

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Безопасность
продукции и процессов производства»
для студентов направления подготовки
27.03.01 Стандартизация и метрология

Направленность (профиль): «Стандартизация, метрология и управление
качеством

Ставрополь 2026

5 СЕМЕСТР ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

Контроль соответствия безопасности продовольственного сырья и продуктов питания в соответствии с ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»

1. Цель и содержание

Цель работы: изучить основные группы контаминантов пищевых продуктов, пути загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов ксенобиотиками, критерии биологической безопасности сырья и продуктов животного происхождения.

Содержание работы:

- ознакомиться с классификацией потенциально опасных контаминантов пищевых продуктов;
- выявить основные источники и пути загрязнения мяса и мясопродуктов ксенобиотиками;
- ознакомиться с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к продуктам животного происхождения ТР ТС 021/2011;
- дать экспертное заключение о соответствии регламентируемым гигиеническим требованиям отдельных видов мяса промышленных животных и птицы, субпродуктов, колбас, соленых штучных изделий, мясных полуфабрикатов, мясных консервов, яйцепродуктов, пищевых топленых жиров.

2. Теоретическое обоснование

Потенциально опасные токсиканты пищевых продуктов делятся на две большие группы. К первой группе относятся вещества, которые попадают в организм животного с водой и кормом. Такие вещества более или менее прочно связываются в системе метаболизма с органами и тканями сельскохозяйственных животных и птицы и могут сохраняться в них достаточно длительное время. К этой группе контаминантов относятся устойчивые неорганические ионы тяжелых и переходных металлов, радионуклиды, а также сложные органические вещества: гормоны, антибиотики и пестициды, способные не только сохраняться в мясе и мясных продуктах определенное время, но и вследствие химических, ферментативных и окислительных реакций превращаться в структурные аналоги, многие из которых представляют опасность для организма человека.

Вторая группа токсикантов включает те химические вещества, которые могут образовываться в мясном продукте при технологической обработке и хранении, либо являться продуктами жизнедеятельности микрофлоры. Например, при длительном хранении мяса, мясопродуктов, пищевых топленых жиров липиды могут окисляться до пероксидов и эпоксидов; при копчении в продуктах могут накапливаться канцерогенные вещества – 3,4-бенз(а)пирен, фенол; при использовании некоторых видов электрофизических, микробиологических и ферментативных процессов также могут образовываться вещества с токсическим эффектом: нитрозамины, пирены, афлатоксины. Формально в эту группу можно отнести также микроорганизмы, наличие которых оценивается по микробиологическим показателям.

3. Аппаратура и материалы

Для выполнения работы необходимы микрокалькулятор и ТР ТС 021/2011.

4. Методика и порядок выполнения работы группового задания

Вначале студенты по методическим указаниям и плакатам знакомятся с основными ксенобиотиками пищевых продуктов, изучают их классификацию и определяют возможные пути загрязнения продуктов питания различными контаминантами.

Следующий этап – изучение соответствующих разделов по сырью и продуктам животного происхождения основного нормативного документа «Гигиенические

требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» ТР ТС 021/2011 с выявлением основных групп нормируемых показателей и предельно-допустимых концентраций (ПДК) тяжелых металлов, гомонов, антибиотиков, нитрита и нитрозаминов, пестицидов, требований по микробиологическим показателям для разных видов пищевых продуктов.

Каждому студенту на отдельном бланке выдаются результаты санитарно-гигиенической оценки разных видов мяса, пищевых топленых жиров, продукции мясоперерабатывающего производства, ставится задача определить соответствие их требованиям ТР ТС 021/2011, решить вопрос о пригодности продуктов для использования на пищевые цели и оформить экспертное заключение.

Экспертное заключение контроля качества и безопасности пищевых продуктов

Наименование продукта	Уровень содержания, мг/кг						БГКП присутствие в 1 г(см³)		Заключение
	свинец		ртуть		кадмий				
	норм.	факт	норм.	факт.	норм.	факт.	норм.	факт.	

5. Содержание отчета и его форма

Отчет по работе должен содержать наименование работы, ее цель и содержание, краткое изложение теоретической части, результаты проделанной работы в виде экспертного заключения и выводы.

6. Контрольные вопросы к защите работы

1. Какие вещества называют ксенобиотиками или контаминантами?
2. Каковы основные пути загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов ксенобиотиками ?
3. На какие классы разбиты потенциально опасные токсиканты мяса?
4. Перечислите базисные регламенты, применяемые для оценки безопасности пищевой продукции.
5. Какие микробиологические показатели безопасности сырья и пищевых продуктов предусмотрены ТР ТС 021/2011?
6. По каким металлам определены критерии безопасности мяса, колбасных изделий и консервов в ТР ТС 021/2011?
7. Содержание каких видов пестицидов контролируется в продовольственном сырье и пищевых продуктах?
8. Остаточное количество каких антибиотиков контролируют в сырье и продуктах животного происхождения?
9. Допустимо ли содержание в животноводческой продукции гормональных препаратов?
10. В каких видах мясных продуктов контролируется содержание остаточного нитрита и нитрозаминов?
11. Какие показатели безопасности предусмотрены для копченых мясных продуктов?
12. Отличаются ли по показателям безопасности вареные колбасы и фаршевые консервы?
13. Какие дополнительные требования к уровню безопасности предъявляются к мясным продуктам, предназначенным для детского питания?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2

«Анализ опасностей по критическим точкам технологического процесса»

1. Цель и содержание

Цель: освоить основные принципы системы анализа опасностей по критическим контрольным точкам технологического процесса производства пищевых продуктов.

Содержание:

- изучение основных этапов разработки системы ХАССП на мясоперерабатывающих предприятиях;
- сбор и анализ исходной информации об отдельных видах продукции и ее производстве по заданию преподавателя;
- выявление и анализ рисков, разработка рекомендаций по упреждающим действиям;
- определение критических контрольных точек и их критических пределов;
- разработка предложений по системе мониторинга и корректирующих действий.

2. Теоретическое обоснование

Наиболее известной из признанных концепций эффективного контроля качества и безопасности пищевых продуктов является система анализа риска по критическим контрольным точкам НАССР (Hazard Analysis and Critical Control Point) – русский вариант ХАССП. Эта система стала основной моделью управления качеством и безопасностью пищевых продуктов во многих странах мира.

Внедрение системы качества ХАССП позволяет:

- предотвращать или снижать до приемлемого уровня риски возникновения опасностей для жизни и здоровья потребителей пищевых продуктов;
- обеспечить стабильность качества пищевой продукции за счёт упорядочения и координации работ по управлению рисками при производстве, транспортировании, хранении и реализации;
- содействовать международной торговле, особенно с теми странами, где система ХАССП является обязательной;
- содействовать проведению государственного контроля и надзора за соблюдением обязательных требований стандартов в процессе производства путем установления обоснованной номенклатуры контрольных точек в технологическом процессе и системы их мониторинга.

Разработка системы контроля производственного процесса, согласно этой концепции, включает три стадии:

1. Оценку гигиенической опасности (Hazards), то есть идентификацию потенциальных рисков (опасных факторов), которые сопряжены с производством продуктов питания, начиная с получения сырья (разведения или выращивания) до конечного потребления, включая все стадии жизненного цикла продукции (переработку, хранение и реализацию) с целью выявления условий возникновения потенциальных рисков и установления необходимых мер для их контроля.

2. Определение критических контрольных точек (CCPs) в производстве для устранения (минимизации) рисков или возможности их появления, при этом рассматриваемые операции производства пищевых продуктов могут охватывать поставку сырья, подбор ингредиентов, переработку, хранение, транспортирование, складирование и реализацию.

3. Выявление и отслеживание контрольных параметров, с помощью которых можно предотвратить имеющиеся опасности.

Основанием для начала работ по выбору и обоснованию контрольных точек на отдельных этапах или операциях технологического процесса производства пищевых

продуктов на мясоперерабатывающих предприятиях могут служить объективные данные об ухудшении качественных характеристик продуктов. К ним можно отнести поступающие рекламации и жалобы, а также отклонения от допустимых уровней показателей качества готовой продукции, выявленные и зарегистрированные при приемосдаточных, периодических и целевых испытаниях образцов готовой продукции.

Если установлены отклонения единичных показателей качества по одному или нескольким наименованиям продукции, то выявляются этапы процесса, которые могут их вызвать. Например, если имеют место:

- несоответствия по органолептическим показателям, то наблюдениям и анализу подвергаются все этапы технологического процесса (от приемки и входного контроля мясного сырья, пищевых ингредиентов, добавок и упаковочных материалов до оценки готового продукта);

- несоответствия по показателям химического состава, то в первую очередь проводят наблюдения и дают оценку функционально-технологических характеристик и дозировки мясных и других ингредиентов на этапе приготовления рецептурных композиций, а затем фактических потерь при термообработке;

- несоответствия по содержанию токсичных элементов, антибиотиков, пестицидов, то наблюдениям и анализу подвергают этап приемки и входного контроля мясного сырья, пищевых ингредиентов и добавок.

По результатам выявления отклонений и причин, вызвавших их, разрабатываются предупреждающие и (или) корректирующие действия или разрабатываются мероприятия по совершенствованию всей системы управления качеством продукции на основе принципов ХАССП.

3. Аппаратура и материалы

Работа выполняется бригадами из 3-4 студентов в соответствии с вариантом, предложенным преподавателем.

4. Методика и порядок выполнения работы группового задания

Работа выполняется бригадами из 3-4 студентов в соответствии с вариантом, предложенным преподавателем.

4.1. Сбор и анализ исходной информации

Исходная информация включает сведения о продукции, производстве и научную информацию.

Сведения о продукции содержатся в нормативно-технических документах (НТД) и справочниках, из которых выбирают и составляют:

- блок-схему технологического процесса производства продукции;
- перечень основного сырья, пищевых ингредиентов, добавок и упаковочных материалов, их происхождение, а также НТД, по которым они выпускаются;
- требования к качеству и безопасности продукции, контролю производственного процесса;
- признаки и правила идентификации продукции, условия хранения и сроки годности;
- известные и потенциально возможные случаи использования продукции не по назначению, а также рекомендации и ограничения по применению продукции.

Информация о производстве продукции включает:

- ассортимент вырабатываемой продукции;
- блок-схемы технологических процессов для каждого наименования продукции или для групп однородной продукции (см. пример на схеме 1) , при необходимости, планы производственных помещений;
- действующие схемы производственного контроля (контролируемые параметры технологического процесса, периодичность и объем контроля);

- фактические данные по результатам измерений показателей при контроле технологического процесса и испытаниях готовой продукции, содержащиеся в журналах регистрации, актах, протоколах и т. д. ;

- действующие и разрабатываемые инструкции о процедурах уборки, дезинфекции и санитарной обработке, гигиене персонала, техническом обслуживании и мойке оборудования и инвентаря;

- правила возврата, доработки и переработки продукции;

- требования к системам вентиляции и утилизации отходов и т.д.

Сбор и анализ этой информации должен осуществляться в соответствии с индивидуальным заданием на конкретном предприятии в период прохождения технологической практики или может отбираться из базы данных кафедры о мясоперерабатывающих предприятиях региона. В отдельных случаях с учетом объема выполняемой студентами работы преподаватель может ограничить задание только сбором информации о продукции.

Из научной информации необходимо получить сведения о:

- гипотезах и известных закономерностях изменений показателей качества сырья, ингредиентов и продукции в зависимости от уровня воздействующих факторов (микробиологических, химических, физических, биохимических, механических и т. д.) на каждом этапе технологической обработки, а также механизмах, объясняющих эти закономерности;

- методах и средствах измерения параметров процессов и характеристик сырья, а также единичных и комплексных показателей качества продукции;

- оптимальных (рекомендуемых) и допустимых пределах значений показателей на входе и выходе каждого этапа;

- вероятности и возможных причинах выхода значений параметров и показателей за допустимые пределы при проведении технологических операций.

Если в качестве анализируемого объекта задан продукт, то анализируются все этапы процесса его изготовления от приема сырья и ингредиентов до хранения и реализации. Если в качестве анализируемого объекта выбирается этап процесса, то анализируются все продукты, которые при изготовлении проходят этот этап.

В любом случае для каждого продукта устанавливаются и анализируются:

- перечень показателей, характеризующих его качество при различных воздействиях;

- перечень параметров процесса (этапа, операции), характеризующих уровни воздействия на продукт;

- информация о взаимосвязи показателей качества и безопасности продукта с параметрами технологического процесса, а также о допустимых пределах изменений, вероятности (частоте) и причинах отклонений от этих пределов.

4.2. Анализ и оценка риска

На следующем этапе работы необходимо выявить и оценить все виды потенциальных опасностей, включая биологические (микробиологические), химические и физические, которые могут присутствовать в производственных процессах. Возможная их классификация представлена на схемах 2-4.

Опасные факторы, приведенные для групп пищевой продукции в ТР ТС 021/2011, следует включать в перечень учитываемых факторов в первую очередь и без изменения. Необходимо учитывать опасные факторы, присутствующие не только в сырье, материалах, готовой продукции, но и исходящие от оборудования, окружающей среды, персонала и т.д.

После определения всех видов опасностей переходят к оценке рисков с целью определения учитываемых опасных факторов.

Необходимость учета опасного фактора определяют в зависимости от вероятности его появления и тяжести последствий. При этом согласно ГОСТ Р 51705.1-2001,

экспертным путём принимают один из четырех вариантов оценки вероятности реализации фактора: 1 - практически равна нулю, 2 – незначительная, 3 – значительная и 4 – высокая; и один из четырех вариантов тяжести последствий: 1 – легкая, 2 – средней тяжести; 3 – тяжелая; 4 – критическая.

Результаты оценки наносят на диаграмму (рисунок 1), получая точку по координатам, соответствующим номерам вариантов оценок.

Если точка лежит на или выше границы допустимого риска – фактор учитывают, если ниже – нет.

После выявления видов опасностей и анализа рисков определяют предупреждающие действия, которые устраняют риски или снижают их до допустимого уровня.

К предупреждающим действиям относят: контроль параметров технологического процесса производства; термическую обработку; применение консервантов; использование металлодетектора; периодический контроль концентрации вредных веществ; мойку и дезинфекцию оборудования, инвентаря, рук и обуви и др.

Перечень предупреждающих действий следует представить в виде таблицы

Наименование операции	Учитываемый опасный фактор	Контролируемые признаки	Предупреждающие действия
1	2	3	4

В графе 3 следует также указывать контролируемые на данной операции признаки риска или контролируемые параметры для идентификации опасного фактора.

4.3. Определение критических контрольных точек

Критические контрольные точки представляют собой места проявления (действия) опасных факторов, в которых происходит их идентификация или устранение (снижение риска). Критические контрольные точки определяют, проводя анализ отдельно по каждому учитываемому опасному фактору и рассматривая последовательно все операции, включенные в блок-схему производственного процесса.

Для выявления необходимых условий включения рассматриваемой операции в перечень контрольных точек следует дать ответы на 4 вопроса:

1. Существует ли в этой точке вероятность отклонения параметров процесса и (или) показателей качества изделий от допустимого уровня?
2. Приведет ли изменение параметра или показателя на этом этапе к увеличению степени риска ухудшения качества?
3. Возможно ли за счет совершенствования технологии анализируемого этапа процесса снизить или предотвратить риск ухудшения качества готового продукта?
4. Возможно ли на последующих этапах производственного процесса снизить или исключить этот риск?

Операция будет относиться к контрольной точке, если получены ответы «да – да – нет – нет». При получении других комбинаций ответов может возникнуть потребность в учете дополнительной информации для принятия обоснованных решений.

ГОСТ Р 51705.1-2001 рекомендует определять критические контрольные точки методом «дерева принятия решений», алгоритм которого приведен на рисунке. Число применения этого алгоритма равно произведению числа учитываемых факторов (до 60 – 70) на число операций в технологическом процессе (до 30 – 40). Формально его применение может дойти до 2 тыс. раз.

Поэтому целесообразно «прогонять» алгоритм только по тем операциям, на которых возможен рост опасного фактора либо производятся действия по его предотвращению.

Для критических контрольных точек следует установить:

- критерии идентификации – для опасных факторов;

- критерии допустимого (недопустимого) риска – для контроля признаков риска;
- допустимые пределы – для применяемых предупреждающих воздействий.

Критерии и допустимые пределы должны быть заданы с учетом всех погрешностей, в том числе измерения.

4.4. Система мониторинга и корректирующие действия

Для каждой критической точки должна быть разработана система мониторинга для проведения в плановом порядке наблюдений и измерений, необходимых для своевременного обнаружения критических пределов и реализации соответствующих предупредительных или корректирующих действий по наладке процесса. Система мониторинга включает:

- перечень мест (участков, этапов, операций) и объектов (сырье, ингредиенты, полуфабрикаты, готовые изделия) контроля;
- перечень контролируемых параметров процесса и единичных показателей продукта;
- критерии идентификации и допустимые пределы для параметров и единичных показателей качества;
- периодичность процедур мониторинга, обеспечивающая своевременное выявление недопустимого риска в контрольных точках;
- рекомендации по записи и оформлению результатов наблюдений и измерений.

Для каждой критической точки должны быть также составлены корректирующие действия, предпринимаемые в случае нарушения критических пределов. К корректирующим действиям относят: поверку средств измерений; наладку оборудования; изоляцию несоответствующей продукции; переработку несоответствующей продукции; утилизацию несоответствующей продукции и т.п.

На каждую критическую точку составляют рабочий лист ХАССП, в котором в соответствии с приведенной ниже формой указывают: критические пределы; данные, связанные с мониторингом контрольных точек; планируемые корректирующие действия.

Наименование продукта

Наименование технологического процесса

Наименование операции	Опасный фактор	Номер критической контрольной точки	Контролируемый параметр и его предельные значения	Процедура мониторинга	Контролирующие действия	Регистрационно-учетный документ
1	2	3	4	5	6	7

5. Содержание отчета и его форма

Отчет представляется бригадой в отдельной папке, на титульном листе должна быть приведена тема задания и фамилии исполнителей.

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы:

1. Исходная информация
2. Анализ и оценка риска
3. Определение критических контрольных точек
4. Система мониторинга и корректирующие действия.

Кроме текстового комментария, к отчету прилагают блок-схемы производственного процесса, диаграммы анализа рисков, перечень предупреждающих действий, рабочие листы ХАССП.

6. Контрольные вопросы и защита работы

1. Что понимают под концепцией ХАССП?
2. С какой целью внедряют систему ХАССП на предприятиях мясной промышленности?
3. Что необходимо в качестве исходной информации для разработки системы ХАССП?
4. Какие виды нормативно-технической документации используют для представления информации о продукции?
5. В каком объеме необходима информация о производстве?
6. Какие собираются показатели, параметры и дополнительная информация, если в качестве анализируемого объекта выбираются продукт или этап процесса?
7. Какие виды потенциальных опасностей могут присутствовать в производственных процессах пищевых продуктов?
8. Какова методика определения учитываемых опасных факторов?
9. Что понимают под критическими контрольными точками и как их определяют?
10. Какие критерии и пределы устанавливают для критических контрольных точек?
11. Что представляет собой система мониторинга процесса, имеющего контрольные точки?
12. Какие корректирующие действия принимают в случае нарушения критических пределов?
13. Какие данные включают в рабочие листы ХАССП?
14. Перечислите основные этапы работы по управлению качеством пищевых продуктов на основе принципов ХАССП.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3

«Оценка радиоактивного загрязнения продуктов питания»

1. Цель и содержание

Цель работы: освоить метод оценки уровня радиоактивного загрязнения мяса и мясопродуктов по их внешнему гамма-излучению.

Содержание:

- изучить и освоить методику измерения радиационного фона с помощью дозиметра ДБГИ-01И;
- замерить естественный радиационный фон лаборатории и радиационный фон отдельных продуктов: мяса, полуфабрикатов, субпродуктов, мясных изделий;
- по результатам исследований дать санитарно-гигиеническую оценку исследуемых образцов.

2. Теоретическое обоснование

В продовольственном сырье и продуктах питания контролируют содержание радионуклидов. Для практического освоения методов контроля радиационной загрязненности пищевых продуктов следует уяснить ряд традиционных понятий и определений радиометрии.

Радиоактивность – испускание ионизирующей излучений при самопроизвольном превращении радиоактивных ядер.

Активность радионуклида – отношение числа dN самопроизвольных превращений ядер данного радионуклида, происходящих за интервал времени dt , к этому интервалу времени:

$$A = dN / dt .$$

Единица активности – беккерель (Бк) – одно ядерное превращение в 1 секунду. Эту единицу используют для определения концентрации радиоактивного вещества в единице массы, объема или на единицу площади.

Радиационная безопасность пищевых продуктов по ^{137}Cs и ^{90}Sr определяется допустимыми уровнями удельной активности радионуклидов, установленных ТР ТС 021/2011.

Для определения соответствия пищевых продуктов критериям радиационной безопасности используется показатель соответствия – B , значение которого рассчитывают по результатам измерения удельной активности цезия-137 и стронция-90:

$$B = (A/H)^{90}\text{Sr} + (A/H)^{137}\text{Cs},$$

где A – значение удельной активности ^{90}Sr и ^{137}Cs в пищевом продукте (Бк/кг); H – допустимый уровень удельной активности ^{90}Sr и ^{137}Cs в том же продукте (Бк/кг).

Основным методом определения радиоактивности в объектах ветеринарного надзора является радиохимический анализ, который позволяет дать полную и объективную характеристику радиоактивной загрязненности объекта отдельными изотопами, выделенными из пробы. Однако такие исследования трудоемки, длительны и требуют соблюдения особых мер безопасности, поэтому их проводит квалифицированный персонал в специализированных лабораториях. В этой связи для массовых и оперативных исследований разработаны два варианта экспресс-метода определения объемной и удельной активности γ - и β -излучающих нуклидов.

Экспрессное определение удельной и объемной удельной активности γ -излучающих нуклидов в пищевых продуктах проводят с помощью радиометра СРП-68-01.

Экспрессное определение этих показателей для β -излучающих нуклидов в воде и продукции животноводства проводят методом прямого измерения толстых проб, используя радиометры СРП-68-01, КРК-1, РКБ4-1еМ, КРВП-3АБ, ДП-100.

Главным недостатком экспресс определения уровня радиационного загрязнения перечисленными приборами является высокий (до 40-60%) предел погрешности измерения.

Объективность и точность результатов анализа зависят от правильного выполнения отбора и подготовки проб к анализу.

Образцы проб отбирают от однородной партии.

Продукция считается однородной по уровню загрязнения, если результаты измерений, проведенных в разных точках, различаются не более чем в два раза.

Для проведения лабораторных исследований из объединенной пробы берут в необходимом количестве среднюю пробу, которая должна характеризовать радиоактивное загрязнение всего образца.

Пробы мяса (без жира) от туш или полутуш отбирают кусками по 30 – 50 г в области четвертого-пятого шейного позвонка, лопатки, бедра, и толстых спинных мышц. Общая масса пробы должна составлять 0,2 – 0,3 кг.

Масса костей для исследования должна составлять 0,3 – 0,5 кг (позвоночник и второе – третье ребро).

Пробы из внутренних органов животных отбирают массой 0,1 – 0,2 кг частично (печень, почки, селезенка, легкие) или целиком (щитовидная железа).

Пробы мяса птицы отбирают в количестве $\frac{1}{4}$ части тушки (куры, индейки, гуси, утки) или одной целой тушки (цыплята).

Масса проб мясных полуфабрикатов, готовых мясных продуктов и колбасных изделий соответствует массе проб мяса.

Количество проб продуктов, используемых для лабораторного анализа, определяется величиной партии и составляет при массе партии от 1 до 500 кг – 1 образец, от 500 кг до 3 т – 2 образца, от 3 до 5 т – 3 образца, от 5 до 10 т – 5 образцов, от 10 до 20 т – 6 образцов, от 20 т и более – 10 образцов.

При малой радиоактивности объектов экспресс-методом обнаружить ее не удастся, поэтому суммарную β -активность определяют по зольному остатку пробы, масса которой должна быть достаточной для определения этого показателя и проведения радиохимического анализа.

Мониторинг безопасности продуктов питания по радиационному загрязнению в отдельных регионах проводится в определенные сроки с учетом сезонности их производства. Так отбор проб мяса и костей проводят весной и осенью, молока – ежеквартально. При этом также соблюдают установленные санитарными службами правила отбора проб.

Пробы мяса (масса 2 – 3 кг) берут из нежирной части туши, не снижая ее товарных качеств. Для анализа можно использовать мышцы шеи или конечностей. Однотипность отбираемых проб мяса позволяет сопоставить полученные результаты при исследовании мяса различных видов, пород и возрастов.

Однотипность соблюдают и при отборе проб костей (масса пробы 0,5 кг), так как отложения остеотропных радиоизотопов (например, стронция-90) неравномерны не только в различных костях скелета, но и в разных участках одной и той же кости. Для исследования удобно брать последние ребра, препарируя их с плевральной поверхности, что позволяет сохранить товарный вид туши.

При небольшой массе птицы на анализ берут 3 – 4 тушки, отделяют мясо от костей и делают среднюю пробу. Мышцы и кости исследуют отдельно.

3. Аппаратура и материалы

Для выполнения работы необходимы: весы технические, мясорубка, ножи, дозиметр РАДЭКС РД 1503.

4. Указания по технике безопасности

Студенты обязаны пройти инструктаж по технике безопасности при выполнении работ в химической лаборатории, о чем должна быть соответствующая отметка в журнале.

При работе с приборами с сетевым питанием запрещается касаться труб, радиаторов отопления и другого оборудования; самостоятельно разбирать, регулировать и исправлять замеченные неисправности приборов. По окончании работы необходимо выключить питание приборов, убрать в установленные места сменные узлы приборов и привести в порядок рабочее место.

5. Организация работы

Работа выполняется бригадами из 3 – 4 студентов по предложенным преподавателем вариантам образцов мяса, костной ткани различных видов убойных животных и птицы, субпродуктов 1 и 11 категории, колбас, полуфабрикатов, соленых штучных изделий и консервов.

6. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе работы студенты знакомятся с техническим описанием и инструкцией по эксплуатации портативного переносного дозиметра ДБГИ-01И, который предназначен для:

- обнаружения источника γ -излучения и оценки с помощью звуковой сигнализации его интенсивности (режим поиска);
- измерения мощности эквивалентной (экспозиционной) дозы (МЭД) γ -излучения и вывода результата измерения на цифровое табло (режим измерения МЭД).

Режим поиска служит для грубой оценки радиационной обстановки по частоте следования звуковых сигналов.

Режим измерения МЭД используют для измерения мощности эквивалентной (экспозиционной) дозы с заданной погрешностью и вывода результатов измерения на

цифровое табло с одновременной подачей звукового сигнала, обозначающего конец цикла измерений. Измерение МЭД осуществляется автоматически с интервалом не более 40 секунд или вручную при кратковременном нажатии кнопки «ПУСК/УСТАН»

В начале работы необходимо измерить естественный радиационный фон в лаборатории, для чего переключатель ВРЕМЯ/МЭД устанавливают в положение МЭД. На индикаторе должно появиться значение **00.00**.

Нажав и отпустив кнопку ПУСК/УСТАН, дозиметр переводят в режим измерения МЭД. На индикаторе должно появиться - - - - .

Через 40 секунд звуковой сигнал сообщит об окончании цикла измерений. На индикаторе должно появиться измеренное значение МЭД, и автоматически начнется новый цикл измерений. Показания на табло дозиметра будут сохраняться до окончания следующего цикла измерений.

Для более точного определения МЭД внешнего γ -излучения необходимо снять не менее 5 показаний МЭД и вычислить среднее арифметическое значение. Для получения МЭД в мкР/ч необходимо показания дозиметра умножить на 100. Например, если дозиметр показал **00.16** мкЗв/ч, то это соответствует **16** мкР/ч.

Для исследования образцы мяса, субпродуктов, мясных полуфабрикатов массой 0,2 – 0,3 кг упаковывают в полимерную пленку. Образцы колбас исследуют, не снимая натуральной или искусственной оболочки. Для измерения уровня радиоактивного загрязнения пищевых продуктов дозиметр помещают вплотную левым боком к упаковке или колбасному батону. Производят не менее пяти измерений показаний МЭД и вычисляют среднее арифметическое значение. Результаты измерений естественного радиационного фона лаборатории и исследуемых образцов заносят в таблицу.

Исследуемые показатели	МЭД, мкР/ч					Среднее значение
	1	2	3	4	5	
Естественный фон лаборатории						
Фон продуктов питания						
Превышение фона продуктов над естественным						

7. Содержание отчета и его форма

Отчет по работе должен содержать наименование работы, ее цель и содержание, краткое изложение теоретической части, порядок проведения работы, результаты определения радиоактивного загрязнения мяса и мясопродуктов, оформленные в виде таблицы, и выводы.

8. Контрольные вопросы к защите работы

1. Какие вещества называют радиоактивными?
2. Назовите виды радиоактивных излучений, какие единицы используют для измерения радиации?
3. Чем отличается поверхностное и структурное загрязнение пищевых продуктов радионуклидами?
4. Перечислите возможные пути поступления радионуклидов в организм человека?
5. Приведите примеры пищевых цепей, по которым возможно попадание радиоактивных веществ в организм человека.
6. Объясните механизм биологического действия ионизирующих излучений на организм человека.
7. Каковы допустимые уровни удельной активности цезия-137 в продуктах животного происхождения и в воде?

8. Преимущественно с какими продуктами в организм человека попадает стронций-90?
9. Каковы допустимые уровни удельной активности стронция-90 в пищевых продуктах в соответствии с ТР ТС 021/2011?
10. Что понимают под показателем соответствия при оценке радиационной безопасности пищевых продуктов и как этот показатель рассчитывают?
10. Какими методами определяют радиоактивность в пищевых продуктах?
11. В чем преимущества и недостатки экспресс-методов определения радиоактивной загрязненности пищевых продуктов?
12. Каков порядок отбора проб пищевых продуктов для экспресс определения радиационной загрязненности?
13. Как осуществляется отбор проб мяса и костей при проведении мониторинга безопасности продуктов питания по радиационному загрязнению?
14. Для чего предназначен дозиметр ДБГИ-01?
15. Как проводятся замеры уровня радиационного загрязнения продукции животного происхождения этим прибором?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4

Определение пестицидов

1. Цель и содержание

Цель работы: освоить метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) для определения остаточных количеств пестицидов в мясе, продуктах убоя и мясных изделиях.

Содержание:

- определить наличие в мясе, субпродуктах, мясных изделиях различного группового ассортимента хлорорганических пестицидов хроматографией в тонком слое;
- по результатам исследований дать санитарно-гигиеническую оценку исследуемых образцов.

2 Теоретическое обоснование

Пестицидами называют химические соединения, применяемые в сельском хозяйстве для защиты культурных растений от сорняков, насекомых, грызунов, возбудителей болезней. Их подразделяют на хлор-, ртуть- и фосфорорганические соединения, синтетические пиретроиды, медьсодержащие фунгициды и т.д. Загрязняя воду, почву, продукты питания, пестициды приводят к развитию хронических заболеваний, могут вызвать острые отравления, детскую смертность и врожденные аномалии развития. Пестициды имеют тенденцию накапливаться в живых организмах, а самое главное - обладают длительной устойчивостью (период полураспада у ДДТ до 20 лет), что является основным фактором в процессе вторичного загрязнения, когда продукты питания, никогда не подвергавшиеся обработке пестицидами, тем не менее, их содержат.

В России утверждены гигиенические нормы максимально допустимых уровней пестицидов в продуктах питания. Во всех видах продовольственного сырья и пищевых продуктов контролируются такие хлорорганические пестициды (ХОП), как гексахлорциклогексан, ДДТ и его метаболиты, поскольку ХОП обладают эмбриотоксическим действием, вызывают пороки развития и мутагенные изменения, являются канцерогенами и аллергенами.

В соответствии с санитарно-гигиеническими нормами безопасный уровень содержания ХОП должен составлять не более 0,1 мг/кг продукта, а предельно допустимая концентрация большинства хлорорганических, фосфорорганических и триазиновых пестицидов – 0,01-1,0 мг/кг продукта.

Метод ТСХ для определения остаточных количеств пестицидов считается перспективным с точки зрения экспрессности и избирательности. Его широко используют для контроля за остаточным содержанием пестицидов в пищевом сырье и готовой продукции.

Метод основан на экстрагировании препаратов из исследуемого материала органическими растворителями, очистке экстрактов и последующем хроматографировании в тонком слое сорбентов. Подвижным растворителем служит гексан или гексан в смеси с ацетоном. Места локализации пестицидов обнаруживают после опрыскивания пластинок раствором аммиака серебра с последующим ультрафиолетовым облучением пластинок «Силуфол», содержащих *o*-толуидин. Количественное определение проводят визуальным сравнением или измерением площадей пятен пробы и стандартных растворов.

Этим методом можно определить ДДТ, гексахлоран, альдрин, гептахлор, кельтан, метоксифлор, эфирсульфонат и другие препараты. Наименьшее содержание пестицида, выявляемого в мясе, внутренних органах и жире, составляет 0,02 мг/кг.

3 Аппаратура, реактивы и материалы

Аппаратура: пластинки для хроматографии; хроматографическая камера (можно использовать эксикатор); прибор для отгонки растворителей; ртутно-кварцевая лампа ПРК-4; баня водяная; пульверизатор стеклянный для опрыскивания пластинок; прибор для встряхивания.

Материалы: микропипетки для нанесения стандартных растворов; пипетка или шприц для нанесения пробы; хроматографическая колонка размером 20 x 400 мм; ступка; ножницы; колбы с притертыми пробками вместимостью 250 и 500 см³; воронка диаметром 6 см; круглодонная колба со шлифом вместимостью 250 – 300 см³; цилиндры мерные на 50 и 100 см³; пипетки на 1, 5 и 10 см³; чашки для выпаривания.

Реактивы: сульфат натрия безводный; гексан; петролейный эфир; диэтиловый эфир; бензол; ацетон; стандартные образцы гексахлорана, гептахлора, эфирсульфоната и др.; стандартные растворы ядохимикатов; проявляющие реактивы №1 или 2.

Приготовление стандартных растворов пестицидов: 10 мг ядохимиката

Растворяют в гексане в мерной колбе на 100 см³ и доводят до метки этим же растворителем. Хранят в стеклянной посуде с притертыми пробками в холодильнике.

Проявляющий реактив №1: 0,5 г нитрата серебра растворяют в 5 см³ дистиллированной воды, прибавляют 7 см³ аммиака и доводят объем раствора до 100 см³ ацетоном. В готовый раствор добавляют 0,2 см³ пероксида водорода. Раствор хранят в колбе с притертой пробкой в течение трех суток. Расход раствора на пластинку размером 9 x 12 см составляет 8 – 10 см³.

Проявляющий реактив №2: 0,5 г нитрата серебра растворяют в 5 см³

дистиллированной воды, прибавляют 10 см³ 2-феноксизэтанол и доводят объем ацетоном до 200 см³, затем добавляют 6 капель раствора пероксида водорода массовой долей 30%.

4. Указания по технике безопасности

К работе допускаются студенты, прошедшие инструктаж по технике безопасности работы в химических лабораториях с концентрированными кислотами, щелочами, ядовитыми, пожаро- и взрывоопасными веществами, работы с электроприборами и аппаратурой, о чем должна быть соответствующая запись в журнале.

Стандартные растворы ядохимикатов готовятся лаборантом.

Вся экспериментальная часть работы с органическими растворителями должна проводиться под вытяжным шкафом.

5. Организация работы

Продолжительность данной лабораторной работы 6 часов, что должно быть учтено при составлении календарного плана проведения лабораторных занятий по указанной дисциплине.

Работа выполняется бригадами из 3 – 4 студентов по предложенным преподавателем вариантам образцов мяса различных видов убойных животных и птицы, субпродуктов 1 и 11 категории, колбас, полуфабрикатов, соленых штучных изделий и консервов.

