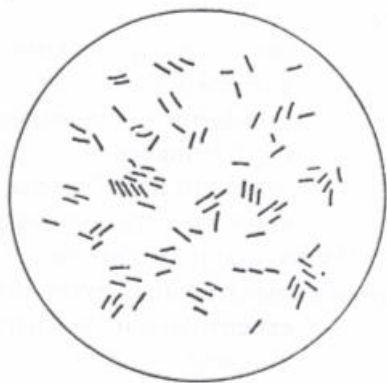


Рисунок – 6 *Clostridium putrificus*

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.

1.1.2 Факультативно-анаэробные бесспоровые палочки

К факультативно-анаэробным бесспоровым 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).

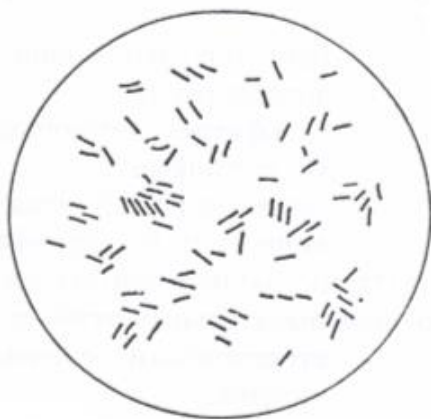


Рисунок – 7 *Escherichia coli*

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.

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.

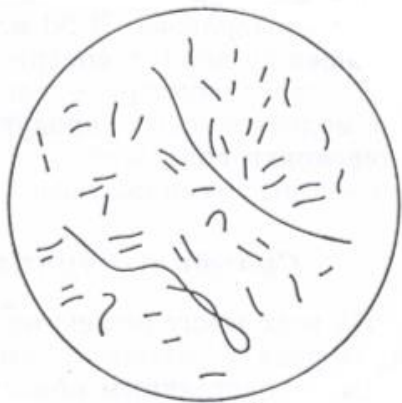


Рисунок – 8 - *Proteus vuldaris*

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 протей 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 протей 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.

