МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

МІКРОБІОЛОГІЯ ГАЛУЗІ

ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ

для студентів напряму підготовки 6.051701
"Харчові технології та інженерія"
професійного спрямування «Технології зберігання,
консервування та переробки плодів і овочів»
денної та заочної форм навчання

Всі цитати, цифровий та фактичний
матеріал, бібліографічні відомості
перевірені. Написання одиниць
відповідає стандартам
Тетеріна С.М.
Грегірчак Н.М.
Красінько В.О.

СХВАЛЕНО
на засіданні кафедри
біотехнології і мікробіології
Протокол № 15
від 02. 04. 2013 р

Київ НУХТ 2013

Мікробіологія галузі. Лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051701 "Харчові технології та інженерія" професійного спрямування «Технології зберігання, консервування та переробки плодів і овочів» ден. та заоч. форм навчання / Уклад.: С.М. Тетеріна, Н.М.Грегірчак, В.О.Красінько. – К.: НУХТ, 2013. – 48 с.

Рецензент: **Волошина І.М.** канд. техн. наук, доц.

Укладачі: **С.М. Тетеріна** канд. техн. наук
Н.М.Грегірчак, канд. техн. наук
В.О.Красінько, канд. техн. наук

Відповідальний за випуск **Т.П. Пирог**, д-р біол. наук, проф.

ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

Заходи безпеки під час виконання лабораторних робіт з дисципліни “Мікробіологія галузі” збігаються з загальними положеннями “Інструкції з техніки безпеки під час роботи в лабораторних приміщеннях кафедри біотехнології мікробного синтезу”, узгодженої з начальником відділу охорони праці і техніки безпеки НУХТ та затвердженої ректором НУХТ.

Особливу увагу під час виконання лабораторних робіт треба приділяти розділу 3 названого видання, де визначаються правила безпеки під час роботи з електроприладами, а також із легкозаймистими та горючими рідинами.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 1

Санітарно-мікробіологічний аналіз об’єктів, що контактують з плодово-овочевою сировиною

Мета роботи: полягає у засвоєнні правил роботи у мікробіологічній лабораторії, опануванні методів санітарно-мікробіологічного аналізу об’єктів, що контактують з плодово-овочевою.

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників. Крім того, на кожну бригаду: 1 чашка Петрі з МПА , 1 чашка Петрі з середовищем Ендо, стерильні ступка і товкачик, 1 стерильна піпетка; шпатель Дригальського, колба з 90 $см^3$ стерильної водопровідної води; 3 пробірки з 9 $см^3$ стерильної водопровідної води.

Загальні відомості

Правила роботи у мікробіологічній лабораторії. Правила техніки безпеки

Перед початком роботи кожен студент повинен ознайомитись із технікою безпеки у мікробіологічній лабораторії і поставити свій підпис у журналі з техніки безпеки.

Усі студенти повинні працювати в чистих халатах, волосся слід прибрати.

Кожен студент працює на постійному місці, виконує завдання індивідуально. На робочому місці потрібно підтримувати зразковий порядок. Особисті речі повинні зберігатися в спеціально відведеному місці.

У лабораторії забороняється вживати напої та їсти.

Працюючи зі спиртівкою, треба дотримуватися таких вимог: запалювати спиртівку лише за допомогою сірника і аж ніяк не від іншої, вже запаленої спиртівки; гасити запалену спиртівку потрібно, закривши доступ повітря спеціальним ковпачком. Розташовувати спиртівку потрібно на деякій відстані від краю робочого стола. Запалену спиртівку заборонено пересувати з місця на місце.

У разі випадкового потрапляння мікробного матеріалу на шкіру дослідника, або стіл чи підлогу це місце треба ретельно обробити дезинфікуючим розчином.

Всі предмети, використані у роботі з живими мікроорганізмами, мають бути знезаражені фламбуванням (петлі, голки), кип’ятінням (пробірки, чашки Петрі), обробленням дезінфікуючими розчинами (шпателі, предметні й покривні скельця).

Після закінчення роботи студент повинен упорядкувати робоче місце, руки необхідно ретельно вимити, а за потреби обробити дезинфікуючим розчином. Слід мати індивідуальний рушник або серветки для витирання рук

Джерела мікробної контамінації сировини консервного виробництва

Внутрішні тканини цілих здорових рослин, плодів і овочів стерильні, а на їх поверхні розвивається численна і різноманітна мікрофлора. Її джерелами можуть бути ґрунт (особливо на бульбо- і коренеплодах), органічні добрива, технічна вода, атмосферні опади, повітря, комахи, птахи, гризуни, тварини, люди, тара, спецодяг, інвентар, транспортні засоби.

Методи мікробіологічного аналізу повітря. Мікрофлора повітря виробничих приміщень.

Мікробіологічні методи дослідження повітря. Повітря не є середовищем мешкання мікроорганізмів, а є транзитним середовищем. Мікрофлору повітря можна умовно розділити на постійну, що часто зустрічається, і змінну, представники якої, потрапляючи в повітря з властивих їм місць поширення, недовго зберігають життєздатність. Постійно в повітрі виявляються пігментоутворювальні коки, палички, дріжджі, гриби, актиноміцети, спороносні бацили і клостридії тощо, тобто мікроорганізми, стійкі до світла, висихання. У повітрі великих міст кількість мікроорганізмів більша, ніж у сільській місцевості. Над лісами, морями повітря містить мало мікроорганізмів (у 1 $м^3$ – поодинокі мікробні клітини). Дощ і сніг сприяють очищенню повітря від мікроорганізмів.

У повітрі закритих приміщень мікроорганізмів значно більше, ніж у відкритих повітряних басейнах, особливо узимку, за недостатнього провітрювання. Склад мікрофлори і кількість мікроорганізмів, що виявляються в 1 $м^3$ повітря (мікробне число повітря), залежать від санітарно-гігієнічного режиму, кількості людей, що перебувають у приміщенні, стану їхнього здоров'я та інших умов.

У повітря можуть потрапляти і патогенні мікроорганізми від тварин, людей (хворих і носіїв).

Для мікробіологічного дослідження повітря користуються методами, в основу яких покладені осідання (седиментація) і аспірація. За допомогою седиментаційних методів можна одержати загальне уявлення про мікроорганізми, що зустрічаються в повітрі. Аспіраційний метод застосовується при незначному вмісті мікроорганізмів у відносно невеликих об’ємах повітря або значних коливаннях повітряних мас. При цьому мікрофлора попередньо концентрується (накопичується) у рідкому чи на твердому поживному середовищах.

