

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО



МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
ЩОДО ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«ХАРЧОВА БІОТЕХНОЛОГІЯ»
ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДЕННОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ
ЗА НАПРЯМОМ 6.051401– «БІОТЕХНОЛОГІЯ»

КРЕМЕНЧУК 2017

Методичні вказівки щодо практичних робіт з навчальної дисципліни
«Харчова біотехнологія» для студентів денної форми навчання за напрямом
6.051401 – «Біотехнологія»

Укладачі: к. т. н., доц. А. В. Пасенко,
старш. викл. О. О. Никифорова
Рецензент: д. б. н., проф. В. В. Никифоров

Кафедра біотехнології та здоров'я людини

Затверджено методичною радою Кременчуцького національного університету
імені Михайла Остроградського

Протокол №__ від_____2017 р.

Голова методичної ради

проф. В. В. Костін

ЗМІСТ

Вступ.....	4
1 Перелік практичних занять.....	6
Практичне заняття № 1 Методи визначення безпеки харчових продуктів за мікробіологічними показниками.....	6
Практичне заняття № 2 Вивчення впливу кислотності на розвиток біоагента у виробництві харчових продуктів.....	20
Практичне заняття № 3 Вивчення впливу температури на розвиток біоагента у виробництві харчових продуктів.....	21
Практичне заняття № 4 Вивчення впливу антибіотиків і фітонцидів на розвиток біоагенту при виробництві харчових продуктів.....	25
Практичне заняття № 5 Вивчення впливу антисептиків на розвиток біоагента під час виробництва харчових продуктів.....	29
2 Критерії оцінювання знань студентів.....	31
Список літератури.....	32

ВСТУП

Мета викладання навчальної дисципліни «Харчова біотехнологія» – формування системи спеціальних теоретичних знань і практичних навичок для розв’язання основних завдань, що пов’язані з організацією роботи щодо виробництва, зберігання, закупівлі і реалізації харчових продуктів, отриманих застосуванням біотехнології, які необхідні для діяльності майбутніх фахівців вищої кваліфікації.

Завдання навчальної дисципліни: надання студентам необхідних для їх спеціальності знань, пов’язаних з вивченням біотехнологічних принципів, методів і підходів під час виробництва груп і окремих харчових продуктів.

Перелік професійних компетенцій, яких має набути бакалавр:

Знання і розуміння:

- сутності біотехнології харчових продуктів;
- особливостей, етапів і методів біотехнології харчових продуктів;
- загальних і спеціальних методів біотехнології харчових продуктів;

Студент повинен **уміти:**

- складати акт відбору проб для аналізів;
- визначати показники якості, включені в стандарти;
- заповнювати картки аналізу харчових продуктів;
- робити аргументований висновок про якість харчових продуктів;
- ідентифікувати якісні характеристики «біотехнологічних» харчових продуктів;
- ідентифікувати якісні характеристики «біотехнологічних» харчових продуктів.

знати:

- класифікацію і асортимент харчових продуктів;
- принцип відбору проб і сутність методів визначення показників якості.

Застосування знань і розумінь:

- уміння визначати основні характеристики харчових продуктів

виготовлених методами біотехнології;

– уміння визначати найбільш перспективні біотехнологічні процеси виготовлення харчових продуктів;

– уміння визначати асортиментів товарів, виготовлених методами біотехнології;

– уміння характеризувати товари, виготовлені методами біотехнології;

– уміння контролю якості товарів, виготовлених методами біотехнології.

Формування суджень:

– здатність визначити та надавати характеристику основним харчовим продуктам виготовлених методами біотехнології;

– здатність оцінити стан і перспективи розвитку виробництва харчових продуктів виготовлених методами біотехнології;

– здатність прогнозувати тенденції розвитку технологій виробництва харчових продуктів виготовлених методами біотехнології.

Методичні рекомендації розроблено відповідно до програми та робочої програми навчального курсу. Мета методичних рекомендацій – надати студентам допомогу під час вивчення дисципліни, зорієнтувати на основні змістовні питання навчального курсу, ознайомити їх з основами виробництва, зберігання, закупівлі і реалізації харчових продуктів, законодавства для раціональної організації технологічного процесу, чинного нормативною документацією на сировину, продукцію та виробництва.

ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

Практичне заняття № 1

Тема. Методи визначення безпеки харчових продуктів за мікробіологічними показниками

Мета: набути навичок відбору проб харчових продуктів і підготовки їх до аналізу; визначення загальної кількості мікроорганізмів у продукції.

Навчальні елементи: мезофільні мікроорганізми, аеробні мікроорганізми, факультативно-анаеробні мікроорганізми, поліміксин, преципітат, психротрофні мікроорганізми, сульфїтредукуючі клостридїї.

Короткі теоретичні відомості

1 Проби, відбір і підготовка до аналізу

Для мікробіологічних випробувань відбирають одиниці продукції, що не мають за зовнішніми ознаками дефектів упакування і продукту.

Пробою називають порівняно невелика кількість досліджуваного матеріалу, відібраного як суму проб з різних місць пакування або його тари. У будь-якій партії продуктів з різних місць відбирають вибірку (кількість проб, відібраних для контролю з партії або потоку продукції), що складається не менше ніж із трьох проб. Кожну відібрану пробу маркують відповідно до коду контрольованої партії та нумерують.

За результатами відбору проб складають протокол, у якому зазначають: номер протоколу; місце, дату і час відбору проб; мету мікробіологічного аналізу; найменування продукту, виготовлення, тип тари; дату виготовлення, зміну і номер партії; результати органолептичного огляду і виявлені дефекти тари і продукту.

Проби зберігають до початку аналізу за кімнатної температури не більше 24 год, продукти, що швидко псуються – при температурі від 0 до +5 °С не більше 6–8 год, швидкозаморожені – за температури – 12–18 °С не більше 24 год. Потім зважують наважку. Для готування вихідного розбавлення наважку (10 г) переносять у стерильну колбу зі стерильним пептонно-сольовим розчином

(90 см³). Перемішують, дають відстоятись 4–5 хв, одержують 10⁻¹ розбавлення. Для висівання в поживні середовища використовують розбавлення наважки, що дозволяють одержати в чашці Петрі від 30 до 300 колоній.

2 Методи визначення окремих груп мікроорганізмів

Визначення загальної кількості мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ)

Метод заснований на посіві визначеної кількості продукту або цього розбавлення в агаризоване поживне середовище, культивуванні посівів в аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів і перерахування їхньої кількості на 1 г (см³) продукту.

Визначення кількості бактерій *Staphylococcus aureus*

Метод заснований на посіві визначеної кількості продукту або його розбавлень у ряд пробірок з рідким елективним середовищем, культивування посівів за 37° С упродовж 48 год. Обліку позитивних пробірок і визначенні найбільш ймовірного числа в 1 г (см³) продукту грамнегативних коків, здатних коагулювати плазму крові кролика.

3 Визначення кількості пліснявих грибів і дріжджів

Метод заснований на посіві визначеної кількості продукту або його розбавлень у селективне агаризоване середовище, культивуванні посівів в аеробних умовах при 24° С впродовж 5 днів, підрахунку всіх видимих колоній пліснявих грибів і дріжджів, типових по макро + і (або) мікроскопічній морфології перерахуванні їхньої кількості на 1 г (см³) продукту.

4 Визначення кількості бактерій *Bacillus cereus*

Підготовлену пробу продукту висівають поверхневим методом паралельно в дві чашки Петрі з попередньо підсушеним селективним середовищем з поліміксином. Посіви інкубують за 30° С на 24–28 годин. Через 24 години попередньо і через 48 годин остаточно проводять вивчення характерних колоній *B. cereus*: круглі, опуклі, яскраво-червоні, рубінові оточені широкою зоною білого преципітату. Мікроскопують за Грамом. Із колонії роблять пересів у пробірки зі скошеним м'ясопептоновим агаром, що містить 1 % глюкози.

Посів термостатують при 30° С впродовж 18–24 години. *B. cereus* на скошеному агарі росте у вигляді суцільного борошнистого нальоту білого кольору. Культури, що вирости вивчають за тестами: визначення рухливості, виділення ацетилметилкарбінолу (ацетону), ферментація маніту та проводять оцінювання результатів досліджень.

5 Визначення ентерококів

Метод заснований на висіванні певної кількості продукту або його розведенні в пробірках з рідким елективним середовищем, культивуванні посіву за 37° С упродовж 48 годин, обліку позитивних пробірок і визначенні грам позитивних, каталазонегативних диплококів, здатних рости за температури 45° С, рН 9,6, за наявності 40 % жовчі і 6,5 % натрій хлориду.

6 Визначення кількості психотрофних мікроорганізмів

Метод заснований на посіві певної кількості продукту або його розведенні на агаризоване поживне середовище, культивування посівів в аеробних умовах за температури 5° С упродовж 10 днів, підрахунку всіх колоній психотрофних мікроорганізмів, що вирости, і в перерахуванні їхньої кількості на 1 г (см³) продукту.

7 Визначення молочнокислих бактерій

Метод заснований на висіванні певної кількості продукту або його розбавлення в селективно-діагностичне агаризоване середовище з карбонатом кальцію, культивуванні посівів в аеробних умовах за 30° С упродовж 72 год, підрахунку колоній грам-позитивних, каталазо негативних паличок, які вирости, – *Lactobacillus*, *Sporobactobacillus* і коків родів: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, які ферментують вуглеводи з утворенням молочної (гомо ферментативні) і/або молочної кислоти, жирних кислот і CO₂ (гетероферментативні).

8 Визначення мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів посівом у рідке середовище

Метод поширюється на всі види консервів, що не містять у 1 г (см³) або іншій масі (об'ємі) продукту життєздатних клітин аеробних або факультативно-анаеробних мікроорганізмів, які належать до спороутворювальних бактерій роду

Bacillus, під час визначення промислової стерильності і стерильності консервів.

Метод заснований на посіві певної кількості продукту в рідке поживне середовище, культивуванні посівів в аеробних умовах за температури 30° С упродовж 5 днів, обліку посівів з видимими ознаками росту мікроорганізмів (помутніння середовища, осад, утворення газу, плівка та ін.), визначенні у культур, що вирости, здатності до утворення спор і каталази в аеробних умовах, відношення до фарбування за Грамом і, якщо потрібні, наявності патогенних (токсичних) властивостей.

9 Визначення кількості мезофільних сульфїтредукуючих клостридій

Метод заснований на посіві певної кількості продукту або його розведенні в ряд пробіраках з напіврідким селективно-діагностичним середовищем, культивуванні посівів в анаеробних умовах за 37° С упродовж 48–72 год, обліку позитивних пробірок і визначенні найбільш ймовірного числа в 1 г (см³) продукту грам позитивних, каталазо негативних рухливих паличок, що утворюють яйцеподібні або кулясті центральні, субтермінальні або термінальні спори і відновлюють сульфїт.

10 Визначення кількості бактерій *Clostridium perfringens*

Метод заснований на посіві певної кількості продукту або його розбавлення в ряд пробірок з напіврідким селективно-діагностичним середовищем, культивуванні посівів в анаеробних умовах за температурі 37° С упродовж 20–14 год, обліку позитивних, каталазо негативних, нерухомих, зі спорами і без спор паличок, що ферментують лактозу, розріджують желатин, редукують нітрати і лакмусове молоко.

Хід роботи

1. Проби, відбір і підготовка до аналізу.

Провести відбір і підготовку до аналізу проб відповідно до технологій.

2. Методи визначення окремих груп мікроорганізмів

Визначення загальної кількості мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ)

На 1 см³ продукту і/або його розбавлення висівають одночасно в дві

стерильні чашки Петрі. У кожену чашку Петрі, що містить інокулюм, додають через 15 хв розбавлене і охолоджене до 45° С агаризоване поживне середовище (МПА чи МПА з глюкозою). Середовище негайно і рівномірно перемішують з посівним матеріалом і залишають для застигання в горизонтальному положенні.

Після застигання агаризованого середовища посіви інкубують, поставивши чашки дном до гори, за 30° С упродовж 72 год. На чашках де вирости від 30 до 300 колоній, підраховують усі колонії, підсумовують і знаходять середнє арифметичне.

Отримане середнє арифметичне число колоній округлюють:

– якщо менше 100, його округлюють до найближчого числа, що ділиться на 5;

– якщо більше 100 і його остання цифра 5, округлюють до найближчого числа, що ділиться на 20;

– якщо більше 100 і його остання цифра не 5, округлюють до найближчого числа, що ділиться на 10.

Кількість мікроорганізмів у 1 г (см³) продукту обчислюють множенням округленого середнього арифметичного числа колоній на розбавлення наважки і діленням на кількість внесеного посівного матеріалу (маса, обсяг) у чашку.

Визначення бактерій групи кишкової палички (БГКП) посівом у рідкі середовища.

При 1 см³ розбавлення і по 1 г нерозведеного продукту висівають паралельно в три пробірки, що містять по 9 см³ одного з рідких середовищ із трубками Дархема (поплавцями). Традиційним накопичувальним середовищем є середовище Кесслера, можна використовувати бульйон Мак-Конки, середовище Кода, жовчно-лактозне середовище з брильянтовим зеленим.

Посів інкубують за 37° С упродовж 48 год. Пробірки переглядають через 24 год і реєструють ті з них, у яких відзначений ріст мікроорганізмів (помутніння середовища, зміна кольору та інші ознаки). Остаточний облік проводять через 48 год, і пробірки де є ріст мікроорганізмів використовують у подальших дослідженнях.

Потім мікроорганізми пересівають на щільні діагностичні середовища. Під час визначення БГКП користуються переважно середовищем Ендо або лактозним агаром з кристал-віолетом, нейтрально червоним та жовцю. Посіви термостатують за 37 °С упродовж 24 год.

Через 24 год витримки посівів на щільному середовищі їх проглядають і відзначають ріст колоній: на середовищі Ендо – плоскі або злегка опуклі або з валиком, червоні з різною інтенсивністю забарвлення, з металевим або без металевих блиску. З підозрілих колоній роблять фіксований препарат, фарбують за Грамом і мікроскопують. У разі виявлення грамнегативних паличок вважають, що в продукті наявні БГКП.

Визначення кількості бактерій *Staphylococcus aureus*

При 1 см³ розбавлення і по 1 г нерозведеного продукту висівають паралельно в три пробірки, що містять по 9 см³ середовища виділення (сольовий чи цукровий бульйон).

Посів інкубують за 37° С упродовж 48 год. Через 24 год посіви переглядають і відзначають пробірки, у яких є ріст мікроорганізмів. Остаточний облік роблять через 48 год.

Потім мікроорганізми пересівають на підтверджуюче середовище (молочно-сольовий агар чи жовтково-сольовий агар). Посіви інкубують за 37° С упродовж 24–48 год.

Через 24 год попередньо і через 48 год остаточно проводять вивчення характерних колоній *Staphylococcus aureus*: на середовищі жовтково-сольовому агарі – великі, плоскі, блискучі, оточені райдужною зоною; на жовтковому агарі – непрозорі, пофарбовані – від білого до жовтогарячого кольору, 2–4 мм у діаметрі. Роблять фіксований препарат, забарвлюють за Грамом і мікроскопують. Стафілококи забарвлюється за Грамом позитивно, мають кулясту форму і розташовуються скупченням.

3 Визначення кількості пліснявих грибів і дріжджів

Маса (об'єм) наважки для готування вихідного розбавлення має становити не менше 10 г (см³), а для безпосереднього посіву в поживні середовища – не

менше 1 г (см³). Із наважки продуктів готують вихідне і ряд десятикратних розбавлень.

По 1 см³ продукту або його розбавлень висівають паралельно в дві чашки Петрі. У кожну чашку Петрі, що містить продукт або його розбавлення, додають не пізніше ніж через 15 хв. 14–15 см³ розплавленого й охолодженого до 45° С агаризованого середовища (сусло – агар з антибіотиком чи середовище Сабуро з антибіотиком). Посіви в чашках Петрі ретельно перемішують обертальним рухом і залишають на столі в горизонтальному положенні для застигання.

Після застигання для запобігання висиханню агару залишають посіви кришками до гори і терmostатують за температури 24 °С упродовж 5 днів. Через 3 дні терmostатування проводять попередній облік типових колоній, через 5 днів – остаточний. Через 5 днів переглядають посіви і відбирають чашки, на яких виросло від 5 до 50 ізольованих колоній пліснявих грибів або від 15 до 150 дріжджів.

Результати оцінюють для кожної проби окремо. Уточнюють кількість пліснявих грибів на чашках, де виросло від 5 до 50 колоній, і (або) дріжджів – від 15 до 150 колоній – і перераховують на на 1 г (см³) продукту.

Для цього знаходять середнє арифметичне число колоній цвілевих грибів і (або) дріжджів, округляють його відповідно до методу 1 для визначення великої кількості бактерій, множать на ступінь розбавлення і ділять на кількість посівного матеріалу (маса, об'єм), унесеного в чашку.

Кількість пліснявих грибів і дріжджів записують у вигляді числа: (від 1 до 9,9) 10ⁿ. Наприклад, 150 клітин у 1 г записують як 1,5·10² КУО / г.

Результати записують як «виявлені (не виявлені) плісняві гриби і (або) дріжджів в аналізованій масі продукту».

4 Визначення кількості бактерій *Bacillus cereus*

Підготовлену пробу продукту висівають поверхневим методом паралельно в дві чашки Петрі з попередньо підсушеним селективним середовищем з поліміксином. Посіви інкубують за 30° С на 24–28 годин. Через 24 години попередньо і через 48 годин остаточно проводять вивчення характерних колоній

B. cereus: круглі, опуклі, яскраво-червоні, рубінові оточені широкою зоною білого преципітату. Мікроскопують за Грамом.

З колонії роблять пересів у пробірки зі скошеним м'ясопептоновим агаром, що містить 1 % глюкози. Посів термостатують за 30° С упродовж 18–24 години. *B. cereus* на скошеному агарі росте у вигляді суцільного борошнистого нальоту білого кольору.

Культури, що вирости вивчають за тестами: визначення рухливості, виділення ацетилметилкарбінолу (ацетону), ферментація маніту та проводять оцінювання результатів досліджень.

5. Визначення ентерококів.

Із наважки продукту готують вихідне і ряд десятикратних розбавлень до такого ступеня, щоб останнє розбавлення давало негативний результат. По 1 см³ розбавлення або, якщо потрібно, по 1 г нерозведеного продукту висівають паралельно в три пробірки, що містять по 9 см³ азидно-глюкозного бульйону або лужного ентерококового середовища.

Посіви термостатують за 37° С упродовж 48 годин. Посіви переглядають через 24 години і реєструють пробірки, у яких відзначений ріст мікроорганізмів, що виявляється у зміні кольору середовища на жовтий, помутнінні та інших ознаках.

Остаточний облік проводять через 48 годин (проводять пересіви на підтвердження середовище, з колоній роблять препарат, фарбують за грамом і мікроскопіюють, культури, що вирости на скошеному агарі, вивчають за такими тестами: утворення каталази, вивчення росту за температури 45° С, визначення росту в середовищі з 6,5 % натрій хлориду, проводять оцінювання результатів досліджень).

6 Визначення кількості психротрофних мікроорганізмів

Маса (об'єм) наважки, призначена для готування вихідного розбавлення має становити не менше 10 г (см³), а для безпосереднього висіву в поживні середовища – не менше 1 г (см³). З наважки готують вихідне і ряд десятикратних послідовних розбавлень. По 1 см³ його розбавлення висівають у дві стерильні

чашки Петрі, до кожної чашки через 15 хв уносять 18–20 см³ розплавленого і охолодженого до 45° С поживного середовища.

Посіви негайно і рівномірно перемішують і залишають для застигання в горизонтальному положенні. Після застигання агаризованого середовища посіви інкубують, поставивши чашки догори дном, за температури 5° С упродовж 10 днів.

Результати оцінюють за кожною пробою окремо. На чашці, де виросло від 30 до 300 колоній, підраховують усі колонії, підсумовують і знаходять середнє арифметичне.

Кількість мікроорганізмів у 1 г (см³) продукту обчислюють множенням округленого середнього арифметичного числа колоній на розбавлення наважки і діленням на кількість посівного матеріалу (маса, об'єм), унесеного в чашку. Наприклад, округлене середнє арифметичне число колоній із двох чашок, засіяних по 1 см³ з 10⁻³ розбавлення, дорівнювало 220. Загальна кількість мікроорганізмів записують у вигляді числа: (від 1 до 9,9) 10. Наприклад, 220,000 клітин у 1 г записують як 2,2 10⁵ КУО/г.

Результати записують як «виявлені (не виявлені) психротрофні мікроорганізми аналізованій масі продукту».

7. Визначення молочнокислих бактерій.

З наважки продукту готують вихідне і ряд десятикратних розбавлень. По 1 см³ продукту і (або) його відповідного розбавлення висівають паралельно в дві стерильні чашки Петрі. У кожну чашку Петрі, що містить інокулюм, додають не пізніше ніж через 15 хв 18 см³ розплавленого й охолодженого до 45° С середовища Блікфельдта, середовища МРС або капустяний агар. Для визначення присутності і підрахунку кількості бактерій роду:

- *Lactobacillus* проводять посів глибинним методом на середовище МРС;
- *Leuconostoc* проводять посів глибинним методом на середовище поживний агар з сахарозою;
- *Streptococcus* проводять посів глибинним методом на середовище Редді;
- *S. Thermophilus* використовують середовище Lee;

– *Pediococcus* проводять посів глибинним методом на середовище Бригс у модифікації Шарп.

Середовище негайно і рівномірно перемішують з посівним матеріалом і залишають для застигання в горизонтальному положенні. Після застигання агаризованого середовища посіви термостатують, поставивши чашки догори дном, за 30° С упродовж 72 год.

Через 48 год попередньо і через 72 год остаточно переглядають посіви, відбирають чашки, на яких виросло від 15 до 150 колоній, оточених прозорою зоною, що можуть бути молочнокислими бактеріями. Із колоній роблять препарати, фарбують за Грамом і мікроскопують. Молочнокислі бактерії є грам позитивними коками і паличками.

На чашках, де виросло від 15 до 150 типових колоній молочнокислих бактерій, підраховують усі колонії, підсумовують і знаходять середнє арифметичне.

Отримане середнє арифметичне число колоній округлюють відповідно до методу загального підрахунку мікроорганізмів.

Кількість молочнокислих бактерій у 1 г (см³) продукту обчислюють множенням округленого середнього арифметичного числа колоній на розбавлення наважки і діленням на кількість посівного матеріалу, унесеного в чашку Петрі.

Загальну кількість молочнокислих бактерій у 1 г (см³) записують у вигляді числа: (від 1 до 9,9)·10. Наприклад, 1500 клітин у 1 г записують як 1,5·10³ КУО/г. Під час застосування методу посіву продукту безпосередньо в рідке поживне середовище результат записують як «виявлені (не виявлені) молочнокислі бактерії – збудники псування в аналізованому продукті».

8. Визначення мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів посівом у рідке середовище.

Маса (об'єм) наважки для безпосереднього висіву консервів на промислову стерильність має бути не менше 2 г (см³).

При визначенні промислової стерильності консервів по 1 г (см³) продукту висівають у 2 пробірки, що містять по 5–6 см³ рідкого поживного середовища.

Посіви термостатують за 30° С упродовж 5 днів, щодня спостерігаючи за появою ознак росту мікроорганізмів. Результати оцінюють за кожною пробою окремо. Відсутність росту будь-яких мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів у 2 г (см³) кожної з проаналізованих проб консервів свідчить відповідно про їхню стерильність або промислову стерильність.

Результати аналізів досліджуваних продуктів записують як «виявлені (не виявлені) мезофільні аероби і факультативно-анаеробні бактерії роду *Bacillus* і (або) інші аеробні і факультативно-анаеробні мікроорганізми, що мають або не мають патогенні (токсигенні) властивості».

9. Визначення кількості мезофільних сульфїтредукуючих клостридій

Маса (об'єм) наважки, призначеної для приготування вихідного розбавлення, має становити не менш 10 г (см³), а для безпосереднього висіву в поживні середовища – не менше 1 г (см³). З наважки продукту готують вихідне і ряд десятикратних розведень до такого ступеня, щоб останнє розбавлення давало негативний результат.

По 1 см³ і (або), якщо необхідно, 1 г нерозведеного продукту висівають паралельно в три пробірки, що містять по 10–12 см³ напіврідкого сульфїт залізного агару або поліпшеного клостридіального середовища із сульфїтредукуючими розчинами. Середовища в пробірках перед посівом регенерують, підігріваючи їх у киплячій водяній бані 10–12 хв і швидко охолоджують до 45° С.

Під виконання аналізу на визначення в досліджуваному матеріалі кількості спор сульфїтредукуючих клостридій посів проводять у пробірки з селективно-діагностичним середовищем, нагрітим до 80° С, потім посіви витримують протягом 20 хв у водяній бані за температури 80° С. через 20 хв пробірки з посівами витягають з водяної бані, швидко охолоджують у проточній воді до 45° С. Посіви термостатують за 37° С впродовж 48–72 год, переглядають через 48 год і реєструють позитивні пробірки. Остаточний облік проводять через 72 год.

Позитивними вважають такі пробірки, у яких є ріст колоній, чорний або сіро-чорний кольори на глибині не менше 1 см від поверхні середовища або

дифузійне почорніння середовища. З кожної позитивної пробірки роблять препарати, фарбують за Грамом і мікроскопують.

Визначення каталазної активності. Культури з позитивних пробірок вивчають за реакцією з 3 % розчином пероксиду гідрогену (H_2O_2).

Сульфїтредукуючі клостридїї є каталазнонегативними.

Визначення відновлення сульфїту. Культуру з кожної позитивної пробірки пересївають у 2 пробірки, одна з яких містить 10–12 cm^3 , а інша 5–7 cm^3 середовища для визначення сульфїтредукуючої здатності клостридїй. Посїви термостатують за температури 37° С упродовж 48 год в анаеробних і аеробних умовах. Для створення анаеробних умов на посїви в пробірки з високим стовпчиком нашаровують голодний (водний) агар або вазелїнову олію висотою 1,5–2 см.

Клостридїї в процесі росту відновлюють натрію сульфїт (Na_2SO_3), у натрію сульфїд (Na_2S), що, з'єднуючись із хлорним (або цитратним) залїзом, утворює чорний осад сірчистого залїза (FeS).

Сульфїтредукуючі клостридїї зумовлюють почорніння середовища в пробірках з високим стовпчиком, а анаеробних умовах і не дають почорніння в пробірках з низьким стовпчиком в аеробних умовах.

Результати оцїнюють за кожною пробою окремо. Пробірки, у яких підтверджений рїст грам + позитивних, каталазо негативних паличок з центральними субтермінальними спорами або без спор, що спричиняють відновлення натрію сульфату, вважають позитивними, тобто в них присутні сульфїтредукуючі клостридїї.

10. Визначення кількості бактерїй *Clostridium perfringens*.

Маса (об'єм) наважки для готування вихідного розбавлення має становити не менше 10 cm^3 , а для безпосереднього висїву не менше 1 cm^3 . Із наважки продукту готують вихідне і ряд послїдовних розбавлень до такого ступеня, щоб останнє розбавлення давало негативний результат. По 1 cm^3 розбавлення і (або) якщо потрібно, нерозведеного продукту висївають паралельно у 3 пробірки, що містять по 9 cm^3 клостридїального середовища. Якщо проводять виявлення, а не

кількісний облік бактерій *Clostridium perfringens*, то досліджуваний продукт визначеної маси (об'єму) висівають безпосередньо в середовище виділення.

Посіви інкубують за 37° С упродовж 20–24 год в анаеробних умовах, що створюються нашаровуванням розплавленого й охолодженого до 45° С водного агару висотою 1,5–2 см. Через 20–24 год посіви переглядають і відмічають пробірки, у яких відбулося почорніння середовища або ріст чорних колоній.

З кожної пробірки, у якій визначене почорніння середовища, роблять пересівання на поверхню щільного клостридіального середовища таким чином, щоб одержати ріст ізольованих колоній. Посіви інкубують за 37° С упродовж 24 год в анаеробних умовах, нашаровуючи на посіви в чашках водний агар шаром не менше 2 мм.

Через 24 год з колоній (чорні або темно-сірі, гладкі, блискучі у формі двоопуклої лінзи, грудочки вати або «літака») роблять препарати, фарбують за Грамом і мікроскопують.

Clostridium perfringens забарвлюються за Грамом позитивно, мають форму коротких товстих паличок з заокругленими кінцями, розташовуються поодиночі, попарно, у вигляді ланцюжків або скупчень.

Культури грам – позитивних паличок вивчають за реакцією на каталазу. Культури, що не утворюють фермент каталазу. Культури, що не утворюють фермент каталазу, не зумовлюють появлення пухирців газу, тобто реакція негативна. *Clostridium perfringens* дають негативну реакцію.

Із 5 колоній грампозитивних, каталазо негативних паличок роблять пересів у пробірки з середовищем Кітт-Тароцці, прогрітого безпосередньо перед посівом протягом 20 хв у киплячій водянній бані і швидко охолодженого до 46° С. Посіви термостатують за 46° С упродовж 4–8 год. Ріст культур *Clostridium perfringens* викликає помутніння середовища, що супроводжується виділенням пухирців газу.

Культури, що вирости на середовищі Кітт-Тароцці, вивчають за такими тестами:

Відновлення нітратів, розрідження желатини, рухливість. Культуру пастерівською піпеткою пересівають уколом на середовище Роберта. Посіви

термостатують за температури 37° С упродовж 24 год. Для обліку результатів на середовищі виросту культуру поміщають на 20 хв у холодильник з температурою 4–6° С. На середовищі Роберта *Clostridium perfringens* утворює пряму, червону лінію. Під час розрідження желатини середовище перетворюється в желеподібний стан і не твердне за температурою 4–6° С. Клітини *Clostridium perfringens* відновлюють нітрати, розріджують желатин, нерухомі.

Реакція лакмусового молока. Культуру пастерівською піпеткою пересівають на лакмусове молоко, нагріте безпосередньо перед посівом у киплячій водяній бані протягом 20 хв і охолоджене до 46° С. Посіви витримують за 46° С до 6–8 год. *Clostridium perfringens* зумовлюють інтенсивне ферментування лактози, відновлення лакмусу, коагуляцію молока з подальшим його згортанням і утворенням губчастого згустка червонясто-бузкового кольору у верхній частині пробірки. При цьому сироватка прозора. Результати оцінюють для кожної проби окремо.

Пробірки, у яких був підтверджений ріст грам позитивних, нерухомих, каталазонегативних, нітритредукуючих паличок, що розріджують желатин, дають характерний ріст на лакмусовому молоці, вважають позитивними, тобто в них присутні *Clostridium perfringens*.

У разі виявлення бактерій *Clostridium perfringens* у визначеній масі (об'ємі) продукту результат записують як «виявлені (не виявлені) бактерії роду *Clostridium perfringens* в аналізованому продукті».

Контрольні питання

1. Які методи визначення окремих груп мікроорганізмів існують?
2. Як відбирають і підготовлюють проби партії продуктів до аналізу?
3. Які групи мікроорганізмів виявлені у досліджуваному матеріалі?
4. За якими тестами вивчають культури, що вирости на середовищі Кітт-Тароцці?
5. Як проводиться визначення кількості мезофільних сульфїтредукуючих клостридій?

Література: [1, с. 3–7; 2, с. 5–8; 5, с. 4–7; 6, с. 5–9; 7, с. 4–8; 9, с. 5–8.]

Практичні заняття № 2

Тема. Вивчення впливу кислотності на розвиток біоагента у виробництві харчових продуктів

Мета: визначення кислотності харчових продуктів.

Матеріали, реактиви: пробірки з такими значеннями рН: 3, 5, 7, 9; культури бактерій спороутворювальні і неспороутворювальні, бактеріологічна петля.

Навчальні елементи: спороутворювальні бактерії, неспороутворювальні бактерії.

Короткі теоретичні відомості

Відношення мікробів до реакції середовища дуже різноманітне. Кожен вид мікроорганізмів розвивається в певних значеннях рН середовища. З мінімальним і максимальним значенням рН життєдіяльність мікроорганізмів відбувається дуже повільно, з оптимальним – найінтенсивніше. Із значенням рН нижче мінімального і вище максимального життєдіяльність мікроорганізмів припиняється і спостерігається навіть їх відмирання. Для більшості пліснявих грибів або дріжджів найсприятливіше є слабокисле середовище, для бактерій – нейтральне.

Хід роботи

1. Зробити посів бактерій на поживне середовище (МПБ) з такими значеннями рН: 3, 5, 7, 9. Суспензію бактерій брати для посіву стерильною бактеріологічною петлею, яку стерилізують в полум'ї пальнички перед кожним посівом.

2. Пробірки з засіяним поживним середовищем поставити в склянку, наклеїти на ній етикетку з зазначенням прізвища студента, номера групи і поставити в термостат за температури 30° С.

3. Оцінити інтенсивності росту досліджуваних бактерій на поживному середовищі з різними значеннями рН зробити за ступенем мутності середовища після ретельного перемішування вмісту пробірок.

4. Для оцінювання інтенсивності розвитку бактерій користуватися умовними позначеннями: + (слабкий ріст); ++ (помірний ріст); +++ (рясний ріст).

5. Результати дослідів записати у таблицю за такою формою:

Назва бактерій	Інтенсивність розвитку бактерій			
	Значення рН середовища			
	3	5	7	9

Контрольні питання

1. Як встановлюється вплив рН середовища на досліджувані мікроорганізми?
2. Яка природа дії рН середовища на мікроорганізми?
3. У яких межах значень рН розвиваються бактерії, дріжджі, гриби?
4. Наведіть приклади використання несприятливого впливу на мікроорганізми рН середовища в практиці зберігання харчових продуктів.

Література: [3, с. 17–20; 4, с. 11–15; 7, с. 10–13; 8, с. 18–22; 10, с. 13–15.]

Практичні заняття № 3

Тема. Вивчення впливу температури на розвиток біоагента у виробництві харчових продуктів

Мета: виявлення впливу температур на розвиток мікроорганізмів.

Матеріали, реактиви: Чашки Петрі з сусло-агаром, водна суспензія спор гриба, термостат, водяні бані, чашки Петрі з МПА, суспензія кокових і спороутворювальних бактерій, пробірки з 9 см³ стерильного фізіологічного розчину, стерильні піпетки, бактеріологічна петля.

Навчальні елементи: термостійкі бактерії, безспорові бактерії, суспензія спор гриба.

Короткі теоретичні відомості

Розвиток і життєдіяльність кожного виду мікроорганізмів можуть відбуватися тільки в певних межах температури. Найменша температура, за якої спостерігається розвиток мікроорганізмів, хоч і дуже слабкий, називається

мінімальною. Нижче цієї температури розвиток зупиняється, але мікроорганізми більш менш тривалий час можуть зберігатися живими.

Відношення мікроорганізмів до температури, яка перевищує максимальну, або термостійкість мікроорганізмів, різні. Безспорові бактерії, вегетативні клітини спорових бактерій, дріжджів і плісняви за температури 50–70° С гинуть впродовж 15–30 хв, а за 80–100° С – упродовж декількох хвилин або декількох секунд. Спори більшості дріжджів і плісняви значно більш термостійкі, а спори бацил витримують нагрів до 100° С упродовж декількох годин і відносно швидко гинуть лише за 120–130° С.

Чашки Петрі з сусло-агаром, водна суспензія спор гриба, термостат, водяні бані, чашки Петрі з МПА, суспензія кокових і спороутворювальних бактерій, пробірки з 9 см³ стерильного фізіологічного розчину, стерильні піпетки, бактеріологічна петля.

Хід роботи

1. Визначення впливу температури на розвиток пліснявого гриба.

1. Посіяти спори плісняви в центр чашки Петрі з сусло-агаром. Для цього бактеріологічною петлею взяти краплину водної суспензії спор гриба і нанести її на СА доторканням ребра петлі.

2. Засіяні чашки перевернути догори дном і поставити вирощувати посіви за температур 5, 25 і 40° С.

3. Оцінити ріст пліснявого гриба за різних температур вирощування.

4. Показником впливу температури на розвиток гриба будуть слугувати величини діаметра колоній, які вирости на СА, і відсутність або наявність споронасіння, і також його ступінь, який звичайно встановлюється за величиною забарвленої зони колоній і інтенсивності забарвлення. Діаметр колоній виміряти лінійкою з боку дна чашки.

Для оцінювання інтенсивності спороношення користуватися умовними позначеннями:

– (відсутність спороношення); + (слабке спороношення); ++ (помірне спороношення); +++ (рясне спороношення).

5. Результати дослідження записати у таблицю за такою формою:

Родова назва гриба	Показник інтенсивності розвитку	Температура вирощування, °С		
		5	25	40
	Діаметр колоній, мм Спороношення			

2. Визначення термостійкості безспорних і спорних бактерій

1. Установити дві водяні бані з термометрами. Нагріти їх до температури 60 і 80° С підтримувати цю температуру впродовж проведення всього досліді.

2. Пронумерувати чашки Петрі з МПА: дві за № 1 – вони призначенні для посіву безспорних паличкоподібних бактерій; дві за № 2 – одна для посіву бактерій у досліді з температурою 80° С, інша – для посіву кокових бактерій у досліді з 60° С. На бокову стінку чашки наклеїти етикетки з зазначенням прізвища студента, номера групи і температури досліді.

Дно чашки розділити восковим олівцем на три сектори. Один сектор кожної чашки відводиться для посіву суспензій бактерій перед їх нагріванням (контроль), його потрібно позначити цифрою 0, два інші – для посіву суспензій після їх нагрівання впродовж 10 і 30 хв, тому один з секторів позначити «10», інший – «30»

3. Заготовити для досліді в чотирьох пробірках з 9 см³ стерильного фізіологічного розчину «робочі» суспензії. Прикріпити на пробірки паперові ярлики з номерами 1, 2, 3 і 4. У дві (№ 1 і 2) пробірки внести стерильною піпеткою по 0,1 см³ суспензії безспорних паличкоподібних бактерій, у третю (№ 3) пробірку внести іншою піпеткою 0,1 см³ суспензії спорних бактерій, у четверту (№ 4) пробірку – новою піпеткою 0,1 см³ суспензії мікрококів. Вміст пробірок з «робочими» суспензіями ретельно перемішати.

4. Для досліді з температурою 80° С посіяти в чашку з № 1 на МПА в сектор 0 (у його середину) «робочу» суспензію № 1, а в чашку № 2 (у сектор 0) – «робочу» суспензію № 3. Для досліді з температурою 60° С посіяти на МПА секторів 0 чашки № 1 суспензію № 2, а чашки № 2 – суспензію № 4.

Посів робити стерильною бактеріологічною петлею шляхом легкого доторкання її ребра до середовища.

5. Помістити на 10 хв **пробірки № 1 і 3** з «робочими» суспензіями у водяну баню, нагріту до 80 °С, а **пробірки № 2 і 4** – у баню з температурою 60 °С.

Рівень води в бані має бути дещо вище рівня суспензії у пробірках.

Після нагріву впродовж 10 хв зробити посів суспензії бактеріологічною петлею в сектори чашок, які позначені цифрою 10.

6. Пробірки з суспензіями знову помістити в ті ж бані і витримувати ще впродовж 30 хв, а потім посіяти суспензії в сектори МПА, позначені цифрою 30.

7. Поставити всі чашки в термостат за температури 30 °С.

8. На наступному занятті зробити перегляд чашок з культурами бактерій. У всіх варіантах досліду виявити відсутність або наявність росту, а також інтенсивність. Для оцінювання росту користуватися умовними позначеннями: – (відсутність росту); + (слабкий ріст); ++ (помірний ріст); +++ (рясний ріст).

9. Результати записати у таблицю за такою формою:

Назва бактерій	Оцінка росту				
	Без нагріву	Після нагріву за температури, °С			
		60		80	
		10 хв	30 хв	10 хв	30 хв

Контрольні запитання

1. Як установлюється вплив температури на досліджуваний мікроорганізм?
2. Яка природа дії низьких і високих температур на мікроорганізми?
3. У яких межах температур можливий розвиток плісняви?
4. Яка стадія розвитку гриба найбільш чутлива до підвищених температур?
5. За якої температури гинуть міцелій і спори грибів?
6. Які способи зберігання харчових продуктів засновані на використанні низьких і високих температур?

7. Як визначається терmostійкість досліджуваних мікроорганізмів?
8. Чи однакова терmostійкість вегетативних клітин і спор бактерій?
9. Яка порівняльна терmostійкість вегетативних клітин і спор бактерій?
10. Чим пояснити розходження в терmostійкості спорових і безспорних бактерій?
11. Яка природа дії високих температур на мікроорганізми? Як цей чинник використовується у практиці зберігання харчових продуктів?

Література: [1, с. 34–43; 4, с. 56–64; 9, с. 44–47; 11, с. 12–13; 13, с. 44–46.]

Практичні заняття № 4

Тема. Вивчення впливу антибіотиків і фітонцидів на розвиток біоагента під час виробництва харчових продуктів

Мета: виявлення впливу антибіотиків і фітонцидів на розвиток мікроорганізмів.

Матеріали, реактиви: диски з антибіотиками, суспензія культур бактерій, стерильні піпетки, шпатель Дригальського, термостат, терка, порцелянова чашка, ріпчаста цибуля, часник, чашка Петрі з сусло-агаром, МПА, суспензія спор гриба, суспензія бактерій, стерильна піпетка, лінійка, термостат.

Навчальні елементи: мікроби-антагоністи, антибіотики, фітонциди, чутливість мікроба.

Короткі теоретичні відомості

1 Антибіотики

Багато мікроорганізмів у процесі життєдіяльності виробляють біологічно активні речовини, які згубно діють на *мікроби-антагоністи*. Ці речовини 1943 р. С. Я. Ваксманом були названі *антибіотиками*.

Від інших антимікробних речовин вони відрізняються вибірковістю дії, тобто пригнічують життєдіяльність і вбивають певні антагоністичні види мікроорганізмів.

Антибіотики відрізняються за хімічною будовою та антимікробною дією. Одні з них лише пригнічують розвиток мікроорганізмів, інші призводять до їх

загибелі.

Ознакою антибактеріальної активності антибіотиків є утворення зони затримки росту на середовищі навколо диска, просоченого антибіотиком (метод дисків): під час встановлення дисків на середовище антибіотик розчиняється вологою середовища і дифундує в навколишнє середовище. Залежно від активності антибіотиків спостерігається різна площа затримки росту мікроорганізмів.

2 Фітонциди – це речовини, які виділяються вищими рослинами і мають антимікробну дію. Вони різні за хімічною природою і силою дії. Одні з них спричиняють загибель мікроорганізмів, інші лише пригнічують їх розвиток. Фітонцидам притаманна вибірковість: кожен діє тільки на певні мікроорганізми. Ефект дії залежить від часу, умов і стійкості мікроорганізму.

Деякі фітонциди застосовують в медичній практиці. Проводяться дослідження з вивчення можливості застосування фітонцидів для збільшення строків зберігання харчових продуктів, що швидко псуються.

Хід роботи

1 Вплив антибіотиків

Чашку Петрі з застиглим середовищем МПА кладуть на стіл кришкою догори. Дотримуючись правил стерильності, наносять піпеткою на поверхню середовища краплю суспензії бактерій (мікрококи, сарцини або інші види сапрофітів) і ретельно розтирають її по всій поверхні середовища за допомогою стерильного шпателя. Обпаленим пінцетом наносять на поверхню агару диски, просочені антибіотиком (пеніциліном, стрептоміцином, левоміцетином, біоміцином або ін.). Диски розташовують по окружності чашки так, як показано на рисунку. Чашки перевертають догори дном і поміщають у термостат за температури 30° С.

Після вирощування досліджуваних мікроорганізмів розглядають чашку з посівом бактерій, вимірюють за допомогою лінійки діаметр зони затримки росту навколо кожного диска. Зона діаметром до 12–15 мм свідчить про малу чутливість мікроба до цього антибіотика, діаметром понад 22–25 мм високу чутливість.

Відсутність зони затримки росту вказує на стійкість мікроорганізму до даного антибіотика.

Результати записують у таблицю за такою формою:

Назва бактерій	Величина (мм) зони затримки росту при дії				Висновок про ступінь чутливості
	Пеніциліну	Стрептоміцину	Левоміцитину	Біоміцину	

2 Вплив фітонцидів

1. У порцелянову чашку натерти на терці попередньо ошпарену кип'ятком ріпчасту цибулю (часник).

2. У дві чашки Петрі на поверхню застиглого сусло-агару (СА) зробити суцільний посів спор досліджуваного гриба. Для цього відібрати стерильною піпеткою 0,2 см³ суспензії спор цього гриба, влити її на поверхню агару, розподілити ретельно й рівномірно по всій поверхні СА стерильною вигнутою скляною паличкою (шпатель Дригальського). Після цього в одну чашку в центр засіяної пластинки СА помістити невелику кількість (близько 1 г) отриманої на терці кашки. У другу чашку з сусло-агаром, засіяними спорами гриба, цибулеву (часникову) кашку не класти – ця чашка буде слугувати контролем.

Під проведення впливу фітонцидів цибулі (часнику) на бактерії дослід проводиться так само, але береться інше поживне середовище – МПА.

3. На бокову стінку кришки чашок наклеїти етикетки з зазначенням прізвища студента і номером групи. Чашки помістити в термостат з температурою 25° С для грибів і 30° С для бактерій.

4. Для виявлення дії фітонцидів цибулі на досліджуваний гриб (або бактерії) зазначити, порівнюючи з контрольною чашкою (без цибулі), чи на всій поверхні поживного агару однаково добре росте пліснява (або бактерії), чи є навколо

цибулевої кашки «стерильна» зона – зона відсутності росту гриба (або бактерії).
Виміряти діаметр цієї зони за допомогою лінійки.

У досліді з пліснявим грибом виявити також зону відсутності спороносного міцелію і виміряти її діаметр.

У досліді з бактеріями виявити зону пригнічення росту (несуцільний, розсіяний ріст колоній) і виміряти її діаметр.

5. Результати записати у таблицю за такою формою:

Мікроорганізми (роду)	Показники виявлення фітонцидності цибулі (часнику)	СА (МПА) з кашкою цибулі (часнику)	СА (МПА) без цибулі (часнику)
Гриби	Зона відсутності росту (d , мм) Зона відсутності спороносного міцелію (d , мм)		
Бактерії	Зона відсутності росту (d , мм) Зона пригнічення росту (d , мм)		

Контрольні запитання

1. Які біологічно активні речовини називають антибіотиками?
2. У чому полягає відмінність дії антибіотиків на мікроорганізми від інших антимікробних речовин?
3. У чому полягає метод визначення антимікробної активності за допомогою дисків?
4. Що таке фітонциди?
5. Які властивості мають фітонциди? Від чого залежить ефект дії фітонцидів на мікроорганізм?
6. Як виявити фітонцидні властивості плодів та овочів?
7. Які перспективи використання фітонцидів для зберігання харчових продуктів?

Література: [2, с. 112–114; 4, с. 78–80; 5, с. 64–66; 7, с. 104–107; 10, с. 87–89; 12, с. 46–48; 14, с. 3–9.]

Практичні заняття № 5

Тема. Вивчення впливу антисептиків на розвиток біоагента під час виробництва харчових продуктів

Мета: виявлення впливу антисептиків на розвиток мікроорганізмів.

Матеріали, реактиви: стерильне солодове сусло з 0,01–0,05, 0,1–0,5 % концентрацією сорбінової кислоти у пробірках, суспензія спор пліснявого гриба (або дріжджів), бактеріологічна петля, стерильна піпетка, термостат.

Навчальні елементи: антисептика, стерильне солодове сусло, грибниця, спороношення, суспензія спор пліснявого гриба.

Короткі теоретичні відомості

Антисептики – це хімічні речовини, що згубно діють на мікроорганізми. Інтенсивність дії того чи іншого антисептика залежить від природи цієї речовини, концентрації її в середовищі, часу, умов взаємодії й стійкості мікроорганізмів. Різні мікроорганізми проявляють неоднакову чутливість до одного і того самого антисептика.

Деякі антисептичні речовини додають у харчові продукти для збільшення термінів їх зберігання, але в дуже обмежених дозах, оскільки багато з них є отруйними для людини.

Нині для консервування деяких продуктів застосовують, наприклад, сорбінову кислоту та її солі в дозах, які нешкідливі для людей, але пригнічують розвиток мікроорганізмів. Особливо ефективна дія сорбінової кислоти на плісняві гриби та дріжджі.

Хід роботи

Визначення впливу сорбінової кислоти на плісняві гриби (або дріжджі).

1. Зробити посів спор пліснявого гриба (або дріжджів) у стерильне солодове сусло з 0,01-, 0,05-, 0,1-, 0,5 % концентрацією сорбінової кислоти і без неї. Посів робити бактеріологічною петлею, котру належить стерилізувати в полум'ї пальнички перед кожним посівом, або стерильною піпеткою.

2. Пробірки з засіяними середовищами поставити в склянку, покласти в неї етикетку з прізвищем студента і номером групи і помістити в термостат з

температурою 28–30° С.

3. Вплив концентрації сорбінової кислоти на пліснявий гриб визначити за інтенсивністю розвитку грибниці й спороутворення (за забарвленням грибниці).

Для оцінювання розвитку грибниці й спороутворення користуватися умовними позначеннями: – (відсутність росту або спороносіння); + (слабкий ріст або спороносіння); ++ (помірний ріст або спороносіння); +++ (рясний ріст або спороносіння).

4. Інтенсивність розвитку дріжджів оцінити після ретельного перемішування вмісту пробірок за ступенем мутності сула, користуючись вищенаведеними умовними позначеннями.

5. Результати досліджень записати у таблицю за такою формою:

Назва мікроорганізмів	Показник інтенсивності розвитку	Концентрація сорбінової кислоти, %				
		0	0,01	0,05	0,1	0,5
Гриб	Міцелій спороносіння					
Дріжджі	Ступінь мутності поживного середовища					

Контрольні запитання

1. Що таке антисептики?

2. Чим зумовлене обмеження застосування антисептиків для збільшення строку зберігання харчових продуктів, що швидко псуються?

3. Яка концентрація сорбінової кислоти пригнічує або виключає розвиток досліджуваного гриба (або дріжджів)?

Література: [4, с. 78–80; 5, с. 72–74; 6, с. 91–93; 8, с. 52–54; 11, с. 62–64; 12, с. 115–118; 13, с. 232–234; 14, с. 301–303.]

2 КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

A 90–100

Відмінно

Відповідь чітка, структурована, логічна; включає у себе узагальнення та систематизовані поняття; побудована на основі матеріалів лекцій, кількох підручників; аргументоване посилання на додаткові наукові джерела (атласи, схеми), спеціальну літературу, власні наукові доробки, володіння латиною, наведення прикладів, порівняльний аналіз.

B; C 75–89

Добре

Відповідь логічна, чітка, структурована; глибоке розуміння матеріалу, яке включає у себе узагальнення та систематизацію понять; побудована на основі лекцій та кількох підручників.

D; E 60–79

Задовільно

Відповідь послідовна, чітка, структурована; роз'яснення переважної більшості понять; глибоке пояснення позицій; використання лекційного матеріалу та одного підручника.

FX 35–59

Незадовільно (з можливістю повторного складання)

Послідовне, але не повне відтворення матеріалу; відповідь не достатньо структурована; роз'яснювання більшості позицій; знання 1/3 латинських термінів латиною.

F 0–34

Незадовільно (з обов'язковим повторним вивченням навчального курсу)

Виступ поверхневий, базується на основі прочитаної лекції; відповідь хаотична, фрагментарна; відтворення заученого матеріалу без усвідомлення його суті. Відповідь не послідовна, безструктурна; розуміння і розкриття тільки окремих понять; без латинських термінів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна

1. Пирог Т. П. Харчова біотехнологія : підручник / Т. П. Пирог, М. М. Антонюк, О. І. Скроцька, Н. Ф. Кігель. – Київ : Видавництво Ліра-К, 2016. – 408 с.
2. Грачева И. М. Технология ферментных препаратов / И. М. Грачева, А. Ю. Кривова. – Москва : Элевар, 2000. – 512 с.
3. Безбородов А. М. Ферментативные процессы в биотехнологии / А. М. Безбородов, Н. А. Загустина, В. О. Попов. – Москва : Наука, 2008. – 335 с.
4. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды / В. Г. Дебабова, А. Сассон – Москва : Мир, 1987. – 422 с.
5. Герасименко В. Г. Биотехнология : учеб. пособие / В. Г. Герасименко. – Киев : Выща шк. Головное изд-во, 1989. – 343 с.
6. Бірюков В. В. Основи промислової біотехнології / В. В. Бірюков. – Москва : Колос, 2004. – 296 с.
7. Бекер М. Е. Биотехнология / М. Е. Бекер, Г. К. Лиепиньш, Е. П. Райпулис. – Москва : Агропромиздат, 1990. – 334 с.
8. Бейли Дж. Основы биохимической инженерии / Дж. Бейли, Д. Оллис. – Ч. 2. – Москва : Мир, 1989. – 590 с.
9. Варфоломеев С. Д. Биотехнология : Кинетические основы микробиологических процессов / С. Д. Варфоломеев, С. В. Калужный. – Москва : Высш. шк., 1990. – 296 с.
10. Манаков М. Н. Теоретические основы микробиологических производств / М. Н. Манаков, Д. Г. Победимский. – Москва : Агропромиздат, 1990. – 272 с.
11. Фараджева Е. Д. Производство хлебопекарных дрожжей : практическое руководство / Е. Д. Фараджева, Н. А. Болотов. – СПб. : Изд-во «Профессия», 2002. – 167 с.
12. Новаковская С. С. Производство хлебопекарных дрожжей : справочник / С. С. Новаковская, Ю. И. Шишацкий. – Москва : Агропромиздат, 1990. – 335 с.

Додаткова

13. Глазко В. И. Руссо-англо-украинский толковый словарь по прикладной генетике, ДНК-технологии и биоинформатике / В. И. Глазко, Г. В. Глазко. – Киев : Нора-принт, 2000. – 464 с.

14. Сытник К. М. Словарь-справочник по экологии / К. М. Сытник и др. ; под ред. К. М. Сытника. – Киев. : Наукова думка. 1994. – 665 с.

Методичні вказівки щодо практичних робіт з навчальної дисципліни
«Харчова біотехнологія» для студентів денної форми навчання за напрямом
6.051401 – «Біотехнологія»

Укладачі: к. т. н., доц. А. В. Пасенко,
старш. викл. О. О. Никифорова

Відповідальний за випуск заст. зав. кафедри к. х. н., доц. О. В. Новохатько

Підп. до др. _____ 2017 р. Формат 60x84 1/16. Папір тип. Друк ризографія.
Ум. друк. арк. _____. Наклад _____ прим. Зам. № _____. Безкоштовно.

Видавничий відділ
Кременчуцького національного університету
імені Михайла Остроградського
вул. Першотравнева 20, м. Кременчук, 39600