6. Методика и порядок выполнения группового задания

Подготовка проб. Навеску мяса массой 20 г тщательно измельчают в ступке ножницами, смешивают с безводным сульфатом натрия и помещают в колбу с притертой пробкой. Экстрагируют в течение 1,5 часа при встряхивании, дважды приливая по 50 см³ гексана (или петролейного эфира) с ацетоном 1:1.

Подготовка хроматографической колонки. В нижнюю часть колонки помещают стекловату или 500 г обезжиренной ваты, засыпают 70 см³ силикагеля АСК, уплотняют его постукиванием по колонке, промывают 50 см³ гексана или петролейного эфира.

Порядок проведения анализа. Экстракт фильтруют через воронку с бумажным фильтром, заполненным на 2/3 безводным сульфатом натрия. Растворитель отгоняют, а сухой остаток растворяют в 20 см³ гексана и переносят на хроматографическую колонку. После впитывания экстракта в сорбент пестициды элюируют 110 см³ смеси бензола с гексаном в соотношении 3 : 8 порциями по 25 – 30 см³. Элюат собирают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 250 – 300 см³. Через 10 минут после впитывания последней порции растворителя сорбент отжимают с помощью груши. Элюат отгоняют до объема 0,1 см³.

Для хроматографирования используют пластинку заводского изготовления типа «Силуфон» или готовят накануне с использованием в качестве сорбента оксида алюминия или силикагеля КГК. Пластинки «Силуфон» обрабатывают *о*-толуидином. Для этого их погружают в раствор *о*-толуидина в ацетоне с массовой долей 0,1%, налитого в камеру для хроматографирования. После того как фронт растворителя поднимется до верхнего края пластинок, их вынимают, сушат на воздухе, а затем хранят в эксикаторе.

На хроматографической пластинке на расстоянии 1,5 см от края отмечают линию старта (на которую наносят растворы, подлежащие разделению), а на расстоянии 10 см от нее – линию фронта растворителей (до которой должен подняться растворитель в процессе хроматографирования).

На стартовую линию шприцом или пипеткой наносят экстракт в одну из точек так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см. Остаток экстракта в колбе смывают тремя порциями (по 0,2 см³) диэтилового эфира, которые наносят в центр первого пятна (после высыхания). Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные растворы, содержащие 10, 5 и 1 мкг исследуемых препаратов. Хроматографическую камеру насыщают парами растворителя. Для этого на дно камеры наливают растворитель слоем толщиной около 0,5 см и выдерживают 30 минут. Пластинки с нанесенными растворами устанавливают в камере в вертикальном положении или под углом 80 – 85°. Нижний край пластинки (со стороны стартовой линии) погружают в растворитель на 0,5 см. При использовании пластинок с оксидом алюминия или силикагелем в качестве подвижного растворителя применяют гексан или смесь гексана с ацетоном (6 : 1), при использовании пластинок «Силуфон» – подвижный растворитель – раствор ацетона в гексане массовой долей 1%, а в случае, если пластинки «Силуфон» обработаны *о*-толуидином, – гексан с диэтиловым эфиром (49:1) . После того как растворитель поднимется до фронтальной линии, пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Затем ее орошают проявляющим реактивом и облучают УФ-лучами в течение 10 – 15 минут (расстояние от лампы ПРК-4 – 20 см). При наличии хлорорганических пестицидов на пластинке проявляются пятна серо-черного цвета. При

использовании пластинок «Силуфон», обработанных *o*-толуидином, их сразу после хроматографирования облучают УФ-лучами в течение нескольких минут. При наличии указанных пестицидов проявляются пятна сине-голубого цвета.

Вид и количество пестицида определяют, сравнивая величины R_f и площади пятна и стандартных растворов. Величина R_f – это отношение фронта вещества (расстояние в сантиметрах от линии старта до центра пятна) и фронта растворителя (расстояние от линии старта до линии фронта). Она служит качественной характеристикой каждого вещества и используется для его идентификации.

Содержание хлороорганических пестицидов в исследуемом материале (мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{aS_2}{mS_1},$$

где a – содержание препарата в стандартном растворе, мкг; S_2 – площадь пятна пробы, мм²; m – масса пробы, взятой для анализа, г; S_1 – площадь пятна стандартного раствора, мм².

По окончании эксперимента анализируют результаты, делают выводы о преимущественной локализации остаточных количеств пестицидов в органах и тканях убойных животных, дают оценку мясу, продуктам убоя, мясным изделиям по содержанию в них остаточных количеств ХОП. Данные заносят в таблицу рекомендуемой формы:

Исследуемые образцы	ХОП, мг/кг	
	нормативное	фактическое
Говядина		
Свинина		
Баранина		
Мясо птицы		
Субпродукты		
Мясопродукты		

7. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, методика проведения исследования, результаты эксперимента, выводы.

Результаты работы оформляются в виде таблицы и текста.

8. Контрольные вопросы к защите работы

1. Что такое пестициды и почему их относят к группе контаминантов мяса?
2. Что Вы знаете о циркуляции пестицидов в природе, связанных с этим последствиями и проблемами?
3. Как классифицируют пестициды по токсичности, стойкости и кумулятивным свойствам?
4. Какова химическая природа хлороорганических пестицидов и почему их называют глобальными загрязнителями?
5. Содержание каких видов пестицидов контролируется в продовольственном сырье и пищевых продуктах в соответствии с СанПиН?
6. Каков безопасный уровень ХОП в мясе и мясных продуктах?
7. В чем суть метода определения остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах методом тонкослойной хроматографии?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5

«Определение содержания остаточного нитрита в мясных продуктах»

1. Цель и содержание

Цель работы: освоить ионометрический и фотометрический методы определения нитратов и нитритов в мясе, субпродуктах и мясных изделиях.

Содержание работы:

- изучить ионометрический и фотометрический методы количественного определения нитратов и нитритов;
- установить содержание нитрат- и нитрит-ионов в мясе, субпродуктах, мясных изделиях различного группового ассортимента;
- оценить влияние компонентов рецептуры, способов подготовки сырья и доведения продуктов до кулинарной готовности на содержание нитратов и нитритов в мясных изделиях;
- по результатам исследований дать санитарно-гигиеническую оценку исследуемых образцов.

2. Теоретическое обоснование

Нитраты – соли азотной кислоты, широко распространены в окружающей среде, главным в почве и воде. Они являются естественным компонентом пищевых продуктов растительного происхождения. Концентрация нитратов в растениях колеблется в широких пределах, зависит от многих факторов, среди которых определяющим является неконтролируемое использование азотных удобрений и пестицидов.

Установлено, что нитраты могут изменять активность обменных процессов, угнетать активность иммунной системы организма, снижать его устойчивость к отрицательному воздействию факторов окружающей среды. При избытке нитратов чаще возникают простудные заболевания, приобретающие хронический характер. В то же время нитраты не обладают выраженной токсичностью. Острые отравления наблюдаются у людей при случайном приеме 1– 4 г нитратов, доза 8– 14 г может оказаться летальной. ДСП нитратов для взрослого человека составляет 300 – 325 мг. Потенциальная токсичность нитратов заключается в том, что они могут при хранении сырья и пищевых продуктов, а также в пищеварительном тракте и при воспалительных процессах в мочевыводящей системе микробиологически восстанавливаться до нитритов и вызывать серьезные нарушения здоровья. Кроме того, нитраты могут восстанавливаться и чисто химическим путем, например, в результате реакции с оловом консервной банки.

Механизм токсического действия нитритов на организм заключается в их взаимодействии с гемоглобином крови. В результате окисления двухвалентного железа образуется метгемоглобин, не способный связывать и переносить кислород, развивается клиническая картина гипоксии (обильное потение, синюшность кожи, одышка, головокружение). Допустимая суточная доза (ДСД) нитритов 0,2 мг/кг. Острое отравление отмечается при однократной дозе в 200 – 300 мг, летальный исход – 300 – 2500 мг.

Несмотря на токсические свойства, нитрит натрия широко используется как прямая пищевая добавка в мясоперерабатывающем производстве. Применение нитрита натрия в технологии производства мясопродуктов объясняется его комплексным воздействием на качество готовых изделий. Нитрит натрия способствует образованию окраски, участвует в формировании специфического вкуса и аромата мясных продуктов, особенно солено-копченых, предотвращает развитие спор *Clostridium botulinum*, тормозит развитие окислительных процессов.

Учитывая токсические свойства нитрита и возможность его участия в образовании канцерогенных нитрозаминов, содержание нитрита натрия в продуктах строго лимитируется и не должно превышать 50 мг/кг. Однако оно может оказаться завышенным

и при соблюдении технологических норм введения нитрита натрия при отсутствии входного контроля на его содержание в мясном сырье, так как нитрит могут использовать в животноводстве при откорме свиней для снижения интенсивности обменных процессов и накопления питательных веществ в тканях животного.

Принимая во внимание потенциальную опасность нитрата и сложность регулирования реакций образования нитрозопигментов, использование солей азотной кислоты при посоле мяса в нашей стране запрещено. В то же время не исключена вероятность превращения нитрита в нитрат, попадание его в мясопродукты с водой и при комбинировании в рецептурах сырья животного и растительного происхождения, что предопределяет необходимость контроля содержания солей азотной кислоты в готовых изделиях.

Для контроля содержания в сырье и пищевых продуктах нитратов и нитритов используют фотоколориметрические, хроматографические, спектрофотометрические и химические методы.

Ионометрический метод определения нитрат- и нитрит-ионов предусматривает использование ионоселективного (нитратного) электрода типа ЭМ-ЛЮЗ-01 путем индикации и измерения ЭДС электрода на иономере И-130 (или нитратомере). Иономер предназначен для измерения активности ионов водорода (рН), одновалентных и двухвалентных анионов и катионов (рХ), окислительно-восстановительных потенциалов в цифровой форме и в виде сигналов постоянного тока. Содержание нитрат-ионов можно фиксировать без предварительного измерения рН. На точность измерения не влияет присутствие фосфора, белков и жиров, но содержание хлористого натрия в исследуемых образцах не должно превышать 3,5%.

Измерение ЭДС и определение концентрации нитратов проводится в водной вытяжке, полученной из пробы продукта после предварительной экстракции при интенсивном перемешивании смеси с последующим фильтрованием.

Для исследования растворов с небольшими концентрациями нитрат- и нитрит-ионов используют метод добавок. В 50 см³ вытяжки измеряют ЭДС, затем в нее вводят нитрат калия так, чтобы массовая доля нитрата увеличилась до значений, соответствующих предварительно построенному калибровочному графику. По разнице значений рассчитывают искомую величину.

Для определения содержания нитритов их окисляют персульфатом аммония до нитратов. Разность между найденным суммарным значением нитрат-ионов и их начальной концентрацией соответствует концентрации нитрит-ионов.

Фотометрические методы применяют в ряде модификаций, основанных на той или иной химической реакции с образованием специфически окрашенных растворов. В частности используют метод, основанный на реакции нитрита с N-1-нафтилэтилендиамином дигидрохлорида и сульфаниламидом в фильтрате с удаленным белком с последующим фотоколориметрированием.

3. Аппаратура и материалы

Материалы: конические колбы вместимостью 100 и 250 см³, химические стаканы вместимостью 50 см³; мерный цилиндр на 100 и 250 см³; мерные колбы на 1 дм³, 100, 200, 250, 500 и 1000 см³; пипетки на 2, 5, 10, 20, 25 и 30 см³; воронки; фильтровальная бумага, стеклянные палочки.

Реактивы:

1. Для определения нитрат- и нитрит-ионов ионометрическим методом необходимы: нитрат калия ч. д. а.; водный 0,45% раствор сульфата цинка ZnSO₄; водный раствор сульфата калия концентрацией (1/2 K₂SO₄) 1 моль/дм³; водный раствор гидроксида натрия NaOH (0,1 моль/дм³); водный 8% раствор персульфата аммония (NH₄)₂S₂O₈.

Для определения рабочего диапазона концентраций нитрат-ионов **предварительно строят калибровочный график**: навеску нитрата калия массой 10,1 г растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 дм³, доводят содержимое водой до метки. Получают раствор нитрата калия молярной концентрацией 10⁻¹ моль/дм³ (рNO₃=1).

Методом последовательного разбавления из полученного раствора готовят серию стандартных растворов нитрата калия концентрацией 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ и 10⁻⁵ моль/ дм³ (рNO₃ равны соответственно 2, 3, 4 и 5).

В пять химических стаканов отбирают по 50 см³ стандартных растворов нитрата калия, в каждый стакан добавляют по 1 см³ раствора сульфата калия. Погрузив электроды в стаканы, в каждом растворе регистрируют ЭДС элемента, составленного из нитратселективного и хлорсеребряного электродов. Перед началом измерений электроды промывают несколько раз дистиллированной водой. Измерения выполняют, переходя от разбавленных растворов к концентрированным. По результатам полученных измерений строят калибровочный график в координатах $E = f(\text{рNO}_3)$, откладывая по оси ординат значения E (мВ), по оси абсцисс – соответствующие значения рNO₃.

2. Для определения остаточного нитрита в мясных продуктах требуются следующие реактивы: жёлтая кровяная соль (калия гексацианоферрата (II) тригидрат); ацетат цинка; ледяная уксусная кислота; тетраборат натрия Na₂B₄O₇ · 10H₂O; концентрированная соляная кислота плотностью 1,19 г/см³; амид сульфаниловой кислоты; N-(1-нафтил)-этилен-диаминдигидрохлорид; растворы для осаждения белков: реактив Карреза I; реактив Карреза II, насыщенный раствор буры; растворы для приготовления цветной реакции: раствор 1, раствор 11, раствор 111, основной, рабочий и стандартный растворы нитрита натрия для построения калибровочного графика.

Приготовление растворов для осаждения белков. Реактив Карреза I:

106 г гесацианоферрата (II) калия растворяют в дистиллированной воде и доводят объем раствора до 1000 см³. Реактив хранят в склянке из темного стекла не более 1 месяца.

Реактив Карреза II: 220 г ацетата цинка и 30 см³ ледяной уксусной кислоты растворяют в дистиллированной воде и доводят объем раствора до 1000 см³. Реактив хранят не более 1 месяца.

Насыщенный раствор буры: 50 г тетрабората калия растворяют в 1000 см³ теплой дистиллированной воды и охлаждают до 20 °С.

Приготовление растворов для проведения цветной реакции. Раствор 1: растворяют, подогревая на водяной бане, 2 г амида сульфаниловой кислоты растворяют в 800 см³ воды. Охлаждают, при необходимости фильтруют и добавляют, перемешивая, 100 см³ концентрированной соляной кислоты плотностью 1,19 г/см³, затем водой доводят объем до 1000 см³.

Раствор 11: растворяют в воде 0,25 г N-1-нафтилэтилендиамина дигидрохлорида C₁₀H₇NHCH₂CH₂NH₂ · 2HCl и доводят объем водой до 250 см³. Хранят раствор в склянке из темного стекла в холодильнике не более недели.

Раствор 111. Разбавляют 445 см³ концентрированной соляной кислоты плотностью 1,19 г/см³ водой до 1000 см³.

Приготовление стандартных растворов нитрита натрия. Для приготовления основного раствора нитрита натрия точно 1 г нитрита натрия растворяют в воде, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см³, доводят водой до метки и перемешивают. Для химически чистого 99% реактива величину навески (г) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{100 \cdot 1}{99} = 1,0101.$$

Для приготовления рабочего раствора 25 см³ основного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, доводят водой до метки и перемешивают.

Из полученного раствора готовят серию стандартных растворов: 2, 5 и 10 см³ рабочего раствора пипеткой вносят в три мерные колбы вместимостью 100 см³, доводят водой до метки и перемешивают. Стандартные растворы содержат в 1 см³ соответственно 1, 2,5 и 5 мкг нитрита натрия. Готовят три серии стандартных растворов, начиная каждый раз с приготовления основного раствора из новой навески нитрита натрия. Стандартные растворы нитрита натрия не стойки, поэтому их готовят непосредственно перед построением калибровочного графика.

Построение калибровочного графика. Берут четыре мерные колбы вместимостью 100 см³. В первую колбу для приготовления контрольного раствора пипеткой вносят 10 см³ воды, а в остальные три колбы по 10 см³ стандартных растворов, содержащих 1, 2,5 и 5 мкг нитрита натрия в 1 см³ раствора. В каждую колбу добавляют по 50 см³ воды, по 10 см³ раствора 1 и по 6 см³ раствора 111 для проведения цветной реакции. После этого объем раствора в колбах перемешивают и выдерживают в темном месте 5 мин, затем добавляют 2 см³ раствора 11 для проведения цветной реакции, перемешивают и выдерживают в темном месте 3 – 10 мин при 20°C.

Растворы в колбах доводят водой до метки и перемешивают. Интенсивность красной окраски измеряют на спектрофотометре при длине волны 538 нм или на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 1 см в отношении контрольного раствора.

По полученным средним данным из трех стандартных растворов строят калибровочный график (рисунок 1), откладывая на оси абсцисс концентрацию нитрита натрия (мкг в 1 см³ окрашенного раствора), а на оси ординат соответствующую оптическую плотность (D). Калибровочный график должен проходить через начало координат.

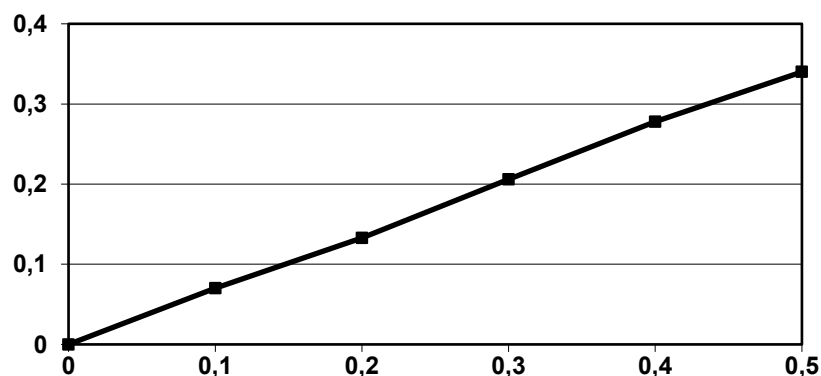


Рисунок 1 – Калибровочный график для определения нитрита натрия

4. Указания по технике безопасности

К работе допускаются студенты, прошедшие инструктаж по технике безопасности работы в химических лабораториях, работы с электроприборами и аппаратурой, о чем должна быть соответствующая запись в журнале.

5. Организация работы

Работа выполняется бригадами из 3-4 студентов по предложенным преподавателем вариантам образцов мяса различных видов убойных животных и птицы, субпродуктов 1 и 11 категории, колбас, соленых штучных изделий и консервов.

Лабораторная работа выполняется в два этапа. На первом 4-х часовом занятии изучаются методики определения нитратов и нитритов в мясных продуктах, студенты знакомятся с работой приборов, готовят основные растворы и строят калибровочные графики. На втором 4-х часовом занятии студенты проводят подготовку образцов и их исследование на содержание нитрат- и нитрит-ионов, выполняют необходимые расчеты,

делают выводы о соответствии по этим показателям мяса и мясопродуктов санитарно-гигиеническим требованиям и защищают работу.

6. Методика и порядок выполнения группового задания

6.1 Подготовка проб

С колбасных изделий снимают оболочку, с фаршированных колбас и языков в шпике – поверхностный слой шпика и оболочку, с окороков, рулетов, корейки и грудинки – поверхностный слой шпика. Затем пробы дважды измельчают на мясорубке с диаметром отверстий решетки 3 – 4 мм. Продукты, преимущественно состоящие из шпика с промежуточными слоями мышечной ткани, измельчают полностью.

Подученный фарш тщательно перемешивают, помещают в стеклянную или пластмассовую банку вместимостью от 200 до 400 см³, заполнив ее полностью, закрывают крышкой. Пробу хранят в холодильнике при температуре 4 °С до окончания анализа. Анализ проводят не позднее, чем через 24 часа после отбора проб. Пробу сырых продуктов анализируют сразу после измельчения.

6.2. Определение нитрат- и нитрит-ионов ионометрическим методом

Для определения нитрат-ионов в коническую колбу вместимостью 250 см³ помещают навеску продукта массой 10 – 20 г, взятую с точностью до 0,01 г, добавляют 100 см³ подогретой до 50 – 60 °С дистиллированной воды и экстрагируют при непрерывном перемешивании в течение 30 минут. Содержимое колбы охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу. В полученном мутном растворе осаждают белки. Для этого добавляют к фильтрату 2,5 см³ раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ и 10 см³ раствора сульфата цинка массовой долей 0,45%, нагревают 5 минут на водяной бане при температуре кипения, охлаждают колбу и полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр.

Фильтрат и промывные воды после промывания осадка белков на фильтре собирают в мерную колбу на 100 см³ и доводят объем до метки раствором сульфата калия молярной концентрацией 1 моль/дм³. В прозрачном фильтрате измеряют ЭДС, по величине которой на калибровочном графике находят начальное содержание нитрат-ионов в растворе.

Для определения нитрит-ионов их окисляют персульфатом аммония до нитратов. К 25 см³ фильтрата добавляют 0,5 см³ раствора персульфата аммония массовой долей 8%, энергично перемешивают и через 5 минут измеряют ЭДС, по величине которой находят концентрацию нитрат-ионов после окисления нитрит-ионов, используя калибровочный график. Разность между найденным суммарным содержанием нитрат-ионов и начальной их концентрацией равна концентрации нитрит-ионов, содержащихся в исследуемом растворе.

Содержание нитрат-ионов (мг%) в мясе и мясных продуктах находят по формуле:

$$X_1 = \frac{62c \cdot 100}{M} \cdot 100,$$

где 62 – молярная масса эквивалента нитрат-ионов, г/моль; c – концентрация нитрат-ионов до окисления, найденная по калибровочному графику, моль/дм³; 100 – объем фильтрата, см³; M – навеска измельченного мяса, г.

Содержание нитрит-ионов (мг%) в мясе и мясных продуктах рассчитывают по формуле:

$$X_2 = \frac{46(c_1 - c) \cdot 100}{M} \cdot 100,$$

где 46 – молярная масса эквивалента нитрит-ионов, г/моль; c_1 – концентрация нитрат-ионов после окисления, найденная по калибровочному графику, моль/дм³; 100 – объем фильтрата, см³.

6.3. Определение содержания нитритов фотометрическим методом

В коническую колбу вместимостью 250 см³ помещают 10 г подготовленной к анализу пробы, взвешенной с точностью до 0,001 г, добавляют последовательно 5 см³ насыщенного раствора буры и 100 см³ воды температурой не ниже 70 °С.

Колбу с содержимым нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин, периодически встряхивая, затем охлаждают до 20°С и последовательно добавляют по 2 см³ реактива Карреза I и реактива Карреза II, тщательно перемешивая после каждого добавления.

Переливают содержимое в мерную колбу на 200 см³, доводят объем водой до метки, перемешивают и выдерживают 30 мин при комнатной температуре.

Осторожно сливают верхний слой жидкости и фильтруют его через гофрированную фильтровальную бумагу, получая прозрачный раствор.

Для проведения цветной реакции 20 см³ полученного безбелкового фильтрата вносят пипеткой в мерную колбу на 100 см³, добавляют 10 см³ раствора 1. Содержимое колбы перемешивают и выдерживают 5 мин в темном месте. Затем добавляют 2 см³ раствора 2, перемешивают и выдерживают в темном месте в течение 3 мин при 20°С. Раствор в колбе доводят до метки, перемешивают и измеряют интенсивность красной окраски на спектрофотометре при длине волны $\lambda=538$ нм или на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 1 см в отношении контрольного раствора.

Параллельно проводят контрольный опыт на реактивы, помещая в мерную колбу на 200 см³ вместо 10 г пробы 10 см³ воды.

Если оптическая плотность превышает максимальную оптическую плотность на калибровочном графике, то цветную реакцию проводят с меньшим количеством фильтрата.

Содержание нитрита вычисляют по формуле:

$$X = \frac{c \cdot 200 \cdot 100 \cdot 100}{m_0 V \cdot 1000},$$

где X – содержание нитрита в 100 г продукта, мг; c – количество нитрита в 1 см³ окрашенного раствора, найденное по калибровочному графику, мкг; m_0 – масса навески продукта, г; V – объем фильтрата, взятый для фотометрического измерения, см³.

За конечный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допустимые расхождения между которыми не должны превышать 0,2 мг. Вычисление проводят с точностью до 0,1 мг в 100 г продукта.

На основании полученных данных по обнаружению и количественному определению в исследуемых образцах нитратов и нитритов необходимо сделать выводы соответствии их содержания требованиям по безопасности СанПиН, а также о сравнимости результатов, полученных разными методами.

7. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения опытов, результаты экспериментальных исследований с их математической обработкой, выводы.

Результаты работы оформляются в виде таблиц и текста.

8. Контрольные вопросы к защите работы

1. Источники нитратов и нитритов в пищевых рационах.
2. В чем заключается потенциальная токсичность нитратов?
3. Какие дозы нитратов могут вызвать острое отравление и летальный исход?
4. Каковы ДСД и ДСП нитритов?
5. Механизм токсического действия нитритов на организм человека.

6. Сколько нитритов получает человек, потребляя ежедневно 50-100 г колбасных изделий? Как этот согласуется с ДСП нитритов?
7. Роль нитритов в технологии производства колбас, солёных штучных изделий и фаршевых консервов.
8. Технологические нормы введения и контроля остаточного содержания нитрита в мясных продуктах.
9. Какие Вы знаете методы обнаружения и количественного определения нитратов и нитритов в мясе и мясных продуктах?
10. Как готовят пробы для проведения таких исследований?
11. В чем суть ионометрического метода определения нитрат- и нитрит-ионов?
12. С какой целью и как строят калибровочный график?
13. Как проводят определение нитрат-ионов ионометрическим методом и как рассчитывают их содержание?
14. Каким образом определяют содержание нитрит-ионов ионометрическим методом?
15. На чем основан фотометрический метод определения остаточного нитрита в мясных продуктах?
16. Перечислите основные этапы исследования при определении нитритов фотометрическим методом?
17. Как рассчитать содержание остаточного нитрита в мясных продуктах по результатам фотометрических измерений?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 6

Определение фенолов в копченых мясных продуктах

1. Цель и содержание

Цель работы: освоить методы качественного обнаружения и количественного определения суммарных фенолов в колбасах и копченых изделиях.

Содержание работы:

- определить зоны проникновения фенолов при копчении мясных продуктов различных ассортиментных групп;
- установить суммарное содержание фенолов в копченых мясных изделиях различного группового ассортимента;
- по результатам исследований дать санитарно-гигиеническую оценку исследуемых образцов.

2 Теоретическое обоснование

Фенольные соединения обладают токсическим и даже канцерогенным действием, в этой связи количество их в мясных продуктах должно быть сведено до минимума. Для гарантии экологической чистоты пищевых продуктов необходимо строго контролировать содержание фенолов.

При традиционном копчении горячим или холодным дымом фенолы сначала интенсивно накапливаются в поверхностном слое. В дальнейшем проникновение их в толщу продукта замедляется. За счет диффузии фенольных компонентов дыма во внутренние слои на последней стадии копчения и сушки количество фенольных соединений в поверхностном слое уменьшается почти наполовину и заметно возрастает в центральной части продукта. Фронт проникновения фенольных соединений внутрь колбасного батона тесно связан с химическим составом сырья и технологическим режимами производства копченых изделий. Так как фенолы хорошо растворяются в жире, их концентрация в мышечной ткани в 1,5 раза ниже, чем в жировой. В процессе холодного копчения в мясных продуктах накапливается от 9 до 24 мг % фенолов.

При изучении вопроса о скорости и характере проникновения фенолов в колбасные изделия удобно пользоваться методом отпечатков, который основан на развитии качественной реакции фенолов в присутствии карбоната натрия и специального проявителя.

Количественное определение фенолов в колбасных изделиях проводят калориметрическими методами. Один из таких методов основан на получении нитрозосоединений при взаимодействии фенола с нитритом натрия. В результате реакции нитрозосоединение образует с избытком аммиака продукт, окрашенный в желтый цвет, который затем фотоэлектроколориметрируют.

3. Аппаратура, реактивы и материалы

Аппаратура: весы технические; фотоэлектроколориметр ФЭК-56М или КФК-2; мясорубка; вибровстряхиватель; водяная баня; пульверизатор, термометр, секундомер.

Материалы: конические колбы вместимостью 100 см³, колориметрические пробирки; мерные колбы на 50 см³; пипетки на 1, 5, 10 см³; воронки; фильтровальная бумага, стеклянные палочки, ножницы, линейка, ножи.

Реактивы: 1% раствор карбоната натрия Na₂CO₃; 4-аминоантипирин; этанол; водный 0,45% раствор сульфата цинка ZnSO₄; водный раствор гидроксида натрия NaOH (0,1 моль/дм³); раствор серной кислоты массовой долей 25%; свежеприготовленный 0,5% водный раствор нитрита натрия NaNO₂; 10% раствор гидроксида аммония NH₄OH; стандартный водный раствор фенола (с = 1 мг/см³).

4. Указания по технике безопасности

К работе допускаются студенты, прошедшие инструктаж по технике безопасности работы в химических лабораториях, работы с электроприборами и аппаратурой, о чем должна быть соответствующая запись в журнале.

5. Организация работы

Работа выполняется бригадами из 3-4 студентов по предложенным преподавателем вариантам образцов различных видов колбас и копченостей.

6. Методика и порядок выполнения группового задания

6.1. Подготовка проб

С колбасных изделий снимают оболочку. Образцы продуктов (не менее 500 г) дважды измельчают на мясорубке с диаметром отверстий решетки 3 – 4 мм.

Перед определением фенолов в копченых изделиях проводят органолептическую оценку продуктов. При этом устанавливают вид и наименование колбасы, осматривают поверхность колбасного батона, отмечают вид колбасной оболочки. Путем визуальной оценки устанавливают цвет, состояние поверхности на разрезе, запах и вкус. Данные фиксируют в сводной таблице результатов исследования.

6.2. Определение границ проникновения фенолов

Приготовление реактивов и материалов. Фильтровальную бумагу для определения границ проникновения фенолов погружают на 20 – 30 секунд в 1% раствор Na₂CO₃, после чего ее сушат на воздухе и хранят.

Проявитель для определения границ проникновения фенолов готовят, растворяя 1 г 4-аминоантипирина в 50 см³ раствора этанола (96 об.%).

Порядок проведения анализа. Полученный со среза копченой колбасы отпечаток проникших фенолов должен быть видимым и отличаться по цвету от фона предварительно подготовленной фильтровальной бумаги. Подготовленную фильтровальную бумагу опрыскивают из пульверизатора проявителем и плотно прижимают к срезу колбасного батона. Спустя 20 – 30 секунд бумагу отделяют от поверхности среза колбасы и опрыскивают 20% раствором персульфата аммония. Через 2 минуты на бумаге образуется отчетливый, окрашенный в розовый цвет отпечаток границ проникновения фенолов. Отпечаток зарисовывают, измеряют с точностью до 0,1 см границы проникновения или аккуратно вырезают ножницами и вносят в сводную таблицу результатов исследования.

6.3. Количественное определение фенолов в колбасных изделиях

В коническую колбу помещают 15 г копченой колбасы, добавляют 50 см³ дистиллированной воды, закрывают пришлифованной стеклянной или корковой пробкой и встряхивают на вибровстряхивателе в течение 15 минут. Содержимое конической колбы фильтруют в мерную колбу на 50 см³ и доводят дистиллированной водой до метки. Для осаждения белков 10 см³ полученного раствора переносят в колориметрическую пробирку, добавляя пипеткой 4 см³ 0,45% раствора ZnSO₄, 1 см³ раствора NaOH молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ и выдерживают 5 минут на водяной бане при температуре кипения, после чего раствор фильтруют. В колориметрическую пробирку помещают 5 см³ фильтрата, добавляют 0,25 см³ раствора H₂SO₄ массовой долей 25% и 2,5 см³ раствора NaNO₂ массовой долей 0,5%. Содержимое пробирки нагревают в течение 5 минут на водяной бане, охлаждают и добавляют 5 см³ раствора NH₄OH массовой долей 10%. Оптическую плотность окрашенного в желтый цвет раствора измеряют на фотоэлектроколориметре ФЭК-56М при длине волны $\lambda = 400$ нм в кювете с толщиной рабочего слоя 3 см. Содержание фенола в пробе определяют по калибровочному графику, построенному по стандартным растворам фенола.

Построение калибровочного графика. В четыре мерные колбы на 50 см³ отмеряют пипеткой 2,5; 5,0; 7,5 и 10 см³ стандартного раствора фенола ($c = 1$ мг/см³) и доводят дистиллированной водой до метки. В четыре колориметрические пробирки помещают по 5 см³ фенола, добавляют 1 см³ раствора NaOH молярной концентрацией 0,1 моль/дм³, а также 0,25 см³ раствора H₂SO₄ массовой долей 25% и 2,5 см³ раствора NaNO₂ массовой долей $5 \cdot 10^{-5}$ %. Содержимое пробирок перемешивают стеклянной палочкой, нагревают на водяной бане при температуре кипения, охлаждают и добавляют в каждую пробирку 5 см³ раствора NH₄OH массовой долей 10%. Растворы тщательно перемешивают и через 15 минут измеряют оптическую плотность окрашенный в желтый цвет растворов в кюветах толщиной рабочего слоя 3 см при длине волны $\lambda = 400$ нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий все компоненты, кроме фенола. Каждое измерение выполняют три раза. По результатам измерений строят калибровочный график $D = f(c)$.

Содержание фенолов (мг %) рассчитывают по формуле:

$$X = c \cdot 50 / m \cdot 100,$$

где c – концентрация фенолов водной вытяжке, найденная по калибровочному графику, мг/см³; 50 – объем водной вытяжки, см³; m – масса навески продукта, г.

Полученные результаты сводят в таблицу.

Групповой ассортимент продукции	Органолептические показатели				Суммарное содержание фенолов, мг./100г.	Границы проникновения фенолов (отпечатки)
	Цвет	Запах	Вкус	Вид оболочки, состояние и окраска поверхности		
Полукопченые						
Варенокопченые						
Сырокопченые						

На основании полученных результатов студенты самостоятельно формулируют выводы и делают общее заключение по работе с учетом выявленных при дегустации органолептических характеристик и экспериментально установленного количественного содержания фенольной фракции в мясных продуктах.

7. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения опытов, результаты экспериментальных исследований и дегустационной оценки, выводы.

Результаты работы оформляются в виде таблиц и текста.

8. Контрольные вопросы к защите работы

1. Как фенолы попадают в мясные продукты?
2. От каких факторов зависит глубина проникновения фенолов в колбасные изделия?
3. Как можно определить границы проникновения фенолов в копченых мясных продуктах?
4. Какую роль играет фенольная фракция в формировании и стабилизации качественных характеристик мясных продуктов?
5. Какова доля фенольной фракции в составе дыма?
6. В каких количествах обычно присутствуют фенолы в мясных продуктах, выработанных по традиционной технологии?
7. В чем заключается потенциальная опасность фенольных соединений?
8. Присутствуют ли фенолы в составе коптильных жидкостей?
9. В чем суть колориметрического метода количественного определения фенолов?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 7

Изучение индивидуальных различий в восприятии наркотических веществ на примере кофеина

1. Цель работы: установить индивидуальные различия воздействия кофеина на изменение артериального давления.

2. Теоретические положения

Алкалоиды – третичные амины, содержащиеся в растениях в виде солей органических кислот (лимонной, яблочной, щавелевой, янтарной и др.). Общим для большинства алкалоидов свойством является наличие в их молекулах азота, содержащегося в составе циклов. Таким образом, алкалоиды принадлежат к гетероциклическим соединениям.

Известно около 10000 алкалоидов. Общим для всех алкалоидов свойством является то, что они представляют собой физиологически чрезвычайно активные вещества, оказывающие сильное действие на животный организм; многие из них токсичны. Избирательность действия алкалоидов на различные системы и органы человека и животных позволяет использовать их в качестве лекарственных средств. Алкалоиды классифицируют по характеру гетероцикла. Важнейшими алкалоидами пуринового ряда являются кофеин, теобромин и теофиллин.

Состав кофе.

Основной состав кофе давно изучен химиками. Еще во времена Д.И. Менделеева было известно, что в поджаренном кофе содержится около 25% клетчатки, по 14-16% белков и жиров, 4 % золы (минеральных веществ) и 3% воды. При варке кофе в домашних условиях, если это не "растворимый кофе", в кипяток переходит около четверти массы порошка.

В кофе множество гетероароматических соединений: в каждой чашке – примерно 1 мг, почти 300 наименований. В их циклы входят атомы N, O, S; эти соединения включают многие алкалоиды, витамины, антибиотики и служат составными частями молекул нуклеиновых кислот и белков. При этом в кофе есть вещества, способные предотвращать ряд болезней, включая диабет и катаракту.

В кофе содержится соединения железа, магния, калия, присутствуют такие химические элементы, как сера, азот, фосфор, хлор. Эти элементы входят в состав сложных органических соединений: белков, кофеина, никотиновой, хинной, уксусной, яблочной, лимонной кислот и полисахаридов.

В составе кофе содержится сосудосуживающее вещество — кофеин, а также довольно активные сосудорасширяющие соединения — алкалоиды: теобромин, теофиллин и витамин РР.

Влияние кофе на организм человека.

Впервые выпитая чашка кофе вызывает различные чувства по отношению к вкусовым достоинствам напитка (от неприязни до пылкого восторга), но никого не оставляет к себе равнодушным. Это сильное влияние кофе на организм человека еще на заре распространения напитка породило два диаметрально противоположных мнения о пользе и вреде кофе.

Много лет прошло с того времени, но спор о вреде и пользе кофе иногда можно слышать и в наше время. Рядом теоретических работ, многочисленными клиническими опытами довольно подробно изучено влияние кофе и кофеина на организм человека. Правда, большинство научно-исследовательских работ посвящено изучению влияния чистого кофеина. Заметим, что влияние кофе несколько отличается от влияния чистого кофеина из-за различных способов приема, различной концентрации и наличия в кофе ряда сопутствующих веществ, таких, как кислоты, ароматические, красящие и другие. Но тем не менее во влиянии кофе и чистого кофеина есть много общего.

В чем же проявляется влияние кофе на организм человека? Прежде всего кофе используется как вкусовой возбуждающий напиток. Кофе своим рождением и широким распространением обязан именно этому действию. Две трети населения земли, независимо от этнографических условий, пьют кофе по этим причинам.

Возбуждающее, стимулирующее и подкрепляющее действие кофе распространяется на многие физиологические проявления человека, особенно во время физической усталости. Тогда стимулирующее действие кофе оказывает почти магическое влияние на организм человека, придавая ему через короткое время силу и бодрость. Многообразно влияние кофе на центральную нервную систему, особенно на ее высшие отделы. Напиток кофе, содержащий один из главнейших растительных алкалоидов — кофеин, является раздражителем, который возбуждает и нормализует работу центральной нервной системы.

Исключительно эффективно влияние кофе на желудочно-кишечный тракт. Здесь в полной мере проявляется возбуждающее, стимулирующее действие не только кофеина, но и кислот, ароматических и вкусовых веществ, образующихся в процессе обжарки кофе. Желудочная секреция, вызываемая кофе, равносильна действию всеми признанного активатора секреторной реакции — мясного бульона. Через 20-30 минут после принятия черного кофе кислотность в желудке достигает максимума. С увеличением концентрации напитка в желудочном содержимом увеличивается содержание свободной соляной кислоты, возрастает общая кислотность, что ускоряет переваривание и эвакуацию пищи из желудка.

Кофе, увеличивая выделение желудочного сока, способствует повышению усвояемости пищи. Недаром у многих народов принято подавать черный кофе после завтрака и обеда.

Черный кофе как сильный возбудитель желудочной секреции должен быть исключен из рациона больных язвенной болезнью и гиперацидным гастритом. Любителям кофе при этих заболеваниях можно рекомендовать употребление кофе с молоком, сливками и сахаром, так как при этом возбуждающее влияние кофе на желудочную секрецию значительно уменьшается.

В литературе есть указание на то, что кофе угнетает жизнедеятельность микроорганизмов, следовательно, и с этой точки зрения кофе может оказаться полезным для человека во многих случаях.

У некоторых людей одна чашка кофе вызывает сердцебиение, нарушение пульса и даже боли в области сердца. У других кофе является причиной повышения нервной возбудимости и бессонницы. На некоторых людей кофе оказывает парадоксальный

эффект и вызывает сонливость. Во всяком случае, люди, страдающие бессонницей, должны воздерживаться от кофе за 6 часов до сна.

Кофе, как и спирт, возбуждает, согревает и активизирует деятельность человека, но с той разницей, что кофе не имеет опьяняющего и расслабляющего действия и не приводит к тем последствиям, которые бывают от спиртных напитков.

При всех своих положительных физиологических свойствах, обусловивших широкое распространение, кофе может оказывать на организм и вредное действие. Он противопоказан при гипертонии, бессоннице, повышенной возбудимости нервной системы и других заболеваниях.

Так как же, пить или не пить кофе? На этот вопрос можно ответить просто. Для здорового человека кофе, кроме пользы, ничего не даст, и, если напиток нравится, пейте на здоровье, не злоупотребляя им, как впрочем и любой другой пищей. Употребление кофе представляет действительно редкий случай сочетания приятного с полезным, а поэтому мы вправе рекомендовать чашку хорошего кофе.

Влияние кофеина на организм человека.

КОФЕИН — наркотик, принадлежащий к семейству ксантинов. Хотя теофиллин (содержащийся в чае) и теобромин (содержащийся в шоколаде) также являются ксантинами, они значительно отличаются от кофеина по своей структуре и по биологическим функциям. По химическому составу эти наркотики очень сходны, но оказывают совершенно различное физиологическое воздействие на организм. Тем не менее, большинство специалистов по химии питания сходятся на том, что кофе, чай и шоколад содержат значительное количество кофеина.

Кофеин в физиологическом отношении признан прекрасным тонизирующим средством. Он устраняет вялость, сонливость, апатию, безразличие, улучшает работу органов чувств, ускоряет передачу нервного возбуждения.

Влияние кофеина на высшие отделы центральной нервной системы изучали в лаборатории академика И.П.Павлова с использованием методов условных рефлексов. По данным школы Павлова, кофеин стимулирует процессы возбуждения в коре головного мозга, что ведет к усилению общего обмена и повышению жизнедеятельности тканей организма. Кофеин особенно полезен людям умственного труда, так как он, возбуждая нервные клетки головного мозга, увеличивает восприимчивость, располагает к сосредоточенному мышлению.

Кофеин стимулирует обмен некоторых веществ в организме и нормализует работу отдельных желез внутренней секреции. Например, повышает усвояемость сахара и угнетает деятельность щитовидной железы.

Как известно, после приема кофе быстрое всасывание кофеина вызывает повышение артериального давления, гипотоники через 15—30 минут чувствуют себя лучше. У них проходит чувство усталости, общее недомогание, сонливость, повышается настроение и появляется желание выполнить умственную или физическую работу. Однако улучшение самочувствия является кратковременным. Через несколько минут после ощущения чувства бодрости у человека возникает своеобразная внутренняя слабость. В случае повторного употребления кофе это ощущение исчезает, но каждый раз через некоторое время опять повторяется. Люди, не знакомые с механизмом действия кофе, продолжают увеличивать объем его потребления. В результате этого заметно ухудшается состояние человека, возникает общая слабость, сердцебиение, человек начинает ощущать пульсацию мозговых сосудов, а в отдельных случаях возникает дрожание рук или пальцев.

Среди наркотических веществ (седативных стимуляторов и галлюциногенов), пожалуй, самым распространенным среди населения мира является кофеин. Принято считать, что кофе повышает давление, стимулирует умственную деятельность, положительно влияет на работоспособность. Поэтому во многих зарубежных фирмах кофе предоставляется сотрудникам бесплатно практически в любое время рабочего дня.

Но привычка потребления кофе, как и любого наркотического вещества, столь сильна, что отказ от кофе требует огромных усилий, но несмотря на то, «кофеманы» знают, что потребление кофе вредно для желудка и ухудшает работу сердца.

Даже для новичка «безопасное» количество кофе при первом приеме может дать непредсказуемую реакцию. Для доказательства индивидуальной восприимчивости к наркотикам предлагается проверить различие в эффекте действия кофеина (чашечки крепкого кофе) на изменение артериального давления.

3 Аппаратура, реактивы и материалы

1. Кофе растворимый.
2. Кофе молотый.
3. Кофеварка.
4. Чайные чашки.
5. Прибор для измерения артериального давления

4. Указания по технике безопасности

К работе допускаются студенты, прошедшие инструктаж по технике безопасности работы в химических лабораториях с концентрированными кислотами, щелочами, ядовитыми, пожаро- и взрывоопасными веществами, работы с электроприборами и аппаратурой, о чем должна быть соответствующая запись в журнале.

Стандартные растворы ядохимикатов готовятся лаборантом.

Вся экспериментальная часть работы с органическими растворителями должна проводиться под вытяжным шкафом.

5. Организация работы индивидуального задания

При изучении индивидуальных различий воздействия кофеина на организм человека в обследовании принимают участие не менее 10 человек из группы.

5.1. Перед началом исследования у всех испытуемых определяют артериальное давление. Данные систолического (верхнего) и диастолического (нижнего) давления записывают в табл. 2 и 3.

5.2. Половина испытуемых (5 человек) для приготовления напитка используют растворимый кофе. Напиток готовят согласно рецептуре, приведенной на упаковке. Вторые 5 человек готовят напиток из молотого кофе по рецептуре, указанной на упаковке.

5.3. У всех испытуемых измеряется артериальное давление через 3–5, 10 и 15 мин после употребления одной чашки крепкого кофе. Результаты заносят в табл. 1.

Таблица 1

№	Ф.И.О.	Пол	Курит	Принимал(а) наркотики	Часто пьет кофе	Артериальное давление			
						До приема кофе, С/Д	После приема		
							3-5	10	15
1									

Артериальное давление – давление, развиваемое кровью в артериальных сосудах организма.

Систолическое давление (верхнее), **диастолическое** (нижнее) являются важнейшими показателями состояния сердца и сосудов. Давление в норме у взрослого человека должно быть 120/80 мм.рт.ст.

5.4. На основании измерения артериального давления для каждого испытуемого определяют средние показатели уровня систолического и диастолического давления и

величину стандартных отклонений от среднего. Полученные результаты заносят в табл. 2 и 3.

5.5. Для каждого обследуемого строится кривая изменения систолического и диастолического артериального давления в результате приема кофеина.

6. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, методика проведения исследования, результаты эксперимента, выводы.

Результаты работы оформляются в виде таблицы и текста.

6 СЕМЕСТР

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

Знакомство с оборудованием лаборатории и техникой безопасности при микробиологических исследованиях. Техника микробиологических исследований и основные приемы микрофотографирования фиксированных препаратов

1 Цель и содержание

Цель работы: Определить условия работы в микробиологической лаборатории, познакомиться с основными приемами техники безопасности при работе с микроорганизмами, продемонстрировать оборудование, применяемое для стерилизации и культивирования их, освоить устройство микроскопа и основные приемы микрофотографирования на различных системах микроскопов.

Содержание работы:

1.1 Ознакомиться с правилами работы при выполнении лабораторного практикума.

1.2 Ознакомиться с основным оборудованием лаборатории и принципами его работы (термостаты, автоклавы, боксы, микроскопы).

1.3 Изучить устройство оптического иммерсионного микроскопа, правила обращения с ним.

а) научиться устанавливать освещение;

б) поместить на предметный столик фиксированный препарат и закрепить его зажимами;

в) рассмотреть препарат при сухих объективах ($8\times$ и $40\times$) и отыскать лучшее место для детального исследования;

г) научиться технике микрофотографирования под иммерсионным объективом, для чего нанести кедровое масло на препарат, погрузить в него фронтальную линзу объектива $90\times$, смотря на препарат сбоку, затем, глядя в окуляр, медленно поднимать тубус микроскопа для появления в поле зрения изучаемого предмета вращением винта;

д) изучить и зарисовать препарат.

1.4 Зарисовать схематически устройство микроскопа, ход лучей в биологическом и электронном микроскопах.

1.5 Изучить фазово-контрастную, люминесцентную, электронную микроскопию, микроскопию в темном поле.

2 Теоретическое обоснование

Изучение микроорганизмов, размеры которых не превышают десятков и сотен микрометров ($1\text{ мкм} = 0,001\text{ мм}$), возможно только с помощью микроскопов. Эти приборы позволяют получить увеличение в сотни (световые микроскопы) и десятки-сотни тысяч раз (электронные микроскопы) изображение исследуемых объектов.

Существуют светлорольная микроскопия (моно- и бинокулярная), микроскопия в темном поле, фазово-контрастная, люминесцентная и электронная микроскопии. В светорольной микроскопии при использовании объектива 90^x применяют иммерсионную систему. Для исследования объектов малой величины, лежащей за пределами видимости обычных микроскопов, используют темнорольную микроскопию. Для этого в биологическом микроскопе обычный конденсор заменяют конденсором темного поля, который пропускает только боковые лучи и создает резкий боковой контраст на темном поле. Микробы при этом начинают светиться. Фазово-контрастная микроскопия позволяет получать контрастные изображения неокрашенных, неконтрастных объектов, в которых темные и светлые места соответствуют различной толщине и оптической плотности препарата. Метод основан на преобразовании фазовых изменений, претерпеваемых световой волной при прохождении через объект в видимые амплитудные с помощью определенного оптического устройства. Люминесцентная микроскопия основана на освещении способного к флюоресценции объекта сине-фиолетовыми лучами с длиной волны 460 нм или ультра-фиолетовыми лучами с длиной волны 300–400 нм. Нелюминесцирующие объекты можно обрабатывать специальными флуорохромами (вторичная, наведенная люминесценция). Электронный микроскоп позволяет получить изображение объекта с увеличением в десятки тысяч раз. В нем используются не световые лучи, а поток движущихся электронов.

3 Аппаратура и материалы

Учебная аудитория для проведения занятий семинарского типа (практических занятий, лабораторных работ).

Аудитория, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории: компьютер, проектор, доска магнитно-маркерная

Подключение к сети «Интернет», выход в корпоративную сеть университета.

4 Указания по технике безопасности

Заходить и работать в микробиологической лаборатории можно только в специальной одежде – чистом белом халате, шапочке или косынке. Двери лаборатории должны быть закрытыми. На рабочем месте не должно быть посторонних вещей. Студент обязан работать только на одном и том же месте и пользоваться закрепленным за ним оборудованием и химикатами. Следует соблюдать чистоту и опрятность при работе, использовать дезинфицирующие среды. Во избежание заражения во время перерывов не курить и не принимать пищи. На столе должно быть только необходимое для выполнения задания. По окончании занятий рабочее место и оборудование приводить в порядок: Во избежание взрыва нельзя зажигать одну спиртовку от другой, следует использовать спички или зажигалку. Нельзя соприкасаться металлическими и другими предметами с контактными частями электросети. Без ведома преподавателя или обслуживающего персонала нельзя включать электроприборы или аппаратуру. Следует соблюдать правила работы с химическими и другими реактивами. В случае если разбился сосуд, пролилась жидкость, содержащая посевной материал, необходимо провести дезинфекцию. Остатки сосуда захватывают пинцетом и опускают в банку с дезинфицирующим раствором; поверхность стола, загрязненного халата, руки, обрабатывают спиртом или хлорамином. Уходя из лаборатории, студент обязан обработать руки спирто-йодной смесью и тщательно их вымыть. Ежедневно в лаборатории проводится влажная уборка и дезинфекция 1 – 5% раствором хлорамина.

5 Методика и порядок выполнения работы группового задания

Перед работой с микроскопом студенты проходят инструктаж по технике безопасности при работе в микробиологических лабораториях. Для этого преподаватель знакомит студентов с имеющимся в лаборатории и автоклавной оборудованием, указывая

особенности работы на нем.

Работа с микроскопом выполняется студентами индивидуально по предложенным преподавателем вариантам готовых микробиологических препаратов.

ПРАВИЛА РАБОТЫ С БИОЛОГИЧЕСКИМ МИКРОСКОПОМ

1. Вынимая из футляра микроскоп, его держат одной рукой за ручку штатива, а другой поддерживают за ножку штатива. Наклонять микроскоп в сторону нельзя, так как при этом окуляр может выпасть из тубуса.

2. На рабочем столе микроскоп помещают ручкой к себе, на расстоянии 3–5 см от края стола. Перед началом работы следует осторожно мягкой сухой тканью удалить пыль с механических и оптических частей микроскопа, не касаясь пальцами линз,

3. Устанавливают правильное освещение поля зрения микроскопа. Для этой цели, смотря в окуляр, зеркалом направляют лучи света от настольного осветителя в объектив. Объекты, подлежащие микроскопированию, рассматривают в проходящем свете. Настройка освещения производится с объективом «8». При правильной установке поле зрения микроскопа будет иметь форму круга, хорошо и равномерно освещенного.

4. На предметный столик помещают исследуемый препарат и закрепляют его клеммами. Сначала препарат рассматривают с объективом 8^x, затем переходят к большим увеличениям. Необходимо помнить, что чем меньше дает увеличение объектив, тем больше при установке препарата на фокус будет свободное рабочее расстояние (расстояние между объективом и препаратом). При работе с объективом 8^x расстояние между препаратом и объективом около 9 мм, с объективом 40^x – 0,66 мм и с объективом 90^x – около 0,15 мм. Тубус микроскопа необходимо опускать вниз с помощью макрометрического винта осторожно, наблюдая сбоку, и приблизить его к препарату (не касаясь его) на расстояние меньше рабочего. Затем, глядя в окуляр, тем же винтом, медленно вращая его на себя, поднимают тубус до тех пор, пока в поле зрения не появится изображение изучаемого объекта. После этого вращением микрометрического винта фокусируют объектив так, чтобы изображение предмета было четким. Микрометрический винт можно вращать не более чем на пол-оборота в ту или другую сторону. При работе с иммерсионным объективом на препарат предварительно наносят каплю кедрового масла, и, глядя сбоку, макрометрическим винтом опускают осторожно тубус микроскопа так, чтобы кончик объектива погрузился в каплю масла. Затем, глядя в окуляр, тем же винтом очень медленно поднимают тубус до тех пор, пока не увидят изображение. Тонкую наводку объектива на фокус производят микроскопическим винтом.

5. При смене объективов следует регулировать интенсивность освещения рассматриваемого объекта. Желаемую степень освещенности получают, опуская или поднимая конденсор. При просмотре препарата с объективом 8^x конденсор опускают, при переходе на объектив 40^x конденсор несколько поднимают, а при работе с объективом 90^x конденсор поднимают вверх почти до предела.

6. Препарат рассматривают в нескольких местах, передвигая предметный столик боковыми винтами. При изучении препарата следует все время медленно (в пределах пол-оборота) вращать микровинт по часовой стрелке и против нее, чтобы просмотреть предмет во всей толще и установить на фокус то один, то другой участок препарата. Перед переходом от одного объектива к другому место препарата, где расположен изучаемый объект, следует поставить точно в центр поля зрения и только после этого повернуть револьвер с объективом. Перед переходом от одного объектива к другому место препарата, где расположен изучаемый объект, следует поставить точно в центр поля зрения и только после повернуть револьвер с объективом.

7. Во время микроскопирования необходимо держать оба глаза открытыми и пользоваться ими попеременно.

8. После окончания работы следует снять препарат с предметного столика, опустить конденсор, поставить под тубус объектив 8^x. Удалить мягкой тканью иммерсионное масло с фронтальной линией объектива 90^x и убрать микроскоп в футляр.

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, содержание, методика проведения работы, рисунок микроскопа с обозначением его составных частей и рисунок предложенного мазка-препарата.

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. Какие методы стерилизации вы знаете?
2. Как устроен автоклав и каковы правила работы с ним?
3. Что такое дробная стерилизация?
4. Устройство оптической системы биологических микроскопов.
5. Особенность иммерсионной системы микроскопирования.
6. В чем заключается сущность фазово-контрастной, люминесцентной, электронной микроскопии и микроскопии в темном поле?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2

Условия выращивания микроорганизмов, техника культивирования и техника приготовления бактериальных препаратов для исследования. Краски, красящие растворы. Способы окраски микроорганизмов.

Цель работы:

Ознакомить студентов с основными искусственными питательными средами, используемыми для выращивания микроорганизмов (рецептурой и техникой приготовления).

1.1 Привить навыки посева, пересева микроорганизмов на искусственные питательные среды, соблюдая условия стерильности.

1.2 Научить студентов технике приготовления бактериальных препаратов.

Содержание работы:

1.1 Изучить основные среды, используемые в бактериологических лабораториях для культивирования микроорганизмов.

1.2 Освоить технику взятия материала в стерильных условиях, пользуясь схемой приготовления мазка из жидких сред, например, мясопептонного бульона (МПБ), плотных, например, мясопептонного агара (МПА), естественных (зубной налет).

1.3 Приготовить препарат живых микроорганизмов в раздавленной и висячей каплях для исследования микроорганизмов на подвижность.

1.4 Представить блок-схемы приготовления мазков изучаемых культур микроорганизмов.

1.5 Ознакомить студентов с основными красителями, употребляемыми при микробиологических исследованиях.

1.6 Научить студентов красить препараты различными способами окраски с целью изучения форм и структуры микроорганизмов.

1.7 Научиться отличать в сухом и разведенном виде наиболее часто употребляемые в микробиологической технике красители.

1.8 Окрасить простым и сложным способом приготовленные мазки культур микроорганизмов: чистые культуры – простым способом (фуксином, метиленовой синью, генцианвиолетом), смесь организмов – сложным способом (но Г рамму), зубной налет – методом Бури.

1.9 Промикроскопировать при увеличении 15х90Х (или 10х90Х) и сделать отчет в виде рисунков.

1.10 Измерить минимум 5–10 особей всех видов крупных форм. Данные обработать биометрически в соответствии с методическими указаниями, описанными в работе.

2 Теоретическое обоснование

2.1 Условия выращивания микроорганизмов

Для жизнедеятельности микроорганизмов необходимы питательные среды, содержащие определенный набор органогенов: О, Н, С, N: зольных элементов: S, P, K, Ca, Mg, Fe; микроэлементов: Mn, Zn, Co, Si, B, и др.

Питательная среда должна иметь определенную реакцию среды, должна быть стерильной и влажной.

По консистенции питательные среды бывают жидкие, полужидкие и плотные.

По происхождению среды различают естественные и искусственные (рис.2.1). Естественные представляют собой продукты животного (кровь, сыворотка, молоко, желчь) и растительного происхождения (овощи, фрукты, злаковые). Искусственные питательные среды готовят из продуктов переработки растений, мяса, молока, печени и др. добавлением к углеводам, поваренной соли, красок и т.д.

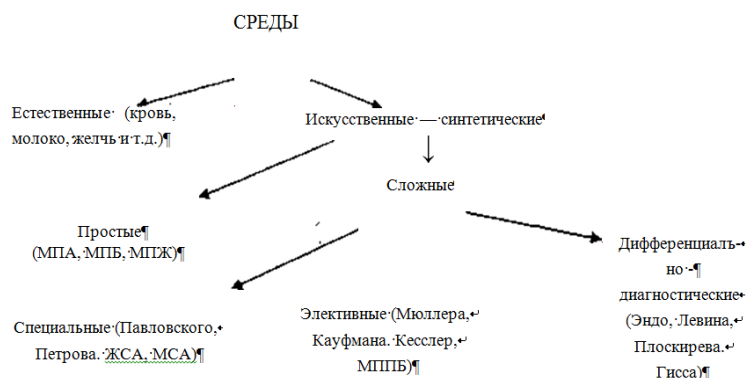


Рисунок 2.1 – Виды сред

Синтетические среды – в состав сред входят растворы химически чистых неорганических или органических соединений в точно установленных концентрациях. Простые среды служат для культивирования большинства микроорганизмов (МПА – мясопептонный агар, МПБ – мясопептонный бульон, МПЖ – мясопептонный желатин). Специальные среды предназначены для культивирования микроорганизмов, не растущих или плохо растущих на простых питательных средах. Так, для культивирования туберкулезной палочки необходимы среды Петрова, Павловского, для возбудителя лептоспироза – среда Любашенко, для микроорганизмов рода *Staphylococcus* – среда ЖСА. Элективные (избирательные) среды необходимы для культивирования одного или нескольких видов микроорганизмов. Этому способствует определенный сбегав и концентрация питательных веществ при строгом значении pH. При посеве из материала, содержащего смесь микробов, интенсивно проявляется рост того вида, для которого созданы наиболее благоприятные условия для развития. Так, среды Мюллера и Кауфмана необходимы для выявления сальмонелл, среда Кесслер – для кишечной палочки, МППБ – для выявления анаэробов. Дифференциально-диагностические среды необходимы для определения видовой принадлежности микроорганизма, для отличия одного вида бактерий от другого. Так, среда Эндо, Левина, Плоскирева служит для дифференциации бактерий групп кишечных палочки и сальмонелл.

Многие виды бактерий могут самостоятельно двигаться. Эта способность обуславливается наличием у бактерий жгутиков. Жгутики имеют вид длинных тонких нитей, диаметр которых не превышает 0,02 – 0,05 мкм. Они хорошо видны в электронный микроскоп. Чтобы обнаружить жгутики при обычном увеличении, применяют специальные методы их окраски (способ Пешкова, Леффлера). При этом диаметр жгутиков, а также самой бактерии, увеличивается. Длина жгутиков различна, у некоторых бактерий она достигает 30 мкм, во много раз превышая длину бактерий.

По характеру расположения и числу жгутиков различают монотрихи- бактерии с одним жгутиком на одном из концов клетки, лофотрихи-бактерии с несколькими жгутиками, расположенными на одном из концов клетки, и перитрихи-бактерии с

большим числом жгутиков на всей поверхности бактериальной клетки.

Хотя жгутики и являются видовым признаком, наличие их зависит от условий внешней среды. При длительном выращивании культуры на плотных средах жгутики могут исчезнуть, а на жидких – появиться. Бактерии теряют жгутики и во время образования спор. Слишком низкие или высокие температуры могут приостановить движение бактерий. На подвижность бактерий влияет также присутствие в среде наркотических веществ, ядов, продуктов жизнедеятельности клетки. Быстрота движений у бактерий различна. Большинство бактерий подвижных видов передвигаются со скоростью 2 – 10 мкм в секунду. Характер движения бактерий зависит главным образом от расположения жгутиков и частично от формы тела. Бактерии, у которых жгутики находятся на одном конце тела, движутся обычно по прямой линии, совершая иногда легкое колебательное движение.

У перитрихов движение сопровождается оживленным переворачиванием клетки в разные стороны.

Окрашивают препарат простым или сложным способом. При простом способе окраски чаще всего используют красный фуксин или метиленовый синий. Фуксин для окраски наносят на препарат на 1 – 2 минуты, метиленовый синий – на 30 секунд.

После окрашивания препарат следует промыть водой, подсушить на воздухе и промикрофотографировать при окуляре 15^X или 10^X и объективе микроскопа 90^X.

Сложный способ окраски по Граму

При сложном окрашивании применяют два или более красящих веществ. Кроме красящих веществ, применяют различные обесцвечивающие вещества (спирт).

Окраска микроорганизмов по Граму является универсальным дифференциально-диагностическим способом. По отношению к окраске по Граму все микроорганизмы принято делить на: грамположительные; грамотрицательные.

В настоящее время существует две точки зрения на различное окрашивание клетки по методу Грама. Одни ученые предполагают, что метод окраски по Граму основан на использовании РНК микробной клетки магниевых солей, содержащихся в цитоплазме многих (положительных) микроорганизмов, вступающих в реакцию генциан – или кристалвиолетом и йодом, образующих стойкие соединения, не разрушающиеся после последующего воздействия. Грамотрицательные микроорганизмы такими свойствами не обладают и обесцвечиваются при действии спирта, а при дополнительной окраске водным раствором фуксина окрашиваются в розовый цвет. По другой теории различное окрашивание клеток обусловлено сложным строением клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

В грамотрицательных клетках слой муреина незначителен, расположен островками, поэтому поры остаются открытыми, вода вымывает генцианвиолет из клетки, клетка обесцвечивается и в дальнейшем окрашивается в розовый цвет фуксином.

3 Аппаратура и материалы

Учебная аудитория для проведения занятий семинарского типа (практических занятий, лабораторных работ).

Аудитория, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории: компьютер, проектор, доска магнитно-маркерная

Подключение к сети «Интернет», выход в корпоративную сеть университета.

4 Указания по технике безопасности

Заходить и работать в микробиологической лаборатории можно только в специальной одежде – чистом белом халате, шапочке или косынке. Двери лаборатории должны быть закрытыми. На рабочем месте не должно быть посторонних вещей. Студент обязан работать только на одном и том же месте и пользоваться закрепленным за ним оборудованием и химикатами. Следует соблюдать чистоту и опрятность при работе,

использовать дезинфицирующие среды. Во избежание заражения во время перерывов не курить и не принимать пищи. На столе должно быть только необходимое для выполнения задания. По окончании занятий рабочее место и оборудование приводить в порядок: Во избежание взрыва нельзя зажигать одну спиртовку от другой, следует использовать спички или зажигалку. Нельзя соприкасаться металлическими и другими предметами с контактными частями электросети. Без ведома преподавателя или обслуживающего персонала нельзя включать электроприборы или аппаратуру. Следует соблюдать правила работы с химическими и другими реактивами. В случае если разбился сосуд, пролилась жидкость, содержащая посевной материал, необходимо провести дезинфекцию. Остатки сосуда захватывают пинцетом и опускают в банку с дезинфицирующим раствором; поверхность стола, загрязненного халата, руки, обрабатывают спиртом или хлорамином. Уходя из лаборатории, студент обязан обработать руки спирто-йодной смесью и тщательно их вымыть. Ежедневно в лаборатории проводится влажная уборка и дезинфекция 1 – 5% раствором хлорамина.

5 Методика и порядок выполнения группового задания

5.1 Приготовление бактериальных препаратов с жидких и плотных сред

Препарат-мазок для окрашивания готовится в несколько этапов:

1. Приготовление препарата. 2. Высушивание. 3. Фиксация, 4. Окраска.

Для приготовления препарата используют предметное стекло – тонкую стеклянную пластинку размером 76 – 26 мм с хорошо отшлифованными краями. При микроскопировании применяют покровные стекла толщиной 0,15 – 0,17 мм и размером 18x18, 20x20, 18x24 мм.

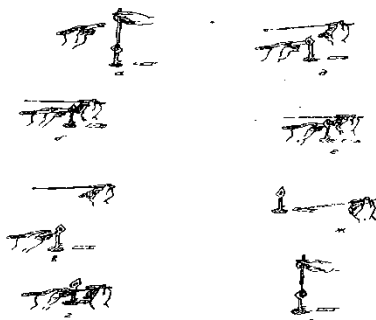


Рисунок 2.2 – Схема приготовления мазка

Стекла должны быть чистыми, обезжиренными, подготавливаются заранее. При достаточном обезжиривании капля воды равномерно расплывается по поверхности стекла, не образуя выпуклых участков.

Препарат-мазок готовится при помощи бактериологических петлей или пастеровских пипеток. Бактериологическую петлю готовят из платиновой или нихромовой проволоки длиной 5 ÷ 7 см и толщиной 0,5 мм и припаивают к ней стеклянную ручку или вставляют ее в металлический петледержатель, такая проволока легко остывает и стерилизуется.

Для приготовления препарата-мазка исследуемую культуру микроба осторожно распределяют равномерным тонким слоем на предметном стекле. Для приготовления мазка из культур, выросших на плотных средах, поступают следующим образом. На чистое предметное стекло стерильной пипеткой или бактериологической петлей наносят каплю водопроводной воды или физраствора. Пробирку с культурой, из которой необходимо приготовить мазок, в наклонном положении помещают на указательном и среднем пальцах левой руки и сверху прижимают большим пальцем так, чтобы хорошо была видна вся поверхность питательной среды с выросшими на ней микроорганизмами.

Прежде чем взять материал из культуры, необходимо прокалить бактериологическую петлю в пламени горелки до покраснения.

При этом (рис.2.2) петля должна находиться в вертикальном положении (а), чтобы пламя охватывало не только всю петлю, но и часть иглодержателя. При работе петлю или пипетку держат в правой руке, как карандаш при письме. Зажав пробку между мизинцем и ладонью правой руки (в ней же находится подготовленная петля), вынимают ее из пробирки (б) и держат концом вниз, не допуская соприкосновения с рукой той части пробки, которая. Находилась в пробирке. Открытый конец пробирки обжигают на пламени (в) и отводят несколько к себе, затем вводят в пробирку петлю (еще раз проведенную через пламя), охлаждают прикосновением к стенке пробирки (г) и набирают небольшое количество материала, слегка прикасаясь к культуре и не царапая среды петлей. После взятия материала (д) пробирку тотчас закрывают той же ватной пробкой (е), а перед этим края пробирки и конец ватной пробки обжигают на пламени горелки. Взятый материал эмульгируют (ж) в имеющейся на предметном стекле капле и равномерно тонким слоем петлю распределяют по поверхности (1,5–2 см) другого чистого стекла.

Если культура выращена на жидкой питательной среде, то стерильную петлю опускают в жидкость, захватывают каплю и растирают ее на предметном стекле. На обратной стороне стекла обводят восковым, карандашом место, где приготовлен мазок. Это облегчает в дальнейшем нахождение его. После этого бактериологическую петлю (в) прокаливают с тем, чтобы убить оставшиеся микроорганизмы и кладут на место. Для приготовления мазка можно пользоваться стерильной пипеткой.

Пастеровскую пипетку предварительно проводят над пламенем горелки, затем пинцетом над прокаленным пламенем горелки обламывают тонкий запаянный конец пипетки и набирают материал. И использованную пипетку опускают в сосуд с дезинфицирующим раствором (5%-м раствором фенола).

5.2 Приготовление препарата-мазка из зубного налета

Препарат-мазок из зубного налета готовят следующим образом. На предметное стекло наносят бактериологической петлей каплю физиологического раствора или водопроводной воды, затем осторожно снимают зубной налет спичкой (без серной головки), растирают в капле и тонким слоем распределяют по поверхности стекла. Мазок подсушивают на воздухе, фиксируют и окрашивают. Высушивание приготовленного препарата производится на воздухе или в термостате. Подогревать не рекомендуется, т.к. при быстрой потере влаги происходит грубое свертывание белков и клетка теряет естественную форму. При высушивании препарат предохраняют от мух, накрывая стеклянным колпаком. Фиксация высушенного препарата преследует несколько целей: обеспечить лучшее прилипание микробных клеток к стеклу, убить микроорганизмы (мертвые клетки окрашиваются лучше, чем живые).

Фиксация препарата производится над пламенем спиртовки или газовой горелки. Предметное стекло берут за уголки большим и указательным пальцами и медленно проводят, держа стороной с нанесенным препаратом через пламя не менее трех раз. В общей сложности мазок должен подвергаться действию пламени не более 2 сек. Длительная фиксация может изменить структуру микробных клеток и их форму; недостаточно зафиксированный мазок смывается со стекла при последующей обработке. Для фиксации можно использовать различные химические вещества. В абсолютном спирте мазки выдерживают 15 – 30 мин., в метиловом и амиловом спирте 5 мин. Фиксация производится путем погружения мазка в кювету с одним из указанных веществ или нанесения последних на мазок.

5.3 Исследование подвижности микробов Исследование подвижности микробов в висячей капле

Для приготовления висячей капли исследуемый материал наносят на середину обезжиренного покровного стекла. Затем берут стекло с луночкой, на края луночки наносят тонкий слой вазелина и стекло, повернув луночкой вниз, прикладывают к

покровному стеклу так, чтобы капля находилась в центре углубления. Предметное и покровное стекла переворачивают, и капля оказывается герметически закрытой во влажной камере и защищенной от высыхания. Для того чтобы стенки образовавшейся камеры не запотевали, предметное стекло и лунку слегка увлажняют. Для исследования под микроскопом сужают диафрагму и находят край капли с сухой слабой системой (8X) объектива. Найденную каплю передвигают в центр поля зрения и рассматривают с иммерсионным объективом. В данном случае поступают следующим образом: на поверхность покровного стекла наносят каплю кедрового масла. Иммерсионный объектив опускают под контролем глаза сбоку на препарат в каплю кедрового масла и слегка ее раздавливают (не допускают, чтобы объектив касался покровного стекла).

5.4 Техника окраски по Граму

Техника окраски по Граму заключается в следующем:

1. На обычно приготовленный фиксированный препарат кладут полоску фильтровальной бумаги несколько короче длины предметного стекла и на нее наливают карболовый раствор генцианвиолета на две минуты. Раствор генцианвиолета готовят путем смешивания 10 мл насыщенного спиртового раствора со 100 мл 10%-го водного раствора карболовой кислоты.
2. Бумагу удаляют с препарата, излишки краски сливают и на препарат на две минуты наливают раствор Люголя (препарат чернеет).
3. Через 2 минуты сливают раствор Люголя и, не промывая водой, наносят на препарат на 30 секунд (строго) спирт-ректификат, после чего промывают водой.
4. В оставшуюся на стекле воду добавляют 2 капли фуксина основного на 2 минуты.
5. Промывают препарат водой, подсушивают на воздухе при комнатной температуре и микроскопируют.

Грамположительные микроорганизмы окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрицательные – в красно-розовый. Результаты зарисовать в тетради.

Препарат из зубного налета окрасить негативным методом по Бури. Он же употребляется и для окраски капсул бактерий.

Техника приготовления и окрашивания препарата из зубного налета. На предметное стекло нанести небольшую каплю туши, осторожно снять зубной налет спичкой (без серной головки) и распределить его равномерно в капле туши по поверхности стекла. После подсыхания препарата на воздухе рассмотреть его под иммерсионной системой микроскопа. На темно-дымчатом фоне ясно видны неокрашенные клетки микроорганизмов. Зарисовать в рабочей тетради увиденную картину.

5.5 Измерение размеров микробной клетки

Размеры микроорганизмов определяют в живой 12 – 18- часовой культуре. Культура микробов такого возраста имеет более или менее однообразные клетки, характерные для данного вида. Единицей измерения является микрометр: Микробы измеряют окулярным микрометром. Это круглая стеклянная пластинка с нанесенной произвольной шкалой, разделенной на десятые и двадцатые доли миллиметра. Обычная длина шкалы 5 мм. Техника измерения заключается в следующем. Отвинчивают верхнюю линзу окуляра. Окулярный микрометр помещают делением вниз на диафрагму окуляра и завинчивают верхнюю линзу до получения ясного изображения шкалы. Затем измеряют исследуемый объект, для чего определяют, сколько делений окулярного микрометра занимает исследуемая клетка. Методом математического подсчета Прохоровичем установлены значения величин окулярного микрометра для всех возможных комбинаций увеличения окуляров и объективов. При окуляре 1 ОХ и объективе 90Х цена деления окулярного микрометра – 1,5 мкм, при 15Х и 90Х цена деления – 1,3 мкм. Умножая число

делений на цену деления, находим истинный размер клетки.

6 Содержание отчета и его форма

В содержании отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения работы, представлены рисунки полученных мазков.

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. Какие требования предъявляются к питательным средам?
2. Как дифференцируются среды по происхождению, по консистенции, по назначению?
3. В чем заключается особенность культивирования микроорганизмов на дифференциально-диагностических средах?
4. Какие питательные среды используют для исследования объектов внешней среды?
5. Чем обеспечивается подвижность микроорганизмов?
6. Характер расположения жгутиков микроорганизмов.
7. Какова методика приготовления мазка из культуры бактерий, выращенных в плотной (или жидкой) питательной среде?
8. Какие краски применяют для окраски бактерий?
9. Какова методика окраски бактерий по Граму?
10. В чем сущность окраски бактерий по методу Грама?
11. В чем выражается подвижность микроорганизмов?
12. Указать основные методики по определению подвижности микроорганизмов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3

Морфология шаровидных, палочковидных форм бактерий

1 Цель и содержание

Цель работы:

- 1.1 Познакомить студентов с основными формами шаровидных и палочковидных микроорганизмов, научить отличать их в любом субстрате.
- 1.2 Изучить морфологию бесспоровых и спорообразующих бактерий на фиксированных и окрашенных препаратах, научить отличать бесспоровые и споровые формы и дифференцировать их по расположению спор.

Содержание работы:

- 1.1 Изучить различные группы шаровидных форм: микрококков, дипло-, стрепто-, тетра-, стафилококков и сардины.
- 1.2 Приготовить фиксированные препараты из предложенных преподавателем культур микроорганизмов (1-2 препарата).
- 1.3 Окрасить их по Граму.
- 1.4 Промикроскопировать и зарисовать в тетради все виды кокковых круглых форм микроорганизмов. Обратит особое внимание на расположение отдельных клеток микроорганизмов относительно друг друга.
- 1.5 Приготовить фиксированные препараты из бесспоровых культур микроорганизмов, измерить их величину.
- 1.6 Приготовить фиксированные препараты из спорообразующих культур.
- 1.7 Окрасить препараты простым способом (фуксином).
- 1.8 Окрасить препараты спорообразующих бактерий сложным способом (метод окраски спор по Златогорову).
- 1.9 Промикроскопировать окрашенные мазки - препараты, сделать рисунки.

1.10 Изучить препарат «капсулы бактерий».

1.11 Изучить подвижность микроорганизмов в висячей и раздавленной каплях.

2 Теоретическое обоснование

Монококки (микрококки) - клетки расположены одиночно, т.к. деление происходит в одной плоскости, сразу после деления клетки обособлены и располагаются одиночно.

Диплококки и Стрептококки образуются при делении клеток в одной плоскости, у диплококков клетки расположены попарно, у стрептококков – в цепочку.

Тетракокки возникают при делении клеток в двух взаимноперпендикулярных плоскостях, после деления не расходятся и образуют группы из 4-х клеток.

Сарцины формируются при делении клеток в 3-х взаимноперпендикулярных плоскостях, при этом образуются пакеты из 8 - 16 и более клеток.

Стафилококки делятся в нескольких плоскостях, представлены Скоплениями клеток, Напоминающие виноградные гроздья.

Палочковидные бактерии имеют форму вытянутого цилиндра, могут быть одиночными, соединенными попарно (диплобактерии), а также в виде цепочек из трех и более клеток (стрептобактерии).

Извитые бактерии бывают трех типов:

Вибрионы – палочки, изогнутые в виде запятой.

Спириллы – имеющие несколько правильных завитков.

Спирохеты – мелкие спирали с многочисленными завитками.

Кроме того, имеются нитчатые формы бактерий. Сравнительно недавно обнаружены новые формы бактерий, клетки которых имеют вид разомкнутого и замкнутого кольца (тороиды), шестиугольной звезды, розетки, клетки с выростами и червеобразной формы.

Спорообразование для бактерий является защитной функцией. Не все бактерии способны к спорообразованию, как пример роды *Bacillus* и *Clostridium*.

У бацилл диаметр споры не превышает размера вегетативной клетки, а у клостридий размер споры всегда значительно больше ширины вегетативной клетки, поэтому спорообразующая клостридия напоминает теннисную ракетку или веретено. Спора в клетке может иметь центральное, терминальное либо субтерминальное положение. При простом методе окраски споры не окрашиваются за счет значительной толщины оболочек самой споры.

Капсулы – это слизистое вещество на наружной поверхности клеточной стенки, содержащее муцин и различные полисахариды.

Капсулы являются видовым признаком. Капсульное вещество слабо воспринимает окраску и при простом методе окраски выступает в виде бледного, бесцветного или слабоокрашенного ореола вокруг микробной клетки.

3. Аппаратура и материалы

Учебная аудитория для проведения занятий семинарского типа (практических занятий, лабораторных работ).

Аудитория, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории: компьютер, проектор, доска магнитно-маркерная

Подключение к сети «Интернет», выход в корпоративную сеть университета.

4. Указания по технике безопасности

Работа выполняется индивидуально каждым студентом с предложенными преподавателем микробными культурами. Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории (см. стр. 4).

5. Методика и порядок выполнения группового задания

Приготовление мазка, его фиксирование и дальнейшая окраска проводится студентами по методикам работ 2 и 3.

5.1 Окраска спор по методу Златогорова

Готовят мазок (обычным способом), высушивают на воздухе. Для фиксации и для того, чтобы несколько разрыхлить оболочку и убить спору, 10 раз проводят через пламя спиртовки. На мазок кладут полоску фильтровальной бумаги, красят карболовым фуксином Циля, подогревают 8-10 мин. до появления паров (в результате и споры, и вегетативные формы окрашиваются в один цвет-красный), бумажку снимают и 6-10 сек. обесцвечивают, 5%-м раствором серной кислоты (споры остаются окрашенными в красный цвет) и промывают водой. Дополнительно окрашивают 1 мин. раствором метиленового синего (окрашиваются только обесцвеченные вегетативные формы), смывают водой, просушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют, используя иммерсионный объектив.

Подвижность микроорганизмов в висячей капле исследовать по методике лабораторной работы 2.

5.2 Исследование подвижности микроорганизмов в раздавленной капле

На предметное стекло наносят каплю физраствора, в которую бакпетлей вносят микробную культуру, выращенную на МПЛ, растирают суспензию. Затем накрывают покровным стеклом так, чтобы в жидкости не образовалось пузырьков воздуха. Капля исследуемого материала должна быть небольшой, чтобы после прижатия ее покровным стеклом не было избытка жидкости, в противном случае ее удаляют фильтровальной бумагой. При наблюдении под микроскопом бактерии перемещаются в разных направлениях с разной скоростью.

5.3 Окраска капсул методом Михина

Мазок готовят обычным методом - окрашивают раствором метиленового синего в течение 2-3 минут, подогревая до образования паров. Краску смывают водой, быстро мазок просушивают. Капсулы окрашиваются в светло-розовый цвет, бактерии - темно-синий.

6. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения работы, представлены рисунки полученных мазков.

7. Контрольные вопросы и защита работы

1. Укажите основные формы микроорганизмов.
2. Как подразделяются кокковидные формы микроорганизмов?
3. В скольких плоскостях делятся кокковидные микроорганизмы?
4. Сущность процесса спорообразования.
5. Методы окраски спор, их сущность.
6. Сущность процесса капсулирования.
7. Метод окраски капсул, его сущность.

Лабораторная работа 4

Морфология актиномицетов, плесневых грибов, дрожжей

1 Цель и содержание

Цель работы: Ознакомить студентов с морфологией грибов и техникой их микробиологического исследования.

Содержание работы:

1.1 Приготовить препараты актиномицетов, плесневых грибов и дрожжей.

1.2 Просмотреть под микроскопом и зарисовать мицелиарное тело и органы спороношения грибов.

2. Теоретическое обоснование

Актиномицеты. Актиномицеты или лучистые грибы (от греч. *actis* – луч. *mycos* – гриб) относятся к прокариотам. Актиномицеты принято делить на две группы: высшие и низшие. К высшим относятся организмы с развитым одноклеточным ветвящимся мицелием и особыми органами плодоношения. Сюда вошли актиномицеты, проактином, микромоноспоры и др. К низшим отнесены организмы, которые не образуют мицелия, их клетки имеют палочковидные и кокковидные формы (микобактерии, микоккоки и др.).

У актиномицетов имеется одноклеточный несет и рованный ветвящийся мицелий, окрашивающийся грамположительно. Он состоит из сплетений тонких нитей – гифов различной длины. Мицелий весьма сходен с мицелием грибов, гифы значительно тоньше. Диаметр тонких гифов 0,1 – 1 мкм, наиболее толстый гиф – до 1,5 мкм.

Актиномицеты имеют клеточную стенку (построена так же, как и у грамположительных бактерий), цитоплазматическую мембрану, цитоплазму. В цитоплазме находятся органеллы (ядерный аппарат-нуклеотид), рибосомы, включения (углеводы, липиды, волютин и др.).

Актиномицеты хорошо растут на простых питательных средах. Развиваются при температуре 32 – 37 °С, pH 6,8 – 7,4.

У актиномицетов, выращенных на плотных питательных средах, различают три типа мицелия: субстратный, надсубстратный и воздушный. Субстратный мицелий развивается в глубине среды. Мицелий надсубстратный развивается на поверхности агаризованной плотной среды, разрастаясь густым сплетением в колонии. Воздушный мицелий образуется на поверхности колоний. Нити его отходят от мицелия колоний, разрастаются вгустую пушистую, бархатистую или мучнистую массу.

Колонии на плотных питательных средах могут быть плотными, кожистыми, крепко срастающимися со средой. Мелкие колонии имеют размер 0,5 – 2 мм и крупные – до 1 см и более. Поверхность колоний бывает гладкой, бугристой, складчатой и зернистой. Многие актиномицеты образуют пигмент разных цветов: розовый, красный, зеленый, бурый, черный.

Актиномицеты широко распространены в природе. Некоторые виды актиномицетов используют для изготовления антибиотиков. Среди актиномицетов имеются сапрофиты и паразиты. Последние вызывают у человека и животных тяжелое заболевание – актиномикоз, сопровождающееся разрушением мягких тканей. Большую роль играют актиномицеты в почвообразовании и образовании гуминовых веществ (перегноя).

Плесневые грибы (*Fundi, Mycetes*). Они объединяют обширную группу организмов, лишенных хлорофилла. Раздел науки, занимающийся изучением грибов, называется микологией. Грибы относятся к эукариотам. Для питания они используют готовые органические вещества. Грибы разнообразны по морфологиям, местам обитания и физиологическим свойствам. Основой вегетативного зела грибов служит гиф, сплетения гифов образуют мицелий.

Аскомицеты, или сумчатые грибы. Это высшие многоклеточные грибы, гифы мицелия сепгированные. К аскомицетам относятся некоторые нитевидные микроскопические грибы аспергилловые и пеницилловые.

По отношению к субстрату мицелий бывает повсрхноечный или воздушный, погруженный или субстратный. Различают мицелий по окраске, он может быть бесцветный или окрашенный (черный, бурый, зеленый и т.д.).

Мукоровые грибы (*Mucor*) – рис.4.1 имеют мицелий, состоящий из одной силыгоразветвленной клетки, от которой отходит плодоносящий гиф спорангиеносец. На конце гифа образуется закругленное цилиндрическое утолщение – колумела. На ней находятся спорангии со спорами. Па спорангиеносце после освобождения спорангия от спор остается колонка, а в нижней ее части – воротник. Мукоровые грибы растут на влажных зернах, кормах, стенках сырых помещений в виде серовато-пушистого налета.

Некоторые виды мукоровых грибов обладают свойством вызывать брожение или

окисление. Их используют в промышленности для производства различных органических кислот, спирта, ферментных препаратов.

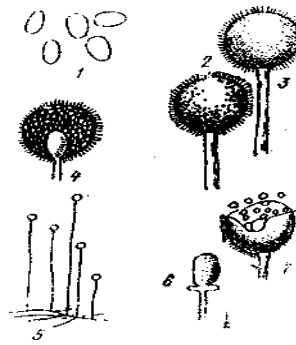


Рисунок 4.1 – *Mucor*:

1 – споры; 2 – спорангий; 3 – спорангиеносец; 4 – спорангий в разрезе; 5 – мицелий; 6 – колумелла (колонка); 7 – спорангий со спорами

Аспергилловые грибы (*Aspergillus*) – рис.4.2 насчитывают более 200 видов, мицелий септирован (разделен поперечными перегородками), конидискоцы (у некоторых видов не септированы) на вершине образуют расширение в виде головки, от которой отходят ответвления – стеригмы с отшнуровывающимися от них конидиями. Конидии располагаются по радиусам шара и напоминают струи воды, выливающейся из лейки, поэтому эти грибы называют леющей плесенью. У разных видов плесени конидии окрашены различно (черные, светло-зеленые и др.) и часто покрыты тонкими щетинками. Гриб принимает участие в минерализации органических веществ. Некоторые виды (например, *Asp.niger* конидии гриба имеют черный цвет) применяют в промышленности для получения лимонной кислоты. *Asp. oryzae* имеет конидии, окрашенные в желтый или желто-зеленый цвет. Эти грибы содержат ряд ферментов – амилазу, пектиназу, протеолитические ферменты и др.

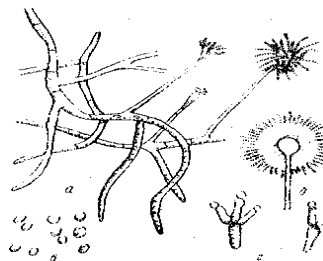


Рисунок 4.2 – *Aspergillus*:

a – мицелий с конидиеносцами разного возраста; *б* – конидиеносец (схема); *в* – конидии; *г* – стеригмы

Пенициллиум (*Penicillium*) – рис. 4.3 имеет ветвящийся септированный мицелий (толщина нитей 2–3 мкм). От мицелия отходят септированные конидиеносцы, которые на конце разветвляются в виде отростков – стеригм. От них отходят расположенные в виде цепочек конидии – споры гладкой шаровидной формы. У разных видов гриба споры неодинакового цвета – белые, зеленые и др. Перед прорастанием конидии значительно увеличиваются в объеме.

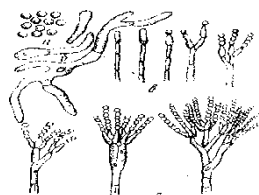
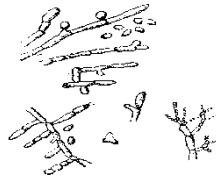


Рисунок 4.3 – *Penicillium*:

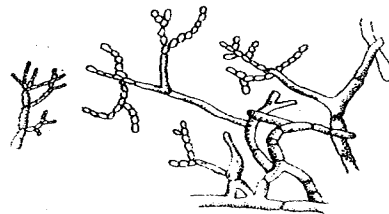
а – конидии; *б* – прорастающие конидии и развитие мицелия; *е* – развитие конидиеносца; *г* – различные конидиеносцы

Несовершенные грибы (*Fundi imperfekti*) недостаточно изучены. Полового размножения у них не установлено, на этом основании их и выделили в группу несовершенных грибов. Гифы мицелия септированы. В этот класс входят грибы родов кладоспориум, молочная плесень, альтернария, катенулярия, фома, дерматомицеты и др.

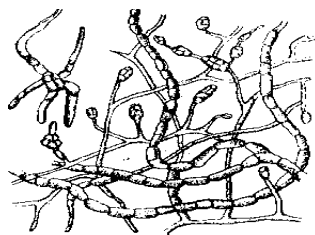
Кладоспориум (*Cladosporium*) – рис. 4.4 встречается на сыре, яйцах, масле и внутри масла, так как может развиваться при малом доступе кислорода воздуха. Мицелий окрашен в оливково-зеленый цвет, на концах воздушных нитей расположены овальные споры в виде гроздей, окрашенных в тот же цвет, что и мицелий. Эти грибы способны выделять темный пигмент, который окрашивает находящуюся под их колониями среду.

Рисунок 4.4 – *Cladosporium*

Молочная плесень (*Endomyces lactis*) – рис. 4.5 растет при доступе кислорода в кислой среде. Ряд исследователей относят эти микроорганизмы к несовершенным грибам, близко стоящим к дрожжам. Мицелий белый септированный, в мазках представляет собой нити, достигшие 300–500 мкм по длине и 3–5 мкм в диаметре. Споры отделяются непосредственно от конца мицелия в виде прямоугольников или овальных клеток, напоминающих дрожжевые. Окрашиваются грамположительно. Молочная плесень в виде пушистого белого налета появляется на кисломолочных продуктах (сметане, простокваше, твороге), поверхности огуречного рассола, стенах сырых помещений.

Рисунок 4.5 – *Endomyces lactis*

Альтернария (*Altemaria*) – рис.4.6 широко распространена в почве и на растительных тканях. Гриб является возбудителем черной гнили болезни у корнеплодов. Иногда вызывает порчу мясных и молочных продуктов. От мицелия гриба отходят короткие конидиеносцы, на которых находятся многоклеточные конидии округло-грушевидной или заостренно-вытянутой формы, расположенные в одиночку или короткими цепочками.

Рисунок 4.6 – *Altemaria*

Катенулярия (*Catenularia*) – рис.6.7 образует мелкие колонии. Мицелий

септирован. На воздушных гифах развиваются длинные цепочки коричневых конидий. Некоторые виды (*Catenularia fulvinerea*) вызывают порок в сгущенном молоке с сахаром, образуя комки шоколадного цвета.



Рисунок 4.7 – *Catenularia*

Дрожжи. Одноклеточные, лишённые хлорофилла немиецеллярные грибы (эукариоты), относящиеся к классу аскомицетов (сумчатые грибы) – рис.4.8. Существует большое количество видов дрожжей. Форма дрожжей весьма разнообразна – яйцевидная, эллиптическая, цилиндрическая, лимонovidная и шаровидная. Размер дрожжевых клеток больше, чем бактериальных, и достигает в диаметре 8–10 мкм. Дрожжевые клетки неподвижны и имеют клеточную стенку, цитоплазму и ясно выраженное-дифференцированное ядро. У зрелых дрожжей обнаруживаются 1–2 вакуоли различной формы. В цитоплазме имеются различные включения: гликоген, волютин, капли жира и др. В некоторых дрожжевых клетках может накапливаться до 30–35% жира.

Размножение происходит главным образом почкованием, реже спорообразованием и еще реже простым делением. При почковании у зрелой клетки на поверхности клеточной стенки появляется выпячивание – почка, которая постепенно увеличивается. В это выпячивание из материнской клетки переходит часть цитоплазмы и ядра, после чего почка отделяется от материнской клетки и начинает самостоятельное существование. Иногда дочерние клетки не отрываются от материнской, в результате чего образуются большие дрожжевые колонии. При спорообразовании в дрожжевой клетке образуется 2 – 4, а иногда 8–10 спор.

Дрожжевая клетка в этом случае рассматривается как аскус (сумка), а споры как аскоспоры.

Некоторые виды дрожжей размножаются, как и бактерии, простым способом. Деление у них происходит путем образования одной или нескольких поперечных перегородок. Это наблюдается, например, у *Schizosaccharomyces*.

В природе широко распространены несовершенные грибы рода *Torulopsis* и *Candida*, в большинстве случаев они имеют шаровидную форму. Некоторые виды рода *Torulopsis* используют для получения пищевых и кормовых дрожжей, другие в составе кефирных зерен применяют для изготовления кефира и кумыса. Некоторые виды являются вредителями спиртового и винного производств и пива.



Рисунок 4.8 – Формы клеток дрожжей:

а – яйцевидные; *б* – эллипсоидные; *в* – палочковидные; *г* – шаровидные *д* – вытянутые; *е* – лимонovidные; *ж* – делящиеся дрожжи; 1 – популяция клеток; 2 – клетки со спорами

3 Аппаратура и материалы Аппаратура: микроскопы.

Учебная аудитория для проведения занятий семинарского типа (практических занятий, лабораторных работ).

Аудитория, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории: компьютер, проектор, доска магнитно-маркерная

Подключение к сети «Интернет», выход в корпоративную сеть университета.

4 Указания по технике безопасности

Работа выполняется индивидуально каждым студентом с предложенными преподавателем микробиальными культурами. Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории (см. стр. 4).

5 Методика и порядок выполнения **группового задания**

Для приготовления препарата гриба **мукор** следует снять препаровальными иглами с его поверхности черновато-серый пушистый воздушный мицелий, внести в каплю воды на предметном стекле и при помощи двух игл осторожно, не нарушая структуры мицелия, расправить гифы мицелия, плодоносящие органы. Каплю покрывают покровным стеклом, слегка придавливают. Покровное стекло во избежание образования пузырьков воздуха нужно опускать постепенно. При микроскопировании выявить одноклеточное строение мицелия и органы размножения – спорангии со спорами, спорангиеносец. Рассмотреть их под микроскопом при увеличении $40\times$ по всей длине, передвигая соответствующим образом препарат. В препарате всегда отмечается большое количество свободно лежащих спор, высыпавшихся из лопнувших спорангиев.

Для приготовления препарата гриба **аспергиллус** рекомендуется брать воздушный окрашенный мицелий. При микроскопировании установить наличие одноклеточного (несептированного) конидиеносца, на его конце булавовидное вздутие, на котором расположены стеригмы с конидиями.

Для микроскопирования гриба **пенициллиум** нужно брать более молодую, зеленую часть мицелия, на границе с белым краем, используя для этого препаровальные иглы. При микроскопировании установить многоклеточные (септированные) гифы и органы размножения – конидиеносцы с кистевидными разветвлениями на концах, на которых расположены стеригмы (по 2–4) с наличием на них цепочки одноклеточных конидий.

Для приготовления препарата гриба **кладоспориум** надо взять небольшой кусочек воздушной пушистой грибницы, перенести на предметное стекло с каплей воды, накрыть покровным стеклом и рассмотрен, при увеличении $40\times$. При микроскопировании найти длинные многоклеточные конидиеносцы, окрашенные в оливково-зеленый цвет, на концах располагаются конидии (длинные, округлые или лимонообразные).

Для приготовления препарата гриба **молочная плесень** (осторожно соскабливая) бактериологической петлей снимается белый налет. При микроскопировании установить многоклеточность мицелия и отсутствие специальных органов размножения.

Для приготовления препарата гриба **альтернания** взять препаровальными иглами грибницу в черных ее участках. При микроскопировании найти многоклеточный мицелий и крупные многоклеточные темноокрашенные конидии, расположенные на коротких конидиеносцах.

Для исследования дрожжей на предметное стекло наносят каплю дрожжей и накрывают покровным стеклом (получается раздавленная капля). Просматривают с применением объективов 8 и $40\times$ в затемненном поле зрения, для чего сужают диафрагму или опускают конденсор.

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения работы, представлены рисунки полученных мазков.

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. Классификация плесневых грибов.
2. Строение плесневых грибов.
- 3 Основные органы спороношения плесневых грибов.

Лабораторная работа 5

Санитарная оценка мясоперерабатывающего предприятия. Санитарно-бактериологический контроль состояния инвентаря, посуды и рук обслуживающего персонала предприятий мясоперерабатывающей промышленности Бактериологический анализ воды и воздуха.

1 Цель работы: ознакомить студентов с методами санитарно-бактериологического контроля технологического оборудования, инвентаря, тары, рук рабочих пищевых предприятий.

Содержание работы:

1.1 Определить общую бактериологическую обсемененность на единицу площади объекта исследования.

1.2 Определить присутствие условно-патогенных микроорганизмов в объекте исследования.

1.3 Сделать вывод о санитарно-бактериологическом состоянии исследуемого объекта в соответствии с санитарными нормами.

1.4 Ознакомиться с методами бактериологического исследования воды и воздуха.

1.5 Провести посев воды и воздуха.

1.6 Сделать учет полученного посева воды и воздуха, сравнить полученные данные с ГОСТ.

2 Теоретическое обоснование

Загрязненные поверхности различных предметов, инвентаря, технологического оборудования, рук и спецодежды работников пищевой промышленности могут явиться источником загрязнения сырья и пищевых продуктов (мясопродуктов, молочных продуктов, овощей и т.д.) патогенными для человека микроорганизмами. В связи с этим инвентарь, руки, оборудование подлежат обязательному санитарно-бактериологическому контролю. Бактериологический анализ всего производственного оборудования инвентаря, рук является обязательным разделом комплексных санитарных исследований предприятий мясоперерабатывающей, консервной промышленности и предприятий общественного питания.

По современным рекомендациям санитарное состояние поверхностей считается отличным, если общее количество микроорганизмов на 1 см² - от 0 до 100, хорошим – от 100 до 1000 и неудовлетворительным - более 1000 микроорганизмов. В исследуемых смывах не должны присутствовать микроорганизмы кишечнo-паразитической группы, условно-патогенные и патогенные.

3 Аппаратура и материалы

Весы лабораторные ВЛТЭ-500г с гирей калибровочной 500г F2, Колбонагреватель LOIP LH-150, Микроскоп Биолам С1, Микроскоп лабораторный Биомед 2У, Микроскоп медицинский, Микроскоп МикМед 1, Огнетушитель воздушно-эмульсионный ОВЭ-6(з)-АВЕ-01, Термостат суховоздушный с электронным контролем температуры, Термостат ТВ-80-1, Холодильник "Самарканд", Холодильник АТЛАНТ МХМ 1833-21, Холодильник Минск -215

4 Указания по технике безопасности

Работа выполняется индивидуально каждым студентом с предложенными преподавателем микробиальными культурами. Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории (см. стр. 5).

5 Методика и порядок выполнения группового задания

Для проведения исследования оборудования, аппаратуры, рук рабочих стерильные ватные тампоны, закрепленные на металлическом стержне в пробке пробирки с 9 см³

стерильной воды, опускают в воду и затем влажным стерильным тампоном протирают поверхность руки или оборудования. Пробы с рук берут без трафарета. Для этого стерильным, влажным тампоном тщательно протирают ладонь, пальцы, пространство между пальцами и под ногтями и помещают тампон в пробирку со стерильной водой. Для взятия пробы с поверхности оборудования пользуются трафаретом из нержавеющей металла. Перед взятием пробы трафарет смачивают спиртом, обжигают и накладывают на поверхность исследуемого объекта. Стерильным, влажным тампоном протирают поверхность, ограниченную трафаретом, и погружают тампон в ту же пробирку. Данная пробирка будет представлять первое разведение 1:10. Пробирку тщательно встряхивают в течение 3-5 минут. Затем готовят второе разведение 1:100. С этой целью из пробирки первого разведения новой стерильной пипеткой на 1 см³ берут жидкость и вносят в пробирку с 9 см³ чистой стерильной воды. При необходимости делаются третье, четвертое и т.д. разведения. Посев проводят из полученных разведений.

Для определения общего количества микробов из соответствующего разведения берут 1 см³ и вносят в стерильную чашку Петри, заливают МПА 10-12 см³, охлажденной до температуры 45 – 46°C, перемешивают и после застывания термостатируют при температуре 37° С в течение 48 ч.

Число выросших колоний умножают на разведение и судят о степени загрязненности объекта. Санитарно-гигиеническое благополучие устанавливают по отсутствию кишечной палочки. Обнаружение кишечной палочки проводят методом бродильных проб.

Для этой цели из первого берут соответствующей пипеткой 1 см³ воды и вносят в пробирку со средой Кесслер. В случае положительного результата после термостатирования делают пересев на среду Эндо. В смывах с рук не должны присутствовать бактерии группы кишечных палочек. Присутствие стафилококка определяют при просмотре выросших колоний на среде МПА. Из подозрительных колоний делают посев на МСА или ЖСА и проверяют тест на коагулазу. Из подозрительных колоний на среде МПА, ЖСА, МСА, Эндо делают бактериологические мазки и окрашивают их по Граму.

5.1 Определение общего количества микробов в воде

Сущность метода заключается в определении в 1 см³ воды общего содержания мезофильных аэробов и факультативных анаэробов при культивировании на МПА при температуре 37±0,5 °С в течение 24±2 ч.

Определение начинают с приготовления разведения воды. Для этого в несколько пробирок наливают по 9 см³ стерильной воды. В первую пробирку стерильной пипеткой добавляют 1 см³ исследуемой воды. При этом пипетку не следует погружать в стерильную воду, чтобы избежать смывания микробов с поверхности пипетки. Новой стерильной пипеткой перемешивают внесенную пробу воды, после чего этой же пипеткой набирают 1 см³ приготовленного разведения (1/10) и переносят во вторую (разведение 1/100), из второго в третью и т.д.

Для приготовления каждого разведения пользуются отдельной стерильной пипеткой. Чем больше загрязнена вода, тем больше готовят разведений. Из каждой пробы должны быть взяты не менее двух различных объемов, выбранных с таким расчетом, чтобы в чашках выросло от 30 до 300 колоний. При использовании водопроводной воды засевают в каждую из двух чашек по 1 см³ и заливают 10-12 см³ охлажденного до 45°C МПА.

По истечении 24 ч роста при температуре 37±0,5°C подсчитывают число выросших колоний в глубине и на поверхности агара. Если колоний выросло немного или много мелких, то считают с помощью лупы, перевернув чашку вверх дном, отмечая при этом каждую учтенную колонию карандашом по стеклу. Если выросло большое количество колоний, то дно чашки делят на секторы и подсчет ведут в каждом отдельном секторе.

При очень большом количестве выросших колоний пользуются специальной счетной камерой.

Результаты подсчета колоний в каждой чашке выражают в количестве бактерий на 1 см³ анализируемой воды с учетом посеянного объема. За окончательное количество бактерий принимают среднее арифметическое результата подсчета на двух параллельных чашках или разных разведений. Результаты округляют следующим образом:

- если результат находится в пределах чисел от 1 до 100, то записывают числа, которые получены;
- если результат находится в пределах чисел от 101 до 1000, то результат округляют до 10;
- если результат находится в пределах от 1001 до 10 000, то округляют до 100 и т. д.

Количество колоний не учитывают в тех чашках, в которых при посеве из разведения выросло менее 20 или более 300 колоний, а также при сплошном росте бактерий.

5.2 Определение количества бактерий группы кишечных палочек в воде

Наибольшую опасность представляет фекальное загрязнение воды, так как вместе с фекалиями в воду могут попасть патогенные микроорганизмы. Обнаружить последние в воде бывает трудно ввиду их небольшой концентрации, поэтому о степени загрязнения воды судят по косвенным показателям - по наличию в воде кишечных палочек. К бактериям группы кишечных палочек относятся граммотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при $37\pm 0,5$ °C в течение 24 ч и не обладающие оксидазной активностью. Степень загрязнения воды определяется коли-титром или коли-индексом.

Количество кишечных палочек в воде определяют бродильным методом. Для этого проводят посев определенных объемов анализируемой воды в среды накопления (среда Кесслер) и культивирование посевов при $37\pm 0,5$ °C с последующим высевом бактерий на плотную среду Эндо, дифференцирование выросших бактерий и определение наиболее вероятного числа бактерий группы кишечных палочек в 1 л по таблицам А4 и А5 (Приложение).

При исследовании воды на этапах очистки и обеззараживания воды открытых водоемов засевают 100,0; 10,0; 1,0 и 0,1 см³ воды. При анализе питьевой воды засевают три объема по 100 см³, три объема по 10 см³ и три объема по 1 см³ в колбы (по 100 см³ в каждую) со средой Кесслер, после термостатирования отмечают изменение цвета среды, наличие или отсутствие газа в поплавке и помутнения. Если среда не изменилась, кишечная палочка в пробе отсутствует, исследования прекращают. Из пробирок с наличием помутнения среды и газа проводят посев на среду Эндо. Выращивают микроорганизмы при $37\pm 0,5$ °C в течение 16 – 18 ч. При наличии характерных колоний готовят мазки, красят по Граму и ставят оксидазный тест. Наличие активной оксидазы у всех бактерий, посеянных из колб или пробирок, свидетельствует об отсутствии кишечных палочек. Для определения активной оксидазы изолированные 2 – 3 колонии, выращенные на среде Эндо, снимают петлей и наносят штрихом на фильтровальную бумагу, смоченную реактивом для определения оксидазной активности. Если оксидазный тест отрицательный, то на участке нанесения культуры бумага не изменяет цвет; бумажка синее в течение 1 мин, если бактерии имеют активную оксидазу. Коли-титр и коли-индекс определяют по таблицам А4 и А5 (Приложение).

5.3 Определение общего количества микробов в воздухе

Для количественного определения микробов можно использовать седиментационный, аспирационный и фильтрационный методы. Наиболее простым является седиментационный метод (метод оседания по Коху). Пять чашек Петри с МПА и СА переносят в исследуемое помещение и помещают на стерильную бумагу. Сдвигают

крышку на самый край бортика чашки так, чтобы вся поверхность с агаровой средой была открыта полностью, чашки оставляют открытыми на 5 – 10 мин. Вместе с пылью и капельками влаги на поверхность агара оседают и микробы. Затем чашки закрывают крышками, ставят их вверх дном и выдерживают при температуре 22°C в течение 5 суток или при температуре 30°C в течение 48 ч (для выращивания грибов в течение 5-7 суток), затем проводят подсчет выросших колоний, полагая, что каждая колония выросла из одной микробной клетки. По Омелянскому на поверхность чашки площадью 100 см² в течение 5 минут оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха. Площадь чашки Петри составляет 78,5 см². Если в среднем на одной чашке Петри выросло до 200 колоний, воздух считается чистым, свыше 200 колоний – загрязненным. При пересчете микробов в 1 м³ следует сравнить полученные данные с нормативными, указанным в таблице А 6 и А 7 (Приложение).

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения исследования, результаты экспериментальных исследований, выводы. Результаты работы оформляются в виде таблиц 2.1 и 2.2 и рисунков, используя таблицы А 6 – А 7 приложения.

Таблица 2.1 – Бактериологические показатели исследуемой воды

Наименование объекта	Засев. объем, см ³	Кол-во колоний в чашке	Кол-во бактерий во взятой пробе	Среднее кол-во бактерий в единице объема	Коли-титр	Коли-индекс	Преобладающие формы

Таблица 2.2 – Бактериологические показатели воздуха

Наименование объекта	Кол-во колоний в чашке	Кол-во бактерий на 100 см ²	Кол-во бактерий в 10 л воздуха	Кол-во бактерий в 1 м ³	Преобладающие формы

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения исследования, результаты экспериментальных исследований, выводы. Результаты работы оформляются в виде таблицы 2.1 и рисунков мазков.

Таблица 2.1 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

Наименование объекта	Засев. объем, см ³	Кол-во колоний в чашке Петри	Кол-во бактерий во взятой пробе	Площадь исследуемого объекта, см ²	Среднее кол-во бактерий на единице площади	Е. coli, Staph.	Преобладающие формы

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. Какие методы используют для бактериологического исследования оборудования, аппаратуры, тары и рук рабочих?
2. По каким критериям проводится санитарно-гигиеническая оценка чистоты рук рабочих?

3. Какие мероприятия предусматриваются на рабочих местах в случае несоответствия полученных бактериологических показателей?
4. По каким критериям проводят санитарную оценку воды и воздуха?
 5. Как проводится отбор пробы воды и воздуха для бактериологического контроля?
 6. Как проводится определение общего количества микроорганизмов, коли-титра?
 7. Какие требования предъявляют к воде из различных источников?
 8. Какую микрофлору включает воздух?
 9. Какие существуют методы количественного определения микроорганизмов в воздухе?
 10. Какие зоны сапробности воды Вы знаете? Чем они характеризуются?

Лабораторная работа 6

Бактериологическое исследование мяса

1 Цель и содержание

Цель работы: ознакомиться с методами бактериологического и микроскопического анализов мяса. Изучить методику микроскопического исследования мяса на свежесть.

Содержание работы:

1. Ознакомиться с действующими правилами ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов и нормативно-технической документацией (ГОСТ 21237-75 Мясо. Методы бактериологического анализа).
2. Изучить схему проведения бактериологического анализа мяса.
3. Приготовить препараты-отпечатки из мяса различной степени свежести. Сделать вывод о свежести исследуемого мяса. Нарисовать просмотренный мазок.
4. Провести посев взвеси мяса на среду МПА по методу Драгильского для выявления возбудителей зооантропонозов, на среды Кесслер и Эндо – для выявления бактерий группы кишечных палочек, на среду МПА по методу Шукевича – для выявления бактерий из рода протей, на среду Кауфмана – для выявления бактерий из рода сальмонелл.
5. Провести учет результатов посевов из образцов мяса. Сделать выводы по работе.

2 Теоретическое обоснование

На предприятиях мясной отрасли бактериологическое исследование мяса и субпродуктов проводится в случаях, предусмотренных действующей нормативно-технической документацией (ГОСТ 21237-75), правилами ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясопродуктов, по требованию органов, осуществляющих ветеринарный, и санитарный надзор. Бактериологическое исследование мяса проводится во всех случаях, когда предполагается наличие возбудителей зооантропонозов или возбудителей пищевых токсикозов и токсикоинфекций.

Согласно правилам ветеринарно-санитарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизе мяса и мясопродуктов предусмотрено проводить бактериологическое исследование мяса и мясопродуктов при подозрении на сибирскую язву, рожу свиней, листериоз и другие инфекционные болезни с целью решения вопроса о возможности и порядке использования мяса и других продуктов убоя животных.

Бактериологическое исследование также проводится в следующих случаях: во всех случаях вынужденного убоя животных независимо от причины убоя и принадлежности животных, в том числе при отравлениях и подозрении на отравление ядами: при желудочно-кишечных заболеваниях, при тяжело протекающих заболеваниях дыхательных органов, при септико-пиемических заболеваниях; при обнаружении серозных и фибриновых перикардитов у свиней, при обширных ожогах и во всех случаях при

подозрении на сальмонеллы или токсигенные кокки; при удалении кишечника из туши позднее 2 ч с момента обескровливания животного; при наличии сомнений в отношении пригодности мяса и невозможности определить пригодность его в пищу путем ветеринарно-санитарного осмотра. В зависимости от характера заболевания на бактериологическое исследование направляют следующие пробы от туши: часть мышцы сгибателя или разгибателя передней и задней конечностей туши длиной не менее 8 см или кусок другой мышцы размером не менее $8 \times 6 \times 6$ см; лимфатические узлы – поверхностный шейный или собственно подкрыльцовый и наружный подвздошный вместе с окружающей их соединительной и жировой тканью, а от свиней поверхностный шейный дорсальный (при отсутствии патологических изменений в области головы и шеи) или подкрыльцовый 1 ребра и надколенный; долю печени с печеночным лимфатическим узлом или желчным пузырем, освобожденным от желчи; почку и селезенку. Для бактериологического исследования на сибирскую язву направляют лимфатический узел, собирающий лимфу с места локализации пораженного очага, отечную ткань, а у свиней, кроме того, подчелюстной лимфатический узел.

Для бактериологического исследования на листериоз направляют головной мозг, долю печени и почку.

При исследовании полутуши или четвертины берут кусок мышцы, лимфатические узлы и трубчатую кость.

Образцы упаковывают каждый в отдельности в полиэтиленовую пленку или пергамент, помещают во влагонепроницаемую тару, ставят дату отбора образца, номер туши и направляют в лабораторию. При пересылке образцов мяса в лабораторию, расположенную за пределами предприятия, тару с образцами опечатывают или пломбируют.

В сопроводительном документе указывают наименование предприятия и его адрес, наименование и номер образца, вид животного, причину направления материала на исследование, краткие патологоанатомические данные и предполагаемый диагноз, дату взятия образцов, подпись лица, направившего образец на исследование.

3 Аппаратура и материалы

Весы лабораторные ВЛТЭ-500г с гирей калибровочной 500г F2, Колбонагреватель LOIP LH-150, Микроскоп Биолам С1, Микроскоп лабораторный Биомед 2У, Микроскоп медицинский, Микроскоп МикМед 1, Огнетушитель воздушно-эмульсионный ОВЭ-6(з)-АВЕ-01, Термостат суховоздушный с электронным контролем температуры, Термостат ТВ-80-1, Холодильник "Самарканд", Холодильник АТЛАНТ МХМ 1833-21, Холодильник минск -215

4 Указания по технике безопасности

Заходить и работать в микробиологической лаборатории можно только в чистом белом халате. На рабочем месте не должно быть посторонних вещей. Студент обязан работать только на одном и том же месте и пользоваться закрепленным за ним оборудованием и химикатами. Следует соблюдать чистоту и опрятность при работе, использовать дезинфицирующие среды. Во избежание заражения во время перерывов не курить и не принимать пищи. На столе должно быть только необходимое для выполнения задания. Во избежание взрыва нельзя зажигать одну спиртовку от другой, следует использовать спички или зажигалку. Нельзя соприкасаться металлическими и другими предметами с контактными частями электросети. Без ведома преподавателя или обслуживающего персонала нельзя включать электроприборы или аппаратуру. Следует соблюдать правила работы с химическими и другими реактивами. По окончании занятий рабочее место и оборудование необходимо приводить в порядок. Уходя из лаборатории, студент обязан обработать руки спирто-йодной смесью и тщательно их вымыть.

5 Методика и порядок выполнения группового задания

5.1 Бактериологическое исследование мяса и мясопродуктов

Бактериологическое исследование мяса начинают с микроскопии мазков-отпечатков. Из середины исследуемых проб после фломбирования поверхности горячим ватным тампоном или горячим шпателем вырезают стерильными ножницами кусочек материала, захватывают его стерильным пинцетом и прикладывают к поверхности фломбированного предметного стекла.

В лаборатории приготавливают 2–10 мазков-отпечатков из паренхиматозных органов, почек, селезенки лимфатических узлов туши или из пораженных органов или тканей. Препараты высушивают на воздухе, фиксируют и окрашивают одновременно по Граму и 2 % раствором сафранина для выявления капсул-возбудителя сибирской язвы. При окраске сафранином вегетативные клетки сибиреязвенных палочек окрашиваются в кирпично-красный цвет, а капсулы – светло-желтый (метод Ольта).

Обнаружение в мазках-отпечатках грамположительных палочек с обрубленными концами, а при окраске сафранином палочек или цепочек с капсулами или теней в мазках из лимфатических узлов свиней со специфической для сибирской язвы патологоанатомической картиной дает предварительный ответ о наличии возбудителя сибирской язвы. Посев проводят на поверхность МПА и в МПБ.

При отсутствии в мазках-отпечатках бактерий, сходных с сибиреязвенными, проводят посевы из образцов мяса и субпродуктов на питательные среды для выявления в них возбудителей зооантропонозов (бацилл сибирской язвы, бактерий листериоза, рожи свиней и др.), возбудителей пищевых токсикоинфекций (бактерий рода *Salmonella*, *Escherichia*, *Proteus*), возбудителей токсикозов (токсигенных кокков) и анаэробов (патогенных и токсигенных клостридий).

При бактериологическом исследовании каждую пробу освобождают от жировой и соединительной тканей, погружают в спирт, затем вырезают стерильными ножницами из глубины различных мест кусочки $2 \times 1,5 \times 2,5$ см, лимфатические узлы разрезают пополам. Затем все вырезанные кусочки измельчают стерильными ножницами. Для посева составляют пробы по 15 г каждую. Одна проба состоит из кусочков мышц и лимфатических узлов, а вторая – из кусочков паренхиматозных органов. Из каждой пробы готовят в стерильной ступке взвесь с содержанием в 1 мл 0,5 г продукта.

Для выявления возбудителей зооантропонозов из верхней части надосадочной жидкости пастеровской пипеткой или бактериологической петлей на поверхность МПА в чашки Петри вносят 1–2 капли взвеси, шпателем растирают по поверхности среды по методу Драгильского.

Для выявления бактерий группы кишечных палочек проводят посев аналогичным методом на дифференциально-диагностическую среду Эндо.

Бактерии из рода *Salmonella* выявляют путем посева на среду Эндо и для накопления – во флаконы со средой Кауфмана. Для этого 20 мл взвеси из мышц и лимфатических узлов вносят в один флакон, из паренхиматозных органов – в другой. В каждый флакон наливают по 50 мл среды обогащения. Для выявления бактерий из рода *Proteus* проводят посев в конденсационную воду скошенного МПА (метод Шукевича). Посевы культивируют в термостате при 37 °С в течение 24 ч, после чего их просматривают для определения характера роста микроорганизмов. Исследование на присутствие анаэробов проводят только в том случае, когда есть подозрение на наличие анаэробных инфекций (злокачественный газовый отек и т. д.). С этой целью проводят посев взвеси исследуемого материала в среду Китта-Тароцци предварительно прогретой в кипящей водяной бане в течение 20–30 мин и охлажденной до 50 °С. Две пробирки с посевами прогревают при 80 °С в течение 20 мин для выявления всех анаэробов. При исследовании на *Cl. Botulinum* типа Е одну пробирку нагревают до 60 °С в течение 15 мин (при этом сохраняются споры *Cl. botulinum* типа Е), а другую – при 80 °С в течение 20 мин. Остальные пробирки оставляют непрогретыми. Для выявления *Cl. botulinum* типа Е

посевы выдерживают при 28 °С, а для обнаружения других анаэробов – при 37 °С. Термостатирование проводят в течение 5–10 суток, наблюдая за ростом культур ежедневно.

5.2 Микроскопическое исследование свежести мяса

Из каждой пробы мяса необходимо приготовить на предметном стекле не менее 2–3 мазков-отпечатков из поверхностного слоя мяса (на глубине 2–3 см от поверхности и центра пробы). Для приготовления мазка-отпечатка из поверхностного слоя стерильными ножницами или скальпелем, придерживая пинцетом, необходимо вырезать кусочек мяса 2–3 г и приложить его внутренней срезанной стороной к предварительно профломбированной поверхности предметного стекла. Для приготовления мазков-отпечатков из глубоких слоев поверхность пробы мяса необходимо простерилизовать (смочить спиртом и обжечь на пламени или прижечь нагретым металлическим шпателем). Затем стерильным инструментом вырезать из глубины небольшие кусочки мяса размером 2 × 1,5 × 2,5 см, сделать мазки-отпечатки. Мазки высушить на воздухе, зафиксировать и окрасить по методу Грама. Просмотреть каждый мазок под микроскопом с иммерсионным объективом не менее чем в 25 разных полях зрения микроскопа. При микроскопировании учитывают количество микробных клеток, подсчитывая отдельно количество кокковых, палочковидных, дрожжевых и других микробных клеток в каждом просмотренном поле зрения. Затем определяют их среднее арифметическое количество на одном поле зрения микроскопа. Отмечают также наличие в полях зрения микроскопа следов распада мышечной ткани. В мазках-отпечатках свежего мяса в поле зрения микробных клеток нет или видны единичные клетки кокков и дрожжей (до 10 клеток). Следов распада мышечной ткани нет.

Для мяса с частично измененной свежестью мяса характерно наличие в поле зрения микроскопа не более 30 кокков, дрожжей или палочковидных клеток. Заметны следы распада мышечной ткани: ядра мышечных волокон в состоянии распада, исчерченность мышечных волокон слабо различима. В мазках-отпечатках несвежего мяса поле зрения микроскопа усеяно большим количеством микробных клеток (более 30) с преобладанием палочковидных форм. Наблюдается значительный распад мышечной ткани, почти полное исчезновение мышечных ядер и исчерченности мышечных волокон.

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения работы, представлены рисунки полученных мазков, выводы.

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. В каких случаях проводится бактериологическое исследование мяса?
2. Каковы правила отбора проб и пересылки их в бактериологическую лабораторию?
3. Какие показатели определяют при бактериологическом исследовании мяса?
4. Какие среды используют при бактериологическом исследовании мяса?
5. Как проводят бактериологический анализ по определению свежести мяса?

Лабораторная работа 7

Бактериологическое исследование колбасных изделий

1 Цель и содержание

Цель работы: ознакомиться и освоить методы бактериологического исследования колбасных изделий.

Содержание работы:

1. Изучить ГОСТ 9792-73 «Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб».

2. Провести посев из образцов колбасных изделий в соответствии с ГОСТ 9958-81 «Колбасные изделия и продукты из мяса. Методы бактериологического анализа». Учесть результаты посевов. Сделать выводы о качестве колбасных изделий.

2 Теоретическое обоснование

Бактериологическое исследование колбасных изделий и продуктов из мяса проводят в случае обнаружения фактов нарушения санитарного и технологического режимов производства или использования сырья пониженного качества, при несоответствии органолептических показателей продукции требованиям стандарта, а также периодически для проверки соблюдения санитарного и технологических режимов колбасного производства в следующие сроки:

1. Для группы колбас фаршированных, ливерных, кровяных высшего и 1 сортов, зельцев высшего, 1 и 2 сортов – не реже 1 раза в 15 дней.

2. Для вареных колбас высшего, 1 и 2 сортов, мясных хлебов, сосисок, сарделек – 1 раз в 10 дней.

3. Для групп колбас ливерных и кровяных 3 сорта, зельцев 3 сорта, студней и паштетов – не реже 1 раза в 5 дней.

4. Для групп колбас полукопченых, варено-копченых и сырокопченых – не реже 1 раза в месяц.

5. Для групп продуктов из свинины, говядины баранины, мяса птицы и других видов убойных животных: вареных, запеченных, жареных – не реже 1 раза в 15 дней; копчено-вареных, копчено-запеченных, сырокопченых – не реже 1 раза в месяц.

Пробы для бактериологического исследования отбирают согласно ГОСТ 9792-73 от каждой партии (одного вида, сорта, наименования, выработанных в одной смене с соблюдением одних технологических параметров). Пробы сопровождаются направлением установленной формы. Пробы хранят при температуре 4–6 °С не более 4 часов с момента отбора.

Для бактериологического исследования колбасных изделий отбирают образцы длиной не менее 15 см, продукты из говядины, баранины, свинины: вареные, запеченные, жареные, сырокопченые длиной не менее 10 см, сосиски, сардельки – целыми единицами. Продукты без оболочки должны быть отобраны из 3-х образцов, что составляет пробу. Пробу упаковывают в пергаментную бумагу, указывают сорт, вид изделия и помещают в водонепроницаемую тару. Вместе с пробами направляют акт отбора, в котором указывают наименование и время изготовления продукта, цель исследования. В зависимости от вида продукта готовят объединенную пробу массой около 50 г. Колбасные изделия в оболочке и продукты из свинины, баранины и говядины протирают тампоном, смоченным спиртом и обжигают над пламенем. Батоны разрезают на две половины стерильным скальпелем, не рассекая оболочку противоположной стороны батона. Пробу отбирают из нескольких участков центральной части и из-под оболочки обеих половинок батона

3 Аппаратура и материалы

Весы лабораторные ВЛТЭ-500г с гирей калибровочной 500г F2, Колбонагреватель LOIP LH-150, Микроскоп Биолам С1, Микроскоп лабораторный Биомед 2У, Микроскоп медицинский, Микроскоп МикМед 1, Огнетушитель воздушно-эмульсионный ОВЭ-6(з)-АВЕ-01, Термостат суховоздушный с электронным контролем температуры, Термостат ТВ-80-1, Холодильник "Самарканд", Холодильник АТЛАНТ МХМ 1833-21, Холодильник минск -215

4 Указания по технике безопасности

Заходить и работать в микробиологической лаборатории можно только в чистом белом халате. На рабочем месте не должно быть посторонних вещей. Студент обязан работать только на одном и том же месте и пользоваться закрепленным за ним оборудованием и химикатами. Следует соблюдать чистоту и опрятность при работе, использовать дезинфицирующие среды. Во избежание заражения во время перерывов не курить и не принимать пищи. На столе должно быть только необходимое для выполнения задания. Во избежание взрыва нельзя зажигать одну спиртовку от другой, следует использовать спички или зажигалку. Нельзя соприкасаться металлическими и другими предметами с контактными частями электросети. Без ведома преподавателя или обслуживающего персонала нельзя включать электроприборы или аппаратуру. Следует соблюдать правила работы с химическими и другими реактивами. По окончании занятий рабочее место и оборудование необходимо приводить в порядок. Уходя из лаборатории, студент обязан обработать руки спирто-йодной смесью и тщательно их вымыть.

5 Методика и порядок выполнения группового задания

Для посева берут стерильным инструментом кусочки фарша, которые помещают в предварительно взвешенный бюкс. Отвешивают на весах навеску массой 20 г. Навеску помещают в стерильную фарфоровую ступку и тщательно растирают стерильным пестиком (при этом можно добавлять стерильный речной песок), постепенно приливая 80 мл стерильной воды с расчетом разведения материала в соотношении 1 : 10. После отстаивания в течение 15 мин приготовленной испытуемой взвеси проводят посевы на питательные среды.

Бактериологическое исследование колбасных изделий включает:

- определение общего количества микробов в 1 г изделия (кроме копченых колбас);
- выявление бактерий рода *Salmonella*, выявление кишечных палочек рода *Escherichia*;
- выявление бактерий рода *Proteus*;
- выявление коагулазоположительных стафилококков;
- определение сульфитредуцирующих анаэробов.

При оценке вареных, сырокопченых колбас, сосисок, сарделек и мясных хлебов по микробиологическим показателям имеются нормативы: наличие бактерий группы кишечной палочки (лактозосбраживающие) в 1 г, наличие сальмонелл в 25 г, наличие сульфитредуцирующих клостридий в 0,01 г продукта не допускаются. Количество аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ, КОЕ/г, не более) для колбас вареных, сосисок и сарделек высшего и 1 сортов не должно превышать 1000 в 1 грамме; второго сорта – 2500 в 1 г; вареных и копчено-вареных окороках, рулетах, ветчине в оболочке, копчено-запеченных – не более 1000 в 1 г; ливерных колбасах высшего, 1 сорта, зельцах, паштетах, студнях высшего и 1 сортов – не более 2000 в 1 г.

Для определения КМАФАнМ делают не менее 2 посевов на МПА, чтобы на чашках Петри выросло от 30 до 300 колоний. На одну чашку высевают 0,1 г продукта, приготовив первое десятикратное разведение взвеси: стерильной пипеткой набирают 5 мл взвеси и переносят ее в пробирку с 5 мл стерильной воды (1 мл полученного раствора содержит 0,1 г продукта). Для посева 0,01 г продукта готовят следующее разведение стерильной пипеткой набирают 1 мл и переносят в пробирку с 9 мл стерильной воды (1 мл испытуемого раствора содержит 0,01 г продукта). Из приготовленных разведений вносят по 1 мл раствора в стерильные чашки Петри и заливают 15 мл расплавленного, охлажденного до 45–46 °С МПА, быстро смешивая с внесенным раствором. Чашки Петри переворачивают и помещают в термостат для культивирования микробов при 30 °С на 72 ч.

Для выявления бактерий рода *Salmonella* навеску продукта массой 25 г объединенной пробы вносят во флакон со 100 мл среды Кауфмана и помещают в термостат для культивирования при температуре 37 °С. Через 16–24 ч делают посев из

сред обогашения (среда Кауфмана) на среду Эндо, распределяя материал стерильным шпателем по поверхности среды. Культивируют при температуре 37 °С в течение 20–24 ч.

Для выявления бактерий группы кишечной палочки в среду Кесслер вносят 5 мл испытуемой взвеси, помещают в термостат при 37 °С на 18–20ч. При росте бактерий группы кишечной палочки на среде Кесслер в поплывке образуется газ.

Для выявления бактерий рода *Proteus* в Н-форме 0,5 мл анализируемой взвеси вносят в конденсационную воду свежескошенного МПА, не касаясь поверхности среды (метод Шукевича). Вертикально поставленные пробирки помещают в термостат при 37 °С и культивируют в течение 18–24ч.

Для выявления коагулазоположительных стафилококков из взвеси (1 : 10) проводят посев по методу Драгильского на желточно-солевой агар ЖСА, содержащий 6,5 % NaCl для выявления лецитиназной активности. Посевы термостатируют при температуре 37 °С в течение 24 ч.

Для выявления сульфитредуцирующих клостридий в пробирки, содержащие 9 мл расплавленной и охлажденной среды Вильсон-Блера, вносят по 1 мл десятикратных разведений взвеси. Перемешав посевной материал со средой, помещают в термостат и культивируют при 46 °С в течение 8–12 ч или при 37 °С в течение 20 ч. Появление в среде черных колоний или почернение среды свидетельствует о присутствии сульфитредуцирующих клостридий.

Учет результатов посевов

Для определения КМАФАнМ КОЕ в 1 г колбасных изделий подсчитанное число колоний на чашках Петри с МПА умножают на степень разведения анализируемого продукта. За окончательный результат принимают среднее арифметическое подсчета 2 чашек разной массы продукта.

Определение бактерий группы кишечной палочки: при обнаружении газа в поплывке на среде Кесслер необходимо провести высеивание на чашки Петри со средой Эндо и поместить в термостат при 37 °С на 18–20 ч. Бактерии *E. coli* образуют на среде Эндо темно-красные колонии с металлическим блеском. Из колоний готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Обнаружение грамтрицательных палочек указывает на присутствие кишечной палочки.

Бактерии из рода *Proteus* в Н-форме на скошенном агаре поднимаются вверх по поверхности среды в виде вуалеобразного налета с голубым оттенком. Из культуры готовят мазок и окрашивают по Граму. Обнаружение грамтрицательных, подвижных бактерий указывает на наличие бактерий из рода протей.

Выявление коагулазоположительных стафилококков: на ЖСА колонии токсигенных стафилококков образуют «радужный венчик». Из подозрительных колоний готовят мазки, окрашивают по Граму. Наличие грамположительных стафилококков, дающих положительную реакцию плазмокоагуляции, свидетельствует о присутствии токсигенных стафилококков.

Выявление сульфитвосстановителей определяют по почернению среды Вильсон-Блера. За положительный титр клостридий принимают то разведение взвеси, при посеве которой произошло почернение среды. Например, если характерное почернение наблюдается в пробирках с разведением 1 : 100, то считают, что в исследуемом продукте 100 клеток в 1 г.

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения работы, представлены рисунки полученных мазков, выводы.

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. В каких случаях проводится бактериологическое исследование колбасных изделий?

2. Какова методика отбора проб колбасных изделий для анализа?
3. Как часто проводят бактериальный анализ колбасных изделий в зависимости от их вида и сорта?
4. Какие показатели определяют при бактериологическом исследовании колбасных изделий?
5. Каковы методики исследования колбас для выявления бактерий группы кишечной палочки, сальмонелл, протей, стафилококков, клостридий?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 8

Бактериологическое исследование консервов

1 Цель и содержание

Цель работы: ознакомиться с методами бактериологического исследования консервов, методами отбора материала для исследования консервов, схемой бактериологического контроля консервного производства.

Содержание работы:

1. Отобрать пробы из консервных банок с соблюдением правил асептики.
2. Произвести посевы отобранных образцов на среды: МПБ с глюкозой для выявления мезофильных аэробных микроорганизмов, МППБ – для определения анаэробов, в т.ч. возбудителей ботулизма.
3. Провести термостатирование посевов при 37°C в течение 5 суток, а для выявления термофилов при 55° С в течение 48 часов. По наличию роста на средах определить присутствие вышеуказанных микроорганизмов.
4. Из сред с наличием роста приготовить препараты для микроскопического исследования, окрасив их простым способом или по Граму.
5. Провести учет результатов, сделать выводы о качестве консервов.

2 Теоретическое обоснование

Контроль выполняется в соответствии с инструкцией «О порядке санитарии – технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания».

Мясные, мясорастительные, рыбные консервы должны иметь соответствующий внешний вид, обладать герметичностью и промышленной стерильностью (отсутствие в продукте болезнетворных и условно патогенных микроорганизмов, способных развиваться при установленных режимах хранения). При нарушении режимов стерилизации или герметичности тары в консервируемом мясопродукте могут развиваться споровые и бесспоровые гнилостные бактерии. Из патогенной микрофлоры, способной развиваться в баночных консервах, наиболее опасной является анаэробная споровая палочка *Clostridium botulinum*.

Показаниями к бактериологическому исследованию консервов являются:

- плановый контроль технологического процесса и санитарного режима производства;
- внеплановые исследования для определения причины дефектов тары (бомбаж, хлопуша) в торговой сети;
- расследование причин пищевых токсикозов и токсикоинфекций.

При бактериологическом исследовании консервов до стерилизации допускаются следующие нормы бактериальной обсемененности консервов:

Консервы	Допустимая норма микробных клеток в 1 мл
----------	--

В собственном соку (Мясо тушеное)	100000
Мясо-растительные	20 000
Паштет мясной (печеночный)	10000
Рыбные консервы	10000
Консервы из морских продуктов	100000

Пробы отбирают перед стерилизацией из первых 10 банок в начале, середине и конце смены. Бактериологическое исследование банок перед стерилизацией включает определение общего количества микроорганизмов в содержимом банок, выявление спор облигатных анаэробов, выявление спор термофильных бактерий. Готовые консервы после стерилизации подвергают бактериологическому исследованию в случае, если:

- был нарушен режим стерилизации;
- обнаружена повышенная бактериологическая обсемененность сырья до процесса стерилизации;
- обнаружены нарушения в технологическом процессе изготовления;
- обнаружены нарушения при закладке консервов на длительное хранение;
- отсутствует показатель допустимой бактериальной обсемененности консервов до стерилизации.

При бактериологическом исследовании готовой продукции анализ общей бакобсемененности не проводят.

3 Аппаратура и материалы

Весы лабораторные ВЛТЭ-500г с гирей калибровочной 500г F2, Колбонагреватель LOIP LH-150, Микроскоп Биолам С1, Микроскоп лабораторный Биомед 2У, Микроскоп медицинский, Микроскоп МикМед 1, Огнетушитель воздушно-эмульсионный ОВЭ-6(з)-АВЕ-01, Термостат суховоздушный с электронным контролем температуры, Термостат ТВ-80-1, Холодильник "Самарканд", Холодильник АТЛАНТ МХМ 1833-21, Холодильник минск -215

4 Указания по технике безопасности

Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории (см. стр. 5).

5 Методика и порядок выполнения группового задания

Согласно ГОСТ 8756.0 бактериологическое исследование готовой продукции проводят по следующим показателям:

- на присутствие мезофильных аэробных микроорганизмов;
- на выявление возбудителей ботулизма;
- на выявление коагулазоположительных стафилококков.

На анализ отбирают банки, подвергнутые внешнему осмотру, без дефектов. Банки тщательно моют, вытирают и проверяют на герметичность (в аппарате Жадана, либо в горячей воде). Затем подвергают термостатной выдержке при температуре 37° С в течение 5 суток (для консервов в таре вместимостью менее I л). После термостатирования консервы выдерживают в течение 24 ч при комнатной температуре, после чего отмечают наличие дефектов тары.

Ватным тампоном, смоченным спиртом, протирают крышку банки и фломбируют пламенем. Затем пробойником прокалывают отверстие (1 –1,5 см² в диаметре).

Отбирают содержимое и проводят посевы на среды.

Для выявления мезофильных аэробных микроорганизмов из каждой банки по 2 мл высевает в 2 пробирки МПБ с глюкозой. Посевы термостатируют при 37°С в течение 5 суток.

Для выявления возбудителей ботулизма пробу консервированного продукта не менее 30мл или 2мл жидкости высевают в 4 флакона с регенерированной средой Китта-Тароцци (МППБ).

Один флакон прогревают при температуре 80°C в течение 30 минут, второй оставляют без прогрева и термостатируют при 37°C. Третий флакон с посевом прогревают при 60°C в течение 15 мин, а четвертый не прогревают. Посевы термостатируют при температуре 30°C.

Для выявления коагулазоположительных стафилококков проводят посев на среду ЖСА.

6 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения работы, представлены рисунки полученных мазков, выводы.

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. Каковы правила отбора и подготовки проб консервов для бактериологического исследования?
2. С какой целью проводят бактериологическое исследование консервов до процесса стерилизации?

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

по выполнению практических работ по дисциплине «Безопасность
продукции и процессов производства»
для студентов направления подготовки
27.03.01 Стандартизация и метрология

Направленность (профиль): «Метрология, стандартизация и сертификация в
промышленности (по отраслям)

Ставрополь
2026

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 1

Законодательно-нормативные документы в сфере гигиены питания и санитарного надзора

1. Цель работы:

- ознакомиться с основной нормативной документацией и надзорными органами в сфере гигиены питания;
- рассмотреть нормативную базу в положениях Федеральных законов в части, касающейся гигиены питания.

2. Теоретическое обоснование

Законодательство Российской Федерации в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения основано на Конституции Российской Федерации и включает Федеральный закон от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», другие Федеральные законы, а также иные нормативные правовые акты Российской Федерации: санитарные правила (СП), санитарные нормы (СН), гигиенические нормативы (ГН) и санитарные правила и нормы (СанПиН).

Кроме того, в области охраны труда был принят ряд новых нормативных документов, таких как методические указания МУК, утвержденные Главным государственным санитарным врачом РФ 7 октября 2002 г [9].

На основании Федерального закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» граждане Российской Федерации имеют право на благоприятную среду обитания, факторы которой не оказывают вредное воздействие на человека, на информацию о санитарно-эпидемиологической обстановке, состоянии среды обитания, качестве продукции и др.

Согласно Федеральному закону «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» государственный санитарноэпидемиологический надзор в Российской Федерации осуществляет единая федеральная централизованная система органов и учреждений.

Согласно Постановлению Правительства Российской Федерации от 6 апреля 2004 г. создана Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения (Роспотребнадзор). Роспотребнадзор осуществляет функции по контролю в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации, защиты прав потребителей на потребительском рынке. Главным в работе этой службы является санитарноэпидемиологический надзор.

Система органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор, включает:

- федеральный орган исполнительной власти, уполномоченный осуществлять государственный санитарно-эпидемиологический надзор в Российской Федерации;
- территориальные органы, созданные в субъектах Российской Федерации, муниципальных образованиях и на транспорте –

территориальные управления (ТУ) Роспотребнадзора и Центры гигиены и эпидемиологии (ФГУЗ ЦГиЭ);

- учреждения, подразделения исполнительной власти по вопросам обороны, внутренних дел, безопасности, юстиции и др.;
- государственные научно-исследовательские институты, организации дезинфекционного профиля и иные учреждения, осуществляющие свою деятельность в целях обеспечения государственного санитарно-эпидемиологического надзора в Российской Федерации.

Государственный санитарно-эпидемиологический надзор включает в себя:

- контроль за выполнением санитарного законодательства;
- контроль за санитарно-эпидемиологической обстановкой;
- проведение санитарно-эпидемиологических расследований и разработку предложений о проведении санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий;
- санитарно-карантинный контроль на границах.

Государственный санитарно-эпидемиологический надзор осуществляют в двух формах работы: предупредительный надзор и текущий надзор.

Предупредительный надзор должен обеспечить предупреждение нарушений гигиенических нормативов и санитарных правил на стадии разработки новых продуктов, материалов и изделий, на стадиях проектирования и строительства различных объектов, в том числе пищевых предприятий и предприятий общественного питания. Текущий надзор проводят для контроля соблюдения санитарных правил на действующих предприятиях.

Согласно законодательству Российской Федерации при осуществлении государственного санитарно-эпидемиологического надзора плановые мероприятия по контролю конкретного предприятия выполняют не чаще, чем один раз в два года, в соответствии с утвержденным планом проверок. Должностное лицо, проводящее проверку, должно предъявить распоряжение о выполнении мероприятий по контролю. По результатам проверки составляют акт установленной формы, к акту прилагают заключения проведенных исследований и экспертиз, постановления главного санитарного врача и другие документы.

Главный государственный санитарный врач имеет право выносить постановления: о прекращении строительства или эксплуатации объектов, производства продукции; проведении обязательного медицинского осмотра, временном отстранении от работы, госпитализации или об изоляции больных; наложении штрафов, направлении материалов о санитарных нарушениях для возбуждения уголовных дел и др.

За нарушение санитарного законодательства устанавливается административная, уголовная и гражданско-правовая ответственность. Административная ответственность устанавливается в виде предупреждения или наложения штрафа на граждан, индивидуальных предпринимателей,

должностных или юридических лиц. Административная ответственность согласно Федеральному закону «О качестве и безопасности пищевых продуктов» устанавливается в случае изготовления и оборота некачественных и опасных пищевых продуктов, оказания услуг в сфере общественного питания с нарушением требований нормативных документов к условиям изготовления, качеству и безопасности пищевых продуктов, при невыполнении предписаний и постановлений органов Роспотребнадзора.

Нормативная база в области гигиены питания представлена в положениях Федеральных законов в части [4-7], касающейся гигиены питания.

3. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе студенты изучают основные виды нормативно-законодательная документация.

На втором этапе – делают конспект, отвечая на следующие вопросы:

- перечислите основные законодательные документы по гигиене и охране труда;
- системная классификация нормативных и методических документов по основным санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим направлениям;
- основные положения Федерального закона от 30.03.1999 г. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»;
- что определяет «Положение об осуществлении государственного санитарно-эпидемиологического надзора в Российской Федерации» (утв. постановлением Правительства РФ № 569 от 15.09.2005 г.)?;
- какие документы относятся к нормативно-правовым актам, устанавливающим санитарно-эпидемиологические требования?;
- какие документы относятся к методическим документам?;
- какой документ определяет официальные регламенты этики и служебного поведения специалистов в системы Роспотребнадзора?

4 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, конспект ответов на вопросы.

5 Вопросы для защиты работы

1. Опишите систему органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор.
2. Назовите структуру и задачи государственной санитарноэпидемиологической службы России.

3. В чем заключается суть предупредительного и текущего санитарного надзора в области гигиены питания?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 2

Гигиенические требования к качеству питьевой воды и источникам водоснабжения

1. Цель работы:

- изучить гигиенические требования к качеству питьевой воды и источникам водоснабжения, изложенные в ГОСТе Р 51232-98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества» и ГОСТе 2761-84 «Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения»;
- изучить гигиеническое нормирование экзогенных химических веществ в почве, основные источники загрязнения патогенными микроорганизмами;
- ознакомиться с методами лабораторного анализа воды;
- изучить основные методы обеззараживания и улучшения качества питьевой воды;
- освоить навыки решения ситуационных задач по данной теме.

2. Теоретическое обоснование

«Питьевая вода должна быть безопасной в эпидемиологическом и радиационном отношении, безвредной по химическому составу и должна иметь благоприятные органолептические свойства» (статья 19, п. 1 ФЗ).

К качеству питьевой воды предъявляют определенные санитарно-гигиенические требования, которые регламентируются специальным санитарным законодательным документом – ГОСТом Р 51232-98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества».

С учетом качества воды и требуемой степени обработки с целью доведения ее до нормы в соответствии с ГОСТом Р 51232-98 выбранные источники водоснабжения делят на 3 класса.

Для подземных источников водоснабжения методы обработки воды следующие:

1-й класс – качество воды по всем показателям удовлетворяет требованиям этого ГОСТа;

2-й класс – качество воды имеет отклонения по отдельным показателям от требований данного ГОСТа, которые могут быть устранены аэрированием, фильтрованием, обеззараживанием; источники с непостоянным качеством воды, которые в сезонные колебания требуют профилактического обеззараживания;

3-й класс – доведение качества воды до требования ГОСТа методами обработки, предусмотренными во 2-м классе, с применением дополнительных – фильтрование с предварительным отстаиванием, использование реагентов.

Для поверхностных источников водоснабжения предусматриваются следующие обработки:

1-й класс – для получения воды, соответствующей ГОСТу, требуется обеззараживание, фильтрование с коагулированием или без него;

2-й класс – для получения воды, соответствующей ГОСТу, требуется коагулирование, отстаивание, фильтрование, обеззараживание, при наличии фитопланктона – микрофильтрование;

3-й класс – доведение качества воды до требований ГОСТа методами обработки, предусмотренными во 2-м классе, с применением дополнительной ступени осветления, применение окислительных и сорбционных методов, а также более эффективных методов обеззараживания и т. п.

3. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе студенты изучают теоретический материал.

На втором этапе исследуют образцы проб воды делают заключение по форме 2.1:

1. Дата и время отбора пробы:

2. Место отбора пробы:

3. Вид отбираемой воды:

(природная, питьевая, сточная, хозяйственная, ливневая, промстоки)

4. Характер пробы воды:

(разовая, суточная, средняя за n часов)

Наименование загрязняющих веществ	Фактическая концентрация загрязняющего вещества, мг/л	Фактический сброс загрязняющих веществ, т	Норматив допустимого сброса (лимит на сброс)		Сведения декларации о составе и свойствах сточных вод*		Кратность превышения
			мг/л	т	мг/л	т	

Рисунок 2.1 – Пример формы заключения

На третьем этапе решают ситуационные задачи.

Ситуативные задачи

1. Дайте оценку качества водопроводной воды: запах при 200 °С – 2 балла, цветность – 450, мутность – 2,7 мг/л, хлориды – 153 мг/л, сульфаты – 69 мг/л, железо – 2,0 мг/л, марганец, медь, цинк не обнаружены, общая жесткость – 6,5 мг-экв/л, водородный показатель (рН) – 7,4, мышьяк – 0,01 мг/л, свинец – 0,02 мг/л, нитраты – 15 мг/л, фтор – 0,4 мг/л, общее микробное число – 64 в 1 мл, общие колиформные бактерии – 3 в 100 мл. При необходимости предложите методы улучшения качества воды. В чем заключается значение нитратов и фтора?

2. Выбрать источник водоснабжения для столовой лечебно-профилактического учреждения в поселке «Константиново». Ориентировочная норма водопотребления для этого объекта составляет около 8 м³/сут. В качестве водоисточника можно взять реку, расположенную в непосредственной близости от учреждения, или артезианскую скважину, находящуюся в 500 м от учреждения. Артезианская скважина расположена на высоком месте без ограждения. Дебит реки составляет 115 м³/ч, артезианская скважина – 60 м³/ч. Анализ проб воды, отобранных из этих водоисточников, представлен в табл. 2.8.

Таблица 2.8 – Результаты анализа воды

Показатели	Артезианская вода		Речная вода	
	Дата взятия пробы на исследование			
	26 марта	10 апреля	4 марта	20 мая
Температура воды, °С	6,70	10,40	8,10	9,30
Мутность, мг/л	0,70	1,10	2,30	3,80
Запах, баллы	отсутствует		2,00	2,00
Водородный показатель, рН	6,80	6,80	8,40	8,10
Цветность, град.	8,00	8,00	45,00	60,00
Жесткость общая, мг-экв/л	3,70	3,70	1,20	2,90
Сульфаты, мг/л	19,70	19,80	42,30	47,80
Хлориды, мг/л	5,50	5,50	20,40	18,60

Аммиак, мг/л	0,08	0,08	0,30	0,25
Нитраты, мг/л	нет	нет	0,10	0,85
Фтор, мг/л	0,70	0,70	0,25	0,31
Железо, мг/л	0,30	0,30	0,80	0,95
Число кишечных палочек в 1 л	3	3	140,00	140,00
Число лактозоположительных кишечных палочек в 1 л воды	810	950	990,00	1100,00

3. Рассчитать содержание активного хлора, если на титрование йода пошло 28,9; 15,2; 10,6 мл 0,01 М раствора гипосульфита натрия, с учетом поправочного коэффициента на этот титр – 0,95.

4. Проба почвы взята в пригородной местности на расстоянии 0,5 км от существовавшей ранее свалки мусора. По характеру почва суглинистая, мелкозернистая, объем ее составляет 16 %. Анализ водной вытяжки, приготовленной из 200 г почвы (1 мл вытяжки соответствует 2,5 г почвы), содержит соли аммиака – 186 мг/кг; нитриты – 0,12 мг/кг; нитраты – 35 мг/кг; хлориды – 68 мг/кг; санитарное число почвы – 0,6; общее число бактерий – свыше 5 млн. Дайте письменное заключение по результатам анализа.

5. Укажите, какие из ниже перечисленных требований могут быть предъявлены к складским помещениям ПОП: должны располагаться единым блоком; могут быть проходными; должны иметь площадь не менее 4 м²; для контроля за физическими параметрами воздуха в каждой кладовой устанавливается термометр и психрометр; должны иметь единую систему вентиляции.

Результаты исследования состояния микроклимата на ПОП показали, что в горячем цехе в летний период времени физические параметры воздуха были следующими: температура воздуха – 28 °С; относительная влажность – 60 %; скорость движения воздуха – 0,2 м/с.

Сделайте заключение о том, являются ли параметры микроклимата оптимальными, допустимыми или недопустимыми. В случае если наблюдаются отклонения физических характеристик воздуха от нормативных, укажите причину этих отклонений, последствия для работников цеха и возможные пути разрешения сложившейся ситуации.

4 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, конспект ответов на вопросы.

5 Вопросы для защиты работы

1. Опишите органолептические свойства, которым должна соответствовать питьевая вода (вкус, цвет, мутность).

2. Ознакомьтесь с СанПиН 2.1.4.1175-02. Предъявите требования, которые выдвигаются к качеству питьевой воды в местных источниках.

3. Назовите классы для подземных источников водоснабжения и методы их очистки.

4. Дайте определения методам очистки воды: отстаиванию, фильтрации, коагуляции.

5. Ознакомьтесь с требованиями к санитарной оценке почвы, руководствуясь СанПиН 2.1.7.1287-03, и дайте оценку местной почве.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 3

Бактериологический анализ воды и воздуха

1. Цель и содержание

Цель работы: ознакомить студентов с методами санитарно-бактериологического контроля воды и воздуха.

Содержание работы:

- 1.1 Определить общую бактериологическую обсемененность на единицу площади объекта исследования.
- 1.2 Определить присутствие условно-патогенных микроорганизмов в объекте исследования.
- 1.3 Сделать вывод о санитарно-бактериологическом состоянии исследуемого объекта в соответствии с санитарными нормами.
- 1.4 Ознакомиться с методами бактериологического исследования воды и воздуха.
- 1.5 Провести посев воды и воздуха.
- 1.6 Сделать учет полученного посева воды и воздуха, сравнить полученные данные с ГОСТ.

2. Теоретическое обоснование

Бактериологическое исследование воды преследует следующие цели:

- определить общее количество микробов в 1 см³ воды;
- определить коли-индекс;
- определить качество воды в санитарно-гигиеническом отношении. Для исследования используют воду, отобранную в стерильную посуду вместимостью 0,5–1,0 л с ватными или притертыми стеклянными пробками. Из открытых водоемов, бассейнов, баков пробы отбирают с глубины 10–15 см³, при малой глубине - на расстоянии не менее 10–15 см³ от дна. Для выяснения источников загрязнения и изучения санитарного состояния водоема воду необходимо брать выше и ниже каждого населенного пункта, который может являться источником загрязнения. При наличии течения пробы отбирают в месте наибольшей скорости, так как здесь происходит наиболее частая смена воды. При взятии проб из водопроводных кранов последние предварительно стерилизуют пламенем, затем сливают воду из крана в течение 10 мин и наполняют посуду. Пробы воды направляют в лабораторию с сопроводительным документом. Воду необходимо исследовать не позднее 2 ч после взятия, в случае хранения ее при низких температурах (1–5°C) – не позднее 6 ч.

По ГОСТ 18963:

- для питьевой водопроводной воды, прошедшей очистку, титр кишечной палочки должен быть не ниже 333 (коли-индекс не более 3), общее количество микроорганизмов не более 50 в 1 см³;
- воды колодцев и родников могут содержать не более 100 микробных клеток в 1 см³ и иметь титр кишечной палочки до 250 см³ (4 кишечные палочки в 1 л воды);
- воды открытых водоемов (прудов и озер) с микробным числом не более 1000, коли-титром не менее 111, коли-индексом не более 9 могут применяться в пищевых производствах для технических целей только после очистки и не должны иметь патогенных микроорганизмов.

Титром кишечной палочки – коли-титром – называется наименьший объем воды (продукта), в котором содержится и обнаруживается хотя бы одна кишечная палочка.

Коли-индексом называется количество особей кишечных палочек в 1 л воды или 1 г продукта.

Для воды: коли-титр = 1000/индекс; коли-индекс = 1000/титр.

Для продукта: коли-титр = 1/индекс; коли-индекс = 1/титр.

2.2 Исследование воздуха

Микробы попадают в воздух с поднимающейся пылью и представляют в основном сапрофитные микроорганизмы. Воздух закрытых помещений может содержать и патогенные микроорганизмы, споры.

3 Указания по технике безопасности

Работа выполняется индивидуально каждым студентом с предложенными преподавателем микробиальными культурами. Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории (см. стр. 4).

4 Методика и порядок выполнения группового задания

4.1 Определение общего количества микробов в воде

Сущность метода заключается в определении в 1 см³ воды общего содержания мезофильных аэробов и факультативных анаэробов при культивировании на МПА при температуре $37 \pm 0,5$ °С в течение 24 ± 2 ч.

Определение начинают с приготовления разведения воды. Для этого в несколько пробирок наливают по 9 см³ стерильной воды. В первую пробирку стерильной пипеткой добавляют 1 см³ исследуемой воды. При этом пипетку не следует погружать в стерильную воду, чтобы избежать смывания микробов с поверхности пипетки. Новой стерильной пипеткой перемешивают внесенную пробу воды, после чего этой же пипеткой набирают 1 см³ приготовленного разведения (1 / 10) и переносят во вторую (разведение 1 / 100), из второго в третью и т. д.

Для приготовления каждого разведения пользуются отдельной стерильной пипеткой. Чем больше загрязнена вода, тем больше готовят разведений. Из каждой пробы должны быть взяты не менее двух различных объемов, выбранных с таким расчетом, чтобы в чашках выросло от 30 до 300 колоний. При использовании водопроводной воды засевают в каждую из двух чашек по 1 см³ и заливают 10–12 см³ охлажденного до 45 °С МПА.

По истечении 24 ч роста при температуре $37 \pm 0,5$ °С подсчитывают число выросших колоний в глубине и на поверхности агара. Если колоний выросло немного или много мелких, то считают с помощью лупы, перевернув чашку вверх дном, отмечая при этом каждую учтенную колонию карандашом по стеклу. Если выросло большое количество колоний, то дно чашки делят на секторы и подсчет ведут в каждом отдельном секторе. При очень большом количестве выросших колоний пользуются специальной счетной камерой.

Результаты подсчета колоний в каждой чашке выражают в количестве бактерий на 1 см³ анализируемой воды с учетом посеянного объема. За окончательное количество бактерий принимают среднее арифметическое результата подсчета на двух параллельных чашках или разных разведений. Результаты округляют следующим образом:

- если результат находится в пределах чисел от 1 до 100, то записывают числа, которые получены;
- если результат находится в пределах чисел от 101 до 1000, то результат округляют до 10;
- если результат находится в пределах от 1001 до 10 000, то округляют до 100 и т. д.

Количество колоний не учитывают в тех чашках, в которых при посеве из разведения выросло менее 20 или более 300 колоний, а также при сплошном росте бактерий.

4.2 Определение количества бактерий группы кишечных палочек в воде

Наибольшую опасность представляет фекальное загрязнение воды, так как вместе с фекалиями в воду могут попасть патогенные микроорганизмы. Обнаружить последние в воде бывает трудно ввиду их небольшой концентрации, поэтому о степени загрязнения воды судят по косвенным показателям – по наличию в воде кишечных палочек. К

бактериям группы кишечных палочек относятся грамотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при $37 \pm 0,5$ °C в течение 24 ч и не обладающие оксидазной активностью. Степень загрязнения воды определяется колититром или колииндексом.

Количество кишечных палочек в воде определяют бродильным методом. Для этого проводят посев определенных объемов анализируемой воды в среды накопления (ГПС или ЛПС) и культивирование посевов при $37 \pm 0,5$ °C с последующим высевом бактерий на плотную среду Эндо, дифференцирование выросших бактерий и определение наиболее вероятного числа бактерий группы кишечных палочек в 1 л по таблицам А.1 и А.2 (Приложение А).

При исследовании воды на этапах очистки и обеззараживания воды открытых водоемов засевают 100,0; 10,0; 1,0 и 0,1 см³ воды. При анализе питьевой воды засевают три объема по 100 см³, три объема по 10 см³ и три объема по 1 см³ в колбы (по 100 см³ в каждую) со средой ГПС или ЛПС, после термостатирования отмечают изменение цвета среды, наличие или отсутствие газа в поплавке и помутнения. Если среда не изменилась, кишечная палочка в пробе отсутствует, исследования прекращают. Из пробирок с наличием помутнения среды и газа проводят посев на среду Эндо. Выращивают микроорганизмы при $37 \pm 0,5$ °C в течение 16–18 ч. При наличии характерных колоний готовят мазки, красят по Граму и ставят оксидазный тест. Наличие активной оксидазы у всех бактерий, посеянных из колб или пробирок, свидетельствует об отсутствии кишечных палочек. Для определения активной оксидазы изолированные 2-3 колонии, выращенные на среде Эндо, снимают петлей и наносят штрихом на фильтровальную бумагу, смоченную реактивом для определения оксидазной активности. Если оксидазный тест отрицательный, то на участке нанесения культуры бумага не изменяет цвет; бумажка синее в течение 1 мин, если бактерии имеют активную оксидазу. Колититр и колииндекс определяют по таблицам Приложение А.1 и А.3.

4.3 Определение общего количества микробов в воздухе

Для количественного определения микробов можно использовать седиментационный, аспирационный и фильтрационный методы. Наиболее простым является седиментационный метод (метод оседания по Коху). Пять чашек Петри с МПА и СА переносят в исследуемое помещение и помещают на стерильную бумагу. Сдвигают крышку на самый край бсртика чашки так, чтобы вся поверхность с агаровой средой была открыта полностью, чашки оставляют открытыми на 5-10мин. Вместе с пылью и капельками влаги на поверхность агара оседают и микробы. Затем чашки закрывают крышками, ставят их вверх дном и выдерживают при температуре 22°C в течение 5 суток или при температуре 30°C в течение 48 ч (для выращивания грибов в течение 5-7 суток), затем проводят подсчет выросших колоний, полагая, что каждая колония выросла из одной микробной клетки. По Омелянскому на поверхность чашки площадью 100 см² в течение 5 минут оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 л **воздуха**. Площадь чашки Петри составляет 78,5 см². Если в среднем на одной чашке Петри выросло до 200 колоний, воздух считается чистым, свыше 200 колоний - загрязненным. При пересчете микробов в 1 м³ следует сравнить полученные данные с нормативными, указанным в таблице 3 и 4 (Приложение).

5. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения исследования, результаты экспериментальных исследований, выводы. Результаты работы оформляются в виде та блицы и рисунков мазков.

Результаты работы оформляются в виде таблиц 1 и 2 и рисунков.

Таблица 1 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

Наименование объекта	Засеваемый объем, см ³	Кол-во колоний в чашке Петри	Кол-во бактерий во взятой пробе	Площадь исследуемого объекта, см ²	Среднее кол-во бактерий - на единице площади	E. coli, Staph.	Преобладающие формы
----------------------	-----------------------------------	------------------------------	---------------------------------	---	--	-----------------	---------------------

--	--	--	--	--	--	--	--

Таблица 2 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

Наименование объекта	Засеваемый объем, см ³	Кол-во колоний в чашке Петри	Кол-во бактерий во взятой пробе	Среднее кол-во бактерий в единице объема	Коли-титр	Коли-индекс	Преобладающие формы

6. Контрольные вопросы и защита работы

1. Какие методы используют для бактериологического исследования оборудования, аппаратуры, тары и рук рабочих?
2. По каким критериям проводится санитарно-гигиеническая оценка чистоты рук рабочих?
3. Какие мероприятия предусматриваются на рабочих местах в случае несоответствия полученных бактериологических показателей?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 4

Правила личной гигиены работников на пищевых предприятиях

1. Цель работы – научиться соблюдать правила личной гигиены работников на пищевых предприятиях.

2. Теоретическое обоснование

Личная гигиена – это ряд санитарных правил, которые должны соблюдать работники общественного питания. Выполнение правил личной гигиены имеет важное значение в предупреждении загрязнения пищи микробами, которые могут стать причиной возникновения заразных заболеваний и пищевых отравлений у потребителей.

Личная гигиена работников повышает культуру обслуживания потребителей и служит важным показателем общей культуры предприятия общественного питания.

3. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе студент знакомится с теоретическим материалом работы.

На втором – необходимо ответить на следующие вопросы:

1. В каких случаях повар, кондитер обязаны дезинфицировать руки?
2. Каким требованиям должен отвечать внешний вид рук повара или кондитера?
3. Что входит в санитарный комплект одежды повара, кондитера?
4. Какие виды медицинского обследования обязаны проходить работники предприятий общественного питания?

4 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, конспект ответов на вопросы.

5. Контрольные вопросы

1. Основные задачи, решаемые при проведении санитарно-гигиенического обследования работников пищевых предприятий.
2. Назовите меры административной ответственности за совершение санитарных правонарушений.
3. Перечислите заболевания, препятствующие допуску к работе персонала пищевых предприятий.
4. Охарактеризуйте цель и задачи медицинского осмотра.
5. Охарактеризуйте правила личной гигиены персонала пищевых предприятий.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 5

Гигиенические требования к технологическому оборудованию, инвентарю, посуде, таре, упаковочным материалам

1. Цель работы – изучить гигиенические требования к технологическому оборудованию, инвентарю, посуде, таре, упаковочным материалам.

2. Теоретическое обоснование

2.1 Санитарно-гигиенические требования к технологическому оборудованию

Предприятия общественного питания должны быть оснащены различными видами оборудования (механическим, тепловым, холодильным, вспомогательным и торговым) в соответствии технологическими расчетами или нормами оснащения.

Все оборудование должно находиться в исправном состоянии. Его расстановка (пристенная, островная, комбинированная) должна соответствовать последовательности проведения технологического процесса, что исключает встречные и перекрещивающиеся потоки сырья, полуфабрикатов, готовой продукции, а также обеспечивает свободный доступ к нему во время его обслуживания и проведения санитарной обработки.

3. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе работы студенты знакомятся с теоретическим материалом.

Изучив данную тему, студент должен:

- иметь представление о составе и свойствах материалов, используемых для производства оборудования, инвентаря, посуды, тары; знать: гигиенические требования, предъявляемые к материалам, используемым для изготовления оборудования, инвентаря, посуды, тары; гигиенические требования к оборудованию, инвентарю, таре, посуде; уметь: давать санитарно-гигиеническую оценку металлической, керамической, стеклянной и полимерной посуде, посуде для одноразового использования; давать санитарно-гигиеническую оценку оборудованию, инвентарю, таре; владеть навыками применения различных видов упаковки для пищевых продуктов с учетом их особенностей.

4 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, конспект ответов на вопросы.

5. Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте преимуществами и недостатки различных видов тары.
2. На какие виды тары наносится маркировка?

3. Какая тара используется для упаковки круп, муки, сахара и других сыпучих товаров?
4. Какая тара в зависимости от их качества подразделяется на категории?
5. На сколько категорий подразделяются мешки в зависимости от их качества?
6. Какая тара имеет наиболее длительный срок эксплуатации?
7. Какая тара используется для перевозки молока, растительных масел и других жидкостей?
8. Какая тара применяется для упаковки и транспортировки полуфабрикатов и кулинарных изделий?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 6

Санитарно-бактериологический контроль состояния рук обслуживающего персонала и инвентаря предприятий пищевой промышленности

1. Цель и содержание

Цель работы: ознакомить студентов с методами санитарно-бактериологического контроля технологического оборудования, инвентаря, тары, рук рабочих пищевых предприятий.

Содержание работы:

- 1.7 Определить общую бактериологическую обсемененность на единицу площади объекта исследования.
- 1.8 Определить присутствие условно-патогенных микроорганизмов в объекте исследования.
- 1.9 Сделать вывод о санитарно-бактериологическом состоянии исследуемого объекта в соответствии с санитарными нормами.
- 1.10 Ознакомиться с методами бактериологического исследования воды и воздуха.
- 1.11 Провести посев воды и воздуха.
- 1.12 Сделать учет полученного посева воды и воздуха, сравнить полученные данные с ГОСТ.

2. Теоретическое обоснование

Загрязненные поверхности различных предметов, инвентаря, технологического оборудования, рук и спецодежды работников пищевой промышленности могут явиться источником загрязнения сырья и пищевых продуктов (мясопродуктов, молочных продуктов, овощей и т.д.) патогенными для человека микроорганизмами. В связи с этим инвентарь, руки, оборудование подлежат обязательному санитарно-бактериологическому контролю. Бактериологический анализ всего производственного оборудования инвентаря, рук является обязательным разделом комплексных санитарных исследований предприятий мясоперерабатывающей, консервной промышленности и предприятий общественного питания.

По современным рекомендациям санитарное состояние поверхностей считается отличным, если общее количество микроорганизмов на 1 см^5 – от 0 до 100, хорошим – от 100 до 1000 и неудовлетворительным – более 1000 микроорганизмов. В исследуемых смывах не должны присутствовать микроорганизмы кишечного-паратифозной группы, условно-патогенные и патогенные.

Бактериологическое исследование воды преследует следующие цели:

- определить общее количество микробов в 1 см³ воды;
- определить коли-индекс;
- определить качество воды в санитарно-гигиеническом отношении. Для исследования используют воду, отобранную в стерильную посуду вместимостью 0,5–1,0 л с ватными или притертыми стеклянными пробками. Из открытых водоемов, бассейнов, баков пробы отбирают с глубины 10–15 см³, при малой глубине - на расстоянии не менее 10–15 см³ от дна. Для выяснения источников загрязнения и изучения санитарного состояния водоема воду необходимо брать выше и ниже каждого населенного пункта, который может являться источником загрязнения. При наличии течения пробы отбирают в месте наибольшей скорости, так как здесь происходит наиболее частая смена воды. При взятии проб из водопроводных кранов последние предварительно стерилизуют пламенем, затем сливают воду из крана в течение 10 мин и наполняют посуду. Пробы воды направляют в лабораторию с сопроводительным документом. Воду необходимо исследовать не позднее 2 ч после взятия, в случае хранения ее при низких температурах (1–5°C) – не позднее 6 ч.

По ГОСТ 18963:

- для питьевой водопроводной воды, прошедшей очистку, титр кишечной палочки должен быть не ниже 333 (коли-индекс не более 3), общее количество микроорганизмов не более 50 в 1 см³;
- воды колодцев и родников могут содержать не более 100 микробных клеток в 1 см³ и иметь титр кишечной палочки до 250 см³ (4 кишечные палочки в 1 л воды);
- воды открытых водоемов (прудов и озер) с микробным числом не более 1000, коли-титром не менее 111, коли-индексом не более 9 могут применяться в пищевых производствах для технических целей только после очистки и не должны иметь патогенных микроорганизмов.

Титром кишечной палочки – коли-титром – называется наименьший объем воды (продукта), в котором содержится и обнаруживается хотя бы одна кишечная палочка.

Коли-индексом называется количество особей кишечных палочек в 1 л воды или 1 г продукта.

Для воды: коли-титр = 1000/индекс; коли-индекс = 1000/титр.

Для продукта: коли-титр = 1/индекс; коли-индекс = 1/титр.

2.2 Исследование воздуха

Микробы попадают в воздух с поднимающейся пылью и представляют в основном сапрофитные микроорганизмы. Воздух закрытых помещений может содержать и патогенные микроорганизмы, споры.

3 Указания по технике безопасности

Работа выполняется индивидуально каждым студентом с предложенными преподавателем микробиальными культурами. Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории (см. стр. 4).

4 Методика и порядок выполнения группового задания

Для проведения исследования оборудования, аппаратуры, рук рабочих стерильные ватные тампоны, закрепленные на металлическом стержне в пробке пробирки с 9 см³ стерильной воды, опускают в воду и затем влажным стерильным тампоном протирают поверхность руки или оборудования. Пробы с рук берут без трафарета. Для этого стерильным, влажным тампоном тщательно протирают ладонь, пальцы, пространство между пальцами и под ногтями и помещают тампон в пробирку со стерильной водой. Для взятия пробы с поверхности оборудования пользуются трафаретом из нержавеющей металла. Перед взятием пробы трафарет смачивают спиртом, обжигают и накладывают на поверхность исследуемого объекта. Стерильным, влажным тампоном протирают поверхность, ограниченную трафаретом, и погружают тампон в ту же пробирку. Данная

пробирка будет представлять первое разведение 1:10. Пробирку тщательно встряхивают в течение 3-5 минут. Затем готовят второе разведение 1:100. С этой целью из пробирки первого разведения новой стерильной пипеткой на 1 см³ берут жидкость и вносят в пробирку с 9 см³ чистой стерильной воды. При необходимости делаются третье, четвертое и т.д. разведения. Посев проводят из полученных разведений.

5. Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, методики проведения исследования, результаты экспериментальных исследований, выводы. Результаты работы оформляются в виде таблицы и рисунков мазков.

Результаты работы оформляются в виде таблиц 1 и 2 и рисунков.

Таблица 1 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

Наименование объекта	Засеваемый объем, см ³	Кол-во колоний в чашке Петри	Кол-во бактерий во взятой пробе	Площадь исследуемого объекта, см ²	Среднее кол-во бактерий - на единице площади	E. coli, Staph.	Преобладающие формы

Таблица 2 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

Наименование объекта	Засеваемый объем, см ³	Кол-во колоний в чашке Петри	Кол-во бактерий во взятой пробе	Среднее кол-во бактерий в единице объема	Коли-титр	Коли-индекс	Преобладающие формы

6. Контрольные вопросы и защита работы

1. Какие методы используют для бактериологического исследования оборудования, аппаратуры, тары и рук рабочих?
2. По каким критериям проводится санитарно-гигиеническая оценка чистоты рук рабочих?
3. Какие мероприятия предусматриваются на рабочих местах в случае несоответствия полученных бактериологических показателей?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 7

Пищевые отравления, пищевые инфекции и гельминтозы. Меры их профилактики на предприятиях общественного питания

1. Цель работы – изучить инфекционные заболевания, вызывающие пищевые отравления, и меры их профилактики.

2. Теоретическое обоснование

Пищевые токсикоинфекции относятся к пищевым отравлениям, возникающим при употреблении продуктов, содержащих большое количество размножившихся в них токсигенных условно-патогенных микроорганизмов. Эндотоксины высвобождаются только после гибели возбудителя и разрушения клетки, которые происходят в пищеварительном тракте человека после приема инфицированной пищи [3].

К условно-патогенным относятся микроорганизмы нормальной микрофлоры человека и животных, постоянно обитающие на коже, в кишечнике, дыхательных путях и др. При нормальных физиологических условиях они не вызывают заболеваний, но при ослаблении организма могут

служить причиной пищевых отравлений. Некоторые из условно-патогенных микроорганизмов встречаются в почве и воде.

3. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе работы студенты знакомятся с теоретическим материалом.

На втором – выполняют задание: по проведенному рейду необходимо составить постановление «Об изъятии из обращения сомнительных или забракованных пищевых продуктов» (форма 5.1):

«__» _____ 20__ г. я, санитарный врач _____
 _____ города (района), произвел гигиеническую
 экспертизу пищевых продуктов (или сырья для производства пище-
 вых продуктов, напитков и т.д.) _____

(указать, на каком предприятии, столовой, производственном складе)

При этом выявлены как подозрительные в отношении гигиениче-
 ской доброкачественности (или как непригодные, способные причи-
 нить вред здоровью потребителей и т.д.) следующие продукты (указать
 наименование продуктов, род упаковки, количество и общую массу):

1) _____

2) _____

Для определения степени доброкачественности сомнительных
 продуктов мною взяты образцы _____

_____ указать количество каждого продукта,

_____ массу образца, количество упаковок, из которых взяты образцы

_____ каждого продукта

Рисунок 5.1 – Пример формы «Об изъятии из обращения сомнительных или забракованных пищевых продуктов»

На третьем этапе студенты решают ситуационные задачи.

Ситуативные задачи

1. Был проведен санитарный рейд по торговым местам г. Ставрополе, а также был подготовлен статистический анализ по данным Федеральной службы «Центра гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае» и Роспотребнадзора. Также были проанализированы материалы центральной прессы.

В результате проделанной работы нам удалось установить следующие факты:

- по материалам прессы лишь 10 % рынков России отвечают санитарным нормам, почти на 30 % рынков отмечены грубые нарушения условий торговли, удовлетворительные условия отмечены только на каждом десятом рынке страны. По данным Федеральной службы «Центра гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае» и Роспотребнадзора рынки г. Ставрополя, к сожалению, не являются исключением;

- Роспотребнадзором Российской Федерации с декабря по март 2019 г. было проверено 16.089 рынков, наложено 30.000 штрафов на сумму более 41

млн рублей, в суды передано 755 дел. Основными нарушениями были – грязь у прилавков, просроченный товар, отсутствие медицинских книжек у персонала. Нередко нарушения торговли отмечаются и в супермаркетах – просроченная колбаса или ветчина идет на нарезки, в салаты, из кур делается гриль, перебиваются даты на этикетках;

- при изучении статистических материалов, предоставленных Роспотребнадзором, установлено, что ежегодно из торговой сети изымается большое количество некачественной готовой продукции.

Так, забраковано и снято с реализации готовой продукции (партий) за период с 2017 по 2019 гг. более 40 тыс. т (табл. 5.1).

Таблица 5.1 – Продукция, снятая с реализации, за 2010 – 2012 гг.

Год	Забраковано продукции (партий)	Снято с реализации, тыс.т
2017	5320	9.128
2018	8062	14.972
2019	139381	17.772

В качестве основного этиологического фактора пищевых отравлений за 2017-2019 г. выступают возбудители токсикоинфекций, их количество в 2017 г. составило 6928 случаев, количество токсикозов значительно меньше, но также с 2017 по 2019 г. их количество имеет тенденцию к увеличению (от 499 до 604 случаев).

4 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, конспект ответов на вопросы.

5. Контрольные вопросы

1. Назовите инфекции, вызывающие пищевые отравления.
2. Какую пищевую инфекцию называют «болезнью грязных рук» и почему?
3. Какие процедуры необходимо провести в первые часы заражения вирусом гепатита А и Е?
4. С чем связан большой разброс количества микроорганизмов холеры, достаточного для инфицирования?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 8

Расчет дезсредств для обработки пищевых предприятий

1. Цель работы – расчет дезсредств для обработки пищевых предприятий

2. Теоретическое обоснование

Дезинфекция – это комплекс мероприятий, направленных на уничтожение сапрофитных микроорганизмов – вредителей данного производства, вызывающих порчу сырья, полуфабрикатов и готовой продукции, а также патогенных микроорганизмов – возбудителей пищевых инфекций и пищевых отравлений.

Различают несколько видов дезинфекции:

- *профилактическая* или *текущая*, которая проводится постоянно, независимо от эпидемиологической обстановки в соответствии с санитарными требованиями;

- *экстренная* – проводится при подозрении на возможность возникновения очага инфекционного заражения на предприятии общественного питания, а также в случае инфекционных заболеваний среди работников данного предприятия.

Существуют две группы методов дезинфекции: физические и химические.

Физические методы включают в себя использование высоких температур, ультрафиолетовое, рентгеновское излучение и ультразвук. Под использованием высоких температур понимается кипячение, ошпаривание, прокаливание, обработка горячим паром и т. п.

Эти методы основаны на том, что большинство патогенных микроорганизмов являются мезофилами и не переносят резких перепадов температур. Большинство беспоровых мезофилов при нагревании до 80 – 100 °С гибнут за несколько минут, а при температуре выше 100 °С – еще быстрее. Кипячение в течение 30 мин применяется для стерилизации мелкого и матерчатого инвентаря.

Прокаливание – обработка сухим жаром – проводится в сухожаровых шкафах, обычно при температуре 180 °С в течение 1 – 2 ч. Такое воздействие губительно не только для неспорогенных мезофилов, но и для ряда спорогенных термофилов. Прокаливанию можно подвергать металлические жаропрочные предметы. Обработку горячим паром осуществляют в автоклавах при избыточном давлении, что позволяет получать влажный пар с температурой выше 100 °С, обычно 115 – 120 °С. В автоклавах можно обрабатывать матерчатые предметы. Преимущество термических методов дезинфекции состоит в том, что они исключают попадание в пищевые продукты дезинфицирующих химических веществ. Основной недостаток – термическая порча дезинфицируемых предметов.

Бактерицидное действие УФ и рентгеновского излучения обусловлено тем, что оно вызывает необратимые изменения в белках и нуклеиновых кислотах. Также губительно видимое коротковолновое излучение – голубая и фиолетовая части спектра. Для получения коротковолнового излучения с длиной волны 200 – 450 нм используют ртутно-кварцевые лампы высокого и низкого давления. Излучение таких ламп оказывает воздействие на микроорганизмы, находящиеся в воздухе и на различных поверхностях.

Химические методы дезинфекции – это использование различных веществ, вызывающих гибель микроорганизмов на различных поверхностях.

Дезинфицирующие средства, применяемые на предприятиях общественного питания, делятся на три группы: хлорсодержащие, четвертичные аммониевые соединения и ПАВ, кислородосодержащие. Одним из основных свойств дезинфицирующего вещества является его способность быстро вызывать гибель микроорганизмов (несколько минут), причем дезинфицирующие вещества вызывают гибель не только вегетативных клеток, но и спор, не вызывают появления устойчивых форм.

К хлорсодержащим дезинфицирующим средствам относятся: хлорная известь, гипохлориты натрия и калия, хлорамин А и Б и др.

Их действие основано на выделении активных хлора и кислорода посредством иона гипохлорита, который образуется при диссоциации этих соединений в воде. Недостатками неорганических хлорсодержащих веществ являются: выраженный запах хлора, плохая стойкость, быстрая инаktivация на свету, коррозирующее действие на металлы, обесцвечивание покрытий и материалов. Органические хлорсодержащие вещества более удобны в применении, не обесцвечивают покрытия и материалы, в сухом виде хранятся до трех лет, не теряя своих свойств. К органическим хлорсодержащим дезсредствам относится хлорамин – белый порошок с запахом хлора, хорошо растворимый в воде, имеющий содержание активного хлора 24 – 28 %.

Обычно применяется в виде растворов с концентрацией 0,5–2 %, приготавливаемых непосредственно перед употреблением.

Препараты группы четвертичных аммониевых соединений и ПАВ являются дезинфектантами комплексного действия: бактерицидного и моющего.

Они имеют ряд преимуществ по сравнению с хлорсодержащими средствами: низкий уровень токсичности, хорошая растворимость, стойкость растворов, отсутствие резкого запаха. К этой группе относятся препараты аламинол, септодор и др.

Действие кислородосодержащих препаратов основано на выделении ими активного кислорода. В эту группу входят ПВК (смесь перекиси водорода и катамина), перамин (смесь перекиси водорода и ЧАС), дезоксон-1.

После дезинфекционных мероприятий дезинфицирующие вещества должны быть тщательно удалены путем промывки всех производственных объектов, подвергшихся дезинфекции. На пищевых производствах применяются дезинфицирующие средства, разрешенные органами и учреждениями Роспотребнадзора в установленном порядке, которые используются в строгом соответствии с прилагаемыми инструкциями и хранятся в специально отведенных местах в таре изготовителя.

В соответствии со ст. 213 ТК РФ некоторые категории работников проходят обязательные медицинские осмотры. В их число прежде всего входят работники, занятые на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда (в т. ч. на подземных работах), а также на работах, связанных с движением транспорта.

Они проходят обязательные предварительные (при поступлении на работу) и периодические (для лиц в возрасте до 21 года – ежегодные) медицинские осмотры (обследования) в целях определения пригодности для выполнения поручаемой работы и предупреждения профессиональных заболеваний. В соответствии с медицинскими рекомендациями указанные работники проходят внеочередные медицинские осмотры.

Работники организаций пищевой промышленности, общественного питания и торговли, водопроводных сооружений, лечебно-профилактических и детских учреждений, а также некоторых других организаций проходят указанные медицинские осмотры (обследования) в целях охраны здоровья населения, предупреждения возникновения и распространения заболеваний.

Вредные и/или опасные производственные факторы и работы, при выполнении которых проводятся предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), а также порядок их проведения определяются нормативными правовыми актами, утверждаемыми в порядке, установленном Правительством РФ.

Именно такими нормативными правовыми актами в первую очередь надлежит руководствоваться при организации медицинских осмотров значительного числа работников.

3. Методика и порядок выполнения группового задания

На первом этапе работы студенты знакомятся с теоретическим материалом.

На втором – выполняют индивидуальное задание: выберете дезинфицирующее средство и рассчитайте его количество, необходимое (в сухом виде и виде раствора) для обработки предприятия ОП, которое было выбрано в работе № 3.

4 Содержание отчета и его форма

В содержание отчета о работе должны быть включены следующие разделы: тема, цель, краткое теоретическое обоснование, конспект ответов на вопросы.

5. Контрольные вопросы

1. Назовите основные требования, которые необходимо соблюдать при санитарно-гигиенической очистке предприятий общественного питания.
2. Дайте определение дезинфекции. Какие виды дезинфекции Вы знаете?
3. Напишите методики приготовления основных дезинфицирующих средств.

Практическая работа 9 Изучение зооантропонозных заболеваний

1 Цель и содержание работы

Цель работы: изучить морфологические, культуральные, биологофизиологические свойства микроорганизмов, вызывающих зооантропонозные заболевания, их устойчивость и патогенность, а также направления использования условно-годного сырья.

Содержание работы:

1. Изучить по схеме зооантропонозные заболевания (название возбудителя по латыни, морфологические, физиолого-биохимические и культуральные признаки, особенно обратить внимание на устойчивость и патогенность, диагностику и профилактику).
2. В соответствии со схемой составить таблицу для изученных зооантропонозов.
3. В соответствии со схемой дать сравнительную характеристику изученным заболеваниям и отметить те зооантропонозы, при которых мясо от больных животных не допускается к реализации или переработке.
4. Просмотреть и зарисовать препараты-мазки изучаемых возбудителей зооантропонозных заболеваний.

2 Теоретическое обоснование

Зооантропонозы – инфекционные заболевания, поражающие животных и людей. Термин «зооантропонозы» происходит от греческих слов *anthropos* – человек, *zoo* – животное и *posos* – болезнь.

Заражение человека может произойти:

- при контакте с больным животным или инфицированной тушей;
- через зараженные воздух, воду, почву, тару, инструмент;
- оборудование, предметы ухода за животными, спецодежду и т. д.;
- при употреблении в пищу продуктов из инфицированного мяса, субпродуктов, крови, молока от больных животных или бациллоносителей.

К числу наиболее опасных и часто встречающихся зооантропонозов относятся сибирская язва, бруцеллез, сальмонеллез, тулярия, туберкулез, Ку-лихорадка, орнитоз и т. д.

ВОЗБУДИТЕЛЬ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Сибирская язва – острая инфекционная болезнь животных и человека, характеризующаяся признаками септицемии и тяжелой интоксикации, а также образованием карбункулов.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель *Bacillus anthracis* – крупная, неподвижная палочка ($4 \div 10 \times 1 \div 2$ мкм), обладающая способностью образовывать споры и капсулы. Бациллы сибирской язвы грамположительны, в мазках из органов, крови или пораженных тканей, имеют вид крупных палочек, соединенных в короткие цепочки. Внутренние концы палочек обрублены, а иногда несколько расширены, что придает цепочкам вид бамбуковой трости. В организме и свежeweделенных культурах образуют капсулы. Вне организма, то есть во внешней среде, возбудитель сибирской язвы образует споры, располагающиеся чаще всего в центре клеток, реже – субтерминально. Диаметр спор не превышает ширину клетки. Спорообразование происходит при температуре $12 \div 42$ °C.

Bacillus anthracis имеет аэробный тип дыхания, хорошо растет на обычных питательных средах. Оптимальными условиями культивирования является температурный промежуток $30 \div 37$ °C и pH Среда $7,2 \div 7,6$. На МПБ образует беловатый осадок, который поднимается в виде облачка или кусочка ваты (среда при этом остается прозрачной) при встряхивании. На МПА вырастают серебристо-серые, зернистые, локонообразные колонии, напоминающие «голову медузы» или «львиную гриву». На столбике МПЖ после посева уколом культура растет в виде «перевернутой верхушкой вниз елочки». Ферментативные свойства возбудителя проявляются в медленном разжижении желатина (5–7 суток), свертывании молока с последующей пептонизацией сгустка, в отсутствии гемолиза на кровяном агаре. *Bacillus anthracis* ферментирует глюкозу, сахарозу, мальтозу, декстрин с образованием кислоты. Вегетативные формы

возбудителя сибирской язвы неустойчивы к воздействиям внешней среды. Они погибают при нагревании до температуры $50 \div 60$ °С в течение первого часа, в замороженном мясе при 15 °С выдерживают до 15 суток, в соленом – до 1,5 месяца.

Споры сибиреязвенных бацилл весьма резистентны. Так, в почве и воде они сохраняются в течение десятилетий, в шерсти и шкурах животных – месяцами и даже годами. Прямые солнечные лучи убивают споры возбудителя через 4 дня, при кипении они погибают через один час. Споры выдерживают автоклавирование при 134 °С в течение 5–10 минут.

Bacillus anthracis очень чувствителен к некоторым антибиотикам – пенициллину, стрептомицину, окситетрациклину, тетрациклину, биомицину. Однако на споры антибиотики не действуют: 1–2 % растворы хлора, хлорамина, формалина убивают вегетативные клетки за 3–5 минут, 4–5 % этих же дезинфицирующих веществ уничтожают споры через 1–2 часа.

Патогенность

К заболеваниям сибирской язвы восприимчивы все виды домашних животных и многие виды диких животных. Более восприимчивы овцы, козы, крупный рогатый скот (к.р.с.), буйволы, лошади, ослы, олени, верблюды. Менее восприимчивы свиньи, у которых болезнь протекает, как правило, хронически с поражением подчелюстных и заглоточных лимфатических узлов. Инфекцию могут переносить мухи, слепни.

Диагностика

Сибирская язва встречается у животных в септической и локальной (местной) формах. При септической форме селезенка сильно увеличивается (иногда в 5 раз), становится темно - красной и дряблой. В других тканях и органах появляются точечные кровоизлияния. Кровь – темная, не свертывается («лаковая кровь»). Трупного окоченения почти не наблюдается. У свиней чаще происходит местное поражение подчелюстных лимфатических узлов, бациллы могут приобретать здесь атипичные формы – длинные нити (изогнутые, перекрученные), разбухшие, распавшиеся на обломки и тени. У людей сибирская язва встречается в трех формах – кожная, легочная и кишечная. На коже образуется сначала красное пятно, потом пустула (пузырек с гноем), потом струп, который по цвету напоминает уголь антрацит, с пузырьками по периферии – так называемый сибиреязвенный карбункул. Ткани отекают, но боли человек не ощущает. При легочной форме появляется одышка, кашель с кровавой мокротой, слабая сердечная деятельность. При кишечной форме – боль в подложечной области, тошнота, рвота, кровавый понос. При всех формах состояние человека очень тяжелое, температура повышается до 40 °С.

Профилактика

При обнаружении сибирской язвы на мясоперерабатывающем предприятии проводят комплекс мероприятий, предупреждающих возможность заражения людей и животных, а также распространение инфекции. Работу в цехах немедленно прекращают. От подозреваемой в заражении туши берут кусочек селезенки, измененные части ткани и пораженные лимфатические узлы, а также ухо и направляют в лабораторию для бактериоскопического и бактериологического исследований. До получения результатов анализа тушу и все органы изолируют. При установлении бактериологическим анализом сибирской язвы, тушу со всеми органами и шкурой, не ожидая результатов бактериологического исследования направляют на утилизацию (сжигание). Сжигание производят в специальных печах или направляют на специальный утилизационный завод. Все обезличенные продукты (конечности, вымя, уши и др.), полученные от убоя других животных, смешанные с продуктами убоя от сибиреязвенного животного, направляют на техническую утилизацию или сжигают. Шкуры от здоровых животных, находившиеся вместе со шкурами от животного, больного сибирской язвой, подлежат дезинфекции. Немедленно после удаления сибиреязвенной туши и других продуктов убоя в цехе проводят санитарную обработку по указанию и под руководством медико-санитарного

надзора. Другие продукты убоя и туши, подозреваемые в обсеменении бациллами сибирской язвы по ходу технологического процесса, немедленно обеззараживают провариванием, не позднее, чем через 1 час с момента убоя, либо в противном случае направляют на утилизацию. При отрицательном результате бактериоскопического исследования тушу, подозреваемую в заражении сибирской язвой, оставляют в изоляции до получения заключения о результатах бактериологического исследования. Необходимость дезинфекции определяет ветврач. При подтверждении бактериологическим исследованием диагноза на сибирскую язву с подозреваемыми тушами и другими продуктами убоя поступают так же, как и с сибиреязвенными тушами.

ВОЗБУДИТЕЛЬ САПА

Сап – инфекционная, хронически протекающая болезнь однокопытных животных (лошадей, ослов, мулов), характеризующаяся возникновением в легких, на слизистых оболочках дыхательных путей и различных участках кожи специфических узелков, склонных к распаду с образованием гноящихся язв. Сапом болеет и человек.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель *Actinobacillus mallei* – прямая или изогнутая, с закругленными концами, неподвижная бактерия, размером $0,5 \div 0,8 \times 2 \div 5$ мкм. Микроб полиморфен. В молодых культурах встречаются короткие коккоподобные палочки. В старых культурах форма микроба изменяется, палочка иногда приобретает вид длинных нитей с разветвлениями, спор и капсул палочка не образует, по Граму красится отрицательно. Возбудитель сапа хорошо культивируется при температуре 37 °С на обычных питательных средах с добавлением 4–5 % глицерина при pH 7,0–7,2. На МПА образует плоские серовато-белые полупрозрачные с перламутровым блеском слизистые колонии; на МПБ наблюдается появление серовато-слизистой пленки, при этом бульон становится мутным, на дно выпадает осадок. Возбудитель не обладает выраженными протеолитическими свойствами – МПЖ не разжижает, молоко свертывает медленно, глюкозу и лактозу расщепляет. *Actinobacillus mallei* устойчива во внешней среде в гниющем материале в течение 15–25 дней. Бактерии термолабильны. При температуре 75 °С погибают через 5 минут, при температуре 100 °С – моментально. К низкой температуре палочка более устойчива, при температуре $-10 \div 15$ °С не погибает в течение нескольких месяцев. Возбудитель сапа погибает через один час при воздействии 1 % раствора хлорной извести, 1 %-ного раствора едкого натрия, 2 % раствора формалина.

Патогенность

Кроме однокопытных и человека к сапу восприимчивы леопарды, пантеры, львы, барсы, рыси, степные кошки, верблюды.

Диагностика

Наблюдают кожные и легочные формы заболевания. Болезнь у животных часто носит хронический характер: животное не погибает и разносит инфекцию. При кожной форме заболевания в коже по ходу лимфатических сосудов образуются узелки величиной от горошины до голубиного яйца. В центре узелки размягчены, а после распада тканей образуются язвы. Характерно поражение лимфатических узлов носоглотки с образованием пустул. Наблюдается обильное слизисто – гнойное истечение из носа. При легочной форме заболевания в легких чаще образуются узелки и реже отмечают пневмонию. Нередко кожные, легочные и носовые поражения встречаются у одного и того же животного.

Профилактика

Животных, больных сапом, не разрешается допускать к убоям.

Клинических больных и положительно реагирующих при маллеинизации животных уничтожают. Все туши, подозреваемые в обсеменении возбудителем сапа по ходу технологического процесса, выпускают после проварки, а внутренние органы направляют на техническую утилизацию. Цех и все оборудование тщательно дезинфицируют.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ТУЛЯРЕМИИ

Туляремия – природно-очаговая инфекционная болезнь животных, характерная для млекопитающих, птиц, рыб. Очень чувствителен к туляремии человек. Из сельскохозяйственных животных чаще болезнь регистрируют у овец, коз, свиней и кроликов, реже – у крупного рогатого скота, лошадей и верблюдов. Болезнь протекает в основном в септической форме с поражением лимфатических узлов, характеризуется лихорадкой, поносами, истощением, лимфаденитами, симптомами поражения нервной системы.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель – *Francisella tularensis* – мелкая ($0,3 \div 0,7$ мкм) полиморфная, неподвижная, не спорообразующая палочка. На искусственных средах приближается по форме к коккам. Способна к капсулированию. По Грамму возбудитель красится отрицательно. По физиологическим свойствам относится к строгим аэробам, на обычных средах не растет. На яично-желточной среде растет в виде мелких, росинчатых колоний. Температурный оптимум роста – $36-37^{\circ}\text{C}$, pH 6,7–7,4. Возбудитель не разжижает МПЖ, обладает слабыми сахаролитическими свойствами. Бактерии туляремии малоустойчивы к воздействию высоких температур. При 100°C микробы во взвеси погибают за несколько секунд, при 60°C – через 20 минут. В замороженном мясе возбудитель сохраняется до трех месяцев, в соленом – 31 день. Возбудитель туляремии не устойчив к дезинфицирующим средствам – 3 % раствор фенола вызывает гибель в течение 3–5 минут. Бактерии туляремии могут сохранять жизнеспособность в течение 38 дней в открытых водоемах.

Патогенность

Основными источниками инфекции являются грызуны – зайцы, дикие кролики, домовые и полевые мыши, водяные крысы.

Диагностика

У больных овец, ягнят и коз наиболее типичными патологоанатомическими изменениями являются некротические участки и студенистые инфильтраты в подкожной клетчатке, кровоизлияния в миокарде, участки воспаления в легких и на плевре. Селезенка увеличена, усеяна мелкими некротическими фокусами. Лимфатические узлы увеличены, гиперемизированы с серо-желтыми очагами или абсцессами. Резко увеличены подчелюстные, заглоточные, шейные поверхностные и подкрыльцовые лимфатические узлы. Для выделения чистой культуры возбудителя из исследуемых образцов проводят предварительные пассажы через организм лабораторных животных с последующим высевом на специальные желточные среды. Для свиней характерна плевропневмония и гнойные процессы в подчелюстных и околоушных лимфатических узлах.

Профилактика

При установлении туляремии на мясокомбинатах проводят комплекс ветеринарно-санитарных мероприятий, исключающих распространение инфекции и предупреждающих заражение людей. Не допускаются на убой больные и подозрительные в заболевании животные. В случае убоя больных животных их туши, органы и шкуры уничтожают. В случае сильного загрязнения хранящегося мяса пометом или мочой грызунов, его зачищают и используют на данном предприятии для производства вареных изделий. Для выработки прочного и длительного иммунитета рабочим вводят туляремийную вакцину.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ЛЕПТОСПИРОЗА

Лептоспироз – инфекционное природно-очаговое заболевание, проявляющееся лихорадкой, анемией, желтухой, некрозами слизистых оболочек и кожи, абортами. У людей болезнь характеризуется лихорадкой, резкими головными болями, болями в мышцах всего тела и особенно икроножных, поражениями печени и почек, часто появлением общей желтухи.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель инфекции – род *Leptospira* (от греческого – мелкий завиток), выделено 124 серологических типа патогенных лептоспир. Все паразитические лейтоспиры в соответствии с ВОЗ относят к одному виду – *Leptospira interrogans*.

По морфологическим свойствам лептоспира представляет собой тонкие серебристо-белые нити с нежной спиральной структурой ($5\div 10 \times 0,05\div 0,14$ мкм). Вследствие изгиба тела микроорганизмы приобретают характерную форму. Осевая нить тела служит органом движения. Лептоспиры плохо окрашиваются анилиновыми красителями. Лептоспиры являются аэробами, их культивируют при 24–28 °С в слабощелочных специальных питательных средах (Любашенко, Терских и др.). Биологическая активность лептоспир незначительна (не обладает протеолитическими свойствами). Лептоспиры весьма неустойчивы к воздействию внешних факторов. Прямые солнечные лучи убивают их в течение 0,5–2 часов. В воде открытых водоемов лептоспиры выживают от нескольких часов до 30 суток. При кипячении гибнут моментально, при 56–60 °С – через 30 минут. Очень устойчивы к низким температурам. Кислая реакция действует губительно, мясо от больных животных обеззараживается при содержании в нем соли 4,8 % в течение 10 суток, 0,5 % раствор фенола убивает лептоспиры в течение 5 минут.

Патогенность

Патогенность зависит от серологического типа возбудителя. К лептоспирозу восприимчивы крупный рогатый скот, овцы, козы, свиньи, собаки, буйволы, верблюды, олени, кошки, ослы, лисицы, песцы, куры, утки, домашние грызуны. Более восприимчивы молодые животные. Основным источником инфекции являются грызуны, а также больные и переболевшие животные.

Диагностика

Лептоспироз устанавливают на основании микроскопии выделения чистых культур лептоспир и постановки биопробы. Для исследования берут мочу, почки, кусочки печени и другие паренхиматозные органы. При послеубойной диагностики характерно наличие резко увеличенных, набухших, серого и серо-зеленого цвета лимфатических узлов, участков некроза на губах, деснах и языке, отечность легких с кровоизлияниями, увеличение в 2–3 раза почек, желеобразного отека в околопочечной клетчатке.

Профилактика

Если обнаруживают дегенеративные изменения в мышцах или желтушное их окрашивание, не исчезающее в течение 2 суток, то тушу и все внутренние органы направляют на техническую утилизацию. При отсутствии изменений в мышцах, но при наличии в них желтушного окрашивания, исчезающего в течение 2 суток, тушу и внутренние органы, не имеющие патологических изменений, выпускают после проварки. Кишечник и патологически измененные органы направляют на утилизацию. Шкуры дезинфицируют, в цехах проводят медико-санитарные и ветеринарно-санитарные мероприятия.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ЛИСТЕРИОЗА

Листерия – остро протекающая болезнь млекопитающих и птиц, характеризующаяся поражением центральной нервной системы и септициемией.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель *Listeria monocitogenes* – короткая, прямая или слегка изогнутая с закругленными концами палочка размером $0,2\text{--}0,4 \times 1\text{--}2$ мкм. Палочки обычно расположены поодиночке, парно, чаще – под углом в виде римской буквы U, иногда в виде цепочки, в виде частокола. Микроб подвижен, спор не образует, по Граму окрашивается положительно. *Listeria* – факультативный анаэроб, оптимальная pH 7,2–7,4. На агаре дает рост в виде мелких, прозрачных, росинчатых колоний. Листерии не свертывают молоко, не разжижают желатин, ферментируют глюкозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, декстрозу. В почве листерии сохраняют свою жизнедеятельность в течение 115 дней, в воде – несколько месяцев. При нагревании до 70–75 °С листерии гибнут через 10–

15 минут, при 100°C – через несколько секунд. Низкая температура менее губительна для листерии, чем высокая. При -5 °C они выдерживают до 300 дней. При воздействии 2,5 % раствора формалина или едкого натрия листерии погибают через 15–20 минут.

Патогенность

К листериозу восприимчивы мелкий и крупный рогатый скот, свиньи, лошади, куры. Носителями патогенных листерии обычно являются грызуны.

Диагностика

У убойных животных, как правило, отсутствуют характерные патологоанатомические изменения. Иногда могут обнаружить воспалительные фокусы в мозговых оболочках, отечность мозга и инъекцию сосудов. У молодняка помимо поражения мозга, обнаруживают кровоизлияния и дегенеративные изменения селезенки, печени, легких. При септической форме обнаруживают отек легких, некротические очажки в печени, селезенке, почках. Для бактериологических исследований на листериоз направляют голову и головной мозг, паренхиматозные органы. Бак исследование включает микроскопию патологического материала, выделение чистой культуры возбудителя, биопробу на лабораторных животных.

Профилактика

Патологически измененные органы и голову от больных животных направляют на техническую утилизацию. Туши и внутренние органы, не имеющие патологических изменений, обеззараживают проваркой или направляют для изготовления вареных, варено-копченых колбас или консервов. Кроме того, такое мясо можно использовать для производства варено-копченых грудинки и кореек.

ВОЗБУДИТЕЛЬ РОЖИ СВИНЕЙ

Рожа свиней – инфекционная болезнь, характеризующаяся при остром течении – септициемией и воспалительной эритемой кожи, при хроническом – эндокардитом и артритом. У людей рожа протекает в виде нестойкого воспаления кожи (появление на пальцах и кистях рук красных пятен, сыпи).

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель болезни – *Erysipelothrix insidiosa* (*Bact.rhusiopathiaesuis*) – тонкая прямая или слегка изогнутая палочка, спор и капсул не образует, неподвижная, по Граму окрашивается положительно. В мазках, приготовленных из органов и крови, палочки располагаются одиночно или пучками. Возбудитель рожи свиней – факультативный анаэроб, хорошо растет на простых питательных средах, интенсивный рост наблюдается на среде с добавлением 2 % глюкозы или 10–15 % сыворотки крови лошадей. На МПА возбудитель растет в виде прозрачных мельчайших росинчатых колоний. На МПЖ при посеве уколом через 6–8 дней образуются беловато-серые горизонтальные отростки, по внешнему виду напоминающие ерша. Для идентификации возбудителя рожи свиней существует элективная среда Сент-Иваньи. Возбудитель не разжижает желатин, не образует индол, выделяет сероводород, ферментирует многие сахара с образованием кислоты без выделения газа. Он неустойчив к температуре – при 75 °C гибнет через несколько секунд, при кипячении – моментально. В замороженном и высушенном состоянии может сохранять свою жизнеспособность несколько месяцев. В мясных продуктах выживает длительное время, в соленом мясе – до 2 месяцев, в копченой свинине – до 3 месяцев. При копчении мяса возбудитель может сохранять свою жизнедеятельность в глубоких слоях. В кусках мяса толщиной 15 см микроб погибает при варке в течение 2,5 часов, в рассоле (18–22 %-ного раствора NaCl) – через 48–72 часа, 3 % раствор фенола, 2 % раствор едкого натрия вызывает гибель бактерий рожи свиней уже через несколько минут.

Патогенность

Возбудитель рожи свиней вызывает заболевание у свиней в возрасте от 3 до 12 месяцев, ягнят, индеек, кур, уток, голубей. У птиц рожа протекает в виде септициемии. Зарегистрированы спорадические случаи заболевания лошадей, крупного рогатого скота.

Диагностика

При остром и подостром (крапивница) течении болезни на коже или на шпике под кожей заметны темно-красные участки прямоугольной, ромбовидной или треугольной формы. Лимфатические узлы отечны, красно-фиолетового цвета. В легких патологических изменений может и не быть, но иногда заметен отек или изменения, свойственные серозному бронхиту. Сердечная мышца ослаблена, на эпикарде и эндокарде мелкие кровоизлияния. В печени кровоизлияния или участки некроза. Селезенка увеличена, пульпа красного цвета. Почки гиперемированы, корковый слой желто-красного или синеватого цвета. При хронической форме заболевания наблюдаются артриты, эндокардиты, инфаркты в селезенке и почках.

Для бактериологического исследования в лабораторию направляют паренхиматозные органы, лимфоузлы, при крапивнице – кусочки пораженных участков кожи. Бактериологическое исследование включает микроскопию, выделение чистой культуры, биопробу. При хроническом течении болезни в мазках обнаруживают переплетающиеся нити грамположительных палочек.

Профилактика

При дегенеративных изменениях в мышцах тушу, и все субпродукты направляют на техническую утилизацию. Если они отсутствуют, то проводят бактериологическое исследование на сальмонеллы. В случае их обнаружения в мясе и во внутренних органах туши обезвреживают проваркой, а внутренние органы направляют на техническую утилизацию или уничтожают. При отсутствии сальмонелл тушу, шпик, внутренние органы (если они не изменены) разрешается перерабатывать на вареные, варено-копченые колбасы и консервы, а также на варено-копченые грудинки и корейки. Все патологически измененные органы подлежат технической утилизации.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ТУБЕРКУЛЕЗА

Инфекционная болезнь, свойственная всем диким и домашним млекопитающим животным, птице и человеку. Пропекает, как правило, хронически, характеризуется образованием туберкулов, способных к творожистому перерождению и распаду.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* был Открыт Кохом в 1882 г. Существует пять типов туберкулезных бактерий: человеческий – *M. tuberculosis*, птичий – *M. avium*, бычий – *M. bovis*, холоднокровных и мышей-полевков. Для крупного рогатого скота возбудителем заболевания являются бычьи туберкулезные бактерии, для свиней – птичьи и бычьи, а реже – человеческие.

Туберкулезная палочка – аэробная, неподвижная, спор и капсул не образующая, тонкая и слегка изогнутая длиной 0,5–3,0 мкм, устойчивая к кислотам и спиртам. По Граму красится положительно. В старых культурах палочки образуют нити с разветвлениями, что и позволило отнести их к роду *Mycobacterium*. Температура роста 30–42 °С, рН среды 7,0–7,2.

Микроорганизмы растут на обычных средах (МПА, МПБ) с добавлением глицерина и на элективных средах. На МПА с глицерином образует сухой налет, приобретающий вид грубых бородавчатых образований. Возбудитель туберкулеза продуцирует протеолитические ферменты, расщепляющие белок в кислой и щелочной средах, а также дегидразу, лецитиназу, уреазу. Микобактерии туберкулеза довольно устойчивы. Они длительное время сохраняют свою жизнедеятельность вне организма животного и человека. В почве возбудитель сохраняется до 2 лет; в воде – до 8 месяцев; в бытовой пыли – до 10 месяцев; в сточной воде, гниющих продуктах и скисшем молоке – несколько недель; в замороженном мясе – до года, в соленом – до 45–60 дней. Под влиянием прямых солнечных лучей возбудитель туберкулеза погибает в течение 2 часов. При кипячении микобактерии погибают через 5 минут, при температуре 70 °С – в течение 24 часов, в 5 % растворе формалина – через 12 часов.

Патогенность

К туберкулезу восприимчивы более 55 видов домашних и диких животных, около 25 видов птиц. Более чувствительны к возбудителю крупный рогатый скот, свиньи, куры, реже – козы, собаки, утки, гуси. Заболевает также и человек.

Диагностика

Существует пред- и послеубойная диагностика туберкулеза. Предубойная проводится в хозяйствах с помощью туберкулина. При послеубойной диагностике туберкулезные поражения могут проявляться в 2 основных формах – продуктивной и экссудативной. При первой туберкулезные узелки плотные, полупросвечиваются, на более поздних стадиях развития процесса они подвергаются казеозному распаду или обызвествлению (данная форма заболевания считается более благоприятной).

При экссудативной форме отмечают серозное или серозно-фибриозное воспаление. В пораженных очагах находят скопление полужидкого экссудата и участки творожистого перерождения, обызвествление отсутствует. У крупного рогатого скота при туберкулезе обнаруживают поражения в легких, легочных лимфатических узлах, реже – в кишечнике, печени и других органах. У свиней первичные поражения обнаруживаются в глотке, миндалинах или кишечнике. Изменения локализуются в лимфатических узлах (подчелюстных, шейных). Часто встречаются туберкулезные поражения костей, реже – легких, печени, почек и селезенки. У овец туберкулезный процесс может протекать в легких, печени, селезенке, на серозных покровах и вымени. У лошадей он встречается редко. Поражения могут локализовываться на слизистой оболочке носовой перегородки, в легких, печени и селезенке. В случае обнаружения патологоанатомических изменений в органах и тканях животных, не реагирующих на туберкулин, проводят бактериологические исследования. С этой целью участки пораженных органов обрабатывают 3–6 % раствором серной кислоты, затем проводят микроскопию мазков, посев на элективные среды и ставят биопробу.

Профилактика

Мясо, полученное от тощих животных при любой форме поражения, а также туши с генерализованным туберкулезным процессом, направляют на техническую утилизацию. Туши при удовлетворительной упитанности при наличии поражения в лимфатических узлах или в одном из внутренних органов, а также пораженные органы и ткани используют для пищевых целей после проварки. Пораженные органы и ткани направляют на техническую утилизацию.

ВОЗБУДИТЕЛЬ БРУЦЕЛЛЕЗА

Хроническая инфекционная болезнь, поражает сельскохозяйственных животных, многие виды диких животных, а также человека. У животных часто проявляется абортными, задержанием последа, у человека – воспалением суставов.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудителем болезни могут быть несколько видов бактерий, относящихся к роду *Brucella*. Все они полиморфны, встречаются кокковидные, овоидные и палочковидные формы, размер клеток 0,6–1,5 × 0,5–0,7 мкм, неподвижны, некоторые штаммы образуют капсулу, по Граму окрашиваются отрицательно, хорошо воспринимают анилиновый краситель.

У крупного рогатого скота, яков, буйволов, верблюдов и лошадей возбудителем бруцеллеза является *Br. abortus*, у свиней и северных оленей – *Br. suis*, у коз и овец – *Br. melitensis*, у собак – *Br. canis*. Возможна миграция бруцелл различных видов от одних животных к другим. Для человека патогенны бруцеллы всех видов, но наиболее вирулентны *Br. melitensis*.

Бруцеллы хорошо культивируются в аэробных и факультативно анаэробных условиях на МПА, МПБ при 37 °С. Оптимум pH составляет 7,2–7,4. Бруцеллы химически малоактивны, не разжижают желатин, не вырабатывают индола, не ферментируют углеводы. Сохраняются в холоде в течение нескольких месяцев, во влажной почве – 3 месяца, но погибают в течение часа при воздействии прямых солнечных лучей. При

температуре 70–75 °С гибнут в течение 5–10 минут, при кипячении – моментально. В пищевых продуктах бруцеллы могут сохраняться довольно длительное время: в охлажденном молоке – до 40 дней, в масле – до 67 дней, в брынзе – до 45 дней, в мороженом мясе – до 60 дней.

Патогенность

Бруцеллезом болеют овцы, козы, крупный рогатый скот, лошади, свиньи, олени. В естественных условиях могут заражаться верблюды, собаки, кошки, грызуны, домашние и дикие птицы. Носителями бруцеллы являются грызуны.

Диагностика

У крупного рогатого скота патологоанатомические изменения выявляются в виде фиброзного мастита и очагового нефрита. Лимфаузлы увеличены, с точечными помутнениями, с участками некроза. В печени, почках, селезенке обнаруживаются различной величины абсцессы. У овец чаще всего увеличены лимфаузлы и селезенка, наблюдаются изменения в почках и легких. У свиней бруцеллезная инфекция сопровождается перерождением мышц шеи и конечностей, катаральными и гнойными процессами в легких. У овец, коз, свиней типичны артриты плюсовых, путовых – и других суставов. В лабораториях мясокомбинатов бактериологическое исследование патологического материала на выявление бруцеллеза не проводят.

Профилактика

Мясо, полученное от бруцеллезных животных с клиническими или патологоанатомическими признаками болезни, обеззараживают проваркой. Вымя, кишки, пищеводы и мочевые пузыри утилизируют. Субпродукты используют только после проварки. Говядину, свинину, полученную от положительно реагирующих на бруцеллез по РА животных, перерабатывают на колбасы и консервы. Кровь от больных животных разрешается использовать на изготовление сухих животных кормов и технической продукции. Животных с клиническими признаками болезни содержат на мясокомбинатах в отдельных помещениях, их убой производят на санитарной бойне или отдельной партией в специально отведенный день, либо в конце смены. После окончания работы требуется тщательная специальная дезинфекция помещений, инвентаря, оборудования. Работники, допущенные к спецубою, должны иметь прививки противобруцеллезной вакцины.

ВОЗБУДИТЕЛЬ КУ-ЛИХОРАДКИ

Q-febrij (query – неясный) – инфекционное заболевание диких и сельскохозяйственных животных, протекающее чаще всего скрытно и реже с признаками подъема температуры, пневмонии, плеврита, иногда наблюдаются аборт. Болезни подвержен и человек.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудителем является *Coxiella (Rickettsia) burnetii* – риккетсии шаровидной или палочковидной формы размером 0,3–0,4 мкм. Неподвижны, грамотрицательны. Не растут на искусственных средах, хорошо размножаются в желточном мешке куриных эмбрионов, в организме лабораторных животных. Высоко устойчивы во внешней среде: в воде при комнатной температуре сохраняются свыше 5 месяцев, в моче, крови – до 6 месяцев. Низкие температуры оказывают консервирующее действие. При 60 °С на жидких средах они сохраняются в течение 2 часов, при температуре 80 °С – 30 минут, при кипячении погибают в течение 5 минут. В молоке при 4 °С выживают 2 года, в кефире, сыворотке и мясе – до 30 суток, в сыре – 25 дней.

Патогенность

К возбудителю Ку-лихорадки восприимчивы крупный рогатый скот, овцы, козы, собаки, лошади, верблюды, свиньи, домашние и дикие птицы, дикие животные. Возбудитель встречается у 53 видов клещей.

Диагностика

При исследовании туш и органов выявляют отек легких и воспалительные очаги в них, фибриозный мастит, набухание лимфатических узлов, в особенности, поверхностных паховых. Диагноз подтверждается лабораторным исследованием. Возбудителя заболевания выявляют с помощью микроскопии и биопробы.

Профилактика

Туши и неизмененные органы выпускают после проварки, органы с патологоанатомическими изменениями направляют на техническую утилизацию. Мясо от животных, положительно реагирующих на ку-лихорадку, при отсутствии клинических признаков выпускают без ограничений. Шкуры, волос, рога, копыта от больных животных выпускают после дезинфекции. Помещения дезинфицируют 3 % раствором хлорамина.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ОРНИТОЗА (ПСИТТАКОЗ)

Хламидиозная респираторная болезнь всех видов диких и домашних птиц, характеризующаяся повышением температуры тела, пневмонией, ринитом, конъюнктивитом, поражением органов пищеварения. Болезнь протекает остро и хронически. У людей болезнь протекает в виде длительной лихорадки (18–20 дней), головных болей, специфических воспалений легких. Человек заражается воздушно-капельным путем, либо через поврежденную кожу.

Возбудитель

Возбудитель болезни *Miyagawanella ornithosis* занимает промежуточное положение между риккетсиями и вирусами, относится к семейству хламид. Возбудитель орнитоза является клеточным паразитом. Возбудитель имеет овоидную или округлую форму диаметром 200–300 им. Встречаются более крупные частицы, имеющие неравномерную плотность и состоящие из рассеянных зерен. Возбудитель хорошо размножается в культурах тканей, эмбрионах, организмах белых мышей. Микроорганизм термолабилен. При температуре 60 °C погибает через 10 минут, при комнатной температуре – через 36 часов. Устойчив к высушиванию – в лиофилизированном состоянии остается активным более 18 месяцев, 0,5 % раствор фенола вызывает гибель микроорганизмов через 24–36 часов.

Патогенность

Возбудитель вызывает заболевания голубей, кур, уток, гусей, индеек, фазанов, канареек и других птиц. Чувствительны к возбудителю обезьяны, морские свинки, белые мыши, крысы.

Диагностика

При послеубойном исследовании на серозных оболочках грудобрюшной области и воздухоносных мешках отмечают помутнение, скопление экссудата, увеличение печени, которая бывает бледно-шафрановой с зеленовато-коричневыми пятнышками, мелкими очагами некроза. Наблюдается увеличение селезенки и почек, геморрагическое воспаление оболочки кишечника.

Профилактика

Тушки больной птицы обезвреживают проваркой, органы направляют на техническую утилизацию. Производят дезинфекцию помещения.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ЯЩУРА

Aphtaе еrіzootіcae – остро протекающая, контагиозная инфекционная болезнь домашних и диких парнокопытных животных, характеризующаяся лихорадкой и афтозными поражениями слизистой оболочки ротовой полости, кожи вымени и конечностей. К ящуру восприимчив и человек, особенно – дети. Заражаются ящуром при употреблении необеззараженных молочных продуктов, мяса.

Морфологические, физиолого-биохимические свойства

Возбудитель болезни – РНК-содержащий вирус. По антигенным свойствам его подразделяют на 7 серологических типов. Возбудитель по размерам довольно мелкий – 10–20 нм. Вирус хорошо адсорбируется углем, гидроокисью алюминия, каолином. Весьма неустойчив к воздействию солнечных лучей (инактивируется через 1–2 часа), быстро

погибает при нагревании, при 50 °С разрушается через 30 минут, при 60–70 °С – через 5–15 минут, при 100 °С – моментально. Вирус очень устойчив к низкой температуре. В лимфе ящурных пузырей, замороженной при температуре 15 °С вирус сохраняет свою активность в течение 2 лет. Вирус может длительно сохраняться в пищевых продуктах: в масле – 25 дней, в мороженом мясе – до 145–148 дней, в соленом мясе – до 42 дней. Вирус устойчив к воздействию спирта, эфира, формалина. Наиболее губительно действует кислая среда, а в горячем виде – 1–2 % раствор NaOH и KOH.

Патогенность

К вирусу ящура восприимчивы крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, буйволы, верблюды, олени, лоси. Устойчивы к вирусу лошади и птицы.

Диагностика

При осмотре органов и туш подозрительных животных особое внимание обращают на исследование слизистой оболочки ротовой полости, языка, сердца. При экспертизе туш свиней осматривают межкопытные щели. Различают доброкачественную (афтозную) и злокачественные формы ящура. Доброкачественная форма ящура характеризуется наличием афт и эрозий в ротовой полости, межкопытных щелях и на вымени с дальнейшим осложнением – развитием гангрены. При злокачественном ящуре афтозные поражения находятся на слизистой оболочке пищевода, гортани, трахеи, имеются мелкие кровоизлияния в области сердца, дряблость сердечной мышцы. При всех злокачественных формах мясо подлежит бактериологическому исследованию на бактерии рода *Salmonella*,

Профилактика

Мясо и продукты, полученные от убоя животных, больных и подозрительных по заболеванию ящуром, используют внутри предприятия для переработки на вареные и варено-копченые изделия, вареные кулинарные изделия или консервы. При невозможности переработки мясо обезвреживают проваркой. Кости выпускают после проварки в течение 2,5 часов. Пищеводы, кишки, мочевые пузыри, рога, копыта, волос, щетину и шкуры используют только после тщательной дезинфекции. Эндокринное сырье направляют на переработку на этом же предприятии. Отходы выпускают с предприятия после проварки. В цехе убоя и разделки туш проводят тщательную дезинфекцию.

3 Аппаратура и материалы

Весы лабораторные ВЛТЭ-500г с гирей калибровочной 500г F2, Колбонагреватель LOIP LH-150, Микроскоп Биолам С1, Микроскоп лабораторный Биомед 2У, Микроскоп медицинский, Микроскоп МикМед 1, Огнетушитель воздушно-эмульсионный ОВЭ-6(з)-АВЕ-01, Термостат суховоздушный с электронным контролем температуры, Термостат ТВ-80-1, Холодильник "Самарканд", Холодильник АТЛАНТ МХМ 1833-21, Холодильник минск -215

4 Указания по технике безопасности

Заходить и работать в микробиологической лаборатории разрешается только в чистом белом халате. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов и личных вещей. Следует соблюдать опрятность при работе, использовать дезинфицирующие среды. Во избежание заражения во время перерывов не курить и не принимать пищи. Нельзя соприкасаться металлическими и другими предметами с контактными частями электросети. Без ведома преподавателя или лаборанта запрещается включать электроприборы или аппаратуру. По окончании занятий рабочее место и оборудование приводить в порядок. Уходя из лаборатории, студент обязан обработать руки спирто-йодной смесью и тщательно их вымыть.

5 Методика и порядок выполнения работы

Для проведения работы студент должен владеть навыками работы с микроскопом, используя иммерсионную систему.

После изучения раздела «Теоретическое обоснование» следует заполнить таблицу по результатам пройденного материала. При изучении морфологических свойств возбудителей студент должен использовать готовые препараты мазков под покровным стеклом.

6 Содержание и форма отчета

Результаты работы оформляются в виде таблицы 1 и рисунков-мазков.

Таблица 1 – Характеристика зооантропонозных заболеваний

Наименование возбудителя по латыни	Свойства возбудителя			Патогенность	Диагностика	Профилактика
	морфологические	физиолого-биохимические	устойчивость			

7 Контрольные вопросы к защите лабораторной работы

1. Дать определение инфекционным заболеваниям.
2. В чем особенности протекания зооантропонозных заболеваний?
3. При каких из изучаемых Вами зооантропонозных заболеваниях не допускается убой скота и переработка мяса на мясокомбинатах и требуется их утилизация?

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
для обучающихся по организации и проведению самостоятельной по дисциплине
«Безопасность продукции и процессов производства»
для студентов направления подготовки
27.03.01 Стандартизация и метрология
Направленность (профиль): «Стандартизация, метрология и управление качеством»

Введение

В настоящее время актуальными становятся требования к личным качествам современного студента – умению самостоятельно пополнять и обновлять знания, вести самостоятельный поиск необходимого материала.

Ориентация учебного процесса на саморазвивающуюся личность делает невозможным процесс обучения без учета индивидуально-личностных особенностей обучаемых, предоставления им права выбора путей и способов обучения. Соответственно появляется новая цель образовательного процесса – воспитание компетентной личности, ориентированной на будущее, способной решать типичные проблемы и задачи исходя из учебного опыта и адекватной оценки конкретной производственной ситуации.

Решение этих задач невозможно без повышения роли самостоятельной работы студентов над учебным материалом.

Самостоятельная работа выполняет ряд функций в образовательном процессе. К ним относятся: развивающая – приобщение к творческой деятельности, повышение уровня умственного труда; воспитывающая – формирование и развитие профессиональных качеств будущего бакалавра; информационно-обучающая – самостоятельный поиск и отбор необходимой информации.

Самостоятельная работа студентов проводится с целью:

- систематизации и закрепления полученных знаний и умений студентов,
- углубления и расширения теоретических знаний,
- формирования умений использовать нормативную, правовую, справочную документацию и специальную литературу,
- формирования самостоятельности мышления, способностей к саморазвитию, самосовершенствованию и самореализации,
- развития исследовательских умений.

Самостоятельная работа студента подразделяется на внеаудиторную и аудиторную.

Внеаудиторная работа выполняется студентом по тщательно разработанному заданию преподавателя, но без его непосредственного участия.

Содержание внеаудиторной самостоятельной работы определяется программой самостоятельной работы по дисциплине.

Перед выполнением студентами внеаудиторной самостоятельной работы преподаватель проводит инструктаж по выполнению задания, который включает цель задания, его содержания, сроки выполнения, ориентировочный объем работы, основные требования к результатам работы, критерии оценки. В процессе инструктажа преподаватель предупреждает студентов о возможных типичных ошибках, встречающихся при выполнении задания. Инструктаж проводится преподавателем за счет объема времени, отведенного на изучение дисциплины.

Аудиторная работа выполняется на учебных занятиях под непосредственным руководством преподавателя и по его заданию.

Приступая к выполнению самостоятельной работы, студент должен внимательно ознакомиться с методическими рекомендациями по её выполнению.

Самостоятельная работа может осуществляться индивидуально или группами студентов, на занятиях в зависимости от цели, объема, конкретной тематики самостоятельной работы, уровня сложности, уровня умений студентов.

1. Организация и руководство внеаудиторной самостоятельной работы

Основными видами самостоятельной работы студентов без участия преподавателей являются:

- формирование и усвоение содержания конспекта лекций на базе рекомендованной лектором учебной литературы, включая информационные образовательные ресурсы (электронные учебники, электронные библиотеки и др.);
- написание рефератов;

- подготовка к семинарам, практическим и лабораторным работам, их оформление;
- составление аннотированного списка статей из соответствующих журналов по отраслям знаний (педагогических, психологических, методических и др.);
- подготовка практических разработок и рекомендаций по решению проблемной ситуации;
- выполнение домашних заданий в виде решения отдельных задач, проведения типовых расчетов, расчетно-компьютерных и индивидуальных работ по отдельным разделам содержания дисциплин и т.д.;

Критериями оценок результатов внеаудиторной самостоятельной работы студента являются:

- уровень освоения студентами учебного материала,
- умения студента использовать теоретические знания при выполнении самостоятельных работ,
- обоснованность и четкость изложения ответа.

Методические рекомендации по составлению конспекта. Конспект, план-конспект – это жанры работы с другим источником. Цель этих жанров – зафиксировать, переработать тот или иной научный текст.

Конспект представляет собой дословные выписки из текста источника. При этом конспект – это не полное переписывание чужого текста. Обычно при написании конспекта сначала прочитывается текст-источник, в нём выделяются основные положения, подбираются примеры, идёт перекомпоновка материала, а уже затем оформляется текст конспекта. Конспект может быть полным, когда работа идёт со всем текстом источника или неполным, когда интерес представляет какой-либо один или несколько вопросов, затронутых в источнике.

План-конспект представляет собой более детальную проработку источника: составляется подробный, сложный план, в котором освещаются не только основные вопросы источника, но и частные. К каждому пункту или подпункту плана подбираются и выписываются цитаты.

Часто записей в виде плана и тезисов бывает недостаточно для полноценного усвоения материала. В этом случае прибегают к конспектированию, т.е. к переработке информации за счет ее свертывания.

Конспектом называется краткое последовательное изложение содержания статьи, книги, лекции. Его основу составляют план тезисы, выписки, цитаты. Конспект в отличие от тезисов воспроизводит не только мысли оригинала, но и связь между ними, в конспекте отражается не только то, о чем говорится в работе, но и что утверждается, и как доказывается.

Существуют разнообразные виды и способы конспектирования. Одним из наиболее распространенных является, так называемый текстуальный конспект, который представляет собой последовательную запись текста книги или лекции. Такой конспект точно передает логику материала и максимум информации.

Общую последовательность действий при составлении текстуального конспекта можно определить таким образом:

1. Уяснить цели и задачи конспектирования.
2. Ознакомиться с произведением в целом: прочитать предисловие, введение, оглавление и выделить информационно значимые разделы текста.
3. Внимательно прочитать текст параграфа, главы и отметить информационно значимые места.
4. Составить конспект, для этого:
 - сделать библиографическое описание конспектируемого источника;
 - последовательно выделить в тексте тезисы и записать их с последующей аргументацией;

- написать краткое резюме – обобщить текст конспекта, выделить основное содержание проработанного материала, дать ему оценку.

Конспекты могут быть плановыми, пишутся на основе составленного плана статьи, книги. Каждому вопросу плана соответствует определенная часть конспекта.

Удобно в этом случае воспользоваться вопросным планом. В левой части страницы вы ставите проблемы, затронутые в книге в виде вопросов, а в правой части страницы даете на них ответы.

Очень удобно пользоваться схематичной записью прочитанного. Составление конспектов-схем служит не только для запоминания материала. Такая работа становится средством развития способности выделять самое главное, существенное в учебном материале, классифицировать информацию.

Схемы могут быть простыми, в которых записываются самые основные понятия без объяснений. Такая схема используется, если материал не вызывает затруднений при воспроизведении.

Действия при составлении конспекта – схемы могут быть такими:

1. Подберите факты для составления схемы.
2. Выделите среди них основные, общие понятия.
3. Определите ключевые слова, фразы, помогающие раскрыть суть основного понятия.
4. Сгруппируйте факты в логической последовательности.
5. Дайте название выделенным группам.
6. Заполните схему данными.

Те учащиеся, которые не могут положиться на свою память, должны иметь зрительную опору, которая является удобным способом проверки и запоминания информации.

Такой опорой может служить опорный конспект. Это творческий вид работы был введен в учебную деятельность Шаталовым В.Ф. известным педагогом-новатором и получил название «опорный сигнал». В опорном сигнале содержание информации «кодируется» с помощью сочетания графических символов, знаков, рисунков, ключевых слов, цифр и т.п. Такая запись учебного материала позволяет быстро и без труда его запомнить, мгновенно восстановить в памяти в нужный момент.

При любом виде конспектирования важно не забывать о том, что:

Записи полезно делить, для этого используются:

1. Подзаголовки.
2. Абзацные отступы.
3. Пробельные строки.

Всё это повышает удобочитаемость, организует запись.

При конспектировании нужно пользоваться оформительскими средствами:

1. Делать в тексте конспекта подчёркивания, а на полях тетради отчёркивания «например, вертикальные»
2. Заключать законы, основные понятия, правила и т.п. в рамки.
3. Пользоваться при записи различными цветами.
4. Писать разными шрифтами.

Методические рекомендации по выполнению презентации. Одним из актуальных и распространённых направлений внедрения использования информационных технологий в образовательный процесс учебного заведения являются мультимедийные презентационные технологии.

У термина презентация (от лат. praesento — передаю, вручаю или англ. present — представлять) два значения — широкое и узкое. В широком смысле слова презентация — это выступление, доклад, защита законченного или перспективного проекта, представление на обсуждение рабочего проекта, результатов внедрения и т.п. В узком смысле слова презентации — это электронные документы особого рода. Они отличаются

комплексным мультимедийным содержанием и особыми возможностями управления воспроизведением (может быть автоматическим или интерактивным). Далее этот термин будет использоваться в узком смысле этого слова.

Презентация наглядно отображает на экране в сжатом виде весь отобранный автором материал. Документы этого типа готовятся с помощью специальных программных средств, но при этом широко используются и традиционные универсальные средства, такие как текстовые и табличные процессоры, графические редакторы, средства обработки звуковой и видеоинформации.

Сравнение таких программных средств подготовки электронных презентаций, как Corel Presentation 9, Presentation и Microsoft PowerPoint позволило сделать выбор в пользу последнего — в силу его широкого распространения, доступности интерфейса при достаточно больших возможностях анимации предоставляемого материала, импорта различных графических приложений, видео- и звуковых материалов.

Общая характеристика основных структурных элементов презентации

Основной единицей электронной презентации в среде PowerPoint является слайд, или кадр представления информации, учитывающий эргономические требования визуального восприятия информации.

Каждая электронная презентация с одной стороны, должна быть в значительной степени автономным программным продуктом, а с другой — отвечать некоторым общим стандартам по своей внутренней структуре и форматам содержащихся в ней исходных данных (формат рисунков, дизайн таблиц и т.п.).

Обязательными структурными элементами, как правило, являются:

- обложка;
- титульный слайд;
- оглавление;
- основной материал (включая текст, схемы, таблицы, иллюстрации, графики);
- информационные ресурсы по теме.

При этом содержательное наполнение указанных слайдов может быть прокомментировано следующим образом.

Обложка должна быть по возможности красочной. Для этого следует оформить ее с помощью графических вставок и фонов. Дизайн обложки должен способствовать улучшению эмоционального состояния человека и повышать его интерес к предмету.

Титульный слайд должен включать:

- название темы;
- информацию об образовательном учреждении;
- сведения об авторе;
- дату разработки;
- информацию о местоположении информации в сети, на локальном компьютере и имя файла.

Оглавление является очень важным структурным элементом презентации. С одной стороны, оно должно быть достаточно подробным, чтобы обеспечивать оперативный доступ (через гипертекстовые ссылки) к ее сравнительно небольшим содержательным частям, с другой стороны, максимально обозримым, т.е. находиться на одном слайде. Практика показывает, что таким требованиям, как правило, удовлетворяет двухуровневое оглавление (разделы и подразделы).

Оглавление может представлять сокращенное графически-текстовое изображение содержания, помогающее понять структуру материала, идеи, заложенные в нем, и сопоставляющее отдельные фрагменты содержания презентации с некими графическими образами, способствующими ассоциативному запоминанию.

Основной материал в электронной презентации, как правило, представлен в краткой форме, что имеет достаточно веские основания для существования наряду с полным учебным материалом. Такое представление дает качественно иной ракурс для

рассмотрения содержания, что достаточно эффективно как на этапе вводных занятий по теме, так и на этапе обобщения и систематизации учебного материала.

Изложение содержания материала может осуществляться в виде текста, рисунков, таблиц, графиков и т.п. При этом графическое представление учебного материала позволяет передать необходимый объем информации при краткости его изложения.

Информационное обеспечение презентации удобно организовать в виде гипертекстовой системы, при которой фрагменты текста с элементами графики соединяются между собой с помощью специальных гиперсвязей в сеть. С помощью гиперссылок можно получить на экране дополнительную или поясняющую информацию, организовать многократное обращение к одним и тем же информационным объектам из разных мест презентации.

Каждый слайд, презентующий материал, как правило, содержит:

область отображения местоположения страницы в контенте презентации;

одно или несколько текстовых полей. Текст может включать небольшие графические вставки (формулы, графики, таблицы и т.п.);

область для размещения элементов управления на странице.

Следует выделить наиболее общие требования к средствам, формам и способам представления содержания самостоятельного материала в электронной презентации:

сжатость и краткость изложения, максимальная информативность текста;

объединение связанных информационных элементов в целостно воспринимающиеся группы;

каждому положению (каждой идее) должен быть отведен отдельный абзац текста;

основная идея абзаца должна находиться в самом начале (в первой строке абзаца).

Это связано с тем, что лучше всего запоминаются первая и последняя мысли абзаца;

предпочтительнее использование табличного (матричного) формата предъявления материала, который позволяет представить материал в компактной форме и наглядно показать связи между различными понятиями;

при проектировании характера и последовательности предъявления материала должен соблюдаться принцип стадийности: информация может разделяться в пространстве (одновременное отображение в разных зонах одного слайда) или во времени (размещение информации на последовательно демонстрируемых слайдах);

вся вербальная информация должна тщательно проверяться на отсутствие орфографических, грамматических и стилистических ошибок;

графика должна органично дополнять текст. Динамика взаимоотношений визуальных и вербальных элементов и их количество определяются функциональной направленностью материала.

При этом большие иллюстрации могут храниться в отдельном альбоме рисунков (графиков, схем, фотографий), оформляемом в виде самостоятельного модуля презентации.

2 Организация и руководство аудиторной самостоятельной работы

Аудиторная самостоятельная работа по дисциплине выполняется на учебных занятиях под непосредственным руководством преподавателя и по его заданию.

Основными видами аудиторной самостоятельной работы являются:

- выполнение лабораторных/практических работ по инструкциям;

- работа с литературой и другими источниками информации, в том числе электронными;

- само- и взаимопроверка выполненных заданий;

- решение проблемных и ситуационных задач.

Выполнение лабораторных работ осуществляется на лабораторных занятиях в соответствии с графиком учебного процесса.

Для обеспечения самостоятельной работы преподавателями разрабатываются методические указания по выполнению лабораторной работы.

Работа с литературой, другими источниками информации, в т.ч. электронными может реализовываться на семинарских занятиях. Данные источники информации могут быть представлены на бумажном и/или электронном носителях, в том числе, в сети Internet.

Преподаватель формулирует цель работы с данным источником информации, определяет время на проработку документа и форму отчетности. Само и взаимопроверка выполненных заданий чаще используется на семинарском, практическом занятии и имеет своей целью приобретение таких навыков как наблюдение, анализ ответов сокурсников, сверка собственных результатов с эталонами.

Решение проблемных и ситуационных задач используется на лекционном, семинарском, практическом и других видах занятий. Проблемная/ситуационная задача должна иметь четкую формулировку, к ней должны быть поставлены вопросы, ответы на которые необходимо найти и обосновать.

Критерии оценки правильности решения проблемной/ситуационной задачи должны быть известны всем обучающимся.

Методические рекомендации по выполнению лабораторных/практических занятий. Прежде чем приступить к выполнению лабораторного и практического занятия, необходимо: тщательно изучить содержание работы и порядок ее выполнения; повторить теоретический материал; подготовить таблицы для занесения результатов наблюдений и вычислений.

Работы выполняются в лабораториях кафедры в часы занятий по расписанию.

Лабораторные работы выполняются бригадами, обычно из 2-5 человек. В процессе работы каждый член бригады выполняет определенные обязанности. В последующих работах эти обязанности должны меняться так, чтобы каждый член бригады смог приобрести навыки по различным видам работ лабораторного исследования. При завершении работы студенты составляют письменный отчет о выполнении работы.

Требования к отчетам по лабораторным и практическим занятиям. Отчеты по лабораторным и практическим занятиям следует оформлять в тетради для каждого студента отдельно.

Отчет выполняется рукописным способом пастой синего цвета, четко и аккуратно или с применением печатающих устройств вывода ЭВМ (ПК).

Чертежи, схемы, рисунки и таблицы следует выполнять карандашом, по линейке (при ручном вычерчивании).

Ответы на контрольные вопросы прописываются в отчете и могут быть оформлены как на занятии, аудиторно, так и дома, внеаудиторно.

Отчет по каждой работе должен содержать:

- наименование работы;
- цель работы;
- основные приборы, материалы и оборудование;
- схемы (чертежи, рисунки), таблицы измерений, расчетов при необходимости;
- методы исследования;
- расчеты;
- графический материал (графики, характеристики, диаграммы) при необходимости;
- анализ полученных данных и выводы по работе;
- ответы на контрольные вопросы.

Критерии оценки:

- наличие отчета с правильно и аккуратно выполненными записями, таблицами, рисунками, чертежами, графиками, вычислениями и выводами;
- степень самостоятельности студента при выполнении работы;

- четкость проведения опыта в условиях и режимах, обеспечивающих получение результатов и выводов с наибольшей точностью;
- соблюдение требований безопасности труда;
- знание студентом ответов на контрольные вопросы.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИЗУЧЕНИЮ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Для подготовки и выполнения студентами самостоятельной работы по дисциплине «Безопасность продукции и процессов производства» разработаны соответствующие методические указания, в которых даны задания, формы отчетности, порядок их оформления и предоставления, критерии оценивания.

При изучении дисциплины «Безопасность продукции и процессов производства» предусмотрено самостоятельное изучение ряда тем.

В процессе изучения теоретического материала студент должен изучить и законспектировать ответы для собеседования, предусматривающие самостоятельное изучение.

Вопросы для проведения собеседования:

5 семестр

Тема 2. Пища как возможный носитель потенциально опасных веществ. Безопасность пищи

1. Ксенобиотики. Классификация ксенобиотиков. Основные пути загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов ксенобиотиками.
2. Базисные регламенты, применяемые для оценки безопасности пищевой продукции.
3. Основные характеристики токсичности веществ. Классификация веществ по признаку острой токсичности.
4. Варианты токсического действия ксенобиотиков. Какой принцип применяют при расчете комплексного влияния различных загрязнителей?

Тема 4. Загрязнение пищевых продуктов контаминантами химического происхождения

1. Естественные и искусственные радионуклиды. Радиоактивные изотопы йода, цезия и стронция в пищевой продукции.
2. Технологические способы снижения уровня радионуклидов в сырье и пищевых продуктах.
3. Оценить пути поступления радионуклидов в организм человека.

Тема 5. Опасности, связанные с загрязнением пищевых продуктов веществами, применяемыми в растениеводстве и животноводстве

1. Пестициды, их классификация по токсичности, стойкости и кумулятивным свойствам.
2. Нитраты, нитриты, нитрозамины.
3. Антибактериальные вещества (антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны).
4. Гормональные препараты. Транквилизаторы.
5. Антиоксиданты в пище животных. Их негативное влияние на организм человека через животноводческую продукцию.
6. Антибактериальные вещества (антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны).
7. Гормональные препараты.

6 семестр**Тема 1. Предмет и задачи микробиологии**

1. Основные пути развития микробиологии как науки. Значение работ Л. Пастера, Р.Коха и др. ученых.
2. Микробиология как наука. Ее задачи. Роль и значение микробиологии как составной части биотехнологии.
3. Понятие о микроорганизмах. Протисты. Классификация микроорганизмов. Понятие о филогенетической и искусственных классификациях.
4. Положение микроорганизмов в системе живых существ, их общие свойства.

Тема 2. Систематика и морфология микроорганизмов.

1. Строение прокариотической микробной клетки. Роль основных структурных единиц прокариотической микробной клетки.
2. Строение клеточной стенки прокариот, ее роль. Сущность окраски микроорганизмов по Граму.
3. Цитоплазматическая мембрана прокариот. Химический состав и функции. Основные функции.
4. Цитоплазма и ее органоиды. Включения клетки. Основные функции.
5. Жгутики и капсула, строение, химический состав и функции.
6. Процесс спорообразования. Свойства спор. Химический состав, функции. Фазы прорастания спор.
7. Подвижность микроорганизмов. Строение и химический состав органов движения.
8. Форма и размер бактериальной клетки. Взаимосвязь процесса деления клетки с ее будущей формой.

Тема 3 Дрожжи. Грибы. Вирусы

1. Микроскопические грибы и актиномицеты. Строение, размножение, классификация. Их значение для жизнедеятельности человека.
2. Дрожжи. Строение, размножение, классификация, техническое значение.
3. Вирусы как простейшая форма биологической жизни. Строение, размножение, классификация, свойства. Бактериофаги. Вирус иммунодефицита человека.
4. Риккетсии. Микоплазмы. Архебактерии. L-Формы бактерий. Особенности строения, болезни, вызванные данными микроорганизмами.
5. Понятие о метаболизме микроорганизмов. Автотрофы и гетеротрофы. Химический состав микроорганизмов.
6. Классификация микроорганизмов по типам питания. Классификация питательных сред. Деление микроорганизмов на сапрофиты и паразиты.
7. Динамика развития микроорганизмов в статической и динамической культуре. Фазы роста микроорганизмов.
8. Способы транспортировки питательных веществ в клетку. Состояние клетки в зависимости от давления: плазмолиз, деплазмолиз, тургор.
9. Источники азота в питании микроорганизмов. Круговорот азота в природе, роль микроорганизмов.

7 семестр**Тема 1. Государственный санитарно-эпидемиологический надзор**

1. Опишите систему органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор.
2. Назовите структуру и задачи государственной санитарно-эпидемиологической службы России.

3. В чем заключается суть предупредительного и текущего санитарного надзора в области гигиены питания?

Тема 2. Гигиеническая характеристика факторов внешней среды.

1. Опишите органолептические свойства, которым должна соответствовать питьевая вода (вкус, цвет, мутность).
2. Ознакомьтесь с СанПиН 2.1.4.1175-02. Предъявите требования, которые выдвигаются к качеству питьевой воды в местных источниках.
3. Назовите классы для подземных источников водоснабжения и методы их очистки.
4. Дайте определения методам очистки воды: отстаиванию, фильтрации, коагуляции.
5. Ознакомьтесь с требованиями к санитарной оценке почвы, руководствуясь СанПиН 2.1.7.1287-03, и дайте оценку местной почве.
6. Назовите функциональные зоны предприятий общественного питания и их назначение.
7. Какое оптимальное количество посадочных мест необходимо для пивного бара, диетической столовой, кафетерия, закусочной общего типа и ресторана?
8. Опишите набор производственных помещений. Какие из них используются при производстве кондитерских изделий с кремом и без крема?
9. Назовите особые требования, которые предъявляются к помещениям кондитерских цехов.

Критерии оценивания компетенций

Оценка «отлично» выставляется студенту, если он на высоком профессиональном уровне знает: национальные, конфессиональные и этнокультурные особенности и национальные традиции, основные принципы и нормы межкультурного взаимодействия; на высоком профессиональном уровне умеет: анализировать особенности межкультурного взаимодействия с учетом национальных, конфессиональных и этнокультурных особенностей и национальных традиций, формировать поликультурную среду для межкультурного взаимодействия при решении задач профессиональной деятельности; на высоком профессиональном уровне владеет: приемами и средствами создания поликультурной среды для межкультурного взаимодействия в ходе решения задач профессиональной деятельности.

Оценка «хорошо» выставляется студенту, если он хорошо знает: национальные, конфессиональные и этнокультурные особенности и национальные традиции, основные принципы и нормы межкультурного взаимодействия; хорошо умеет: анализировать особенности межкультурного взаимодействия с учетом национальных, конфессиональных и этнокультурных особенностей и национальных традиций, формировать поликультурную среду для межкультурного взаимодействия при решении задач профессиональной деятельности; хорошо владеет: приемами и средствами создания поликультурной среды для межкультурного взаимодействия в ходе решения задач профессиональной деятельности.

Оценка «удовлетворительно» выставляется студенту, если он удовлетворительно знает: национальные, конфессиональные и этнокультурные особенности и национальные традиции, основные принципы и нормы межкультурного взаимодействия; удовлетворительно умеет: анализировать особенности межкультурного взаимодействия с учетом национальных, конфессиональных и этнокультурных особенностей и национальных традиций, формировать поликультурную среду для межкультурного взаимодействия при решении задач профессиональной деятельности; удовлетворительно владеет: приемами и средствами создания поликультурной среды для межкультурного взаимодействия в ходе решения задач профессиональной деятельности.

Оценка «неудовлетворительно» выставляется студенту, если он неудовлетворительно знает: национальные, конфессиональные и этнокультурные особенности и национальные традиции, основные принципы и нормы межкультурного взаимодействия; неудовлетворительно умеет: анализировать особенности межкультурного взаимодействия с учетом национальных, конфессиональных и этнокультурных особенностей и национальных традиций, формировать поликультурную среду для межкультурного взаимодействия при решении задач профессиональной деятельности; неудовлетворительно владеет: приемами и средствами создания поликультурной среды для межкультурного взаимодействия в ходе решения задач профессиональной деятельности.

Перечень основной литературы

1. Позняковский, В.М. Гигиенические основы питания: качество и безопасность пищевых продуктов : учебник / В.М. Позняковский. – 5-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. – 456 с. : табл., схем. – (Питание практика технология гигиена качество безопасность). – ISBN 5-94087-777-X; 978-5-94087-777-6 ; То же [Электронный ресурс]. – URL: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=57348>
2. Бурова Т.Е. Биологическая безопасность сырья и продуктов питания. Потенциально опасные вещества биологического происхождения [Электронный ресурс] : учебное пособие / Т.Е. Бурова. – Электрон.текстовые данные. – СПб. : Университет ИТМО, Институт холода и биотехнологий, 2014. – 135 с. – 2227-8397. – Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/65799.html>
3. Гигиена и санитария общественного питания : учебное пособие / С.И. Сычик, Е.В. Федоренко, Н.Д. Коломиец и др. ; под общ.ред. С.И. Сычика, Е.В. Федоренко. - Минск : РИПО, 2017. - 136 с. : табл., ил. - Библиогр.: с. 117-119. - ISBN 978-985-503-644-0 ; То же [Электронный ресурс]. -<http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=463286>
4. Санитария и гигиена питания: учебное пособие Никитина Е.В., Китаевская С.В. Издатель: КГТУ, 2009 <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=258951&sr=1>

Перечень дополнительной литературы

1. Куприянов, А. В. Управление безопасностью и качеством пищевой продукции : учебное пособие / А. В. Куприянов, В. А. Гарельский. – Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2016. –151 с. – ISBN 978-5-7410-1418-9. – Текст : электронный // Электронно-библиотечная система IPR BOOKS : [сайт]. — URL: <http://www.iprbookshop.ru/61896.html>
2. Бурова Т.Е. Биологическая Безопасность продукции и процессов производства [Электронный ресурс] : учебно-методическое пособие / Т.Е. Бурова. — Электрон.текстовые данные. – СПб. : Университет ИТМО, 2014. – 95 с. – 2227-8397. – Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/71483.html>
3. Пищевая микробиология : учебное пособие / Е. В. Петухова, А. Ю. Крыницкая, З. Л. Канарская; М-во образ, и науки России, Казан, нац. исслед. технол. ун-т. - Казань: Изд-во КНИТУ, 2014. - 116 с. <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=428098>
4. Основы проектирования пищевых производств [Электронный ресурс]: учебное пособие / ДС. Дворецкий, С.П. Дворецкий. - Тамбов : Изд-во ФГБОУ ВПО «ТГТУ», 2013. – 352 с.http://biblioclub.ru/index.php?page=book_view_red&book_id=277681