Метод осідання (седиментаційний). Найпростіший метод бактеріологічного дослідження повітря – метод осідання, що ґрунтується на осіданні бактеріальних часточок і крапель під впливом сили тяжіння на поверхні агару відкритої чашки Петрі. Чашки з м’ясо-пептонним агаром (МПА) експонують 5 – 10 – 15 хв залежно від передбачуваного бактеріального забруднення. Метод осідання не дає точного кількісного уявлення про вміст мікрофлори в повітрі, тому що на відкритих чашках погано уловлюються тонкодисперсні фракції бактеріальних крапель і

пилових часточок, а затримуються головним чином великі пилові частинки, що осідають чи прибиваються струмами повітря до поверхні середовища. Тому перерахунок за Омелянським (на поверхню 100 см^2 агаризованого середовища осідає за 5 хв. така кількість бактерій, що міститься в 10 л повітря) має великі похибки при кількісному вивченні мікрофлори повітря приміщень і абсолютно не придатний для атмосферного повітря, де є великі коливання швидкості його руху. Проте метод осідання може бути використаний коли відсутні досконаліші прилади і методи або коли немає джерела електроенергії. Для розрахунку мікробного числа повітря використовують формулу:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{в \cdot 10\tau},$$

де X – кількість мікроорганізмів у 1 м^3 повітря; a – кількість колоній у чашці; $в$ – площа чашки ($в$ = 78,5 см^2); τ – тривалість експозиції; 5 – тривалість експозиції, за якої відбувається осідання мікроорганізмів з об'єму повітря 10 л на площу 100 см^2; 1000 – перерахунок на 1 м^3.

Найпростіші *аспіраційні* методи базовані на уловлюванні бактерій рідиною. Через посудину з певним об'ємом ізотонічного розчину NaCl чи водопровідної води продувають (за допомогою повітродувки, пилососа, насоса тощо) певний об'єм повітря. Потім проводять висів на МПА по 0,1 – 0,2 см^3 уловлюваної рідини. У разі значного об'єму отриманої суспензії всю її і частину уловлюваної рідини фільтрують через мембранні фільтри № 2 або № 3 з наступним посівом фільтрів на поверхню щільних поживних середовищ. У разі використання таких приладів є можливість визначення числа не лише бактеріальних клітин, а і вірусних часток.

Серед приладів для дослідження повітря приміщень найпоширенішим є прилад Кротова. Механізм уловлювання ним мікрофлори ґрунтується на ударно-прибивній дії струменя повітря, що проходить через вузьку клиноподібну щілину і з великою швидкістю вдаряється об вологу поверхню поживного середовища. У результаті удару аерозолі, що містяться у повітрі, у тому числі пилові часточки і краплі, що містять бактерії, прибиваються до поверхні МПА чи елективних середовищ. Під час відбору проби повітря чашка Петрі обертається разом зі столиком, завдяки чому досягається рівномірне обсіменіння поверхні агаризованого середовища мікрофлорою повітря. Для відбору проб слід підбирати чашки Петрі з плоским дном, а кількість поживного середовища у чашці не має перевищувати 15 см^3.

Прилад Кротова характеризується ефективністю уловлювання мікрофлори в пиловій фазі аерозолю, дає чіткі порівнянні результати, простий у роботі, дає змогу за короткий час зробити відбір проб повітря безпосередньо на чашки Петрі з МПА або відповідними елективними середовищами. Продуктивність приладу від 20 до 40 л/хв. Основний його недолік полягає в тому, що він потребує для роботи електроенергію; це обмежує можливості його застосування для дослідження атмосферного повітря. Однак на сьогодні існує можливість використання компактних портативних аспіраційних приладів подібних до приладу Кротова з автономними елементами живлення.

Методи мікробіологічного аналізу води. Вимоги до води.

Мікробіологічні методи дослідження води. Водні екосистеми є середовищем мешкання мікроорганізмів. У прісних водоймах (озерах, ріках) виявляються коки (*Micrococcus roseus* тощо) і паличкоподібні бактерії (*Pseudomonas fluorescens*). Анаеробів у воді мало; в основному вони розмножуються в мулі на дні водойм, беручи участь у біохімічних процесах очищення. Сапрофітні мікроорганізми виконують роль сміттярів, розщеплюючи органічні відходи, роблячи їх придатними для метаболічних процесів інших живих істот.

Вода артезіанських свердловин майже не містить мікроорганізмів, що зумовлено фільтрувальною здатністю ґрунту.

Зі зливовими, талими і стічними водами в ріки й озера попадають мікроорганізми – представники нормальної флори кишковика людини і тварин, наприклад кишкова паличка, ентерококи, різноманітні клостридії. Разом з ними можуть потрапити і патогенні мікроорганізми (брюшнотифозні, дизентерійні бактерії, холерні вібріони, віруси поліомієліту, гепатиту), що зберігаються протягом кількох днів до тижнів. Саме тому водний шлях передання є одним з можливих факторів поширення кишкових інфекцій.

Відбір проб води. Залежно від мети дослідження визначають місце і час добору проби.

Для дослідження води відкритих водойм, а також колодязів відбирають проби води на глибині 10 – 15 см від поверхні в стерильні флакони.

Для відбору проб водопровідної води використовують стерильні склянки місткістю 500 $см^3$ з ватно-марлевими пробками. Бактеріологічне дослідження відібраних проб слід проводити не пізніше як через 2 год з моменту відбору чи не пізніше 6 год збереження проби при 1 – 5 ºС.

Методи визначення мікробного числа. У 1 $см^3$ досліджуваної води визначають вміст мезофільних аеробів і факультативних анаеробів, здатних при температурі 37 ºС впродовж доби на м’ясо-пептонному агарі утворювати колонії, видимі неозброєним оком чи при збільшенні в 2 – 5 разів. З кожної проби роблять посів не менш двох різних об’ємів, вибраних з таким розрахунком, щоб число виросли колоній на чашці коливалося від 30 до 300.

Досліджуючи водопровідну воду, в кожну з двох чашок вносять по 1 – 0,1 $см^3$ чистих вод і по 0,01 і 0,001 $см^3$ більш забруднених. При визначенні мікробного числа сильно забруднених вод і стічних рідин досліджують по 0,0001 і 0,00001 $см^3$.

Для посіву 0,01 $см^3$ і менших об’ємів досліджувану воду розводять стерильною водопровідною водою. Готують послідовно десятикратні розведення.

На поверхню застиглого і підсушеного середовища наносять по 0,1 $см^3$ кожного розведення і за допомогою скляного шпателя розподіляють його по всій поверхні. Засіяні чашки залишають на 1 – 2 хв. для того, щоб волога всмокталася у середовище. Потім чашки перевертають догори дном і поміщають у термостат. Посіви вирощують протягом доби за температури 37 ºС. Підраховують усі колонії, що виросли враховуючи результати тільки на тих чашках, де кількість колоній коливається в межах від 30 до 300, і виконують перерахунок вмісту бактерій на 1 $см^3$ досліджуваної води.

Одним із показників санітарно-мікробіологічного дослідження води є індекс БГКП, тобто кількість бактерій групи кишкових паличок у 1 дм^3 води. Кількість мікроорганізмів у певному об'ємі досліджуваної води виражають у колонієутворювальних одиницях (КУО), а кількість вірусів у бляшкоутворюючих одиницях (БУО).

Мікробіологічні показники безпеки питної води згідно Державних санітарних норм та правил "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною" (ДСанПіН 2.2.4-171-10) наведено у табл. 1.

Таблиця 1

Мікробіологічні показники безпеки питної води

№ п/п	Найменування показників	Одиниці виміру	Нормативи для питної води	
			водопровідної, з пунктів розливу та бюветів	з колодязів та каптажів джерел
1	2	3	4	5
1	Загальне мікробне число (ЗМЧ) при t 37° С - 24 год	КУО/см^3	100* (50)**	не визначається
2	Загальні коліформи***	КУО/100 см^3	відсутність	1
3	Кількість *Escherichia coli* ***	КУО/100 см^3	відсутність	відсутність
4	Ентерококи***	КУО/100 см^3	відсутність	не визначається
5	Патогенні ентеробактерії	наявність в 1 дм^3	відсутність	відсутність
6	Коліфаги****	БУО/дм^3	відсутність	відсутність
7	Ентеровіруси, аденовіруси, антигени ротавірусів, реовірусів, вірусу гепатиту А та інші	наявність в 10 дм^3	відсутність	відсутність

Примітки:

* Для 95 % проб води, відібраних з водопровідної мережі, що досліджувались протягом року.

** Через 10 років з часу набрання чинності Санітарними нормами.

*** Для 98 % проб води, відібраних з водопровідної мережі, що досліджувались протягом року.

**** Визначають додатково у питній воді з поверхневих вододжерел у місцях її надходження з очисних споруд в розподільну мережу, а також в ґрунтових водах.

Дослідження питної води з поверхневих вододжерел чи ґрунтової води за показниками, передбаченими пунктами 5 та 7, проводяться у разі виявлення в двох послідовно відібраних пробах води загальних коліформ, *E.coli*, ентерококів чи коліфагів (пп. 2, 3, 4, та 6), а дослідження питної води з підземних артезіанських і міжшарових безнапірних водоносних шарів за показниками, передбаченими пп. 5, 6 та 7, проводяться у разі виявлення в двох послідовно відібраних пробах води загальних коліформ, *E.coli* чи ентерококів (пп. 2, 3, 4). При цьому дослідження води на вміст збудників інфекційних хвороб вірусної етіології проводяться у разі виявлення в її пробах коліфагів, а на вміст збудників бактеріальної етіології - у разі виявлення в її пробах загальних коліформ, *E.coli* чи ентерококів.

Мікрофлора ґрунту

Мікробіологічні методи дослідження ґрунту. Численні популяції, що населяють ґрунт, і групи популяцій різноманітних організмів, що розрізняються за екологічними функціями і таксономічним положенням, поєднуються загальним поняттям «ґрунтова біота». Ґрунт є середовищем поширення великої кількості різноманітних мікроорганізмів: у 1 г ґрунту міститься від 1 до 10 млрд. клітин мікроорганізмів.

У ґрунті активно ходять процеси розкладання органічних природних речовин за участі широкої розмаїтості сапрофітних мікроорганізмів. Для виявлення, вивчення й обліку кількості ґрунтових мікроорганізмів використовують прямі методи мікроскопування і методи посіву з розведенням ґрунтової суспензії на щільні й рідкі середовища.

Для прямого мікроскопічного вивчення ґрунту застосовують метод Виноградського в різних модифікаціях. Суть його полягає в тому, що ґрунтову суспензію, нанесену на предметне скло, фіксують і зафарбовують карболовим еритрозином. Забарвлені клітини підраховують під мікроскопом.

Незважаючи на те, що прямі мікроскопічні методи дають змогу виявити і підрахувати значно більшу кількість мікроорганізмів (кількість бактерій, що її обчислюють прямими методами, у 1000 разів перевищує ту, що враховують методом посіву), метод посіву залишається одним з поширених у практиці дослідження ґрунтових мікроорганізмів завдяки тому, що дає змогу враховувати не тільки кількість, а і груповий (а часто і видовий) склад мікрофлори, а також дозволяє з ізольованих колоній, що виросли на чашках, виділяти мікроорганізми в чисті культури для подальшого дослідження та ідентифікації.

Відбір і підготовка ґрунтового зразка для мікробіологічного аналізу. При доборі зразків ґрунту враховують як надзвичайну макро-, мезо- і мікрогетерогенність мікробіологічних показників ґрунту, так і інших його властивостей. З дослідної площадки відбирають 3 – 10 зразків і аналізують їх окремо. Це дає можливість одержати статистично достовірні результати щодо середньої кількості мікроорганізмів, а також статистично опрацювати отримані дані.

Зразки ґрунтів для проведення мікробіологічних досліджень відбирають у стерильні пергаментні або поліетиленові пакети чи скляний посуд з ватяними пробками тощо. За відсутності можливості аналізування зразків безпосередньо після збору, їх протягом кількох годин висушують на повітрі, оберігаючи від прямих сонячних променів.

Готуючи ґрунт до мікробіологічного аналізу, слід провести такі операції: зруйнувати ґрунтові агрегати; десорбувати мікроорганізми з поверхні ґрунтових частинок та з органомінерального гелю і провести дезагрегацію мікроколоній мікроорганізмів.

Для руйнування ґрунтових агрегатів найчастіше використовують метод розтирання ґрунту, зволоженого до пастоподібного стану впродовж 5 хв у стерильній фарфоровій чашці гумовим товкачиком або пальцем у гумовій рукавичці. Використовують також метод оброблення ґрунтової суспензії на електричній мішалці чи на ультразвуковій установці.

Перед посівом вологий чи сухий ґрунт висипають на годинникове скло, протерте спиртом, і звільняють від сторонніх включень.

Техніка посіву. Наважку підготовленого ґрунту в 1 г переносять у колбу з 100 $см^3$ стерильної водопровідної води. Готують розведення ґрунтової суспензії, для чого 1 $см^3$ суспензії з колби послідовно переносять у ряд пробірок з 10 $см^3$ стерильної водопровідної води (рис. 1).

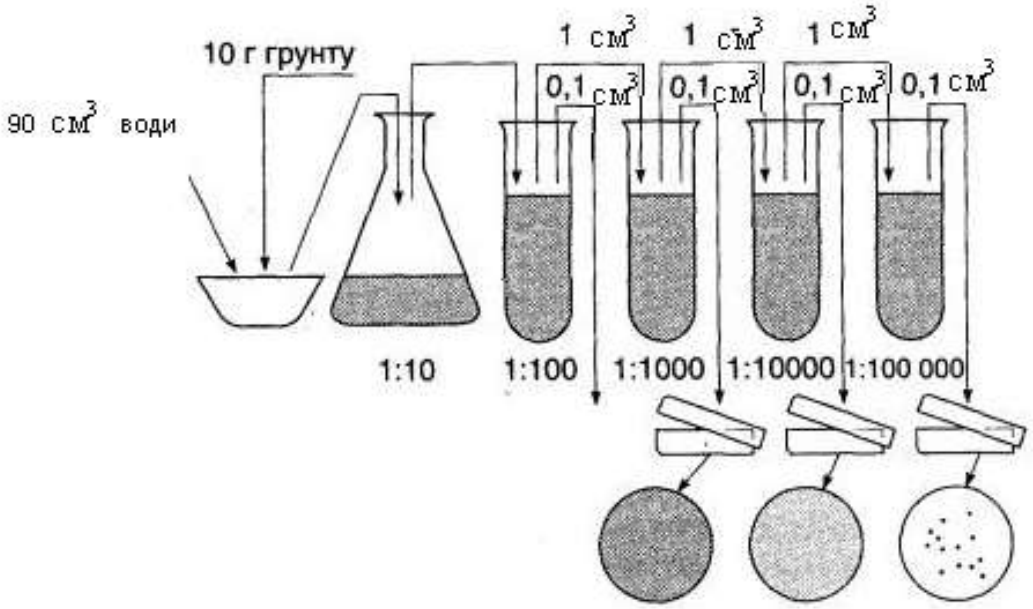


Рис. 1. Схема розведення ґрунту для проведення мікробіологічного аналізу

Посів на щільні середовища проводять з різних розведень. Розведення для висіву підбирають таким чином, щоб на чашці розвивалося 50 – 200 колоній. З кожного зразка беруть не менше трьох повторних наважок і кожну висівають не менше ніж на 3 чашках.

На поверхню застиглого і підсушеного середовища наносять краплю ґрунтової суспензії певного розведення і за допомогою скляного шпателя розподіляють її по всій поверхні. Засіяні чашки перевертають догори дном і ставлять у термостат.

Терміни обліку мікроорганізмів залежать від складу поживного середовища і групи мікроорганізмів, що обліковуються. На м’ясо-пептонному агарі на другу – третю добу інкубації враховують спорові й неспорові форми бактерій. На середовищі Чапека на п’яту – сьому добу враховують колонії актиноміцетів, на сусло-агарі на п’яту – сьому добу – колонії грибів і дріжджів.

Кількості колоній на чашці вираховують звичайно з дна чашки, на просвіт. На місці підрахованої колонії маркером ставиться крапка. Обчисливши кількість колоній на всіх паралельних чашках, підраховують їх середнє число на одній чашці і потім перераховують для визначення вмісту мікроорганізмів у 1 г ґрунту за формулою

$$а = б \cdot в \cdot г$$

де *а* – кількість клітин у 1 г ґрунту; *б* – середня кількість колоній на чашці; *в* – кратність розведення, з якого зроблений посів; *г* – кількість крапель у 1 $см^3$ суспензії.

Результати опрацьовують статистично, розраховують: помилку середнього арифметичного, середнє квадратичне відхилення, коефіцієнт варіації.

Завдання на виконання

1. Визначити загальну кількість число мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАМ) та індекс бактерій групи кишкової палички (БГКП) у воді (теоретично).
2. Провести аналіз мікрофлори повітря седиментаційним методом на МПА та сусло-агар (теоретично).
3. Провести аналіз мікрофлори ґрунту, визначити число МАФАМ та індекс БГКП шляхом висіву розведень ґрунтової суспензії на чашки із м’ясо-пептонним агаром (МПА) та середовищем Ендо методом Коха.
4. Провести експрес-аналіз якісного складу мікрофлори ґрунту за методом Виноградського.

Аналіз одержаних результатів

На наступному лабораторному занятті закінчити роботу з визначення кількісного і якісного складу мікрофлори ґрунту.

Результати спостережень занести у таблицю 2:

Таблиця 2

Об’єкт дослідження	Ступінь розведення	Кількість колоній на чашці Петрі			Кількість мікроорганізмів у 1 г ґрунту	Примітка
		Бактерії	Гриби	Загальна		

За одержаними результатами зробити висновки щодо якісного і кількісного складу мікрофлори ґрунту, опираючись на морфологічні та культуральні особливості одержаних ізолятів мікроорганізмів та записати їх у протокол.

Контрольні запитання

1. Назвіть та поясніть правила техніки безпеки під час роботи в мікробіологічній лабораторії.
2. Охарактеризуйте джерела мікробної контамінації сировини консервного виробництва.
3. Дайте характеристику мікрофлори ґрунту.
4. Які методи мікробіологічного аналізу мікрофлори ґрунту існують?

5. Дайте характеристику мікрофлори природних та стічних вод.

6. Які методи використовуються для мікробіологічного аналізу мікрофлори природних та стічних вод?

7. Охарактеризуйте техніку відбору проб для проведення мікробіологічного аналізу мікрофлори природних та стічних вод.

8. Яким мікробіологічним показникам якості повинна відповідати питна вода?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 2

Оцінка результатів санітарно-мікробіологічного контролю об'єктів, які контактують з плодово-овочевою сировиною. Практичне значення і методи визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних речовин

Мета роботи: провести оцінювання результатів санітарно-мікробіологічного контролю об'єктів, які контактують з плодово-овочевою сировиною; опанувати методи визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних речовин.

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників, змиті з пробірок тест-культури мікроорганізмів: *Sarcina flava, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, Erwinia aroidea, Candida valida, Rhodotorula glutinis, Rhizopus nigricans, Aspergillus niger, Penicillium chryzogenum, Fusarium culmorum* (по 1 пробірці), зубок часнику, невелика цибулина, набір скляних циліндрів у розчині спирту . Крім цього, на кожну бригаду: 2 чашки Петрі з МПА та сусло-агаром, стерильні ступка і товкачик, 2 стерильні піпетки, пінцет, шпатель Дригальського, набір антибіотиків, нанесених на паперові диски, робочі розчини дезінфікуючих речовин.

Загальні відомості

Профілактичні заходи, що знижують чисельність мікроорганізмів у об'єктах, які контактують з плодово-овочевою сировиною

Систематичне провітрювання, сортування, своєчасне видалення заражених плодів і овочів, утримання у чистоті об'єктів, що контактують з плодово-овочевою сировиною, дотримання режимів збереження – необхідні заходи, що попереджують непродуктивні втрати сировини консервного виробництва завдяки попередженню хвороб плодів і овочів.

Для дезінфекції (знезаражування) складських приміщень, холодильних камер, питної води, устаткування, інвентарю, дезінфекції рук тощо використовують антимікробні препарати.

Антисептики

Хімічні речовини, що згубно діють на мікроорганізми, називаються антисептиками. Дія антисептиків на мікроорганізми залежить від хімічної структури речовини, його концентрації, тривалості контакту з клітиною (експозиції), а також від чутливості мікроорганізмів до даної речовини. У значній

мірі активність антисептиків визначається і складом середовища, у якій знаходяться мікроорганізми.

Більшість антисептиків належить до групи загальноцитоплазматичних отрут, тобто отрут, що діють не тільки на мікроби, але і на будь-яку тваринну і рослинну клітину. Тому їхнє застосування для консервування харчових продуктів вкрай обмежено, а речовини, що дозволяється використовувати як консерванти, використовуються в малих дозах (від тисячних до десятих часток відсотка) і тільки для деяких видів продуктів.

Антибіотики

Багато мікроорганізмів у процесі життєдіяльності виробляють біологічно активні речовини, що згубні для мікробів-антагоністів. Ці речовини одержали назву антибіотиків. Від інших антимікробних речовин вони відрізняються вибірковістю дії, тобто пригнічують життєдіяльність і знищують певні антагоністичні види мікроорганізмів.

Антибіотики різні за хімічною природою й антимікробною дією. Одні з них лише пригнічують розвиток мікроорганізмів, інші убивають їх.

Відомі також антибіотичні речовини, вироблювані вищими рослинами (фітонциди) і тваринними організмами.

Фітонциди

Це речовини, які виділяються вищими рослинами і володіють антимікробною дією. Вони різняться за хімічною природою й силою дії. Одні з них викликають загибель мікроорганізмів, інші лише пригнічують їх розвиток. Фітонциди володіють вибірковістю: кожен діє тільки на певні мікроорганізми. Ефект дії залежить від часу, умов і стійкості мікроорганізму.

Деякі фітонциди застосовуються в медичній практиці. Ведуться дослідження по вивченню можливості застосування фітонцидів з метою збільшення строків зберігання харчових продуктів, що швидко псуються.

Мікробіологічні методи дослідження чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів

Для визначення чутливості мікроорганізмів до антисептичних препаратів найчастіше використовують методи засновані на явищі дифузії антимікробної речовини в агар до них належать наступні методи:

паперових дисків,
циліндрів,
лунок в товщі агару,
радіальних штрихів.

Першим етапом для трьох перших методів є виконання посіву тестової культури на щільне поживне середовище однорідним шаром. Дані методи дозволяють проводити оцінку чутливості досліджуваної культури одразу до декількох антисептичних препаратів.

Метод паперових дисків полягає у дифузії в агар антибіотиків зі стандартних паперових дисків, які просочені певним антибіотиком в чітко визначеній концентрації. Такі диски встановлюються на щільне поживне середовище з

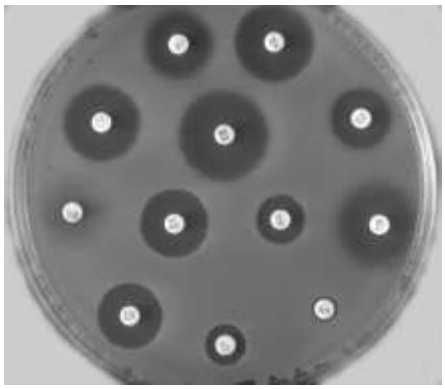
попередньо засіяною культурою рівномірно на відстані від краю чашки Петрі близько 20 мм та на такій же відстані один від одного. В одній чашці можна встановлювати диски з різними препаратами або з різними концентраціями однієї досліджуваної речовини.

Метод циліндрів відрізняється від попереднього тим, що на поживне середовище із засіяною рівномірним «газоном» культурою встановлюють за допомогою пінцета стерильні фарфорові, металеві чи скляні циліндри з дотриманням відстаней наведених у попередньому методі. Далі у встановлені циліндри вносять досліджувані розчини антисептичних препаратів в кількості 0,1 $см^3$.

Метод лунок в товщі агару. Після засіву поживного середовища відповідною тест-культурою за допомогою стерильного свердла виконують лунки на відстані 1,5 – 2,0 см від краю чашки. В лунки вносять водні розчини певного дезінфікуючого засобу різної концентрації, або різні засоби.

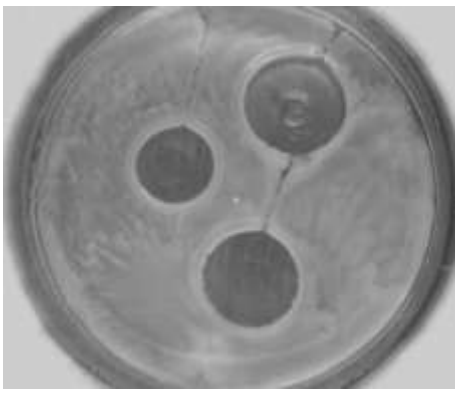
При виконанні дослідження **методом радіальних штрихів** у щільному поживному середовищі вирізають воронку чи доріжку по центру або біля краю чашки Петрі в утворену порожнину вносять певну кількість розчину будь-якої антимікробної речовини, даю їй повністю всмоктатися в агар а далі проводять посіви різних тест-культур штрихом від краю доріжки.

Для оцінки ступеню чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів при виконанні дослідження будь-яким із наведених методів вимірюють зону затримки росту тестової культури. Відсутність зони затримки росту вказує на те, що досліджувана культура не чутлива до дії даного антимікробного засобу. При діаметрі зони до 15 мм вважають, що мікроорганізми мають малий ступінь чутливості до досліджуваного засобу, діаметр зони від 15 до 25 мм вказує на середній ступінь чутливості. Наявність зони діаметром більше 25 мм свідчить про високий ступінь чутливості мікроорганізмів до даного антимікробного засобу.



А

Б



В

Г

Рис. 2. Дослідження чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів методом: А – паперових дисків, Б – радіальних штрихів, В – лунок в товщі агару, Г – циліндрів.

За допомогою методів лунок в товщі агару та циліндрів можна перевірити ефективність дезінфікуючої дії антимікробного препарату (АМП) використовуючи в якості тест-культур типові для певного виду виробництва контамінанти.

Використовуючи один і той же препарат але у різних концентраціях користуючись методами паперових дисків, лунок в товщі агару та циліндрів можна також визначити мінімальну пригнічуючу концентрацію (МПК) антимікробного засобу. За потреби можна з більшою точністю визначити МПК антимікробних препаратів використовуючи метод Є-тесту.

Є-тест являє собою вузьку смужку полімеру (0,5 х 6,0 см), на яку нанесений градієнт концентрацій антибактеріального препарату (АБП) (від мінімальних до максимальних). Пригнічення росту мікроорганізму довкола смужки Є-тесту відбувається лише в тій зоні, де концентрація АБП, дифундуючого з носія, вище МПК, при цьому утворюється краплевидна зона затримки росту (Рис.3). Значення концентрації АБП в кожній ділянці носія друкарським способом нанесені на зовнішній (зверненій до дослідника) поверхні Є-тесту. Величину МПК враховують в тому місці, де кордон зони затримки росту впритул прилягає до носія.

Рис. 3. Визначення МПК антимікробних препаратів методом Є-тесту

Завдання на виконання

1. Дослідження антибактеріальної дії антибіотиків.

Чашку Петрі з застиглим МПА перевернути нагору дном і позначити на ньому номери дисків з антибіотиками (за кількістю виданих зразків). У лабораторний зошит занести назви антибіотиків і відповідні їм номери. Потім покласти чашку на стіл кришкою нагору. Дотримуючись правил стерильності, нанести піпеткою на поверхню пластинки агару краплю суспензії бактерій (мікрококи, сарцини чи інші види сапрофітів) ретельно розтерти її по всій поверхні середовища за допомогою стерильного шпателя. Обпаленим пінцетом нанести на поверхню агару диски, просочені антибіотиком (пеніциліном, стрептоміцином, левоміцетином, біоміцином тощо).

Диски розташувати по окружності чашки так, як показано на рис. 2. Чашки помістити у термостат при температурі 37°С.

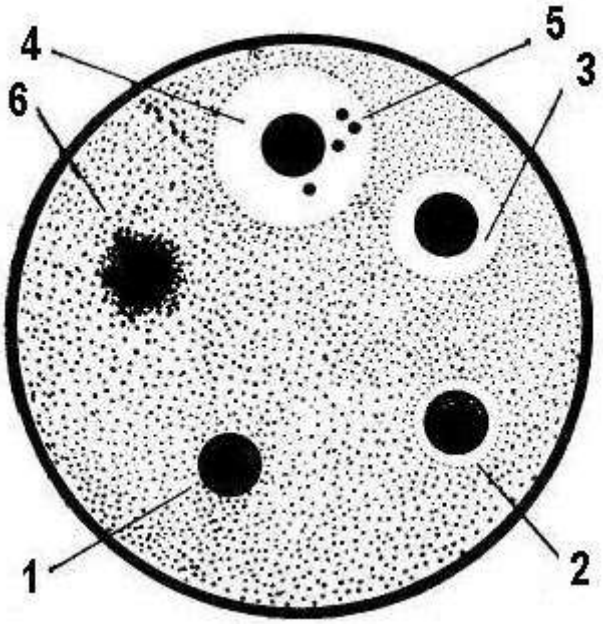


Рис. 4. Визначення антимікробної дії антибіотиків методом паперових дисків:
1 – культура стійка до дії антибіотика на даному диску; 2, 3, 4 – культура чутлива до антибіотика; 5 – колонії стійких особин даного штаму; 6 – колонії антибіотикозалежних клітин

2. Визначення впливу фітонцидів цибулі та часнику на плісняві гриби (або бактерії).

У стерильній фарфоровій ступці розтовкти стерильним товкачиком невелику ріпчасту цибулину або зубчик часнику після зняття з них сухих лушпайок.

На поверхню застиглого сусло-агара (СА) чашки Петрі зробити суцільний посів спор досліджуваного гриба. Для цього відібрати стерильною піпеткою 0,2 $см^3$ суспензії спор гриба, нанести її на поверхню агару, розподілити ретельно й рівномірно по всій поверхні СА стерильним шпателем Дригальського. Після цього у чашку в центр засіяної пластинки СА помістити невелику кількість (біля 1 г) подрібнених у ступці цибулі або часнику.

При проведенні визначення впливу фітонцидів цибулі або часнику на бактерії дослід проводиться так само, але береться інше поживне середовище – МПА.

Чашки помістити в термостат з температурою 25 °С.

3. Дослідження ефективності дезінфікуючої дії антимікробних засобів.

Чашку Петрі з застиглим МПА чи СА перевернути нагору дном і позначити на ньому номери дезінфікуючих засобів (за кількістю виданих розчинів). У лабораторний зошит занести назви дезінфікуючих засобів і відповідні їм номери. Потім покласти чашку на стіл кришкою нагору. Дотримуючись правил стерильності, нанести піпеткою на поверхню агару краплю суспензії бактерій, у разі використання МПА чи дріжджів при використанні СА, ретельно розподілити її по всій поверхні середовища за допомогою стерильного шпателя, потім за допомогою пінцета встановити на поверхню пластинки агару циліндри (перед встановленням циліндрів спалюють рештки спирту в якому вони зберігаються), далі піпеткою вносять краплю робочого розчину відповідного деззасобу в кожен з циліндрів.

Циліндри розташовують по окружності чашки Петрі за ти самим принципом, що і паперові диски (рис. 2). Чашки помістити у термостат при температурі 37°С.

Чашки з посівами при виконанні завдань даної лабораторної роботи вміщуючи в термостат не потрібно перевертати.

Послідовність проведення досліду записати.

Аналіз одержаних результатів

На наступному лабораторному занятті закінчити роботу по дослідженню дії антибіотиків та фітонцидів на мікроорганізми. Результати описати. Зробити висновки щодо чутливості мікроорганізмів до різних видів антибіотиків та фітонцидів часнику і цибулі, а також ефективності дезінфікуючої дії антимікробних засобів після фіксації наявних зон затримки росту та їх величини.

Контрольні запитання

1. Які профілактичні заходи, що знижують чисельність мікроорганізмів у об’єктах, що контактують з плодово-овочевою сировиною, застосовують у промисловості?
2. Що таке антисептики? Які види антисептиків дозволено використовувати у харчовій промисловості?
3. Що таке антибіотики? Які методи використовують для якісного та кількісного визначення антибіотичної активності?
4. Чим мікробостатичні речовини відрізняються від мікробоцидних?
5. Що таке фітонциди? Наведіть приклади використання фітонцидів у консервному виробництві.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 3

Мікробіологічний контроль сировини

Мета роботи: провести оцінювання результатів визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних речовин, опанувати методи мікробіологічного контролю сировини консервного виробництва

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та покривні скельця (в тому числі стерильні), крапельниці з дистильованою водою, набір барвників, вата, пензель, парафін, зразки рослинної сировини для виготовлення консервів (капусти, моркви, картоплі, грибів, яблук, буряку, цибулі тощо). Крім цього, на кожну бригаду: 1 чашка Петрі з МПА, 1 чашка Петрі з солодовим агаром з крейдою (для визначення молочнокислих бактерій, препарувальна голка, скальпель, стерильний пісок, 1 стерильна піпетка, шпатель Дригальського, колба з 90 $см^3$ стерильної водопровідної води; 3 пробірки з 9 $см^3$ стерильної водопровідної води.

Загальні відомості

Свіжі плоди й овочі відіграють дуже важливу роль у харчуванні людини, вони містять різноманітні корисні речовини: легкозасвоювані цукри, органічні кислоти, мінеральні солі, вітаміни й багато інших, що сприяють кращому засвоєнню їжі.

В усіх випадках споживання плодів, ягід, овочів і картоплі для харчових цілей, а також при відгодівлі овочами тварин або використанні плодів і овочів як сировини для промисловості варто пам’ятати про їх мікрофлору. Від її складу і чисельності істотно залежать процеси переробки і збереження продукції. Мікроорганізми можуть бути причиною псування продукту або, навпаки, сприяти його тривалому збереженню.

Свіжа рослинна сировина до миття містить у 1 г, у середньому, від 100 до 500 тисяч мікроорганізмів. Лежала погана сировина містить у 1 г десятки мільйонів мікроорганізмів, причому, надзвичайно зростає число гнилісних бактерій. Миття сировини у ваннах лише у 2 – 5 разів зменшує кількість мікроорганізмів. Таке ж миття, але з послідуючим ополіскуванням під сильним душем, зменшує кількість мікроорганізмів більше, як у 10 разів. Для встановлення кращого режиму миття потрібно на початку сезону переробки провести мікробіологічні дослідження по ступенях забрудненості партій сировини до і після миття.

Протягом сезону переробки контроль миття сировини проводиться 2 – 3 рази на місяць. Режим миття повинен різнитися залежно від ступеня забрудненості сировини. Забруднену сировину слід більш ретельно мити.

Відбір та підготовка проб сировини для мікробіологічного дослідження проводиться таким чином: проби огірків, моркви, буряка беруть з різних місць партії по декілька штук стерильним пінцетом та складають у закриту стерильну банку. Проби капусти вирізають стерильним свердлом для пробок або скальпелем з таким розрахунком, щоб було захоплене зовнішнє й внутрішнє листя.

Проби відбирають безпосередньо перед миттям та зразу ж після нього, дослідження їх проводиться шляхом висіву матеріалу на поживні середовища для обліку різних груп мікроорганізмів.

Плоди та овочі піддаються багатьом мікробним захворюванням, які виникають під час їх дозрівання (їх вивчає фітопатологія) і які можуть виявитися в різні періоди зберігання.

При зберіганні плодоовочевої сировини для запобігання значного ураження

фітопатогенними збудниками проводять періодично сортування, огляд (для виявлення уражених одиниць), фітопатологічне обстеження.

Першим етапом фітопатологічного обстеження плодів та овочів є візуальний огляд зовнішніх поверхонь.

Найпоширеніші зовнішні ознаки захворювань – плямистість, гнилизна, наліт, нарости, утворення виразок.

Плямистість – відмирання окремих ділянок тканин. Вони розрізняються за формою, забарвленням й консистенціїєю (чорна плямистість моркви, фітофтороз картоплі, фомоз капусти).

Сух*а й мокра гнилизна* – один з основних типів уражень картоплі й овочів грибами й бактеріями. Наприклад, суха гнилизна в картоплі виражається в тому, що бульба зберігає форму, але підсихає, зморщується й часто покривається подушечками грибниці різних відтінків. Мокру гнилизну картоплі спричинюють бактерії. При цьому бульби розм'якшуються, ослизнюються, перетворюються на мокру масу, що пахне.

Нальоти розвиваються на поверхні уражених плодів і овочів і складаються із грибниці й спор грибів, що розрізняються за забарвленням: білі, бурі, сірі, жовті, чорні, червоні й ін. Нальоти можуть бути пишними й щільними. Наприклад, біла гнилизна моркви має пишний ватоподібний наліт.

Нарости – це розростання плодів і овочів за рахунок збільшення об’єму або числа уражених клітин. Типовий приклад – рак картоплі.

Виразки. На поверхні плодів і овочів утворюються поглиблення або скоринки з нерівними краями, іноді утримуючі органи спороносіння грибів. Хвороби з виразками на поверхні тканин називають паршою. Наприклад, звичайна або горбкувата парша картоплі.

Другим етапом фітопатологічного обстеження є огляд поздовжнього зрізу обстежуваної сировини.

При зрізі плодів і овочів у поздовжньому напрямку теж можна спостерігати характерні ознаки захворювань. Наприклад, на зрізі бульби картоплі при враженні фітофторою утворюються побурілі ділянки тканини, що згнила, у вигляді зубчиків на границі із здоровою тканиною. При ураженні картоплі корінебактеріями утворюється судинне кільце, на зрізі воно має темне забарвлення.

Третім етапом фітопатологічного обстеження є визначення збудника захворювання.

Бактерії виявляють на фіксованих і пофарбованих препаратах. Для цього готують препарати:

а) препарат-відбиток на предметне скло з ураженої ділянки плода; далі його висушують, фіксують і забарвлюють;

б) бактеріальною петлею переносять матеріал з ураженої ділянки в краплю води на предметному склі, розмазують по склу, сушать, фіксують і зафарбовують фуксином. Розглядають обидва препарати з імерсійною олією з об'єктивом 90. Замалювати.

Гриби визначають за органами спороносіння в препараті "роздавлена крапля". Для цього препарувальною голкою частину грибниці переносять на предметне скло в краплю суміші спирту із гліцерином. Накривають покривним склом і

розглядають із об'єктивом 40. Замалювати. Щоб точніше визначити рід гриба за органами спороносіння, роблять посів з метою одержання фіксованих препаратів.

Методика приготування фіксованих препаратів пліснявих грибів.

Поживне середовище для культивування пліснявих грибів (СА чи ГКА) розлити в стерильні чашки Петрі по 6 - 8 см3 для одержання шару не більше 2 мм.

Застигле середовище розрізати в чашці Петрі стерильним скальпелем в асептичних умовах на сектори, що дорівнюють за розмірами формі покривного скельця. Потім на стерильне предметне скло асептично перенести скальпелем (стерильним) один сектор поживного середовища й з розмістити в центрі предметного скла. Препарувальною голкою зробити посів досліджуваної культури пліснявого гриба: профламбувати голку, опустити кінець голки в міцелій і зробити два посіви (посів уколом) у протилежних кутах агарового сектора, відступивши по 1 мм від країв сектора (рис. 5). Засіяний агаровий сектор асептично закрити покривним склом.

На дно стерильної чашки Петрі помістити невеликий шар вати, змочений водою, на який покласти предметне скло з препаратом; закрити кришку чашки Петрі й поставити в термостат при 24 °С на 72 – 120 год.

Після термостатування по краях покривного скла спостерігається ріст пліснявого гриба. Розплавити парафін і пензлем нанести на поверхню препарату й довкола нього (один або два шари). Після висихання мікроскопувати з об'єктивом 40х.

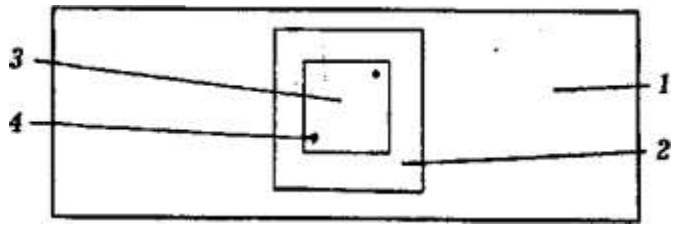


Рис. 5. Препарат пліснявого гриба на тонкій агаровій пластинці на предметному склі:

1 – предметне скло; 2 – покривне скло; 3 – середовище; 4 – посів грибів уколом

Зовнішній огляд і результати мікроскопування дають достатні підстави для того, щоб за допомогою короткого навчального визначника вивчити методику й особливості діагностики фітопатогенних уражень деяких плодів і овочів.

Короткий навчальний визначник хвороб плодів і овочів

Картопля

На поверхні бульби сухі плями:

а) плями нерівні, сірі, втиснені з поглибленнями; уражена тканина на розрізі бура, тверда, поширюється від поверхні в глибину "язиками". Фітофтора (*Phytophtora infestans*) – рис.6;

б) плями сухі, втиснені, зі складчастістю; на поверхні світлі подушечки із спороносіння гриба (білі, темні, рожеві); спори серповидні з 1–5 перегородками. Фузаріозна суха гнилизна (*Fusarium solani*) – рис. 7;

в) плями спочатку малопомітні світло-коричневі в основному біля вічок. Руйнується тільки верхній шар, набуваючи сріблястого кольору. Захворювання

проявляється в лютому – березні (*Helminthosporium solani*) – рис. 8;

На поверхні бульби мокрі плями:

а) плями круглі, великі, окремі або зливаються; тканини, що розклалися, бурі, при натисканні виділяється бурувата рідина; у сухих умовах тканина зсихається, у тканинах хламідоспори гриба. Мокра грибна гнилизна (*Fusarium oxysporum*) – рис. 9;

б) плями мокрі, охоплюють всі тканини бульби, мають вигляд кашкоподібної маси з неприємним запахом; на межі хворої й здорової тканини – темна облямівка. Мокра бактеріальна гнилизна *(Pseudomonas xanthochlora*);

в) уражена тканина розріджується й перетворюється на сіру кашкоподібну масу (*Erwinia carotovora*) рис. 17.

