

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 пищевых продуктов»
для студентов направления подготовки
43.03.01 Сервис
направленность (профиль): «Гастрономия и сервис»

Ставрополь 2026

Содержание

Лабораторная работа 1. Знакомство с оборудованием лаборатории и техникой безопасности при микробиологических исследованиях. Техника микробиологических исследований и основные приемы микроскопирования фиксированных препаратов

Лабораторная работа 2. Условия выращивания микроорганизмов, техника культивирования и техника приготовления бактериальных препаратов для исследования. Краски, красящие растворы. Способы окраски микроорганизмов.

Лабораторная работа 3. Морфология шаровидных, палочковидных форм бактерий

Лабораторная работа 4. Морфология актиномицетов, плесневых грибов, дрожжей

Лабораторная работа 5. Санитарно-бактериологический контроль состояния рук обслуживающего персонала и инвентаря предприятий пищевой промышленности. Бактериологический анализ воды и воздуха

Лабораторная работа 6. Бактериологическое исследование мяса и колбасных изделий

Лабораторная работа 7. Бактериологическое исследование консервов

Лабораторная работа 8. Бактериологическое исследование молока и молочных изделий

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

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

1 Цель и содержание

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

Содержание работы:

1.1 Ознакомиться с правилами работы при выполнении лабораторного практикума.

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

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

а) научиться устанавливать освещение;

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

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

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

д) изучить и зарисовать препарат.

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

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

2 Теоретическое обоснование

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

Существуют светопольная микроскопия (моно- и бинокулярная), микроскопия в темном поле, фазово-контрастная, люминесцентная и электронная микроскопии. В светопольной микроскопии при использовании объектива $90\times$ применяют иммерсионную систему. Для исследования объектов малой величины, лежащей за пределами видимости обычных микроскопов, используют темнопольную микроскопию. Для этого в биологическом микроскопе обычный конденсор заменяют конденсором темного поля, который пропускает только боковые лучи и создает резкий боковой контраст на темном поле. Микробы при этом начинают светиться. Фазово-контрастная микроскопия позволяет получать контрастные изображения неокрашенных, неконтрастных объектов, в которых темные и светлые места соответствуют различной толщине и оптической плотности препарата. Метод основан на преобразовании фазовых изменений, претерпеваемых световой волной при прохождении через объект в видимые амплитудные с помощью определенного оптического устройства. Люминесцентная микроскопия основана на освещении способного к флуоресценции объекта синие-фиолетовыми лучами с длиной волны 460 нм или ультра-фиолетовыми лучами с длиной волны $300\text{--}400\text{ нм}$.

Нелюминесцирующие объекты можно обрабатывать специальными флуорохромами (вторичная, наведенная люминесценция). Электронный микроскоп позволяет получить изображение объекта с увеличением в десятки тысяч раз. В нем используются не световые лучи, а поток движущихся электронов.

3 Аппаратура и материалы

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

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

5 Методика и порядок выполнения работы

Индивидуальное задание

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

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

ПРАВИЛА РАБОТЫ С БИОЛОГИЧЕСКИМ МИКРОСКОПОМ

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

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

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

зрения микроскопа будет иметь форму круга, хорошо и равномерно освещенного.

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

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

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

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

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

6 Содержание отчета и его форма

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

7 Контрольные вопросы и защита работы

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

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2

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

Цель работы:

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

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

1.2 Научить студентов технике приготовления бактериальных препаратов.

Содержание работы:

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

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

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

1.4 Представить блок-схемы приготовления мазков изучаемых культур микроорганизмов.

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

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

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

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

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

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

2 Теоретическое обоснование

2.1 Условия выращивания микроорганизмов

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

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

По консистенции питательные среды бывают жидкие, полужидкие и плотные.

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

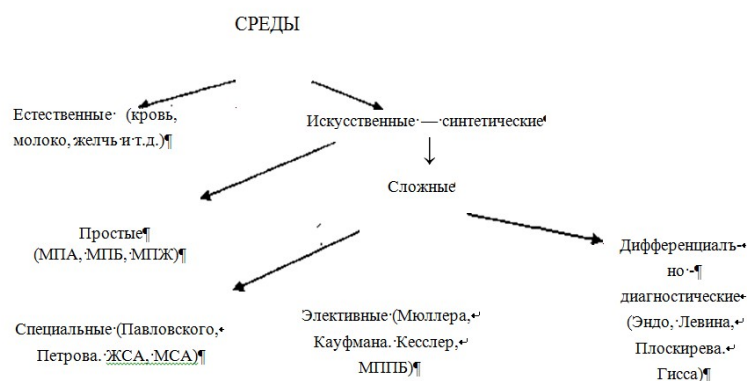


Рисунок 2.1 – Виды сред

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

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

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

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

легкое колебательное движение.

У перитрихов движение сопровождается оживленным перевертыванием клетки в разные стороны.

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

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

Сложный способ окраски по Граму

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

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

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

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

3 Аппаратура и материалы

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

Индивидуальное задание

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

поверхность стола, загрязненного халата, руки, обрабатывают спиртом или хлорамином. Уходя из лаборатории, студент обязан обработать руки спирто-йодной смесью и тщательно их вымыть. Ежедневно в лаборатории проводится влажная уборка и дезинфекция 1 – 5% раствором хлорамина.

5 Методика и порядок выполнения работы

5.1 Приготовление бактериальных препаратов с жидких и плотных сред

Препарат-мазок для окрашивания готовится в несколько этапов:

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

Для приготовления препарата используют предметное стекло – тонкую стеклянную пластинку размером 76 – 26 мм с хорошо отшлифованными краями. При микроскопировании применяют покровные стекла толщиной 0,15 – 0,17 мм и размером 18х18, 20х20, 18х24 мм.

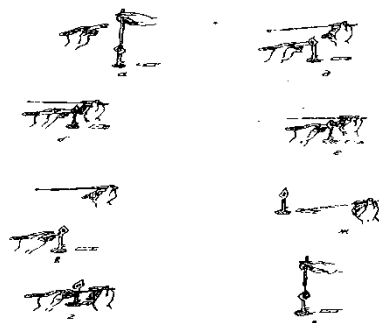


Рисунок 2.2 – Схема приготовления мазка

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

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

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

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

При этом (рис.2.2) петля должна находиться в вертикальном положении (а), чтобы пламя охватывало не только всю петлю, но и часть иглодержателя. При работе петлю или пипетку держат в правой руке, как карандаш при письме. Зажав пробку между мизинцем и ладонью правой руки (в ней же находится подготовленная петля), вынимают ее из пробирки (б) и держат концом вниз, не допуская соприкосновения с рукой той части пробки, которая находилась в пробирке. Открытый конец пробирки обжигают на пламени (в) и отводят несколько к себе, затем вводят в пробирку петлю (еще раз проведенную через пламя), охлаждают прикосновением к стенке пробирки (г) и набирают небольшое количество материала, слегка прикасаясь к культуре и не царапая среды

петлей. После взятия материала (д) пробирку тотчас закрывают той же ватной пробкой (е), а перед этим края пробирки и конец ватной пробки обжигают на пламени горелки. Взятый материал эмульгируют (ж) в имеющейся на предметном стекле капле и равномерно тонким слоем петлю распределяют по поверхности (1,5–2 см) другого чистого стекла.

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

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

5.2 Приготовление препарата-мазка из зубного налета

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

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

5.3 Исследование подвижности микробов Исследование подвижности микробов в висячей капле

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

5.4 Техника окраски по Граму

Техника окраски по Граму заключается в следующем:

1. На обычно приготовленный фиксированный препарат кладут полоску фильтровальной бумаги несколько короче длины предметного стекла и на нее наливают карболовый раствор генцианвиолета на две минуты. Раствор генцианвиолета готовят путем смешивания 10 мл насыщенного спиртового раствора со 100 мл 10%-го водного раствора карболовой кислоты.

2. Бумагу удаляют с препарата, излишки краски сливают и на препарат на две минуты наливают раствор Люголя (препарат чернеет).

3. Через 2 минуты сливают раствор Люголя и, не промывая водой, наносят на препарат на 30 секунд (строго) спирт-ректификат, после чего промывают водой.

4. В оставшуюся на стекле воду добавляют 2 капли фуксина основного на 2 минуты.

5. Промывают препарат водой, подсушивают на воздухе при комнатной температуре и микроскопируют.

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

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

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

5.5 Измерение размеров микробной клетки

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

6 Содержание отчета и его форма

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

7 Контрольные вопросы и защита работы

1. Какие требования предъявляются к питательным средам?
2. Как дифференцируются среды по происхождению, по консистенции, по назначению?
3. В чем заключается особенность культивирования микроорганизмов на

дифференциально-диагностических средах?

4. Какие питательные среды используют для исследования объектов внешней среды?

5. Чем обеспечивается подвижность микроорганизмов?

6. Характер расположения жгутиков микроорганизмов.

7. Какова методика приготовления мазка из культуры бактерий, выращенных в плотной (или жидкой) питательной среде?

8. Какие краски применяют для окраски бактерий?

9. Какова методика окраски бактерий по Граму?

10. В чем сущность окраски бактерий по методу Грама?

11. В чем выражается подвижность микроорганизмов?

12. Указать основные методики по определению подвижности микроорганизмов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3

Морфология шаровидных, палочковидных форм бактерий

1 Цель и содержание

Цель работы:

1.1 Познакомить студентов с основными формами шаровидных и палочковидных микроорганизмов, научить отличать их в любом субстрате.

1.2 Изучить морфологию бесспоровых и спорообразующих бактерий на фиксированных и окрашенных препаратах, научить отличать бесспоровые и споровые формы и дифференцировать их по расположению спор.

Содержание работы:

1.1 Изучить различные группы шаровидных форм: микрококков, дипло-, стрепто-, тетра-, стафилококков и сардины.

1.2 Приготовить фиксированные препараты из предложенных преподавателем культур микроорганизмов (1-2 препарата).

1.3 Окрасить их по Граму.

1.4 Промикроскопировать и зарисовать в тетради все виды кокковых круглых форм микроорганизмов. Обратит особое внимание на расположение отдельных клеток микроорганизмов относительно друг друга.

1.5 Приготовить фиксированные препараты из бесспоровых культур микроорганизмов, измерить их величину.

1.6 Приготовить фиксированные препараты из спорообразующих культур.

1.7 Окрасить препараты простым способом (фуксином).

1.8 Окрасить препараты спорообразующих бактерий сложным способом (метод окраски спор по Златогорову).

1.9 Промикроскопировать окрашенные мазки - препараты, сделать рисунки.

1.10 Изучить препарат «капсулы бактерий».

1.11 Изучить подвижность микроорганизмов в висячей и раздавленной каплях.

2 Теоретическое обоснование

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

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

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

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

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

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

Извитые бактерии бывают трех типов:

Вибрионы – палочки, изогнутые в виде запятой.

Спириллы – имеющие несколько правильных завитков.

Спирохеты – мелкие спирали с многочисленными завитками.

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

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

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

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

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

3. Аппаратура и материалы

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

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

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

4. Указания по технике безопасности

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

5. Методика и порядок выполнения работы

Индивидуальное задание

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

5.1 Окраска спор по методу Златогорова

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

метиленового синего (окрашиваются только обесцвеченные вегетативные формы), смывают водой, просушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют, используя иммерсионный объектив.

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

5.2 Исследование подвижности микроорганизмов в раздавленной капле

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

5.3 Окраска капсул методом Михина

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

6. Содержание отчета и его форма

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

7. Контрольные вопросы и защита работы

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

Лабораторная работа 4

Морфология актиномицетов, плесневых грибов, дрожжей

1 Цель и содержание

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

Содержание работы:

1.1 Приготовить препараты актиномицетов, плесневых грибов и дрожжей.

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

2. Теоретическое обоснование

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Некоторые виды мукоровых грибов обладают свойством вызывать брожение или окисление. Их используют в промышленности для производства различных органических кислот, спирта, ферментных препаратов.

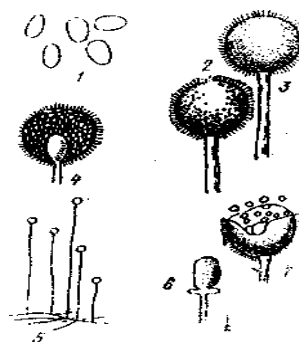


Рисунок 4.1 – *Mucor*:

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

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

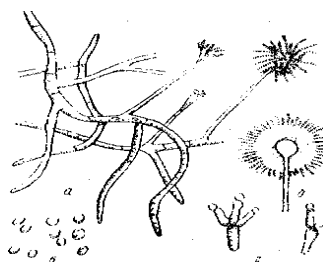


Рисунок 4.2 – *Aspergillus*:

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

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

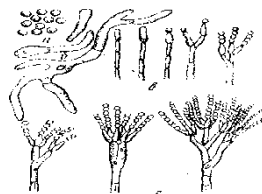


Рисунок 4.3 – *Penicillium*:

a – конидии; *б* – прорастающие конидии и развитие мицелия; *в* – развитие конидиеносца; *г* – различные конидиеносцы

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

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

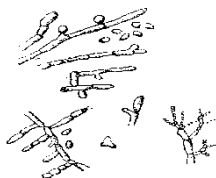


Рисунок 4.4 – *Cladosporium*

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

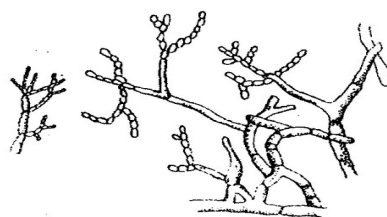


Рисунок 4.5 – *Endomyces lactis*

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

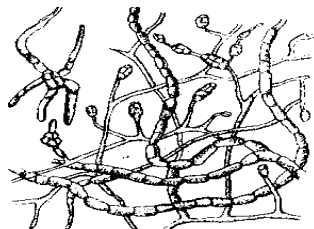


Рисунок 4.6 – *Altemaria*

Катенулярия (*Catenularia*) – рис.6.7 образует мелкие колонии. Мицелий септирован. На воздушных гифах развиваются длинные цепочки коричневых конидий. Некоторые виды (*Catenularia fulininea*) вызывают порок в сгущенном молоке с сахаром, образуя комки шоколадного цвета.



Рисунок 4.7 – Catenularia

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

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

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

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

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

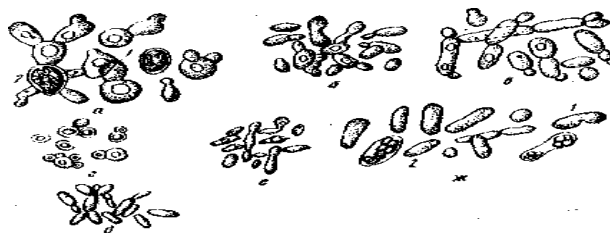


Рисунок 4.8 – Формы клеток дрожжей:

a – яйцевидные; *б* – эллипсоидные; *в* – палочковидные; *г* – шаровидные *д* – вытянутые; *е* – лимонообразные; *жс* – делящиеся дрожжи; *l* – популяция клеток; *2* – клетки со спорами

3 Аппаратура и материалы Аппаратура: микроскопы.

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

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

5 Методика и порядок выполнения работы

Индивидуальное задание

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

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

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

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

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

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

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

6 Содержание отчета и его форма

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

7 Контрольные вопросы и защита работы

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

Лабораторная работа 5
Санитарно-бактериологический контроль состояния рук обслуживающего персонала и инвентаря предприятий пищевой промышленности.
Бактериологический анализ воды и воздуха

1. Цель и содержание

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 см^5 – от 0 до 100, хорошим – от 100 до 1000 и неудовлетворительным – более 1000 микроорганизмов. В исследуемых смывах не должны присутствовать микроорганизмы кишечного-паратифозной группы, условно-патогенные и патогенные.

Бактериологическое исследование воды преследует следующие цели:

- определить общее количество микробов в 1 см^3 воды;
- определить коли-индекс;
- определить качество воды в санитарно-гигиеническом отношении. Для исследования используют воду, отобранную в стерильную посуду вместимостью 0,5–1,0 л с ватными или притертыми стеклянными пробками. Из открытых водоемов, бассейнов, баков пробы отбирают с глубины 10–15 см^3 , при малой глубине - на расстоянии не менее 10–15 см^3 от дна. Для выяснения источников загрязнения и изучения санитарного состояния водоема воду необходимо брать выше и ниже каждого населенного пункта, который может являться источником загрязнения. При наличии течения пробы отбирают в месте наибольшей скорости, так как здесь происходит наиболее частая смена воды. При взятии проб из водопроводных кранов последние предварительно стерилизуют пламенем, затем сливают воду из крана в течение 10 мин и наполняют посуду. Пробы воды направляют в лабораторию с сопроводительным документом. Воду необходимо исследовать не позднее 2 ч после взятия, в случае хранения ее при низких температурах

(1–5°C) – не позднее 6 ч.

По ГОСТ 18963:

- для питьевой водопроводной воды, прошедшей очистку, титр кишечной палочки должен быть не ниже 333 (коли-индекс не более 3), общее количество микроорганизмов не более 50 в 1 см³;

- воды колодцев и родников могут содержать не более 100 микробных клеток в 1 см³ и иметь титр кишечной палочки до 250 см³ (4 кишечные палочки в 1 л воды);

- воды открытых водоемов (прудов и озер) с микробным числом не более 1000, коли-титром не менее 111, коли-индексом не более 9 могут применяться в пищевых производствах для технических целей только после очистки и не должны иметь патогенных микроорганизмов.

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

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

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

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

2.2 Исследование воздуха

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

3 Аппаратура и материалы

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

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

5 Методика и порядок выполнения 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 1 см³ берут жидкость и вносят в пробирку с 9 см³ чистой стерильной воды. При необходимости делаются третье, четвертое и т.д. разведения. Посев проводят из полученных разведений.

Для определения общего количества микробов из соответствующего разведения

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

Число выросших колоний умножают на разведение и судят о степени загрязненности объекта. Санитарно-гигиеническое благополучие устанавливают по отсутствию кишечной палочки. Обнаружение кишечной палочки проводят методом бродильных проб (см. лабораторную работу № 8).

Для этой цели из первого берут соответствующей пипеткой 1 см³ воды и вносят в пробирку со средой Кесслера. 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.

5.2 Определение общего количества микробов в воде

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

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

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

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

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

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

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

5.3 Определение количества бактерий группы кишечных палочек в воде

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

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

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

5.4 Определение общего количества микробов в воздухе

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

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

Таблица 1 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

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

Таблица 2 – Бактериологические показатели исследуемого объекта

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

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?

Лабораторная работа 6

Бактериологическое исследование мяса и колбасных изделий

1. Цель и содержание

Цель работы: ознакомиться с методами бактериологического и микроскопического анализов мяса. Изучить методику микроскопического исследования мяса на свежесть; ознакомиться и освоить методы бактериологического исследования колбасных изделий.

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 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. Изучить ГОСТ 9792 «Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб».
6. Провести посев из образцов колбасных изделий в соответствии с ГОСТ 9958 «Колбасные изделия и продукты из мяса. Методы бактериологического анализа». Учесть результаты посевов.
7. Сделать выводы о качестве колбасных изделий.

2 Теоретическое обоснование

На предприятиях мясной отрасли бактериологическое исследование мяса и субпродуктов проводится в случаях, предусмотренных действующей нормативной и технической документацией (ГОСТ 21237), 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.

По гигиеническим требованиям к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов (ТР/ТС034/2013, ТР/ТС021/2011) мясо должно иметь следующие микробиологические показатели:

Таблица 6.1 – Микробиологические нормативы безопасности продуктов убоя и мясной продукции ТР/ТС 034/2013

Наименование продукции	Показатели	Допустимые уровни, не более	Примечание
1	2	3	4
I. Мясо парное, охлажденное и замороженное. Полуфабрикаты охлажденные и замороженные (все виды			

продуктивных животных)			
1. Мясо парное и охлажденное:			
а) парное в тушах, полутушах, четвертинах, отрубях	количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	10	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 1 г	не допускаются	
б) парное в тушах, полутушах, четвертинах и отрубях для детского питания	количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	10	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 1 г	не допускаются	
в) охлажденное в тушах, полутушах, четвертинах, отрубях	количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	1 x 10 ³	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,1 г	не допускаются	
	бактерии рода <i>Proteus</i> в 0,1 г	не допускаются	для продукции со сроком годности более 7 суток
г) охлажденное в тушах, полутушах, четвертинах и отрубях для детского питания	количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	1 x 10 ³	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,1 г	не допускаются	
	бактерии рода <i>Proteus</i> в 1 г	не допускаются	
д) охлажденное в отрубях, упакованное под вакуумом или в модифицированную газовую атмосферу	количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	1 x 10 ⁴	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,01 г	не допускаются	
	дрожжи, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	1 x 10 ³	
	сульфитредуцирующие клостридии в 0,01 г	не допускаются	
2. Мясо замороженное:			
а) в тушах, полутушах, четвертинах, отрубях	количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq$ * $\geq$ /г, не более	1 x 10 ⁴	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,01 г	не допускаются	
б) в тушах и отрубях для	количество мезофильных	1 x 10 ⁴	

детского питания	аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более		
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,01 г	не допускаются	
в) блоки из мяса	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	5 x 10 ⁵	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,001 г	не допускаются	
г) блоки для детского питания	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	1 x 10 ⁵	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,001 г	не допускаются	
д) мясо механической обвалки (дообвалки)	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	5 x 10 ⁶ (пробоподготовка без фламбирования поверхности)	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,0001 г	не допускаются (пробоподготовка без фламбирования поверхности)	
3. Полуфабрикаты мясные для питания дошкольников и школьников	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	5 x 10 ⁵	для рубленых полуфабрикатов
	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	1 x 10 ⁵	для кусковых полуфабрикатов
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,001 г	не допускаются	
	S. aureus в 0,1 г	не допускаются	
	плесень, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	250	для полуфабрикатов в панировке
4. Полуфабрикаты мясные (мясосодержащие) бескостные (охлажденные, замороженные), в том числе в маринаде:			
а) крупнокусковые	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^*$ /г, не более	5 x 10 ⁵	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,001 г	не допускаются	
б) мелкокусковые	количество мезофильных	1 x 10 ⁶	

	аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более		
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,001 г	не допускаются	
5. Полуфабрикаты мясные (мясосодержащие) рубленые (охлажденные, замороженные):			
а) формованные, в том числе панированные	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более	5 x 10 ⁶	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,0001 г	не допускаются	
	плесень, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более	500	для полуфабрикатов панированных со сроком годности более 1 месяца
б) в тестовой оболочке, фаршированные	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более	2 x 10 ⁶	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,0001 г	не допускаются	
	плесень, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более	500	для полуфабрикатов со сроком годности более 1 месяца
в) фарш	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более	5 x 10 ⁶	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,0001 г	не допускаются	
6. Полуфабрикаты мясокостные (крупнокусковые, порционные, мелкокусковые)	количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ $\leq^* \geq$ /г, не более	5 x 10 ⁶	
	бактерии группы кишечной палочки (колиформы) в 0,0001 г	не допускаются	

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:

Для группы колбас фаршированных, ливерных, кровяных категории А и Б, зельцев категории А – не реже 1 раза в 15 дней.

1. Для вареных колбас категории А-В, мясных хлебов, сосисок, сарделек – 1 раз в 10 дней.

2. Для групп колбас ливерных и кровяных категории Б, зельцев категории Б, студней и паштетов – не реже 1 раза в 5 дней.

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

4. 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 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

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

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

5 Методика и порядок выполнения 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 % -м раствором сафранина для выявления капсул-возбудителя сибирской язвы. При окраске сафранином вегетативные клетки сибиреязвенных палочек окрашиваются в кирпично-красный цвет, а капсулы – светло-желтый (метод Ольта).

Обнаружение в мазках-отпечатках грамположительных палочек с обрубленными концами, а при окраске сафранином палочек или цепочек с капсулами или теней в мазках

из лимфатических узлов свиней со специфической для сибирской язвы патологоанатомической картиной дает предварительный ответ о наличии возбудителя сибирской язвы. Посев проводят на поверхность МПА и в МПБ.

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

При бактериологическом исследовании каждую пробу освобождают от жировой и соединительной тканей, погружают в спирт, затем вырезают стерильными ножницами из глубины различных мест кусочки 2 x 1,5 x 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 г.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 × 1,5 × 2,5 см, сделать мазки-отпечатки. Мазки

высушить на воздухе, зафиксировать и окрасить по методу Грама. Просмотреть каждый мазок под микроскопом с иммерсионным объективом не менее чем в 25 разных полях зрения микроскопа. При микроскопировании учитывают количество микробных клеток, подсчитывая отдельно количество, кокковых, палочковидных, дрожжевых и других микробных клеток в каждом просмотренном поле зрения. Затем определяют их среднее арифметическое количество на одном поле зрения микроскопа. Отмечают также наличие в полях зрения микроскопа следов распада мышечной ткани. В мазках-отпечатках свежего мяса в поле зрения микробных клеток нет или видны единичные клетки кокков и дрожжей (до 10 клеток). Следов распада мышечной ткани нет.

Для мяса с частично измененной свежестью мяса характерно наличие в поле зрения микроскопа не более 30 кокков, дрожжей или палочковидных клеток. Заметны следы распада мышечной ткани: ядра мышечных волокон в состоянии распада, исчерченность мышечных волокон слабо различима.

В мазках-отпечатках несвежего мяса поле зрения микроскопа усеяно большим количеством микробных клеток (более 30) с преобладанием палочковидных форм. Наблюдается значительный распад мышечной ткани, почти полное исчезновение мышечных ядер и исчерченности мышечных волокон.

5.3 Бактериологический контроль колбасных изделий

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°C МПА, быстро смешивая с внесенным раствором. Чашки Петри переворачивают и помещают в термостат для культивирования микробов при 30°C 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 18-20ч. При росте бактерий группы кишечной палочки на среде Кесслер в поплывке образуется газ.

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

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

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

колоний или почернение среды свидетельствует о присутствии сульфитредуцирующих клостридий.

Учет результатов посевов

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

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

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

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

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

6. Содержание отчета и его форма

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

7. Контрольные вопросы и защита работы

1. В каких случаях проводится бактериологическое исследование 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?
6. В каких случаях проводится бактериологическое исследование колбасных изделий?
7. Какова методика отбора проб колбасных изделий для анализа?
8. Как часто проводят бактериальный анализ колбасных изделий в зависимости от их вида и сорта?
9. Какие показатели определяют при бактериологическом исследовании колбасных изделий?
10. Каковы методики исследования колбас для выявления бактерий группы кишечной палочки, сальмонелл, протей, стафилококков, клостридий?

Лабораторная работа 7 Бактериологическое исследование консервов

1 Цель и содержание

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

Содержание работы:

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

2 Теоретическое обоснование

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

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

Показаниями к бактериологическому исследованию консервов являются:

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

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

Консервы	Допустимая норма микробных клеток в 1 мл
В собственном соку (Мясо тушеное)	100000
Мясо-растительные	20 000
Паштет мясной (печеночный)	10000
Рыбные консервы	10000
Консервы из морских продуктов	100000

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

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

При бактериологическом исследовании готовой продукции анализ общей бакобсемененности не проводят.

3 Аппаратура и материалы

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

Студент обязан выполнять правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории.

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 1 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 8

Бактериологическое исследование молока и молочных изделий

1. Цель и содержание

Цель работы: ознакомиться с методами бактериологического и микроскопического анализов молока и молочных продуктов. Изучить методику микроскопического исследования молока; ознакомиться и освоить методы бактериологического исследования молочных продуктов.

Содержание работы:

1. Ознакомиться с ГОСТ 26809.1-2014 Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу.
2. Изучить схему проведения бактериологического анализа молока.
3. Провести посев молока и молочных продуктов на соответствующие среды.
4. Провести учет результатов посевов из образцов молока и молочных продуктов.
5. Сделать выводы о качестве молока и молочных продуктов.

2 Теоретическое обоснование

Молоко и молочные продукты могут содержать различные микроорганизмы. При изготовлении кисломолочных продуктов в молоко после пастеризации добавляют закваску, которая характеризует специфическую микрофлору данного продукта. Неспецифическую микрофлору молока составляют гнилостные микробы, аэробные и

анаэробные бациллы, плесени и многие другие. Обсеменение молока микробами происходит уже в процессе дойки, и интенсивность его зависит от соблюдения санитарно-гигиенических условий при получении молока. Плохие условия хранения молока способствуют нарастанию в нем микрофлоры. Патогенные микроорганизмы могут попадать в молоко в процессе его получения и транспортировки из окружающей среды или могут содержаться в молоке больных животных (стафилококки, бруцеллы, микобактерии туберкулеза). Через молоко и молочные продукты могут передаваться возбудители различных заболеваний.

При санитарно-микробиологическом исследовании молока и других молочных продуктов производят определение:

- 1) общего количества бактерий (КМАФАнМ);
- 2) количества БГКП;
- 3) *S. aureus*;
- 4) патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы;
- 5) для некоторых видов молочных продуктов – *L. monocytogenes*, плесневые грибы и дрожжи;
- 6) по эпидемическим показаниям проводят бактериологическое исследование для выявления возбудителя заболевания, возникновение которого связывают с употреблением данного продукта.

Качество молока и молочных продуктов определяется в соответствии с показателями ТР/ТС 033/2013, ТР/ТС/021/2011 (табл. 7.1).

Таблица 7.1 – Микробиологические нормативы безопасности (патогенные)

Показатель	Группа продуктов	Масса продукта (г), в которой не допускается
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	Молоко и молочная продукция (кроме продуктов стерилизованных, ультрапастеризованных с асептическим фасованием), питательные среды для заквасок, молокосвёртывающие препараты, смеси сухие для мороженого	25 (50 - для концентрата лактулозы, белка молочного, казеина)
	Закваски	100 (жидкие), 10 (сухие)

3 Аппаратура и материалы

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

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

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

4 Указания по технике безопасности

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

5 Методика и порядок выполнения работы

Индивидуальное задание

5.1 Микробиологическое исследование молока

ПРОБА НА РЕДУКТАЗУ. Принцип метода. Проба основана на способности микроорганизмов выделять в молоко окислительно-восстановительные ферменты (редуктазу), обладающую восстановительными свойствами по отношению к используемому индикатору (резазурину или метиленовому голубому).

В пробирки наливают 10 см³ исследуемого молока, добавляют 1 см³ резазурина, закрывают резиновыми пробками и смешивают путем медленного 3-х кратного перевертывания пробирок. Пробирки помещают в редуктазник с температурой воды 37⁰С.

Момент погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа. Показания снимают через 20 мин. и 1 час.

В зависимости от продолжительности обесцвечивания молоко оценивают по показателям, указанным в таблице.

Клас с	Оценка качества молока	Продолжительность обесцвечивания	Ориентировочное кол-во бактерий в 1 см ³ молока
I	Хорошее	Более 5ч.30мин	до 500тыс.
II	Удовлетворительное	Более 2.до 5ч.30мин	от500тыс.до 4тыс
III	Плохое	Более20мин.до 2ч.	от 4млн.до 20млн
IV	Очень плохое	20мин. и менее	от 20млн и более

5.2 Подготовка молока к бактериальному посеву

Разведения молока выполняются в асептических условиях. Разводят молоко в физиологическом растворе в соотношении 1:10, 1:100, 1:1000 и т.д. Для этого 1 см³ молока стерильной вносят в 9 см³ физиологического раствора и получают разведения 1:10 (1 разведение).

Для получения разведений 1:100 (II разведение) 1 см³ разведения 1:10 вносят в пробирку с 9 см³ физиологического раствора. Таким же образом делают все последующие разведения, используя предыдущие.

5.3 ПОСЕВ РАЗВЕДЕНИЙ МОЛОКА НА ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

При глубинном посеве стерильной пипеткой вносят 1 см³ разведенной пробы на дно стерильной чашки.

В чашку выливают 15 см³ расплавленной и охлажденной до температуры 44–45⁰С питательной среды, тщательно перемешивают и оставляют для застывания среды.

При поверхностном посеве расплавленную питательную среду (МПА) предварительно разливают в чашки Петри. После застывания среды подсушивают ее поверхность, для чего чашку помещают в сушильный шкаф или термостат (температура 40–45⁰С) вверх дном, край чашки приподнимают и ставят на ободок крышки, затем подсушивают.

После подсушивания на поверхности питательной среды стерильной пипеткой выливают 0,1 см³ разведенной пробы и растирают по поверхности агара стерильным шпателем. Для каждого посева используют отдельную стерильную пипетку.

После посева чашки помещают в термостат вверх дном, чтобы не размывать колонии на агаре конденсационной водой в чашках.

Посев в жидкую среду пробирок производят бактериологической петлей или пипеткой на 0,1;1 см³.

Для определения количества микроорганизмов в 1 см³ молока и изучения качественного состава микрофлоры внести по 1 см³приготовленных разведений в питательные среды. Посевы поставит в термостат на выращивание.

5.4 Обработка результатов посева

Разведение (объем молока, см ³)	Количество колоний в чашке	Количество клеток в 1 см ³ молока
IV (0,0001)	250	250*10 ⁴ =2500000
V(0,00001)	33	33*10 ⁵ =3300000
VI (0,000001)	3	Не используется для расчета, т.к. колоний на чашке не менее 30

Количество клеток в 1 см³ молока (X) определяется по формуле:

$$X = n \times 10^m,$$

где: n – число колоний на чашке Петри, m – порядковый номер разведения.

5.5 Приготовление разведений питьевого молока

10 см³ и вносят в 90 см³ стерильного физиологического раствора. Получают разведение 1: 10 (I разведение). Последующие разведения готовятся в 9 см³ стерильного физиологического раствора, разлитого в пробирки, используя 1 см³ предыдущего разведения.

5.6 Посев питьевого молока

Посев питьевого молока для определения количества мезофильных, аэробных и факультативно – анаэробных микроорганизмов и бактерий группы кишечных палочек приведен в таблице.

Объем исследования	Определяемый показатель	Высеваемые разведения	Питательные среды	Режим культивирования
Молоко Пастеризованное	МАФАМ БГКП	II, III, IV. 0, I, II	Модифицированная Питательная Среда Кесслер	(30±1) °C 24ч (37±1)°C 24ч

5.7 Определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

МАФАМ в 1 см³ в единицах вычисляют по формуле:

$$X = n \times 10^m,$$

где n – число колоний на чашке, m – порядковый номер разведения.

Определяемый показатель	Разведение молока (объем молока см ³)	Кол-во колоний в чашке	Кол-во клеток в см ³	Кол-во клеток в см ³ молока (в среднем)
МАФАМ	II (0,01) III (0,001) IV (0,0001)	250 35 3	250*10 ² = 25000 35*10 ³ = 35000 Не используется для расчета, т.к. колоний на чашке не менее 30	30000

5.8 Определение бактерий группы кишечных палочек

При определении бактерий группы кишечных палочек посевом в жидкую среду Кесслер отмечают появление газа в среде.

Определяемый показатель	Разведение молока (объем молока см ³)	Рост на среде Кесслер	Результат
БГКП	0 (1) I (0,1) II (0,001)	+ + -	БГКП отсутствуют в 0,01см ³

5.9 Приготовление разведений кисломолочных продуктов

Разведение сметаны, кисломолочных напитков готовят подобно разведениям молока.

Кисломолочные напитки (кефир, простокваша) перед разведением нейтрализуют добавлением к 10 см³ 1 см³ 10 %- го стерильного раствора пищевой соды. Это необходимо для того, чтобы не подавлять рост микроорганизмов на питательных средах молочной кислотой, находящейся в продукте.

5.10 Посевы кисломолочных продуктов

Дрожжи и термоустойчивые молочнокислые палочки в сметане можно обнаружить посевом разведений в стерильное обезжиренное молоко. Если требуется определить наличие дрожжей, то посевы выдерживают при температуре 30⁰С, а если термоустойчивые палочки – при температуре 40–45⁰С.

После термостатирования в течение 24 ч. Просматривают микроскопические препараты из посевов сметаны и устанавливают наличие молочнокислых палочек или дрожжей.

5.11 Микроскопирование микробиологических препаратов.

Микроскопируют препараты кисломолочных продуктов объективом 90^x с иммерсионным маслом.

В микроскопическом препарате творога высшего сорта должны обнаруживаться только стрептококки, для творога 1 сорта допускается наличие единичных палочек.

При микрокопировании препарат сметаны высшего сорта должен иметь диплококки и кокки в цепочках, равномерно расположенные в поле зрения микроскопа.

В микропрепарате кефира – диплококки, стрептококки, палочки и 2 – дрожжинки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ. Бактерий группы кишечных палочек в сметане и твороге определяют по табл.13. приложения после просмотра посевов разведений продукта в среду Кесслер. Здесь учитывается наличие газа в поплавках.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ ДРОЖЖЕЙ. После термостатирования в течение 24 ч. Посевов сметаны в стерильное молоко, делают микробиологические препараты из посевов, окрашивают простым способом и микроскопируют, устанавливая наличие дрожжей или термостойкой молочнокислой палочки.

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

1. Как классифицируют кисломолочные продукты в зависимости от используемых для их производства микроорганизмов?
2. Какие микроорганизмы входят в состав закваски для кефира и кумыса?
3. Из каких видов микроорганизмов состоят закваски для творога, сметаны, простокваши, йогурта, варенца, ряженки?
4. Какими заквасками сквашивают молоко при производстве ацидофилина, ацидофильно-дрожжевого молока, ацидофильной пасты?
5. Как контролируют производство кисломолочных продуктов?

Таблица А.1 – Определение индекса бактерий группы кишечных палочек при исследовании 300 см³ воды

Количество положительных результатов воды из:			Коли-индекс	Предел индекса (дополнительные границы)		Коли-титр
трех флаконов по 100 см ³	трех пробирок по 10 см ³	трех пробирок по 1 см ³		нижний	верхний	
1	2	3	4	5	6	7
0	0	0	не менее 3	-	-	более 333
0	0	1	3	0,5	9	333
0	1	0	3	0,5	13	333
1	0	0	4	0,5	20	250
1	0	1	7	1	21	143
1	1	0	7	1	23	143
1	1	1	11	3	36	91
1	2	0	11	3	36	91
2	0	0	9	1	36	111
2	0	1	14	3	37	72
2	1	0	15	3	44	67
2	1	1	20	7	89	50
2	2	0	21	4	47	48
2	2	1	28	10	140	36
3	0	0	23	4	120	43
3	0	1	39	7	130	26
3	0	2	64	15	370	16
3	1	0	43	7	210	23
3	1	1	75	14	230	13
3	1	2	120	30	380	8
3	2	0	93	15	380	11
3	2	1	150	30	440	7
3	2	2	210	35	470	5
3	3	0	240	36	1300	4
3	3	1	460	71	2400	2
3	3	2	1100	150	4800	0,9
3	3	3	более 1100	-	-	менее 0,9

Таблица А.2 – Определение коли-индекса бактерий группы кишечных палочек при исследовании 500 см³ воды

Количество положительных результатов анализа воды из пяти флаконов по 100 см ³	Коли-индекс	Пределы индекса (доверительные границы)		Коли-титр
		нижний	верхний	
0	Менее 2	0	6,0	более 455
1	2	0,1	12,6	455
2	5	0,5	19,2	196
3	9	1,6	29,4	109
4	16	3,3	52,9	62
5	Более 16	8,0	-	менее 62

Примечание. Данные таблицы могут быть применены в тех случаях, когда воду на выходе в водопроводную сеть или из нее исследуют в объеме 500 см³.

Таблица А.3 – Определение коли-индекса при исследовании воды по этапам очистки, воды открытых водоемов

Объем исследуемой воды, см ³				Коли-индекс	Коли-титр
100	10	0,1	1,0		
1	2	3	4	5	6
-	-	-	-	менее 9	более 111
-	-	+	-	9	111
-	+	-	-	10	105
+	-	-	-	23	43
+	-	+	-	94	10
+	+	-	-	230	4
+	+	-	+	960	1
+	+	+	-	2380	0,4
+	+	+	+	более 2380	менее 0,4

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

Методические указания
для обучающихся по организации и проведению самостоятельной по дисциплине
«Микробиология пищевых продуктов»
для студентов направления подготовки
43.03.01 Сервис
направленность (профиль): «Гастрономия и сервис»

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 воспроизводит не только мысли оригинала, но и связь между ними, в конспекте отражается не только то, о чем говорится в работе, но и что утверждается, и как доказывается.

Существуют разнообразные виды и способы конспектирования. Одним из наиболее распространенных является, так называемый текстуальный конспект, который представляет собой последовательную запись текста книги или лекции. Такой конспект точно передает логику материала и максимум информации.

Общую последовательность действий при составлении текстуального конспекта можно определить таким образом:

1. Уяснить цели и задачи конспектирования.
2. Ознакомиться с произведением в целом: прочитать предисловие, введение, оглавление и выделить информационно значимые разделы текста.
3. Внимательно прочитать текст параграфа, главы и отметить информационно значимые места.
4. Составить конспект, для этого:
 - сделать библиографическое описание конспектируемого источника;
 - последовательно выделить в тексте тезисы и записать их с последующей аргументацией;

- написать краткое резюме – обобщить текст конспекта, выделить основное содержание проработанного материала, дать ему оценку.

Конспекты могут быть плановыми, пишутся на основе составленного плана статьи, книги. Каждому вопросу плана соответствует определенная часть конспекта.

Удобно в этом случае воспользоваться вопросным планом. В левой части страницы вы ставите проблемы, затронутые в книге в виде вопросов, а в правой части страницы даете на них ответы.

Очень удобно пользоваться схематичной записью прочитанного. Составление конспектов-схем служит не только для запоминания материала. Такая работа становится средством развития способности выделять самое главное, существенное в учебном материале, классифицировать информацию.

Схемы могут быть простыми, в которых записываются самые основные понятия без объяснений. Такая схема используется, если материал не вызывает затруднений при воспроизведении.

Действия при составлении конспекта – схемы могут быть такими:

1. Подберите факты для составления схемы.
2. Выделите среди них основные, общие понятия.
3. Определите ключевые слова, фразы, помогающие раскрыть суть основного понятия.
4. Сгруппируйте факты в логической последовательности.
5. Дайте название выделенным группам.
6. Заполните схему данными.

Те учащиеся, которые не могут положиться на свою память, должны иметь зрительную опору, которая является удобным способом проверки и запоминания информации.

Такой опорой может служить опорный конспект. Это творческий вид работы был введен в учебную деятельность Шаталовым В.Ф. известным педагогом-новатором и получил название «опорный сигнал». В опорном сигнале содержание информации «кодируется» с помощью сочетания графических символов, знаков, рисунков, ключевых слов, цифр и т.п. Такая запись учебного материала позволяет быстро и без труда его запомнить, мгновенно восстановить в памяти в нужный момент.

При любом виде конспектирования важно не забывать о том, что:

Записи полезно делить, для этого используются:

1. Подзаголовки.
2. Абзацные отступы.
3. Пробельные строки.

Всё это повышает удобочитаемость, организует запись.

При конспектировании нужно пользоваться оформительскими средствами:

1. Делать в тексте конспекта подчёркивания, а на полях тетради отчёркивания «например, вертикальные»
2. Заключать законы, основные понятия, правила и т.п. в рамки.
3. Пользоваться при записи различными цветами.
4. Писать разными шрифтами.

Методические рекомендации по выполнению презентации. Одним из актуальных и распространённых направлений внедрения использования информационных технологий в образовательный процесс учебного заведения являются мультимедийные презентационные технологии.

У термина презентация (от лат. praesento — передаю, вручаю или англ. present — представлять) два значения — широкое и узкое. В широком смысле слова презентация — это выступление, доклад, защита законченного или перспективного проекта, представление на обсуждение рабочего проекта, результатов внедрения и т.п. В узком смысле слова презентации — это электронные документы особого рода. Они отличаются

комплексным мультимедийным содержанием и особыми возможностями управления воспроизведением (может быть автоматическим или интерактивным). Далее этот термин будет использоваться в узком смысле этого слова.

Презентация наглядно отображает на экране в сжатом виде весь отобранный автором материал. Документы этого типа готовятся с помощью специальных программных средств, но при этом широко используются и традиционные универсальные средства, такие как текстовые и табличные процессоры, графические редакторы, средства обработки звуковой и видеоинформации.

Сравнение таких программных средств подготовки электронных презентаций, как Corel Presentation 9, Presentation и Microsoft PowerPoint позволило сделать выбор в пользу последнего — в силу его широкого распространения, доступности интерфейса при достаточно больших возможностях анимации предоставляемого материала, импорта различных графических приложений, видео- и звуковых материалов.

Общая характеристика основных структурных элементов презентации

Основной единицей электронной презентации в среде PowerPoint является слайд, или кадр представления информации, учитывающий эргономические требования визуального восприятия информации.

Каждая электронная презентация с одной стороны, должна быть в значительной степени автономным программным продуктом, а с другой — отвечать некоторым общим стандартам по своей внутренней структуре и форматам содержащихся в ней исходных данных (формат рисунков, дизайн таблиц и т.п.).

Обязательными структурными элементами, как правило, являются:

обложка;

титульный слайд;

оглавление;

основной материал (включая текст, схемы, таблицы, иллюстрации, графики);

информационные ресурсы по теме.

При этом содержательное наполнение указанных слайдов может быть прокомментировано следующим образом.

Обложка должна быть по возможности красочной. Для этого следует оформить ее с помощью графических вставок и фонов. Дизайн обложки должен способствовать улучшению эмоционального состояния человека и повышать его интерес к предмету.

Титульный слайд должен включать:

название темы;

информацию об образовательном учреждении;

сведения об авторе;

дату разработки;

информацию о местоположении информации в сети, на локальном компьютере и имя файла.

Оглавление является очень важным структурным элементом презентации. С одной стороны, оно должно быть достаточно подробным, чтобы обеспечивать оперативный доступ (через гипертекстовые ссылки) к ее сравнительно небольшим содержательным частям, с другой стороны, максимально обозримым, т.е. находиться на одном слайде. Практика показывает, что таким требованиям, как правило, удовлетворяет двухуровневое оглавление (разделы и подразделы).

Оглавление может представлять сокращенное графически-текстовое изображение содержания, помогающее понять структуру материала, идеи, заложенные в нем, и сопоставляющее отдельные фрагменты содержания презентации с некими графическими образами, способствующими ассоциативному запоминанию.

Основной материал в электронной презентации, как правило, представлен в краткой форме, что имеет достаточно веские основания для существования наряду с полным учебным материалом. Такое представление дает качественно иной ракурс для

рассмотрения содержания, что достаточно эффективно как на этапе вводных занятий по теме, так и на этапе обобщения и систематизации учебного материала.

Изложение содержания материала может осуществляться в виде текста, рисунков, таблиц, графиков и т.п. При этом графическое представление учебного материала позволяет передать необходимый объем информации при краткости его изложения.

Информационное обеспечение презентации удобно организовать в виде гипертекстовой системы, при которой фрагменты текста с элементами графики соединяются между собой с помощью специальных гиперсвязей в сеть. С помощью гиперссылок можно получить на экране дополнительную или поясняющую информацию, организовать многократное обращение к одним и тем же информационным объектам из разных мест презентации.

Каждый слайд, презентующий материал, как правило, содержит:

область отображения местоположения страницы в контенте презентации;

одно или несколько текстовых полей. Текст может включать небольшие графические вставки (формулы, графики, таблицы и т.п.);

область для размещения элементов управления на странице.

Следует выделить наиболее общие требования к средствам, формам и способам представления содержания самостоятельного материала в электронной презентации:

сжатость и краткость изложения, максимальная информативность текста;

объединение связанных информационных элементов в целостно воспринимающиеся группы;

каждому положению (каждой идее) должен быть отведен отдельный абзац текста;

основная идея абзаца должна находиться в самом начале (в первой строке абзаца).

Это связано с тем, что лучше всего запоминаются первая и последняя мысли абзаца;

предпочтительнее использование табличного (матричного) формата предъявления материала, который позволяет представить материал в компактной форме и наглядно показать связи между различными понятиями;

при проектировании характера и последовательности предъявления материала должен соблюдаться принцип стадийности: информация может разделяться в пространстве (одновременное отображение в разных зонах одного слайда) или во времени (размещение информации на последовательно демонстрируемых слайдах);

вся вербальная информация должна тщательно проверяться на отсутствие орфографических, грамматических и стилистических ошибок;

графика должна органично дополнять текст. Динамика взаимоотношений визуальных и вербальных элементов и их количество определяются функциональной направленностью материала.

При этом большие иллюстрации могут храниться в отдельном альбоме рисунков (графиков, схем, фотографий), оформляемом в виде самостоятельного модуля презентации.

2 Организация и руководство аудиторной самостоятельной работы

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

Основными видами аудиторной самостоятельной работы являются:

- выполнение лабораторных/практических работ по инструкциям;

- работа с литературой и другими источниками информации, в том числе электронными;

- само- и взаимопроверка выполненных заданий;

- решение проблемных и ситуационных задач.

Выполнение лабораторных работ осуществляется на лабораторных занятиях в соответствии с графиком учебного процесса.

Для обеспечения самостоятельной работы преподавателями разрабатываются методические указания по выполнению лабораторной работы.

Работа с литературой, другими источниками информации, в т.ч. электронными может реализовываться на семинарских занятиях. Данные источники информации могут быть представлены на бумажном и/или электронном носителях, в том числе, в сети Internet.

Преподаватель формулирует цель работы с данным источником информации, определяет время на проработку документа и форму отчетности. Само и взаимопроверка выполненных заданий чаще используется на семинарском, практическом занятии и имеет своей целью приобретение таких навыков как наблюдение, анализ ответов сокурсников, сверка собственных результатов с эталонами.

Решение проблемных и ситуационных задач используется на лекционном, семинарском, практическом и других видах занятий. Проблемная/ситуационная задача должна иметь четкую формулировку, к ней должны быть поставлены вопросы, ответы на которые необходимо найти и обосновать.

Критерии оценки правильности решения проблемной/ситуационной задачи должны быть известны всем обучающимся.

Методические рекомендации по выполнению лабораторных/практических занятий. Прежде чем приступить к выполнению лабораторного и практического занятия, необходимо: тщательно изучить содержание работы и порядок ее выполнения; повторить теоретический материал; подготовить таблицы для занесения результатов наблюдений и вычислений.

Работы выполняются в лабораториях кафедры в часы занятий по расписанию.

Лабораторные работы выполняются бригадами, обычно из 2-5 человек. В процессе работы каждый член бригады выполняет определенные обязанности. В последующих работах эти обязанности должны меняться так, чтобы каждый член бригады смог приобрести навыки по различным видам работ лабораторного исследования. При завершении работы студенты составляют письменный отчет о выполнении работы.

Требования к отчетам по лабораторным и практическим занятиям. Отчеты по лабораторным и практическим занятиям следует оформлять в тетради для каждого студента отдельно.

Отчет выполняется рукописным способом пастой синего цвета, четко и аккуратно или с применением печатающих устройств вывода ЭВМ (ПК).

Чертежи, схемы, рисунки и таблицы следует выполнять карандашом, по линейке (при ручном вычерчивании).

Ответы на контрольные вопросы прописываются в отчете и могут быть оформлены как на занятии, аудиторно, так и дома, внеаудиторно.

Отчет по каждой работе должен содержать:

- наименование работы;
- цель работы;
- основные приборы, материалы и оборудование;
- схемы (чертежи, рисунки), таблицы измерений, расчетов при необходимости;
- методы исследования;
- расчеты;
- графический материал (графики, характеристики, диаграммы) при необходимости;
- анализ полученных данных и выводы по работе;
- ответы на контрольные вопросы.

Критерии оценки:

- наличие отчета с правильно и аккуратно выполненными записями, таблицами, рисунками, чертежами, графиками, вычислениями и выводами;
- степень самостоятельности студента при выполнении работы;

- четкость проведения опыта в условиях и режимах, обеспечивающих получение результатов и выводов с наибольшей точностью;
- соблюдение требований безопасности труда;
- знание студентом ответов на контрольные вопросы.

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.