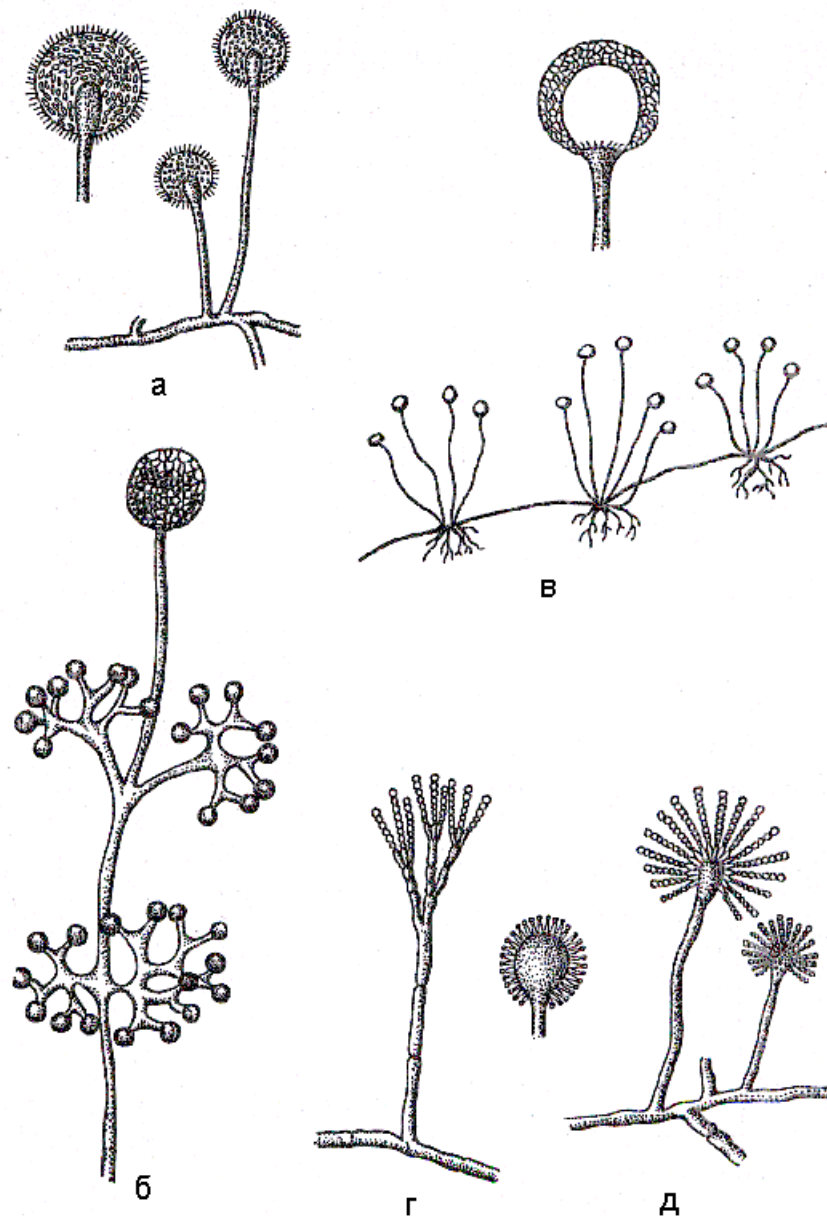


Рисунок – 9 Плесневые грибы
 а - Mucor; б - Thamnidium; в - Rhizopus; г - Penicillium; д - Aspergillus

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 –10 ⁰С), 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...8 ⁰С, а *Thamnidium* при минус 8 ⁰С.

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

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.

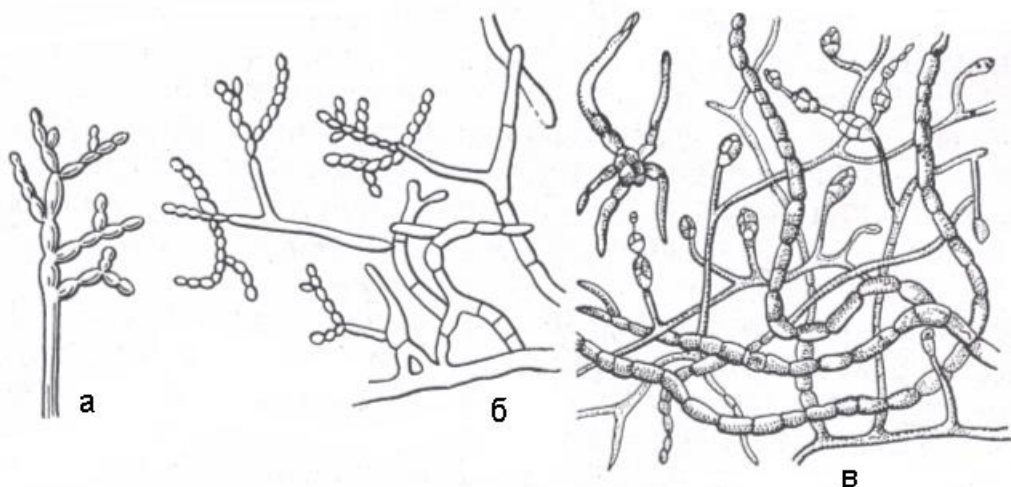


Рисунок – 10 Несовершенные грибы:
а - *Cladosporium*; б - *Oidium lactis*; в - *Alternaria*

1.3 Дрожжи

Дрожжи - факультативные анаэробы, лучше развиваются в кислой среде, оптимальная температура развития 20...30 °С, но многие из них способны развиваться и при –10 °С. Вегетативные формы дрожжей погибают при 60...65.°С, а споры – при 70...75.°С. 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 рН 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 *Debaromyces* 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 °С, для патогенных же видов температурный оптимум составляет 37...40 °С. 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°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 1...2 минуты и не погибают при пастеризации. Анаэробы. 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.

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

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.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Морозова Н. А. Микробиология. Методическое пособие. Конспект лекций. Калининградский морской рыбопромышленный колледж, 2004
2. Технический регламент ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», № 880 от 09.12.2011, № 880.
3. Технический регламент ТР ЕАЭС 040/2016 «О безопасности рыбы и рыбной продукции», № 162 от 18.10.2016, № 162.
4. Санитарные правила и нормы. СанПиН 2.3.4.050-96 Производство и реализация рыбной продукции. М., Госкомсанэпиднадзор России, 1997.
5. Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных. Л., Гипрорыбфлот, 1991
6. Инструкция о порядке санитарно-технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания, М., Госсанэпиднадзор РФ, 1993.
7. Санитарные правила и нормы. СанПин 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. М., Госкомсанэпиднадзор России, 2002
8. ГОСТ 26669-85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов
9. ГОСТ 26670-85 Продукты пищевые и вкусовые. Методы культивирования микроорганизмов
10. ГОСТ 30425-97 Консервы. Метод определения промышленной стерильности
11. ГОСТ 8756.0-70 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб
12. Инструкция о порядке санитарно-технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания. М., Госкомсанэпиднадзор России, 1991
13. Инструкция по санитарной обработке технологического оборудования на рыбообрабатывающих предприятиях и судах, № 2981-84. М., Транспорт, 1985
14. Санитарные правила и нормы. СанПин 2.1.4. 1074-01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воду централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества
15. ГОСТ Р 51592-2000 Вода. Общие требования к отбору проб
16. ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа.