

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
«Микробиология молочных и мясных продуктов»
для студентов направления подготовки
19.03.03 «Продукты питания животного происхождения»
Направленность (профиль): «Биоинженерия и технологии»
часть 1 (6 семестр)

Ставрополь
2026

Лабораторная работа 1

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 свежевыделенных 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 ÷ 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 сибироязвенной 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 язвой 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 ÷ 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 голубинового 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 – $36\text{--}37^\circ\text{C}$, pH $6,7\text{--}7,4$. 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, гиперемированы 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 лептоспиры 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 окологочечной 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, попарно, 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°С – через несколько секунд. Низкая температура менее губительна для листерии, чем высокая. При -5 °С 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 инъецию 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 °С 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 септицемии. 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-полевых. 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, pH 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, грамтрицательны. 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 °С 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

Arphtae erizooticae – 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	физиологические-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?

Лабораторная работа 2

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-паразитарной 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 работы

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 1см³ 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°С, 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°С МПА.

По истечении 24 ч роста при температуре 37±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.

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 грамотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 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 $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 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 $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 16 – 18 ч. При наличии характерных колоний готовят мазки, красят по Граму и ставят оксидазный тест. Наличие активной оксидазы у всех бактерий, высеченных 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^oC в течение 5 суток или при температуре 30^oC 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	К о л - в о колоний в чашке	К о л - в о 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	К о л - в о колоний в чашке Петри	К о л - в о 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 3 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 фибринозных 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 × 6 × 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 работы

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 паточек 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°C 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°C . Две пробирки с посевами прогревают при 80°C в течение 20 мин для выявления всех анаэробов. При исследовании на *CL.Botulinum* типа Е одну пробирку нагревают до 60°C в течение 15 мин (при этом сохраняются споры *CL.botulinum* типа Е), а другую – при 80°C в течение 20 мин. Остальные пробирки оставляют непрогретыми. Для выявления *Cl. botulinum* типа Е посевы выдерживают при 28°C , а для обнаружения других анаэробов – при 37°C . 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 $2 \times 1,5 \times 2,5$ 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 4

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 работы

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 обогащения (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 18–20 ч. При росте бактерий группы кишечной палочки на среде Кесслер в поплавке образуется газ.

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

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 поплавке на среде Кесслер необходимо провести высев 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 5

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, хлопуща) 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 бакобсеменности 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 работы

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

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?

3. Каковы цель и методика бактериологического исследования консервов после стерилизации?

Лабораторная работа 6

Бактериологическое исследование мяса птицы

1. Цель и содержание

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

Содержание работы:

1. Ознакомиться с действующими правилами ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса птицы и нормативной и технической документацией.
2. Изучить схему проведения бактериологического анализа мяса птицы.
3. Приготовить препараты-отпечатки из мяса птицы 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

Бактериологическое исследование мяса птицы регламентировано ГОСТом. Подготовку проб к исследованию проводят общепринятыми методами по ГОСТ 26668-85, ГОСТ 26669-85 и дополнениями по ГОСТ Р 50396.0-92. Количество МАФАНМ определяют в соответствии с ГОСТ Р 50396.1-92 и ГОСТ 7702.2.1-95. Для анализа мяса здоровой птицы от партии отбирают не менее трех тушек.

Каждую тушку упаковывают по отдельности в полиэтиленовую пленку или пергаментную бумагу, опечатывают и составляют акт с указанием наименования предприятия, вида птицы, размера партии и других данных. С момента отбора и до начала исследования образцы хранят при температуре 0...+2 С не более 24 ч.

Отбор проб от каждой тушки проводят одним из трех методов:

- вырезанием кусочков мышц из различных участков;
- смыва со всей поверхности тушки смывной стерильной водой;
- смыва с поверхности тушки тампоном.

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 работы

Метод вырезания кусочков мышц используют для выявления сальмонелл, а также для определения других микробиологических показателей тушки. Из грудной части, голени и бедра вырезают на всю глубину мышцы в равных количествах. Масса отобранной пробы должна быть 100–150 г. Всю пробу измельчают ножницами с соблюдением правил асептики, растирают в фарфоровой ступке пестиком, перемешивают и получают объединенную пробу одной тушки или полутушки. 25 г продукта используют для исследования на сальмонеллы, а 10 г продукта – для приготовления серии 10-кратных разведений для определения количества МАФАнМ.

Для оценки санитарного состояния производства используют **метод смыва со всей поверхности тушки** стерильной водой и **метод смыва тампоном**. В смывах определяют количество МАФАнМ, споры клостридий и бацилл, а также другие микроорганизмы по показаниям производства (наличие сальмонелл в смывах не определяют).

Отбор проб **методом смыва** со всей тушки проводят следующим образом: тушку массой не более 1,5 кг помещают в стерильный пакет из полимерных материалов, наливают стерильную воду в количестве, равном массе тушки (1500 мл), встряхивают содержимое пакета в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит исходным материалом, из которого готовят серию 10-кратных разведений.

Отбор проб методом смыва стерильным тампоном применим к потрошеным тушкам любой массы. Смыв осуществляют с разных участков. Общая площадь смывной поверхности тушек крупной птицы должна составлять 100 см² (по трафарету), смыв проводят 2–5 тампонами, которые помещают в колбу со 100 мл стерильной жидкости и встряхивают в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит исходным материалом для приготовления последовательных 10-кратных разведений. Расчет количества микроорганизмов проводят на 1 см² поверхности тушки.

Отбор проб потрохов и бескостного кускового мяса проводят следующим методом: от партии продукта каждого наименования отбирают точечные пробы (по 10–50 г), среднюю пробу массой не менее 150 г помещают в стерильную посуду. Измельчают, тщательно перемешивают и взвешивают навесок: 25 г для посева на сальмонеллы и 10 г для приготовления 10-кратных разведений (для приготовления первого разведения к 10 г измельченной массы добавляют 90 мл стерильной воды).

При микробиологическом исследовании мышечных желудков и кускового мяса, кроме выделения сальмонелл, рекомендуется сделать отбор проб методом смыва в полимерном пакете.

Для этого среднюю пробу продукта одного наименования массой не менее 150 г помещают в новый пакет, взвешивают и добавляют стерильную смывную воду в количестве, равном массе пробы. Встряхивают 2 мин, а 1 мл смывной жидкости используют для серии последовательных 10-кратных разведений.

Расчет количества микроорганизмов определяют в 1 г продукта или в 1 мл смывной жидкости по массе, равной массе пробы продукта. Для выделения микроорганизмов из мяса птицы, субпродуктов и полуфабрикатов используют верхний слой надосадочной жидкости, а для определения их количества используют взвесь исходного разведения.

Микробиологический анализ проводят на наличие мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ), бактерий группы кишечных палочек (БГКП), сальмонелл, сульфитредуцирующих клостридий (СРК), протей, золотистого стафилококка, микробиологические показатели по которым для птицеводческой продукции регламентированы нормативным документом.

Определение количества МАФАНМ методом смыва со всей тушки проводят следующим образом: тушку массой не более 1,5 кг помещают в стерильный пакет из полимерных материалов, наливают стерильную воду в количестве, равном массе тушки (т. е. 1500 мл), встряхивают содержимое пакета в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит **исходным материалом**, из которого готовят серию 10-кратных разведений по общепринятой методике, для определения количества МАФАНМ в 1 мл смыва. Из соответствующих разведений делают посев по 1 мл одновременно в две чашки Петри, заливают 15 мл расплавленного, охлажденного до температуры +50 С МПА с глюкозой (метод горячей заливки). Питательную среду тщательно размешивают круговыми движениями чашки по поверхности стола для равномерного распределения посевного материала и получения изолированных колоний. Чашки с посевами помещают в термостат вверх дном, чтобы предотвратить размывание выросших колоний конденсатом, образующимся на внутренней поверхности крышки и выдерживают в термостате при температуре +30 С в течение 72 ч.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно. При этом подсчитывают все выросшие колонии, учитывают чашки, в которых количество колоний составляет 30–300. По результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое значение количества колоний из всех посевов одного разведения. Количество микроорганизмов в 1 г продукта или 1 мл смывной жидкости определяют по формуле:

$$X = a \times 10^n (m + V) / m \times V,$$

где a – среднее арифметическое количество колоний в посевах; n – число 10-кратных разведений навески продукта; m – масса (объем) навески продукта (смыва), взятая для приготовления исходного разведения, г или мл; V – объем жидкости, взятый для приготовления исходного разведения навески продукта (смыва), г или мл.

Количество микроорганизмов на 1 см² поверхности продукта определяют по формуле

$$X_1 = a \times 10^n \times V/S \times V_1,$$

где S – общая площадь анализируемой поверхности, см²; V_1 – объем инокулята, внесенного в чашку Петри, мл. Результаты вычисления количества микроорганизмов в 1 г продукта (в 1 мл смыва с продукта смывной жидкостью или на 1 см² поверхности продукта при смыве тампоном) выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) от 1,0 до 9,9, умноженным на 10 ^{n} , т. е. степень разведения.

При показателе МАФАНМ более 1,0x10⁷ КОЕ/г и **при отсутствии признаков органолептической порчи** вышеперечисленные продукты не подлежат хранению в охлажденном состоянии. Их срочно отправляют на изготовление термически обработанных продуктов или заморозку.

Реализация продуктов в охлажденном состоянии возможна в течение 4–6 ч. Партию продукта с показателем МАФАНМ более 1,0x10⁷ КОЕ/г и **признаками органолептической порчи направляют на утилизацию**. В соответствии с Санитарными правилами и нормами количество МАФАНМ в 1 г охлажденного и замороженного мяса птицы не должно превышать 100 тыс. КОЕ/г.

Лабораторная работа 7

Бактериологическое исследование яиц

1 Цель и содержание

Цель работы: Ознакомиться с методикой микробиологического исследования яиц.

Содержание работы: Провести посев яиц на питательные среды, сделать вывод о качестве продукта.

2 Теоретическое обоснование

Микробиологическое исследование яиц проводят в тех случаях, когда возникает сомнение в качестве яйцепродуктов при овоскопии, а также при наличии эпизоотических показателей (полученных из хозяйств, неблагополучных по сальмонеллезу и другим инфекционным заболеваниям).

Яйцепродукты (меланж, яичный порошок) подвергают обязательному санитарному, микробиологическому контролю перед выпуском их в реализацию.

Микробиологическое исследование включает:

- определение титра кишечной палочки;
- определение присутствия сальмонелл;
- определение наличия бактерий рода *Proteus*;
- определение количественного содержания микроскопических грибов.

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 работы

5.1 Определение титра кишечной палочки

1; 0,1; 0,01; 0,001 мл яйца (по 1 мл из десятикратных соответствующих разведений) высевают в пробирки со средой Кесслер. Посевы культивируют в термостате при 43–44 °С в течение 24–48 ч. Наличие газа в поплавке свидетельствует о присутствии кишечной палочки. Учет посевов в среде Кесслер для определения бродильного титра и пересев на чашки Петри со средой Эндо проводятся по общепринятой методике.

5.2 Определение наличия сальмонелл

Из проб яиц проводится высева по 25 мл в колбы со средой обогащения Кауфмана и по 0,1 мл на поверхность среды Эндо по методу Драгильского с последующим культивированием посева при 37 °С.

5.3 Определение наличия бактерий из рода *Proteus*

Посев проводится бактериологической петлей в конденсат скошенного МПА по методу Шукевича.

5.4 Определение количества микроскопических грибов

Проводят высев по 1 мл из каждого приготовленного разведения в чашки Петри с последующей заливкой расплавленным сусло-агаром (СА) или средой Сабуро. Посевы культивируют при 25 °С в течение 4 суток.

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. Какие микробиологические показатели характеризуют качество яиц и яйцепродуктов?
2. Какие методики используют для выявления в яйце и яйцепродуктах сальмонелл, протей?
3. Что такое коли-титр, методика его определения?

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 «Микробиология молочных и мясных продуктов»
для студентов направления подготовки
19.03.03 Продукты питания животного происхождения
Направленность (профиль) «Биоинженерия и технологии»
Часть 2 (7 семестр)

Ставрополь, 2026

Наименование лабораторных работ

Темы дисци- пли- ны	Наименование тем лабораторных работ	Объем часов (астр.)	
7 семестр			
Тема 12. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ			
9	Исследование молочнокислых кокков, применяемых в производстве молочных продуктов.	3.00	
10	Исследование молочнокислых палочек, применяемых в производстве молочных продуктов.	3.00	
11	Исследование микрофлоры кефирного грибка, бифидобактерий, пропионовокислых бактерий, микрофлоры плесневых и слизневых сыров	3.00	
12	Приготовление и исследование качества заквасок	3.00	
Тема 13. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРОКИ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ			
13	Исследование микроорганизмов, вызывающих пороки молочных продуктов	3.00	
Тема 17. МИКРОБИОЛОГИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ			
14	Исследование микробиологических показателей кисломолочных продуктов	3.00	
Тема 18. МИКРОБИОЛОГИЯ СЫРА			
15	Исследование микробиологических показателей сыров	3.00	
Тема 19. МИКРОБИОЛОГИЯ МАСЛА И ВТОРИЧНОГО МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ			
16	Исследование микробиологических показателей масла	3.00	
Тема 20. МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОЧНЫХ КОНСЕРВОВ И МОРОЖЕНОГО			
17	Исследование микробиологических показателей молочных консервов	3.00	

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Для получения достоверных результатов исследований, обеспечения безопасности и получения достоверных результатов при выполнении лабораторных работ по микробиологии молока и молочных продуктов необходимо соблюдать следующие правила.

1. Каждый студент в лаборатории работает на постоянном месте, выполняя задания индивидуально. Студентам запрещается работать в лаборатории без присутствия преподавателя или лаборанта.

2. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов (в том числе портфелей и сумок).

3. В лаборатории запрещается курение и прием пищи.

4. Студент должен работать в чистом застегнутом халате, волосы должны быть подобраны под специальную шапочку или косынку.

5. Перед началом работы обязательно проверяют наличие и исправность приборов, посуды, спиртовых горелок и др. О замеченных недостатках, неисправностях сообщают преподавателю или лаборанту.

6. При работе с культурами микроорганизмов необходимо соблюдать все правила микробиологической техники. На пробирках, колбах, чашках Петри должна быть сделана надпись, содержащая название культуры, дату засева, фамилию студента и номер группы.

7. Все предметы, использованные при работе с культурами, должны быть обеззаражены либо обжиганием в пламени горелки (петли, иглы), либо погружены в дезинфицирующий раствор (предметные и покровные стекла, пипетки, шпатели).

8. В конце занятия студент должен привести в порядок рабочее место и сдать его лаборанту, вымыть руки с мылом.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 9

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ КОККОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: изучить морфологические, культуральные, биохимические свойства и методы определения молочнокислых кокков, применяемых в качестве заквасочной микрофлоры в молочной промышленности.

Теоретические положения

Микроорганизмы, применяемые в производстве молочных продуктов, относятся к технически важной микрофлоре, непосредственно участвующей в формировании состава и свойств, т.е. качественных показателей молочной продукции. В молочной промышленности чаще всего используют молочнокислые микроорганизмы, способные сбраживать лактозу молока до молочной кислоты, в составе многовидовых или многоштаммовых заквасок, устойчивых к действию бактериофага.

К основным характеристикам молочнокислых микроорганизмов относятся: морфология, тип брожения (гомо- или гетероферментативное), оптимальная температура развития, энергия кислотообразования, предельная кислотность, создаваемая культурой в молоке; органолептические свойства сгустка – консистенция, вкус, запах.

Молчнокислые кокки относятся к семейству *Streptococcaceae* и представлены 3 родами – лактококки, стрептококки, лейконостоки.

Представители рода *Lactococcus* имеют сферические или овальные клетки, располагающиеся в виде отдельных одиночных клеток, попарно или короткими цепочками. По отношению к температуре мезофилы (оптимальная температура 30°C). На плотной среде АГМ с мелом образуют мелкие каплевидные колонии с ровным краем и зонами просветления. Глубинные колонии имеют форму лодочки или зерна чечевицы.

Типовой вид – *Lac. lactis*. В молочной промышленности используют подвиды:

- *Lac. lactis subsp. lactis* (молочный лактококк), сокр. *Lac. lactis* – гомоферментативный, активный кислотообразователь, ЭК 4 – 7 ч, Кп = 120°Т;

- *Lac. lactis subsp. cremoris* (сливочный лактококк), сокр. *Lac. cremoris* – гомоферментативный, ЭК 6-8 ч, Кп = 110-115°Т;

- *Lac. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* (сокр. *Lac. diacetylactis*, ароматобразующий лактококк) образует диацетил, ацетоин и CO₂, т.е. вызывает гетероферментативное брожение; ЭК более 16 ч, К = 70-100°Т.

В молоке лактококки образуют ровный, плотный сгусток с колющейся или сметанообразной консистенцией, с приятным чистым кисломолочным вкусом и запахом. Лактококки входят в состав заквасок для кисломолочных напитков, сметаны, творога, кислосливочного масла, сыров.

В молочной промышленности используется один вид рода *Streptococcus* – *Str. thermophilus* (термофильный стрептококк). Имеет шарообразные или крупные эллипсоидные клетки, обычно в виде длинных цепочек. На плотных средах образует мелкие колонии с зернистой структурой, глубинные колонии – в виде чечевичек с выростами. В небольших количествах образует ацетоин, поэтому занимает промежуточное положение между гомо- и гетероферментативными бактериями, термофил (оптимум 40°C), энергичный кислотообразователь ЭК = 3,5 – 6 ч, Кп = 110 – 115°Т. Чувствителен к пенициллину и стрептомицину, поэтому используется как тест-культура для их определения в молоке. Образует вязкие тягучие сгустки. Входит в состав заквасок для ряженки, варенца, йогурта, мечниковской простокваши, а также используется при производстве кисломолочных напитков низкой жирности (консистенция) и творога ускоренной выработки, сыров с высокой температурой второго нагревания.

Представители рода *Leuconostoc* вызывают гетероферментативное брожение (кроме молочной кислоты образуют этанол, ацетоин, диацетил, бутиленгликоль, CO₂), мезофилы (оптимум 25 – 28 °C), слабые кислотообразователи (ЭК 2 – 3 суток или вообще

не свертывают молоко), $K_p = 50 - 80\text{ }^{\circ}\text{C}$; оптимальная температура ароматообразования – $18 - 20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Под микроскопом выглядят как сферические, иногда вытянутые клетки, располагаются парами или цепочками. На плотных средах с цитратами образуют мелкие гладкие серовато-белые колонии, рост медленный. Для молочной промышленности имеет значение вид *Leu. mesenteroides*, который включает 3 подвида:

- ✓ *Leu. mesenteroides subsp. cremoris*, кокп. *Leu. cremoris*
- ✓ *Leu. mesenteroides subsp. dextranicum*, кокп. *Leu. dextranicum*
- ✓ *Leu. mesenteroides subsp. mesenteroides*, кокп. *Leu. mesenteroides*

Лейконостоки используются для ароматообразования в производстве кисломолочного масла, сыров, реже кисломолочных напитков, сметаны, творога.

Для определения молочнокислых микроорганизмов используются различные методы. В соответствии с ГОСТ 10444.11-89 «Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов» посев для подсчета количества молочнокислых стрептококков проводят в агаризованную (агар гидролизованного молока) или жидкую питательную среду (стерилизованное обезжиренное молоко).

Из каждой пробы делают ряд последовательных разведений (до 10). Выбор разведений для посева, количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного содержания этих микроорганизмов в продукте. Для посева в агаризованную питательную среду выбирают те разведения, при посеве которых на чашках вырастает от 15 до 150 колоний. При посеве в жидкую питательную среду из трех-четырех последних разведений вносят по 1 см^3 каждого разведения в две параллельные пробирки со стерильным обезжиренным молоком.

Пробирки или чашки Петри с посевами помещают в термостат и инкубируют при температуре $(30 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ для подсчета мезофильных молочнокислых бактерий, при температуре $(40 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ для подсчета термофильных молочнокислых бактерий и при $(32 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ для совместного подсчета мезофильных и термофильных молочнокислых бактерий. Посевы инкубируют в течение 72 ч.

При использовании жидкой питательной среды наиболее вероятное число (НВЧ) микроорганизмов определяют по количеству положительных (свернувшихся) пробирок. Для подсчета количества молочнокислых бактерий отмечают три последних разведения, в которых молоко свернулось. Составляют числовую характеристику. Она состоит из трех цифр, указывающих число пробирок со свернувшимся молоком в трех последних разведениях. Первая цифра числовой характеристики соответствует тому разведению, при котором в двух пробирках молоко свернулось. Следующие цифры обозначают число пробирок со свернувшимся молоком в двух последующих разведениях. По числовой характеристике (приложение 1) находят наиболее вероятное число молочнокислых микроорганизмов, которое умножают на то разведение, с которого начинается первая цифра числовой характеристики.

При использовании плотной питательной среды каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества выросших колоний, пользуясь лупой с увеличением в 4 – 10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами. При подсчете рекомендуется использовать автоматизированные счетчики колоний. За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Определение общего количества ароматообразующих микроорганизмов основано на способности цитратсбраживающих ароматообразующих микроорганизмов при развитии их на плотных питательных средах с цитратом кальция в течение 48 – 72 ч при температуре $(30 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ образовывать зоны просветления вокруг колоний.

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Исследуйте морфологические, культуральные и биохимические свойства чистых культур молочнокислых кокков по заданию преподавателя в соответствии с

правилами проведения микробиологических исследований (приложение 1) в следующей последовательности:

- опишите размер, форму и цвет колоний микроорганизмов на элективных плотных питательных средах (АГМ, АГМ с цитратом);

- опишите особенности роста культур в жидких питательных средах, в частности, в обезжиренном молоке, отметив характер и консистенцию сгустка, определите его кислотность;

- приготовьте фиксированные препараты культур, окрасьте их метиленовой синью, просмотрите под микроскопом в нескольких полях зрения и зарисуйте наиболее характерные виды, обратив внимание на форму, размер и взаимное расположение клеток;

- приготовьте из культур препараты «раздавленная капля», просмотрите под микроскопом, зарисуйте, сделайте вывод о форме и подвижности клеток.

3. Кратко опишите основные свойства изученных видов молочнокислых микроорганизмов рядом с рисунком.

4. Опишите в тетради методы определения молочнокислых бактерий. Проведите количественный учет молочнокислых кокков разных видов методом НВЧ и методом счета колоний (по заданию преподавателя).

4. Сравните исследованные культуры и сформулируйте выводы.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: титровальная установка; счетчик колоний; на 1 рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой, пинцет, набор красителей и иммерсионное масло, спиртовка.

Реактивы и материалы – чистые культуры молочнокислых кокков (в колбах и пробирках с обезжиренным молоком, в чашках Петри в виде колоний на АГМ, АГМ с цитратом); обезжиренное молоко (по 200 см³ на каждый вид закваски), питательные среды АГМ и АГМ с цитратом, спички, 1 н раствор NaOH, 1 % спиртовой раствор фенолфталеина.

Посуда – предметные стекла, пробирки стеклянные вместимостью 10 см³ (по 1 шт. на каждый вид микроорганизма); чашки Петри, пипетки стеклянные на 10 см³ (по 1 шт. на каждое рабочее место), колбы конические вместимостью на 250 см³ (по 1 шт. на каждый вид закваски); химические стаканы вместимостью 100 см³ (по 1 шт. на каждое рабочее место).

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, зарисовки препаратов, просмотренных под микроскопом, со всеми необходимыми подписями (название культуры, тип препарата, краситель, описание морфологии клеток, описание колоний на плотных питательных средах, характера и кислотности сгустка в обезжиренном молоке, характеристика основных биохимических свойств культуры – тип брожения, предельная кислотность, энергия кислотообразования, применение в молочной отрасли); методы определения молочнокислых микроорганизмов; выводы по работе. При оформлении работы сокращения не допускаются!

Контрольные вопросы и защита работы

1. Классификация и общие свойства молочнокислых кокков.
2. Характеристика молочнокислых лактококков.
3. Характеристика молочнокислых стрептококков.
4. Характеристика молочнокислых лейконостоков.
5. Применение молочнокислых кокков в молочной промышленности.
6. Методы определения молочнокислых микроорганизмов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 10

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ ПАЛОЧЕК, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: изучить морфологические, культуральные, биохимические свойства молочнокислых палочек, применяемых в качестве заквасочной микрофлоры в молочной промышленности; научиться применять методы научных исследований при определении молочнокислых микроорганизмов в смесях.

Теоретические положения

Молочнокислые палочки относятся к семейству *Lactobacillaceae*, роду *Lactobacillus*. По морфологии это неспорообразующие палочки разной длины (от 1 до 15 мкм) и толщины (0,5 – 1 мкм); на плотных средах образуют круглые мелкие (2 – 5 мм) гладкие блестящие колонии серо-белого цвета со сферической поверхностью (S-формы), иногда – шероховатые, волокнистые (R-формы); глубинные колонии термобактерий желтовато-бурые, локонообразные или зернистые, в виде кусочков ваты и паучков.

В настоящее время известно 67 видов молочнокислых палочек, при идентификации кроме морфологических, культуральных и биохимических свойств учитывают генотипические особенности (содержание гуанина с цитозином в ДНК). Особенности метаболизма позволяют разделить лактобактерии на три группы (подрода, условно): термобактерии, стрептобактерии, бетабактерии.

Термобактерии – облигатные гомоферментативные лактобактерии. Свойства: одиночные палочки длиной около 3 – 6 мкм, иногда образуют короткие цепочки, оптимальная температура 40 – 50°C, очень активные кислотообразователи, ЭК 4 – 5 ч, К = 200 – 350 °Т.

В молочной промышленности используются следующие виды и подвиды:

- *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* (болгарская палочка, применяется в производстве йогурта, простокваши Мечниковской);
- *Lb. delbrueckii subsp. lactis* (молочная палочка, применяется в сыроделии);
- *Lb. delbrueckii subsp. delbrueckii* (палочка дельбруески, применяется в сыроделии);
- *Lb. acidophilus* (ацидофильная палочка, вырабатывает ряд антибиотиков, в т. ч. ацидофилин и лактоцидин, способна приживаться в кишечнике и подавлять развитие гнилостных микроорганизмов; используется для получения продуктов с лечебно-профилактическим действием);
- *Lb. helveticus* (швейцарская палочка, входит в состав заквасок для твердых сыров с высокой температурой второго нагревания типа швейцарского).

Стрептобактерии – факультативные гетероферментативные лактобактерии, палочки обычно тоньше и меньше, располагаются цепочками, мезофилы 30 °С, ЭК 2 – 3 суток, К = 180 °Т, относительно высокая протеолитическая активность. Используются следующие виды и подвиды:

- *Lb. plantarum* (палочка плантарум, образует антибиотик лактолин, угнетающе действует на маслянокислые бактерии, применяется для предотвращения пороков позднего вспучивания сыров);
- *Lb. casei* (сырная палочка, применяется в сыроделии, для получения продуктов с лечебно-профилактическим действием как пробиотик);
- *Lb. rhamnosus* (палочка рамнозус, применяется для получения продуктов с лечебно-профилактическим действием как пробиотик).

Бетабактерии – облигатные гетероферментативные лактобактерии; короткие палочки, мезофилы, среди палочек – самые слабые кислотообразователи, молоко не сквашивают, при добавлении факторов роста К = 120 °Т. *Lb. brevis*, *Lb. fermentum* участвуют в созревании твердых сыров с низкой температурой второго нагревания. *Lb. kefir* выделены из стромы кефирных зерен.

В состав современных заквасок входят, как правило, несколько видов молочнокислых микроорганизмов.

Задания и порядок выполнения работы (форма проведения работы - заседание научной лаборатории)

1. Проведите анализ литературы по методичке, рекомендуемым источникам и научным журналам по вопросам: свойства, применение и методы определения молочнокислых палочек вида (задание выполняется заранее по вариантам):

- *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*;
- *Lb. acidophilus*;
- *Lb. helveticus*;
- *Lb. plantarum*;
- *Lb. casei subsp casei*;
- *Lb. casei subsp rhamnosus*,

2. Постановка проблемы: в научную лабораторию поступили несколько многокомпонентных смесей молочнокислых микроорганизмов зарубежного производства, предназначенных для кисломолочных продуктов, о которых известно следующее:

- смесь № 1 предназначена для пробиотических продуктов и содержит ацидофильную палочку и палочку рамнозус;
- смесь № 2 предназначена для получения йогурта;
- смесь № 3 предназначена для получения сыра типа швейцарского (с предупреждением порока позднего вспучивания).

Необходимо определить состав микрофлоры данных смесей.

3. Зная свойства молочнокислых микроорганизмов и методы их определения, изученные в предыдущей работе, обсудите проблему и пути ее решения (метод мозговой атаки) и составьте план экспериментов, которые позволят выполнить поставленную задачу. Особое внимание обратите на разницу оптимальных температур развития, предельной кислотности и морфологических свойств культур, входящих в состав смесей.

4. Проведите необходимые разведения и посевы, инкубируйте их.

5. Исследуйте морфологические, культуральные и биохимические свойства полученных чистых культур молочнокислых палочек по заданию преподавателя в следующей последовательности:

- опишите размер, форму и цвет колоний микроорганизмов на элективных плотных питательных средах (АГМ, MRS);

- опишите особенности роста культур в жидких питательных средах, в частности, в обезжиренном молоке, отметив характер и консистенцию сгустка, определите его кислотность;

- приготовьте фиксированные препараты культур, окрасьте их метиленовой синью, просмотрите под микроскопом в нескольких полях зрения и зарисуйте наиболее характерные виды, обратив внимание на форму, размер и взаимное расположение клеток;

- приготовьте из культур препараты «раздавленная капля», просмотрите под микроскопом, зарисуйте, сделайте вывод о форме и подвижности клеток.

6. Кратко опишите основные свойства изученных видов молочнокислых микроорганизмов рядом с рисунком.

7. Проведите количественный учет разных видов молочнокислых микроорганизмов методом НВЧ и счета колоний на плотных питательных средах.

7. Сравните исследованные культуры и сформулируйте выводы о составе смесей.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: титровальная установка, счетчик колоний, микроскопы, штативы с бактериологической петлей, бактериологической иглой, пинцет, набор красителей и иммерсионное масло, спиртовка.

Реактивы и материалы – чистые культуры молочнокислых палочек (в колбах и пробирках с обезжиренным молоком, колонии на АГМ и MRS); обезжиренное молоко (по

200 см³ на каждый вид закваски), питательные среды АГМ, MRS, спички, 1 н раствор NaOH, 1 % спиртовой раствор фенолфталеина.

Посуда – предметные стекла, пробирки стеклянные вместимостью 10 см³ (по 1 шт. на каждый вид микроорганизма); чашки Петри, пипетки стеклянные на 10 см³ (по 1 шт. на каждое рабочее место), колбы конические вместимостью на 250 см³ (по 1 шт. на каждый вид закваски); химические стаканы вместимостью 100 см³ (по 1 шт. на каждое рабочее место).

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, описание эксперимента, схемы посевов, зарисовки препаратов, просмотренных под микроскопом, со всеми необходимыми подписями (название культуры, тип препарата, краситель, описание морфологии клеток, описание колоний на плотных питательных средах, характера и кислотности сгустка в обезжиренном молоке, характеристика основных биохимических свойств культуры – тип брожения, предельная кислотность, энергия кислотообразования, применение в молочной отрасли); выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Классификация и общие свойства молочнокислых палочек.
2. Характеристика термобактерий.
3. Характеристика стрептобактерий.
4. Характеристика бетабактерий.
5. Применение молочнокислых палочек в молочной промышленности.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 11 ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ КЕФИРНОГО ГРИБКА, БИФИДОБАКТЕРИЙ, ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, МИКРОФЛОРЫ ПЛЕСНЕВЫХ И СЛИЗНЕВЫХ СЫРОВ

Цель работы: изучить свойства микрофлоры кефирного грибка, бифидобактерий, пропионовокислых бактерий, микрофлоры плесневых и слизневых сыров.

Теоретические положения

Кефирные грибки представляют собой прочное симбиотическое образование. Они имеют всегда определенную структуру и ведут себя биологически как живой организм: они растут, делятся и передают свои свойства и структуру последующим поколениям. Живые кефирные грибки имеют неправильную форму, сильно складчатую или бугроватую поверхность; консистенция их упругая, мягко-хрящеватая; размеры их могут колебаться от 1 – 2 мм до 3 – 6 см.

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению микрофлоры и свойств кефирного грибка, природа его до сих пор остается неизвестной. Дело в том, что, используя различные питательные среды и методы, удалось выделить из кефирного грибка ряд микроорганизмов, но никому не удалось из смеси отдельных микроорганизмов получить новый кефирный грибок с присущими этому организму структурой и свойствами. По-видимому, некоторые микроорганизмы кефирного грибка настолько зависят от других видов, что не могут существовать самостоятельно, и их очень трудно выделить в виде чистых культур.

В настоящее время доказано, что в состав кефирного грибка входят: мезофильные молочнокислые лактококки (*Lac. lactis*, *Lac. cremoris*), ароматообразующие стрептококки (*Leu. dextranicum*), мезофильные и термофильные молочнокислые палочки (незначительное количество, в строме грибка *Lb. kefir*), дрожжи разных видов, уксуснокислые бактерии.

Уксуснокислые (ацетобактерии) окисляют этиловый спирт в уксусную кислоту; принадлежат к роду *Acetobacter*, виду *Ac. aceti* – мелкие прямые или слегка изогнутые палочки, подвижные, перитрихи, грам- или грамвариабельные, неспорообразующие, располагаются по одной, в парах, короткие цепочки, строгие аэробы, мезофилы, любят кислую среду. Широко распространены в природе, на фруктах и овощах, в скисших фруктовых соках, уксусе, алкогольных напитках. В молоке в чистой культуре не развиваются (лактозу не усваивают). Формируют специфический вкус и запах кефира, в других продуктах вызывают пороки (ослизнение, привкус уксусной кислоты).

Дрожжи входят в состав кефирного грибка и заквасок для кумыса, айрана. Идентифицированы разные виды дрожжей, сбраживающих лактозу: спорообразующие *Saccharomyces lactis*, *Fabospora fragilis*, неспорообразующие *Torulopsis kefir*, *Candida lactis*. Клетки овальные, от 2 до 16 мкм, неподвижные, грам+, капсул не образуют; факультативные анаэробы, оптимальная температура 25 – 30 °С, предпочитают кислую среду. Формируют вкус и запах кисломолочных напитков, витаминизируют их. Известно применение дрожжей в маслоделии для подавления посторонней микрофлоры, в слизневых сырах формируют поверхностную слизь (*Candida mycoderma*). Методы определения дрожжей будут изучены в ходе лабораторной работы №4.

Бифидобактерии по современной номенклатуре относятся к семейству *Bifidobacteriaceae*, роду *Bifidobacterium* (от лат. *bifidus* – раздвоенный). В настоящее время идентифицировано 24 вида бифидобактерий. Наиболее изученные виды: *B.bifidum* (типовой), *B.adolescentis*, *B.longum*, *B.breve*, *B.infantis*. По морфологии это чрезвычайно вариабельные по форме палочки – прямые, изогнутые, разветвленные, Y и V – образной, булавововидной и лопатовидной формы. Грам+, не образуют спор и капсул, неподвижные. Строгие анаэробы, но некоторые виды могут развиваться в присутствии небольших количеств кислорода. Оптимальная температура (36 , 38) °С (минимум 20 °С, максимум 50 °С), оптимальный уровень pH = 6 – 7 (при pH меньше 5,5 рост прекращается).

Бифидобактерии сбраживают углеводы с образованием уксусной и молочной кислоты в соотношении 3 : 2, молоко сквашивают через 4 и более суток, при внесении ростовых веществ – через 24 – 36 ч, K = 120 – 130 °Т. Для культивирования требуют большого количества ростовых веществ (дрожжевого автолизата, витаминов, моно- и олигосахаридов, цистеина и др. Элективные среды – Блаурока (печеночно-цистеиновая), кукурузно-гидролизатная (ГМК).

Бифидобактерии – это представители нормальной (эубиотической) микрофлоры человека, защищают кишечник от гнилостной и патогенной микрофлоры, также осуществляют синтез витаминов, аминокислот, бактерицидных веществ; относятся к группе пробиотиков.

Определение количества бифидобактерий основано на их способности размножаться в анаэробных условиях в плотных и полужидких питательных средах при температуре (37 ± 1) °С с образованием типичных колоний. Перед проведением анализа элективную среду, разлитую высоким столбиком, нагревают в кипящей водяной бане до полного расплавления агара и выдерживают в кипящей водяной бане в течение (25 ± 5) мин для снижения в ней растворенного кислорода.

При определении бифидобактерий в смешанных с молочнокислыми бактериями культурах перед расплавлением в среду вносят стерильный раствор неомицина или диклоксациллина. После расплавления среды пробирки охлаждают в водяной бане до температуры (45 ± 2) °С.

Готовят разведения продукта или бакконцентрата с 1 по 9. Затем из трех-четырех последних разведений берут пипеткой по 1 см³ и вносят в пробирки со средой. Пипетка с отобранным разведением опускается на дно пробирки, а затем медленно поднимается вращательным движением, таким образом, чтобы тщательно перемешать разведение со

средой, не допустить попадание воздуха и ограничить пристеночный рост. Проводят два параллельных определения.

Посевы выдерживают в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 2 – 3 сут, в случае определения бифидобактерий в смешанных с молочнокислыми бактериями культурах – 3 – 5 сут. По окончании инкубирования учитывают последние пробирки, в которых выросли типичные для бифидобактерий колонии: в плотных средах – в виде крупных «дисков» или «гречишных зерен», в полужидких средах – в виде «гвоздиков», «вытянутых веретен», иногда в виде «полос», расположенных вдоль пробирки. Отмечают разведение и подсчитывают количество выросших колоний. Затем проводят пересчет на 1 см^3 (г) продукта и рассчитывают среднее по нескольким разведениям.

Подтверждение принадлежности образовавшихся типичных колоний к бифидобактериям проводят методом микроскопирования. Из типичных колоний последнего разведения готовят мазки, окрашенные метиленовым голубым. При приготовлении микропрепарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю стерильной воды или физраствора и исследуемый материал, взятый с колонии. Материал тщательно размешивают и распределяют на площади около 1 см^2 . Препарат высушивают при комнатной температуре, фиксируют в пламени горелки и красят метиленовым голубым. Бифидобактерии в препаратах имеют вид тонких, мелкозернистых, слегка изогнутых палочек с утолщениями на концах или без них; располагаются группами, в виде римских пятерок (V), скоплениями в виде китайских иероглифов, и могут образовывать короткие цепочки.

Пропионовокислые бактерии, использующиеся в сыроделии, относятся к семейству *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*. Применяются виды: *P. shermanii*, *P. freudenreichii* (при производстве твердых сыров с длительными сроками созревания). Мелкие, неподвижные, не образующие спор и капсул, грам+ полиморфные палочки, факультативные анаэробы, сбраживают молочную кислоту в уксусную, пропионовую кислоты и CO_2 , вырабатывают витамин B_{12} , участвуют в формировании вкуса и рисунка сыров (крупные глазки). В молоке развиваются медленно, ЭК = 5 – 7 дней, К = 160 – 170.

Определение пропионовокислых бактерий основано на подсчете колоний пропионовокислых бактерий, вырастающих в высоком столбике элективной плотной питательной среды при $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5 – 7 сут. По окончании инкубирования учитывают последние пробирки, в которых выросли типичные для пропионовокислых бактерий колонии – в виде крупных «дисков» или «гречишных зерен» обычно светло-кремового цвета. Колонии могут быть белыми, серыми, розовыми, красными, желтыми или оранжевыми. Отмечают разведение и подсчитывают количество выросших колоний.

Подтверждение принадлежности образовавшихся типичных колоний к пропионовокислым бактериям проводят методом микроскопирования и пробой на каталазу. Пропионовокислые бактерии в препаратах имеют вид дифтероидных или булавовидных палочек с одним округленным концом, другой конец может быть конусообразным или заостренным, окрашивающимся менее интенсивно. Клетки некоторых культур могут быть кокковидными, удлиненными, раздвоенными и даже разветвленными. Клетки обычно располагаются поодиночке, парами, в виде букв V и Y, короткими цепочками или группами в виде «китайских иероглифов».

Пропионовокислые бактерии являются каталазоположительными. Определение каталазной активности микроорганизмов, выросших на плотных питательных средах, проводят следующим образом. На колонию микроорганизмов, взятую с поверхности питательной среды или извлеченную из нее и помещенную на предметное стекло, после выдержки на воздухе в течение 30 мин пипеткой наносят каплю 3 % раствора перекиси водорода. При появлении на стекле пузырьков газа через 30 – 60 с считают, что они образовались в результате разложения перекиси водорода каталазой, образуемой микроорганизмами.

Плесени, используемые в сыроделии, обладают высокой протеолитической и липолитической активностью, участвуют в формировании органолептических особенностей сыров. *Penicillium camamberti* используется в производстве сыров с развитием плесени на поверхности, имеет мицелий белого цвета, ингибирует рост токсинообразующих плесеней; *Pen. roqueforti* развивается по всей массе сыра, образует мицелий зеленого цвета.

Слизеобразующая палочка *Brevibacterium linens* участвует в созревании слизовых сыров, протеолитически и липолитически активна, вырабатывает красный пигмент. По морфологии это грам+ палочки неправильной формы, мелкие, часто располагаются V-образно, спор не образуют, неподвижные, аэробы; не любят кислую среду, поэтому развиваются после того, как дрожжи и плесени раскислят поверхность сыра.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: на 1 рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой, пинцет, набор красителей и масло, спиртовка.

Реактивы и материалы – кефирный грибок и его расплав в сыворотке, кефирная закваска; чистая культура бифидобактерий (в среде ГМК или Блаурока); культуры пропионовокислых бактерий, плесеней и сырной слизи, используемых в сыроделии; питательные среды ГМК-1 (или Блаурока), ГМК-2 (для активизации бифидобактерий), спички.

Посуда – предметные стекла, предметные стекла с лункой, покровные стекла, пробирки с питательными средами, чашки Петри.

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Исследуйте симбиотическую микрофлору кефирного грибка в следующей последовательности:

- зарисуйте и опишите свойства симбиотического образования – кефирного грибка (размер, форму, цвет, консистенцию);

- приготовьте фиксированные препараты свежей кефирной закваски, старой кефирной закваски с преобладанием дрожжей и уксуснокислых бактерий и расплава кефирного грибка в сыворотке; просмотрите их под микроскопом и зарисуйте, обратив особое внимание на соотношение молочнокислых лактококков (*Lac. lactis spp.*), уксуснокислых бактерий (*Acetobacter aceti*), дрожжей разных видов (*Saccharomyces lactis*, *Torulopsis kefir*) и палочек, образующих строуму кефирного грибка (*Lb. kefir*).

3. Исследуйте свойства бифидобактерий *B.bifidum* или *B.adolescentis* в следующей последовательности:

- зарисуйте и опишите колонии бифидобактерий в полужидкой среде ГМК или Блаурока (размер, форму, цвет, расположение в пробирке);

- приготовьте из колоний фиксированные мазки, окрасьте их методом простой окраски и по Граму, просмотрите под микроскопом и зарисуйте препараты, сделайте вывод о морфологических и тинкториальных свойствах.

4. Исследуйте свойства пропионовокислых бактерий (*Propionibacterium shermanii*), плесневых грибов (*Penicillium roqueforti*, *Pen. camamberti*) и микрофлоры сырной слизи, в т. ч. дрожжей рода *Mycoderma* и пигментной слизеобразующей палочки *Brevibacterium linens*, применяемых в производстве некоторых видов сыров, в следующей последовательности:

- опишите колонии этих микроорганизмов на плотных питательных средах (форму, размер, цвет, характер края);

- приготовьте фиксированные препараты пропионовокислых и бревибактерий, окрасьте их методом простой окраски и по Граму, просмотрите их под микроскопом и зарисуйте в тетради, сделав вывод о морфологических и тинкториальных свойствах микроорганизмов;

- приготовьте препараты «раздавленная капля» из колоний плесеней и микрофлоры сырной слизи, просмотрите их под микроскопом и зарисуйте, обратив особое внимание на характер и толщину мицелия, вид спороносных органов и спор плесеней, форму и размер дрожжей.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, зарисовки препаратов, просмотренных под микроскопом, со всеми необходимыми подписями (название культуры, тип препарата, краситель, описание морфологии клеток, характеристика свойств культуры, применение в молочной отрасли); методы определения бифидобактерий, пропионовокислых бактерий; выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Состав и свойства симбиотической микрофлоры кефирного грибка.
2. Взаимоотношения между микроорганизмами кефирного грибка и их роль в формировании качества кефира.
3. Характеристика дрожжей, применяемых в производстве молочных продуктов.
4. Характеристика морфологических, культуральных и биохимических свойств бифидобактерий. Роль бифидобактерий в организме человека, проблемы и перспективы их использования в молочной промышленности.
5. Характеристика микроорганизмов, использующихся в сыроделии: пропионовокислых бактерий, плесеней, слизиобразующей микрофлоры.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 12 ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ КАЧЕСТВА ЗАКВАСОК ДЛЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: изучить этапы приготовления и требования к качеству разных видов заквасок, освоить методики их микробиологического исследования.

Теоретические положения

Закваски – это культуры микроорганизмов, которые используют при изготовлении молочных продуктов (кисломолочных напитков, творога, сметаны, сыров, кисломолочного масла).

Закваски могут включать культуры одного вида (одноштаммовые, многоштаммовые), а также смешанные культуры разных видов, т. е. их комбинации. В молочной промышленности чаще всего используют смешанные культуры, включающие активные кислотообразователи (молочный и сливочный лактококки) и ароматообразующие микроорганизмы (биовариант, образующий диацетил, лейконостоки); в йогуртах – смешанные культуры (термофильный стрептококк и болгарская палочка).

По форме (консистенции) закваски бывают жидкие, замороженные, сухие. По концентрации клеток: обычные ($10^6 - 10^9$ кл/г), бакконцентраты и бакпрепараты сухие или замороженные ($10^8 - 10^{10}$ кл/г) для приготовления закваски беспересадочным способом, используются после активизации; закваски прямого внесения ($10^{11} - 10^{12}$ кл/г), для непосредственного внесения в нормализованную смесь.

Молоко, используемое для получения заквасок, должно быть высокого качества по всем показателям, ингибиторы должны отсутствовать. Предпочтительно использовать не цельное, а обезжиренное молоко. Тепловая обработка молока проводится путем стерилизации (для лабораторной закваски, при $121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10–30 мин в зависимости от емкости тары, проверяют на стерильность путем термостатирования при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3 суток) или пастеризации ($90 - 95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20–30 мин).

После тепловой обработки молоко охлаждают до температуры заквашивания. Флаконы с заквасками вскрывают с соблюдением правил стерильности непосредственно перед употреблением и полностью используют, соблюдают сроки хранения.

Бакконцентраты и сухие закваски растворяют в стерильном молоке или физрастворе, активизируют – вносят в 1 дм³ пастеризованного молока и термостатируют 2 – 3 ч.

Кефирные грибки восстанавливают, вносят в пастеризованное обезжиренное молоко 1 : 40 на 20 – 24 ч, готовят грибковую закваску, отделяют ее от грибков, готовят производственную закваску, 3 – 5 % вносят в нормализованную смесь.

Контроль качества заквасок

Требования к микробиологическим показателям заквасок нормируются Федеральным законом «Технический регламент на молоко и молочную продукцию»:

- в заквасках для кефира симбиотических жидких БГКП должны отсутствовать в 3 см³, *S. aureus* в 10 мл, патогенные, в том числе сальмонеллы – в 100 см³, плесени не более 5 КОЕ/г;
- в жидких заквасках из чистых культур для производства кисломолочных продуктов, кислосливочного масла и сыров общее количество молочнокислых микроорганизмов (ОКММ) – не менее $1 \cdot 10^8$ КОЕ/г, БГКП не допускаются в 10 см³, *S. aureus* в 10 см³, патогенные, в том числе сальмонеллы – в 100 см³, плесени и дрожжи не более 5 КОЕ/г;
- в сухих заквасках ОКММ – не менее $1 \cdot 10^9$ КОЕ/г, БГКП не допускаются в 1 г, *S. aureus* в 1 г, патогенные, в том числе сальмонеллы – в 10 г, плесени и дрожжи не более 5 КОЕ/г.

Лабораторная и производственная закваски на стерилизованном молоке проверяются на активность (предельная кислотность и продолжительность свертывания молока) и на постороннюю микрофлору (препарат, просмотр не менее 10 полей зрения). Производственная закваска контролируется по продолжительности сквашивания, ч; титруемой кислотности, °Т; активной кислотности, газообразующей и ароматообразующей активности; микроскопическому препарату; проводится также органолептическая оценка: вкус, цвет, запах, характер сгустка (приложение 5).

Кефирную закваску контролируют по кислотности, БГКП и препарату, при возникновении пороков продукта проводится дополнительное исследование на соотношение микрофлоры. Состав микрофлоры смешанных заквасок контролируется методом предельных разведений.

Закваски анализируют на продуцирование ароматообразующих веществ по креатиновой пробе (розовое окрашивание с КОН и креатином), на наличие CO₂ – нагреванием закваски в пробирке до 90°С. Отмечают уровень, при наличии CO₂ обнаруживается подъем сгустка на 0,6 – 5 см.

При подозрении на бактериофаг проводят условный тест: посев на стерильное обезжиренное молоко с метиленовым синим, если после обесцвечивания через 4 – 5 ч вновь наблюдается посинение, вероятно развитие бактериофага.

Контроль сухих заквасок включает осмотр упаковки, определение количества живых клеток и их активности, наличия посторонней микрофлоры, в т. ч. дрожжей и плесеней, определение влажности (должна быть менее 10 %).

Конкретные значения контролируемых показателей должны соответствовать требованиям технических документов на используемую закваску и питательную среду.

При возникновении необходимости количественной оценки содержания ароматообразующих микроорганизмов в закваске проводят анализ методом посева на цитратсодержащие среды (методика описана в лабораторной работе №1).

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Изучите требования к молоку для приготовления заквасок, запишите их в тетради. Исследуйте образцы молока на эффективность пастеризации, оформите результаты, полученные в подгруппе, и сделайте вывод.
3. Ознакомьтесь с разными видами заквасок. Обратите внимание на условные обозначения, принятые для отечественных и зарубежных заквасок разных составов,

маркировку, характеристику и нормативные требования к качественным показателям.

4. Приготовьте лабораторную закваску по заданию преподавателя, оцените ее активность и качество по всем показателям.

5. Оформите результаты исследований в тетради, сделайте вывод.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: титровальная установка, рН-метр; на одно рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой.

Реактивы и материалы – образцы заквасок разных видов, молоко стерилизованное и пастеризованное 1 дм³, среда Кесслер, стерильное обезжиренное молоко с метиленой синью, 0,1 н NaOH, 1 % раствор фенолфталеина, стерильная вода, красители, спиртовка.

Посуда – предметные стекла, пробирки вместимостью 10 см³, конические колбы вместимостью 250 см³ и 100 см³, пипетки на 10 см³.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, требования и методы определения к качеству заквасок; результаты собственных исследований закваски, выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Факторы, учитываемые при подборе культур для заквасок.
2. Этапы выделения чистых культур молочнокислых микроорганизмов.
3. Схема выделения чистых культур мезофильных молочнокислых лактококков.
4. Схема выделения чистых культур термофильных стрептококков.
5. Схема выделения чистых культур ароматообразующих молочнокислых микроорганизмов.
6. Схема выделения чистых культур термофильных молочнокислых палочек.
7. Классификация заквасок.
8. Преимущества и перспективы использования заквасок прямого внесения.
9. Общие правила работы с заквасками на предприятии.
10. Этапы приготовления заквасок на предприятии.
11. Микробиологический контроль качества заквасок. Пороки заквасок.
12. Современные способы совершенствования качества заквасок.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 13 ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРОКИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: изучить свойства, методы выявления и предупреждения развития микроорганизмов, вызывающих пороки молочных продуктов.

Теоретические положения

Молоко и молочные продукты являются благоприятной средой для развития разных групп микроорганизмов, способных разлагать углеводные, белковые и жировые компоненты молока и вызывать порчу, формируя разнообразные пороки и снижая качество молочных продуктов.

К основным источникам обсеменения молока и молочных продуктов посторонней микрофлорой относятся:

- кожа коровы, доильное оборудование, корма, воздух и вода фермы, тара транспортировки молока на предприятие;
- оборудование, воздух и вода молокоперерабатывающего предприятия, тара и упаковочные материалы;

- добавки, используемые в производстве.

Наиболее часто встречающиеся возбудители порчи (пороков) молочной продукции условно могут быть разделены на несколько групп:

- ✓ микрофлора заквасок, нехарактерная для данного вида продукции;
- ✓ гнилостные, протеолитические микроорганизмы, способные разлагать белки молока, свертывая их с отделением сыворотки (пептонизируя) или полностью разлагая до растворимых компонентов (протеолиз);
- ✓ маслянокислые бактерии, вызывающие порок позднего вспучивания сыров;
- ✓ плесени, вызывающие разнообразные пороки консистенции, запаха и вкуса, связанные с разложением белка и жира;
- ✓ дрожжи, вызывающие пороки вспучивания, дрожжевого запаха и вкуса;
- ✓ термоустойчивые молочнокислые палочки, вызывающие порок перекисания продуктов;
- ✓ бактериофаги, вызывающие пороки несквашивания, отсутствия аромата, развития посторонней микрофлоры.

Количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих (маслянокислых) бактерий определяют методом предельных разведений. Разведения (0, 1, 2) исследуемых проб прогревают при 75 °С 30 мин и засевают в лактатно-ацетатную селективную среду (ЛАССА). После застывания питательной среды ее поверхность заливают слоем водного агара высотой 15 – 20 мм. Посевы термостатируют при 37 °С в течение 3 суток. Рост маслянокислых бактерий определяют по образованию разрывов столбика агара и изменению цвета среды с красного до соломенно-желтого. Количественный учет проводят по специальным таблицам. Маслянокислые бактерии должны отсутствовать в 1 см³ пастеризованного молока.

Метод определения дрожжей и плесневых грибов основан на высеве продукта или гомогената продукта и (или) их разведений в питательные среды (среда Сабуро, среда агаровая для определения дрожжей и плесеней), определении принадлежности выделенных микроорганизмов к плесневым грибам и дрожжам по характерному росту на питательных средах и по морфологии клеток.

Для определения количества дрожжей и плесневых грибов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает от 15 до 150 колоний дрожжей и (или) от 5 до 50 колоний плесневых грибов.

Из каждой пробы делают посев по 1 см³ продукта или его соответствующих разведений на 2 – 3 чашки Петри. В каждую чашку с заранее промаркированной крышкой добавляют не позднее чем через 15 мин (14 ± 1) см³ питательной среды, охлажденной до (45 ± 1) °С, содержимое чашки Петри немедленно тщательно перемешивают и оставляют на горизонтальной поверхности до застывания питательной среды.

После застывания сред чашки Петри переворачивают вверх дном и ставят в таком виде в термостат с температурой (24 ± 1) °С на 5 сут. Через 3 сут термостатирования проводят подсчет типичных колоний, а через 5 сут окончательный подсчет, наблюдая за ростом дрожжей и плесневых грибов визуально, а при необходимости проводят микроскопирование выросших колоний.

Колонии дрожжей на агаровых средах образуют выпуклые, блестящие серовато-белые колонии с гладкой поверхностью и ровным краем. В среде агаровой для определения дрожжей и плесневых грибов дрожжи могут образовывать глубинные колонии белого цвета звездообразной формы с четким краем.

Плесневые грибы имеют различную окраску и образуют на питательных средах пушистый мицелий. При необходимости проводят микроскопические исследования. Препараты готовят способом раздавленной капли и/или способом фиксирования и окрашивания. Результаты микроскопирования оценивают, пользуясь характеристикой дрожжей и плесневых грибов. Дрожжи – это крупные одноклеточные микроорганизмы, имеющие клетки круглой, овальной или продолговатой формы, длиной от 2,5 до 30 мкм.

Плесени состоят из нитей-гифов, без перегородок или септированных, которые образуют боковые выросты и разветвления, от вегетативных гифов поднимаются гифы, несущие плодовые тела.

Результаты обрабатывают и пересчитывают отдельно для дрожжей и плесневых грибов.

Для определения дрожжей и плесеней также могут использоваться микробитесты и Петри-фильмы, которые представляют собой тонкие пленки питательных сред, которые перед посевом смачиваются водой.

Метод выявления термоустойчивых микроорганизмов (молочнокислых палочек) в пастеризованном молоке или сливках основан на способности термостойких молочнокислых палочек развиваться в молоке при температуре $(42 \pm 2)^\circ\text{C}$ с образованием сгустка. Готовят разведения исследуемого образца пастеризованного молока или сливок в стерильном растворе хлористого натрия или стерильной воды. Полученные разведения засевают в стерильное обезжиренное молоко по 1 см^3 (до 6 разведения). Посевы выдерживают при температуре $(42 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 72 ч. Полученные сгустки микроскопируют и устанавливают наличие в них палочек.

Метод индикации бактериофагов с использованием индикаторных чашек Петри основан на посеве исследуемой пробы на плотную питательную среду с индикаторными культурами, культивировании посевов при оптимальной для размножения тест-культур температуре и учете негативных колоний (участков отсутствия видимого роста тест-культур на сплошном бактериальном газоне).

При проведении испытаний методом «стекающей капли» на поверхность подготовленных индикаторных чашек Петри (с заранее посеянными и выращенными культурами молочнокислых микроорганизмов) с помощью пипетки наносят каплю исходной пробы. Наклоняют чашку так, чтобы капля стекла к противоположному краю. Чашку Петри помещают в термостат и выдерживают при режимах, приведенных в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Режимы культивирования посевов при индикации бактериофагов

Тест-культуры	Температура выдержки посева, $^\circ\text{C}$	Продолжительность выдержки посева, ч
Лактококки	30 ± 1	21 ± 3
Лейконостоки	28 ± 2	40 ± 8
Мезофильные молочнокислые палочки	32 ± 2	36 ± 6
Термофильные молочнокислые палочки	42 ± 2	24 ± 4
Термофильный	42 ± 2	24 ± 6

При наличии в пробе бактериофагов, способных лизировать тест-культуры, на месте стекания капли формируются, в зависимости от количества фаговых частиц в пробе, либо сплошная зона лизиса тест-культуры, либо отдельные негативные колонии (точечный лизис).

Для ориентировочной оценки вероятного количества фагов в исследуемой пробе оценивают характер лизиса тест-культуры в «стекающей капле»:

✓ не обнаружено видимого лизиса и негативных колоний – бактериофаг, способный лизировать тест-культуру, либо отсутствует в исследуемой пробе, либо его количество менее 1 фаговой частицы в 1 см^3 пробы;

✓ в «стекающей капле» пробы содержится до 10 негативных колоний – титр бактериофагов в пробе составляет $10^3 - 10^4$;

✓ в «стекающей капле» формируется зона сплошного лизиса – вероятный титр бактериофагов в пробе 10^6 и более.

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Исследуйте морфологические и культуральные свойства следующих микроорганизмов, вызывающих наиболее распространенные пороки молочных продуктов:
 - аэробных спорообразующих палочек рода *Bacillus* (на примере *B. subtilis* или *B. mesentericus* – возбудителей пороков вкуса, запаха и консистенции, связанных с разложением белка);
 - анаэробных спорообразующих палочек (*Clostridium butyricum* – возбудитель маслянокислого брожения и пороков позднего вспучивания сыров);
 - неспорообразующих палочек, вызывающих пороки консистенции, вкуса и запаха, связанные с разложением белка и жира *Pseudomonas fluorescens* (флюоресцирующая палочка);
 - термоустойчивой молочнокислой палочки, вызывающей порок перекисания;
 - плесеней, вызывающих пороки консистенции, вкуса и запаха, связанные с разложением белка и жира: *Geothrichum lactis* (молочная плесень), представителей родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Catenularia*, *Cladosporium*;
 - дрожжей, вызывающих пороки вспучивания, дрожжевого привкуса и запаха, цвета и консистенции, связанных с брожением лактозы и образованием пигментов: *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces lactis*; *Rhodotorula rubra*.

По заданию преподавателя опишите особенности роста чистых культур микроорганизмов на элективных средах; приготовьте, просмотрите под микроскопом и зарисуйте препараты «раздавленная капля» и фиксированные препараты, окрашенные простой окраской и окраской по Граму, сделайте вывод о морфологических и тинкториальных свойствах изученных микроорганизмов.

3. Изучите по альбомам и зарисуйте морфологию типичных для молочной промышленности бактериофагов.
4. Изучите и кратко опишите в тетради методы определения маслянокислых бактерий, дрожжей и плесеней, термоустойчивой палочки, бактериофагов.
5. Проведите количественный учет возбудителей пороков молочных продуктов по заданию преподавателя.
6. Сформулируйте выводы по работе.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: на одно рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой, пинцет, набор красителей и масло, спиртовка.

Реактивы и материалы – обезжиренное молоко (500 см³); чистые культуры микроорганизмов, вызывающих пороки молочных продуктов, на плотных и жидких питательных средах и на постоянных препаратах; водный агар; питательные среды: лактатно-ацетатная, Сабуро или среда агаровая для определения дрожжей и плесеней, индикаторная культура для определения бактериофага; спички.

Посуда – предметные и покровные стекла, пробирки, чашки Петри.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, зарисовки препаратов, просмотренных под микроскопом, со всеми необходимыми подписями (название культуры, тип препарата, краситель, описание морфологии клеток, характеристика свойств культуры, название и описание порока продукции, вызываемого микроорганизмом), описание методов определения возбудителей пороков; выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Общая характеристика и особенности развития посторонней микрофлоры в молоке. Методы предупреждения пороков молочных продуктов.

2. Характеристика спорообразующих гнилостных и маслянокислых микроорганизмов.
3. Характеристика бесспорных гнилостных микроорганизмов.
4. Термоустойчивые микроорганизмы, выдерживающие режимы пастеризации: маммококки и молочнокислая палочка, вызывающая порок перекисания.
5. Плесени и дрожжи, вызывающие пороки молока и молочных продуктов.
6. Бактериофаги как возбудители пороков молочных продуктов. Методы предупреждения бактериофагии.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 14

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: изучить требования к микробиологическим показателям кисломолочных продуктов и методы их контроля.

Теоретические положения

Кисломолочные продукты получают сквашиванием молока или сливок чистыми культурами молочнокислых бактерий, иногда с участием дрожжей и уксуснокислых бактерий. В процессе сквашивания протекают сложные микробиологические и физико-химические процессы, в результате которых формируются вкус, запах, консистенция и внешний вид готового продукта.

К кисломолочным продуктам относятся кисломолочные напитки (кефир, ряженка, йогурт, ацидофилин, варенец, простокваши, бифидок и др.), сметана, творог и творожные изделия. Для каждой группы кисломолочных продуктов характерна определенная микрофлора закваски, температура и время сквашивания, созревания и хранения, требования к физико-химическим и микробиологическим показателям.

Микробиологический контроль технологии производства кисломолочных продуктов состоит в исследовании сырого молока (обязательно проводится проба на ингибиторы), пастеризованного молока, предназначенного для заквашивания, закваски, полуфабрикатов и готовой продукции. Эффективность пастеризации проверяют не реже 1 раза в 10 дней.

Особое внимание уделяют контролю качества заквасок. Состав заквасочной микрофлоры, дозы и способы внесения, а так же режимы культивирования определяются соответствующими техническими документами на конкретный вид продукта. Требования к содержанию жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов приведены в таблице 11.1.

Таблица 11.1 – Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов на разных этапах технологического процесса производства ферментированных молочных продуктов

Этап технологического процесса	Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, не менее
Сухая БЗ	10^9 КОЕ/ЕА или г
Сухой БК	10^{10} КОЕ/ЕА или г
Активизированный БК	10^7 - 10^8 КОЕ/см ³
Производственная закваска	10^9 КОЕ/см ³

В смеси для выработки ферментированных молочных продуктов (кисломолочные напитки, сметана, творог и т.д.)		10^6 - 10^7 КОЕ/см ³
Готовый продукт	молочнокислые микроорганизмы	10^7 - 10^8 КОЕ/см ³
	пробиотические микроорганизмы	10^6 - 10^8 КОЕ/см ³
К концу срока годности готового продукта	молочнокислые микроорганизмы	10^7 КОЕ/см ³
	пробиотические микроорганизмы	10^6 КОЕ/см ³

Термизация сквашенных продуктов проводится при $(64 \pm 4)^\circ\text{C}$ с выдержкой до 30 сек с целью пролонгации сроков годности продуктов. В результате процесса термизации снижается уровень вегетативных микроорганизмов, в том числе заквасочных. Конечное количество заквасочной микрофлоры в термизированных молочных продуктах не нормируется.

Общие требования к допустимым уровням содержания микроорганизмов в продуктах переработки молока при выпуске их в обращение в соответствии с 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочные продукты» (в ред. Федерального закона от 22.07.2010 N 163-ФЗ) приведены в приложении 3. Микробиологические показатели, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля жидких ферментированных (кисломолочных и сквашенных) продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки представлены в таблице 11.2.

Таблица 11.2 – Микробиологические показатели ферментированных (кисломолочных и сквашенных) продуктов

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности не более 72 ч, без компонентов и с компонентами		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см ³ , не менее	1×10^7	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см ³	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, без компонентов		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см ³ , не менее	1×10^7	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см ³	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см ³ , не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см ³ , не более	50*	не реже 2 раз в месяц
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, с компонентами		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см ³ , не менее	1×10^7	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см ³	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см ³ , не более	50	не реже 2 раз в месяц

Дрожжи, КОЕ/см ³ , не более	50**	не реже 2 раз в месяц
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, обогащенные бифидобактериями и другими пробиотическими микроорганизмами		
Бифидобактерии и/или другие пробиотические микроорганизмы, КОЕ/см ³ , не менее	1x10 ⁶ в	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см ³	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см ³ , не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см ³ , не более	50**	не реже 2 раз в месяц
Термизированные сквашенные молочные и молочные составные продукты, в т. ч. без компонентов и с компонентами		
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см ³	1,0	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см ³ , не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см ³ , не более	50	не реже 2 раз в месяц
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см ³	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см ³ , не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см ³ , не более	50**	не реже 2 раз в месяц
* Наличие дрожжей на конец срока годности, не менее: - для айрана и кефира -1-10 ⁴ КОЕ/см ³ ; -для кумыса -1 -10 ⁵ КОЕ/см ³ . ** Кроме напитков, изготавливаемых с использованием заквасок, содержащих дрожжи. П р и м е ч а н и я 1 При превышении норм содержания БГКП переходят на их усиленный контроль в каждой партии. 2 При необходимости возможно повышение периодичности контроля кисломолочных продуктов, вырабатываемых в открытых системах за счет снижения частоты контроля микро-организмов закваски, БГКП - в термизованных продуктах, КМАФАнМ - в продуктах асептического розлива.		

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности не более 72 ч, без компонентов		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г, не менее	1x10 ⁶	не реже 1 раза в 3 дня
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,001	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности не более 72 ч, с компонентами		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г, не менее	1x10 ⁶	не реже 1 раза в 3 дня
БГКП, не допускается в массе продукта, г	0,001	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц

Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности более 72 ч, без компонентов		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности более 72 ч, с компонентами и замороженные		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Творожные продукты термически обработанные, в т.ч. с компонентами		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50 в сумме	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
Сметана		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г, не менее	10 ⁷	не реже 1 раза в 3 дня
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	не реже 1 раза в 3 дня
Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
Термизированные сметанные продукты		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,001	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
* Для продуктов со сроком годности более 72 ч		

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Изучите нормативные требования к микробиологическим показателям кисломолочных продуктов.
3. Составьте схемы определения микробиологических показателей кисломолочных продуктов по заданию преподавателя, используя образец в приложении 4. Проведите необходимые микробиологические исследования данных видов продуктов. Запишите требования к микробиологическим показателям на эти виды продуктов и схему исследований в тетрадь.
4. Приготовьте фиксированные препараты с простой окраской из образцов кисломолочных продуктов, просмотреть препараты под микроскопом с иммерсионным объективом в 10 полях зрения. Зарисуйте препараты, подписать виды микроорганизмов по-латински, сделать вывод о характере микрофлоры, наличии или отсутствии посторонних микроорганизмов, которые могут являться причиной возможных пороков продукции.

5. Запишите результаты исследований в тетрадь, сделайте вывод о соответствии кисломолочных продуктов требованиям стандартов.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: на одно рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой.

Реактивы и материалы – образцы кисломолочных напитков, сметаны и творога в потребительской таре, пробирках и бюксах, питательная среда для определения количества молочнокислых микроорганизмов (ОМ), питательная среда для определения дрожжей и плесеней (БФ или Сабуро), питательная среда для определения БГКП (среда Кесслер), пробирки со стерильной водой для приготовления разведений, красители, спиртовка.

Посуда – предметные стекла, стерильные чашки Петри, стерильные пипетки на 1 см³, пробирки вместимостью 10 см³, пипетки на 1 см³.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, допустимые уровни содержания микроорганизмов в продуктах, схемы исследований микробиологических показателей продуктов, результаты учета посевов и выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Особенности микробиологических процессов при выработке кисломолочных продуктов.
2. Классификация кисломолочных продуктов по виду заквасочной микрофлоры.
3. Продукты,готавливаемые с использованием симбиотических многокомпонентных заквасок (ассортимент, характеристика заквасочной микрофлоры, особенности технологического процесса, пороки).
4. Продукты,готавливаемые с использованием мезофильных молочнокислых кокков.
5. Продукты,готавливаемые с использованием термофильных молочнокислых микроорганизмов.
6. Продукты,готавливаемые с использованием мезофильных и термофильных молочнокислых кокков.
7. Продукты,готавливаемые с использованием ацидофильной палочки.
8. Продукты,готавливаемые с использованием бифидобактерий.
9. Нормирование микробиологических показателей кисломолочных продуктов, этапы и методы контроля.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 15

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫРОВ

Цель работы: изучить требования к микробиологическим показателям молока для сыроделия и разных видов сыров, освоить методы их контроля.

Теоретические положения

При микробиологическом контроле производства сыра критическими контрольными точками являются следующие: сырое молоко, пастеризованное молоко, закваска, функционально необходимые добавки (ферменты, хлорид кальция, пищевая поваренная соль), процессы производства (образование сгустка, разрезка, постановка зерна, формование, прессование, посолка, созревание, упаковывание), готовый продукт.

Сыропригодность молока определяется комплексом физико-химических, органолептических и микробиологических показателей. В сыром молоке, поступающем на сыродельные заводы, кроме общих показателей, нормируемых стандартами, в т. ч. редуктазной пробы и определения наличия ингибирующих веществ, один раз в 10 дней (в

случае необходимости и чаще) определяют общее количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих (маслянокислых) бактерий, делают пробу на брожение и сычужно-бродильную пробу. Важной операцией в сыроделии является созревание молока – выдержка его при температуре (8–12)° в течение 10–14 ч. При этом заканчивается бактерицидная фаза молока и начинается развитие молочнокислых бактерий. Кислотность молока должна увеличиться при созревании не более чем на 1–2°Т. Процесс созревания контролируется методом предельных разведений. Важным показателем созревшего молока является количество молочнокислых бактерий – 10^6 – 10^7 КОЕ/см³.

Состав, доза и способ применения закваски зависят от вида вырабатываемого сыра или сырного продукта, качества используемого молока-сырья и конкретных особенностей технологического процесса. Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов на разных этапах технологического процесса производства сыров и сырных продуктов приведено в таблице 12.1.

Таблица 12.1 – Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов при производстве сыров и сырных продуктов

Этапы	Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, не менее
Сухая БЗ	10^9 КОЕ/ЕА или г
Сухой БК	10^{10} КОЕ/ЕА или г
Активизированный БК	10^7 - 10^8 КОЕ/см ³
Производственная закваска	10^9 КОЕ/см ³
В смеси для выработки	10^6 - 10^7 КОЕ/см ³
К концу выработки (сыр п/п)	10^8 КОЕ/см ³
Максимальный уровень в процессе созревания сыра	10^9 КОЕ/см ³

Во время выработки сыра необходимо строго следить за интенсивностью и направленностью микробиологических процессов по скорости нарастания кислотности сыворотки, а так же контролировать значение pH, содержание влаги и количество БГКП в сыре после прессования.

Значения прироста титруемой кислотности, pH сыра и содержание влаги должно полностью соответствовать значениям данных показателей в технологической инструкции на вырабатываемый продукт. Данные показатели контролируются в процессе каждой выработки.

При нормальном уровне молочнокислого процесса во время выработки и созревания сыра, высоком качестве сыра и отсутствии специфических пороков вкуса и рисунка, связанных с чрезмерным развитием БГКП, рекомендуемая периодичность контроля содержания БГКП в сыре после пресса – не реже одного раза в 10 дней.

При нарушении уровня молочнокислого процесса во время выработки, высоких значения pH сыра после прессования, появлении пороков вкуса (посторонний, нечистый, затхлый) и особенно в случае раннего вспучивания сыров (до 20 дней после выработки), рекомендуется проводить контроль БГКП в сыре после прессования в каждой партии.

Содержание БГКП в сыре после прессования не должно превышать 3×10^5 КОЕ/г (среда АЖФК) или признаки роста на среде Кесслер должны отсутствовать в 0,00001 г.

Процесс посолки сыра и сырных продуктов – один из основных факторов, определяющих возможность или невозможность развития как заквасочных, так и посторонних микроорганизмов, и, следовательно, микробиологическую безопасность продукта. Для обеспечения микробиологической безопасности сыров рекомендуется

исключить полную посолку в зерне. Исключение составляет посолка сыра Чеддер, при производстве которого сбраживание лактозы завершается в процессе выработки.

При повышении температуры рассола до 16 - 18 °С резко увеличивается вероятность микробиологической порчи и развития таких пороков сыра, как горький, кислый, нечистый вкус, самоколы и и щелевидный рисунок. Снижение температуры до 5 – 6 °С приводит к ингибированию молочнокислого процесса, что замедляет созревание.

Для обеззараживания рассола его пастеризуют при температуре 95 – 100 °С с последующей нейтрализацией. Возможно применение ультрафильтрации.

Регулируя температурные и влажностные режимы процесса созревания сыров в рамках норм, заложенных в технологических инструкциях, можно предотвратить снижение качества и хранимостпособности продукта. Система циркуляции воздуха в камерах созревания – важный элемент, влияющий на качество сыра за счет возможного обсеменения поверхности сырной головки спорами плесневых грибов, являющихся причиной поверхностного плесне-вения. Возможно снижение уровня обсемененности воздуха путем использования приема озонирования с использованием озонаторов определенного типа.

Упаковочные материалы, используемые в сыроделии, должны:

- иметь разрешение на применение для упаковки сыров;
- обеспечивать необходимый газообмен;
- иметь микробиологически чистую поверхность.

Готовый продукт. Общие требования к допустимым уровням содержания микроорганизмов в сырах и сырных продуктах при выпуске их в обращение в соответствии с 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочные продукты» (в ред. Федерального закона от 22.07.2010 N 163-ФЗ) приведены в приложении 3. В твердых, полутвердых, рассольных и мягких сырах нормируются БГКП, патогенные микробы, в т. ч. сальмонеллы; *S. aureus* и *L. monocytogenes*; в плавленых сырах – КМАФАнМ, БГКП, патогенные, в т. ч. сальмонеллы; дрожжи и плесени.

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
3. Оцените сыропригодность образцов молока по бродильной, сычужно-бродильной пробе и пробе на маслянокислые микроорганизмы (по заданию преподавателя).
4. Изучите нормативные требования к микробиологическим показателям разных видов сыра.
5. Составьте схемы определения микробиологических показателей отдельных видов сыра по заданию преподавателя, и проведите необходимые микробиологические исследования данного вида продукта.
6. Оцените полученные результаты, оформите их в тетради и сделайте вывод о соответствии исследованных сыров требованиям стандартов.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: термостат; на одно рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой.

Реактивы и материалы – образцы разных видов сыра в потребительской таре и бьюксах, питательная среда для определения КМАФАнМ (МПА), дрожжей и плесеней (БФ или Сабуро), питательная среда для определения БГКП (среда Кесслер), 1 % сычужный фермент, пробирки со стерильной водой для приготовления разведений, пробирки со стерильным обезжиренным молоком для определения соотношения микрофлоры методом предельных разведений красителя, спиртровка.

Посуда – предметные стекла, стерильные чашки Петри, стерильные пипетки на 1 см³, пробирки вместимостью 10 см³ и 30 см³.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, допустимые уровни содержания микроорганизмов в продуктах, схемы исследований микробиологических показателей продуктов, результаты учета посевов и выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Особенности микробиологических процессов при производстве сыров.
2. Сыропригодность молока (сущность, методы определения).
3. Особенности заквасочной микрофлоры для разных групп сыров.
4. Этапы развития микрофлоры в процессе производства сыра:
 - при созревании молока;
 - при свертывании молока;
 - при обработке сгустка и втором нагревании;
 - при формовании и прессовании;
 - при посолке сыра;
 - при созревании разных видов сыров.
5. Пороки сыров и методы их предупреждения.
6. Сущность биохимических процессов при созревании сыра.
7. Нормирование микробиологических показателей разных групп сыров и методы их определения.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 16

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАСЛА

Цель работы: изучить требования к микробиологическим показателям разных видов масла, вторичного молочного сырья и методы их контроля.

Теоретические положения

В производстве масла микроорганизмы играют второстепенную роль. Сладкосливочное масло получают без участия микроорганизмов, и развитие любых микробов в нем приводит к появлению пороков и ухудшению качества. При производстве кисло-сливочного масла используются закваски молочнокислых гомо- и гетероферментативных молочнокислых кокков.

Схема основных критических контрольных точек при производстве сливочного масла и пасты масляной включает: молоко-сырье, сливки-сырье, пастеризация сливок-сырья и смеси, процессы производства, фасование, готовый продукт, хранение.

Молоко-сырье, используемое для получения масла и паст масляных, должно соответствовать общим требованиям безопасности и качества молока-сырья. При появлении пороков масла (горький, прогорклый, гниlostный или сырный вкус) рекомендуется проводить усиленный контроль молока-сырья на содержание психротрофных микроорганизмов.

Для сливок-сырья наиболее значимыми следует считать критерии: время и температура их хранения до пастеризации (резервирование). Сливки-сырье целесообразно пастеризовать без резервирования, а в случае необходимости сливки с кислотностью не более 19 °Т допускается хранить при температуре $(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$ не более 24 ч.

В маслоделии принято использовать высокотемпературную пастеризацию как сливок-сырья, так и смеси для производства сливочного масла и пасты масляной. Оптимальной для обеспечения микробиологической чистоты продукта является температура пастеризации 95 – 98 °С без выдержки. Пастеризованные сливки допускается хранить при температуре $(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$ не более 72 ч.

При выборе метода производства необходимо учитывать микробиологические показатели сырья и санитарно-гигиенические условия производства. Наиболее безопасным, с точки зрения возможности вторичного обсеменения, следует считать получение масла и масляной пасты методом преобразования высокожирных сливок.

Данный метод производства обеспечивает большую дисперсность плазмы, что снижает вероятность развития микрофлоры в процессе хранения.

Фасование сливочного масла порциями из монолита увеличивает вторичное обсеменение продукта в среднем на порядок. В целях повышения гарантии микробиологической безопасности целесообразно фасовать сливочное масло потребительскими порциями сразу после его изготовления.

Общие требования к допустимым уровням содержания микроорганизмов в масле и маслоподобных продуктах при выпуске их в обращение в соответствии с 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочные продукты» (в ред. Федерального закона от 22.07.2010 N 163-ФЗ) приведены в приложении 3. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сливочного масла и пасты масляной представлены в таблице 13.1.

Таблица 13.1 – Микробиологические показатели сливочного масла и пасты масляной

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Масло сливочное сладко-сливочное без компонентов		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	1x10 ⁵	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	в сумме 100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
Масло сливочное сладко-сливочное с компонентами		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	1x10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Масло сливочное кисломолочное*		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	в сумме 100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
Масло сливочное марочное, в т.ч. Вологодское		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	1x10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Паста масляная без компонентов		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	2x10 ⁵	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц

Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Паста масляная с компонентами		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	2×10^5	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,001	каждая партия

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Изучите нормативные требования к микробиологическим показателям разных видов масла и маслоподобных продуктов.
3. Составьте схемы определения микробиологических показателей отдельных видов масла и вторичного молочного сырья по заданию преподавателя и проведите необходимые микробиологические исследования отдельных видов продуктов по заданию преподавателя. Оцените результаты посевов.
4. Оформите результаты работы в тетради, сделайте вывод о соответствии исследованных видов продуктов требованиям стандартов.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: на одно рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой.

Реактивы и материалы – образцы разных видов масла в потребительской таре и бьюксах, образцы вторичного молочного сырья и продуктов из него; стерильные чашки Петри, питательная среда для определения КМАФАнМ (МПА), дрожжей и плесеней (БФ или Сабуро), питательная среда для определения БГКП (среда Кесслер), пробирки со стерильной водой для приготовления разведений, красители, спиртовка.

Посуда – предметные стекла, стерильные чашки Петри, стерильные пипетки на 1 см³, пробирки вместимостью 10 см³.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, допустимые уровни содержания микроорганизмов в продуктах, схемы исследований микробиологических показателей продуктов, результаты учета посевов и выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Особенности микробиологических процессов при производстве масла.
2. Факторы, влияющие на микробиологические показатели масла.
3. Пороки масла и меры их предупреждения.
4. Нормирование показателей и контроль производства масла.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 17 ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОЧНЫХ КОНСЕРВОВ

Цель работы: изучить требования к микробиологическим показателям и освоить методы микробиологического контроля разных видов молочных консервов.

Теоретические положения

Молочные консервы – это продукты из натурального молока, которые в результате специальной обработки могут длительное время сохранять свои свойства без изменений. Для того чтобы надежно предохранить продукты от порчи, необходимо так видоизменить их свойства, чтобы попавшие в них микроорганизмы были уничтожены или не могли развиваться.

Способы консервирования основаны на принципах **биоза** (использование естественного иммунитета сырья), **анабиоза** (подавление жизнедеятельности микробов

при помощи различных физических, химических и биологических факторов) и **абиоза** (прекращение всех жизненных процессов, уничтожение микроорганизмов).

По принципам консервирования молочные консервы разделяют на три основные группы: стерилизованные (абиоз), сгущенные с сахаром (осмоанабиоз), сухие (ксероанабиоз).

При микробиологическом контроле производства **стерилизованного сгущенного молока** отбирают пробы и анализируют сырое молоко (по общей бактериальной обсемененности должно быть не ниже 1 класса, количество спор мезофильных и термофильных микроорганизмов не должно превышать 100 в 1 см³), пастеризованное молоко (КМАФАнМ не более 5 тыс. в 1 см³), молоко из емкости для хранения, нормализованное молоко из бака перед вакуум-выпарной установкой (ВВУ), сгущенное молоко после ВВУ, из емкости перед фасованием, сгущенное молоко из незакатанной банки после разливочно-укупорочного автомата, из 3–5 незакатанных банок с продукцией перед стерилизацией (не более 10 тыс. в 1 см³, количество спор не более 10 в 1 см³).

Молоко сгущенное стерилизованное в банках (готовый продукт) должно удовлетворять требованиям промышленной стерильности и не содержать патогенных микроорганизмов или их токсинов. Готовую продукцию отбирают от каждой партии 5 банок, проверенных на герметичность, и термостатируют их при 37 °С в течение 6 суток, после чего осматривают, вскрывают и анализируют органолептически, по титруемой кислотности, по микроскопическому препарату. В сгущенном молоке после термостатирования не должно происходить изменений органолептических и физико-химических свойств, а в микроскопическом препарате клетки и споры микробов не должны обнаруживаться; кислотность должна быть не более 50 °Т.

При выработке **сгущенного молока (сливок) с сахаром**, какао, кофе все сырье контролируют не реже одного раза в декаду по всем микробиологическим показателям, предусмотренным стандартом. В каждой партии выпускаемых консервов определяют содержание БГКП, КМАФАнМ в готовом продукте и по ходу технологического процесса – 1 раз в месяц. Для всех видов продуктов патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются в 25 г. Сгущенное молоко с сахаром 1 раз в 5 дней проверяют на наличие дрожжей и плесеней. Периодически проводят проверку консервов на содержание протеолитической и липолитической микрофлоры.

Контроль технологического процесса **сухих молочных консервов** проводят не реже одного раза в месяц. Каждую партию готового продукта контролируют по КМАФАнМ и БГКП. При контроле смесей для детского питания определяют также количество дрожжей, плесеней, кишечной палочки, палочки цереус, золотистого стафилококка, патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл.

Общие требования к допустимым уровням содержания микроорганизмов в молочных консервах при выпуске их в обращение в соответствии с 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочные продукты» (в ред. Федерального закона от 22.07.2010 N 163-ФЗ) приведены в приложении 3. Микробиологические показатели, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля молочных консервов представлены в таблице 15.1.

Таблица 15.1 – Микробиологические показатели сгущенных и сухих молочных продуктов

Микробиологические показатели	Но рма	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко сгущенное, концентрированное, сливки сгущенные, стерилизованные		
Требования промышленной стерильности:		

прирост титруемой кислотности, °Т, не более	2	каждая партия
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	10	
Молоко, сливки сгущенные с сахаром в потребительской таре		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	2·10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Молоко, сливки сгущенные с сахаром в транспортной таре		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	4·10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта,г	1,0	каждая партия
Какао, кофе натуральный со сгущенным молоком или сливки с сахаром		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	3,5·10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Молоко коровье сухое цельное		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5·10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Молоко сухое обезжиренное для непосредственного употребления		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5·10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Молоко сухое обезжиренное для промышленной переработки		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	10 ⁵	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Напитки сухие молочные		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	10 ⁵	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Сливки сухие и сливки сухие с сахаром		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	7·10 ⁴	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия

Задания и порядок выполнения работы

1. Изучите теоретические положения работы.
2. Изучите нормативные требования к микробиологическим показателям разных видов молочных консервов.
3. Составьте схемы определения микробиологических показателей отдельных видов молочных консервов по заданию преподавателя и проведите необходимые

микробиологические исследования отдельных видов продуктов по заданию преподавателя. Оцените результаты посевов.

4. Оформите результаты работы в тетради, сделайте вывод о соответствии исследованных видов продуктов требованиям стандартов.

Аппаратура, оборудование и материалы:

Аппаратура и оборудование: на одно рабочее место: микроскоп, штатив с бактериологической петлей, бактериологической иглой.

Реактивы и материалы – образцы сухих, сгущенных молочных консервов (в потребительской, транспортной таре); стерильные чашки Петри, питательная среда для определения КМАФАнМ (МПА), дрожжей и плесеней (БФ или Сабуро), питательная среда для определения БГКП (среда Кесслер), пробирки со стерильной водой для приготовления разведений, красители, спиртовка.

Посуда – предметные стекла, стерильные чашки Петри, стерильные пипетки на 1 см³, пробирки всестимость. 10 см³.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: дату, название, цель работы, допустимые уровни содержания микроорганизмов в продуктах, схемы исследований микробиологических показателей продуктов, результаты учета посевов и выводы по работе.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Сущность консервирования. Биологические принципы, применяющиеся при производстве консервов.
2. Микробиологические аспекты производства сгущенного стерилизованного молока.
3. Пороки сгущенного стерилизованного молока.
4. Точки контроля микробиологических показателей производства сгущенного стерилизованного молока.
5. Нормирование микробиологических показателей сгущенного стерилизованного молока.
6. Микробиологические аспекты производства сгущенного молока с сахаром.
7. Пороки сгущенного молока с сахаром.
8. Точки контроля микробиологических показателей производства и нормирование микробиологических показателей сгущенного молока с сахаром.
9. Микробиологические аспекты производства сухого молока.
10. Пороки сухого молока.
11. Контроль микробиологических показателей производства сухого молока.
12. Нормирование микробиологических показателей сухого молока.

10. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

10.1. Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

10.1.1. Перечень основной литературы:

1. Куранова, Н. Г. Микробиология : учебное пособие / Н.Г. Куранова, 2, Метаболизм прокарриот. - Москва : Прометей, 2017. - 100 с.
2. Кожевникова, О. Н. (СКФУ). Микробиология мяса и мясных продуктов : учебное пособие : Направление подготовки 19.03.03 Продукты питания животного происхождения. Профиль – Технология мяса и мясных продуктов. Бакалавриат. / О. Н. Кожевников, Е. Н. Стаценко ; Сев.-Кав. федер. ун-т. – Ставрополь: СКФУ, 2016. – 196 с.
3. Микробиология мяса и мясных продуктов : Методические указания к выполнению лабораторных работ : Направление подготовки – 260200.62(19.03.03) Продукты питания животного происхождения Профиль подготовки – Технология мяса и

мясных продуктов. Квалификация выпускника – бакалавр / сост. В. В. Куликова, Е. Н. Стаценко, Н. В. Судакова ; Сев.-Кав. федер. ун-т. – Ставрополь: СКФУ, 2015. – 75 с.

4. Микробиология молока и молочных продуктов : учебное пособие : [для студентов вузов, обучающихся по направлениям подготовки "Продукты питания животного происхождения", "Биотехнология", "Технология продукции и организация общественного питания"] / С. А. Рябцева, В. И. Ганина, Н. М. Панова. – Изд. 2-е, стер. – Санкт-Петербург [и др.] : Лань, 2019. – 189 с.

5. Микробиология вторичного молочного сырья : Монография / С. А. Рябцева, И. А. Евдокимов, О. В. Кузнецова, Г. С. Анисимов ; Сев.-Кав. федер. ун-т. - Ставрополь : СКФУ, 2014. - 174 с.

6. Дрожжи в переработке молочного сырья : монография / С. А. Рябцева, А. А. Котова, А. А. Скрипнюк ; Северо-Кавказский федеральный университет. – Санкт-Петербург и др. : Лань, 2019. – 119 с.

10.1.2. Перечень дополнительной литературы:

1. Мудрецова-Висс, К. А. Микробиология, санитария и гигиена : учебник / К. А. Мудрецова-Висс, В. П. Дедюхина. - М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2009. - 400 с. : ил. - (Высшее образование). - Библиогр.: с. 394-395.

2. Доценко, Владимир Антонович (д-р мед.наук) Практическое руководство по санитарному надзору за предприятиями пищевой и перерабатывающей промышленности, общественного питания и торговли : учеб. пособие для вузов / В. А. Доценко. - 4-е изд., стер. - Санкт-Петербург : ГИОРД, 2013. - 830 с.

3. Микробиология молока и молочных продуктов : лабораторный практикум : Направление подготовки 260200.62 – Продукты питания животного происхождения. Профиль подготовки – Технология молока и молочных продуктов. Бакалавр / сост. Рябцева С. А., Панова Н. М. ; Сев.-Кав. федер. ун-т. – Ставрополь : СКФУ, 2014. – 105 с. – Библиогр.: с. 87.

10.2. Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

1. Методические указания к выполнению лабораторных работ по дисциплине Микробиология молочных и мясных продуктов для студентов направления подготовки 19.03.03 Продукты питания животного происхождения (эл. ресурс).

2. Методические указания к выполнению самостоятельной работы по дисциплине Микробиология молочных и мясных продуктов для студентов направления подготовки 19.03.03 Продукты питания животного происхождения (эл. ресурс)

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

Методические рекомендации

по организации самостоятельной работы обучающихся
по дисциплине «Микробиология молочных и мясных продуктов»
для студентов направления подготовки
19.03.03 «Продукты питания животного происхождения»
Направленность (профиль): «Биоинженерия и технологии»

Ставрополь, 2026

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 воспроизводят 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;
- титальный 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.

3. Подготовка к зачету и экзамену

Каждый учебный семестр заканчивается зачетно-экзаменационной сессией.

Подготовка к зачетно-экзаменационной сессии, сдача зачетов и экзаменов является также самостоятельной работой студента.

Основное в подготовке к сессии – повторение всего учебного материала дисциплины, по которому необходимо сдавать зачет или экзамен. Только тот студент успевает, кто хорошо усвоил учебный материал.

Если студент плохо работал в семестре, пропускал лекции, слушал их невнимательно, не конспектировал, не изучал рекомендованную литературу, то в процессе подготовки к сессии ему придется не повторять уже знакомое, а заново в короткий срок изучать весь учебный материал.

Все это зачастую невозможно сделать из-за нехватки времени. Для такого студента подготовка к зачету или экзамену будет трудным, а иногда и непосильным делом, а конечный результат – возможное отчисление из учебного заведения.