а б в г

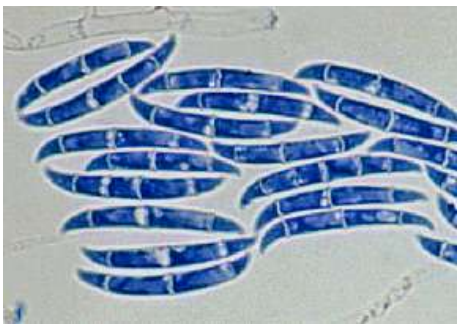
Рис. 6. *Phytophtora infestans* (а-мікрофотографія, б-розріз ураженої картоплини, в і г - уражені відповідно томати та баклажани)

а б

Рис. 6. *Fusarium solani* (а-мікрофотографія, б-уражена картопля)

а б

Рис. 8. *Helminthosporium solani* (а-мікрофотографія, б-уражена картоплина, вигляд зовні)



а б

Рис. 9. *Fusarium oxysporum* (а-мікрофотографія, б-розріз ураженої картоплини)

На поверхні бульби струпи:

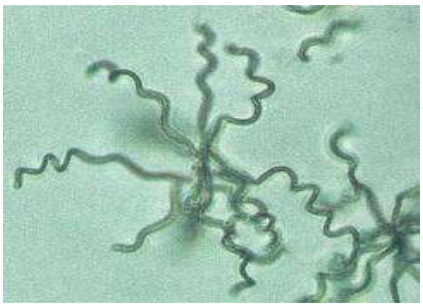
а) струпи плоскі, опуклі або ввігнуті, спочатку жовтуваті, потім – темно-коричневі. Звичайна парша *(Streptomyces scabiens)* – рис. 10;

б) на шкірці білі або чорні горбки у вигляді шматочків ґрунту, легко зішкрібуються й складаються з міцелію гриба. Чорна парша (*Rhizoctonia solani*) без конідій – рис. 11.

Поверхня бульби не ушкоджена, але відзначається кільцевий прояв:

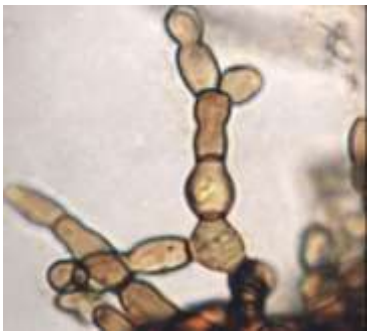
а) на розрізі бульби, у кільці судинних пучків – переривчасте або суцільне, широке, сухе руйнування бурого кольру; спори серпоподібно вигнуті з 3 – 4 перегородками. Грибна кільцева гнилизна (*Fusarium oxysporum*) – рис. 9;

б) на розрізі бульби судинні пучки розм'якшені, у них міститься жовтувато-білуватого кольору рідина, що при натисненні виступає краплями. Бактеріальна кільцева гнилизна (*Corynebacterium sepedonicum*).



а б

Рис. 10. *Streptomyces scabiens* (а-мікрофотографія, б-розріз ураженої картоплини)



а б в

Рис. 11. *Rhizoctonia solani* (а-мікрофотографія, б-уражена капустина, в-уражена картоплина, зовні)

Морква

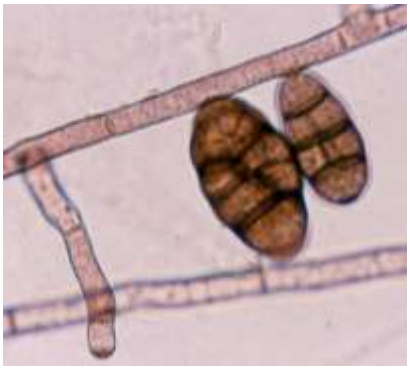
Суха гнилизна:

а) на поверхні коренеплоду видно сірі, втиснені плями, тканина під ними бура, суха, порохнява, часто з порожнечами, які вистелені білим нальотом міцелію; наприкінці зберігання утворюються темні плями. Фомоз (*Phoma rostrup*) – рис. 12;

б) плями темні втиснені, з нальотом; захворювання проявляється у верхній і боковій частинах коренеплоду; уражена тканина чорна, відділена від здорової; у нальоті темнозабарвлені конідії з поперечними й поздовжніми перегородками. Чорна суха гнилизна (*Alternaria radacina*) – рис. 13.

а б

Рис. 12. *Phoma rostrup* (а-мікрофотографія ураженої тканини, б-уражена морквина, зовнішній вигляд)



а б в

Рис. 13. *Alternaria radacina* (а-мікрофотографія, б-уражені коренеплоди моркви, в-уражений апельсин, зовнішній вигляд)

Гнилизна мокра з нальотом:

а) наліт білий, пластівчастий з міцелію гриба (без спороносіння); великі білі або чорні склероції, м'якоть мокра без зміни забарвлення. Біла гнилизна (*Sclerotinia sclerotiorum*) без конідій – рис. 14;

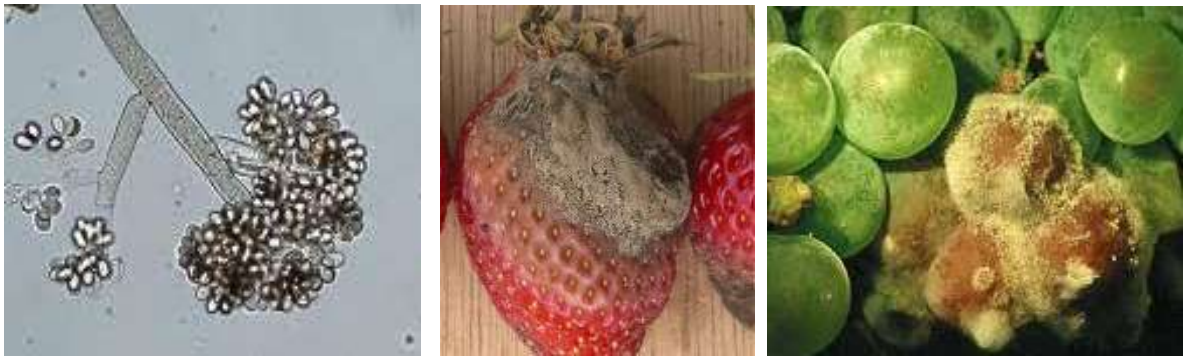
б) наліт сірий пухнатий, із дрібними чорними склероціями; уражена тканина мокра, буруватого кольору; наліт містить довгі розгалужені конідієносці з овальними, безбарвними конідіями. Сіра гнилизна (Botrytis cinerea) – рис. 15;

в) наліт темно-сірий, пухнатий із чорними голівками, уражена тканина не змінює кольору, мокра, спори овальні, безбарвні. Сіра цвіль (Rhizopus nigricans) – рис. 16.

г)на ураженій тканині нальоту немає; тканина має вигляд слизової маси, що містить бактерії. Мокра бактеріальна гнилизна *(Erwinia carotovora*) – рис.17.

а б в

Рис. 14. Біла гнилизна моркви (а), полуниці (б) та капусти (в)– ураження грибом *Sclerotinia sclerotiorum*



а б в

Рис. 15 *Botrytis cinerea* (а-мікрофотографія, б та в-уражені ягоди відповідно суниці та винограду зовнішній вигляд)

а б в г

Рис. 16. Rhizopus nigricans (а-мікрофотографія, уражені б-персик, в-суниця, г-сливи*)*

а б в г

Рис. 17. *Erwinia carotovora* (а-мікрофотографія, уражені б-цибуля, в-перець, г-капуста*)*

Цибуля й часник

Гнилизна денця, уражена поверхня з нальотом:

а) на дінці біла грибниця, коріння цибулини згнивають, на розрізі тканини водянисті, м'які, наліт складається з міцелію й серпоподібних спор з перегородками. Гнилизна денця (*Fusarium oxysporum*) – рис. 9;

б) наліт сірий, пухнатий, частіше на внутрішніх лусочках і боковій частині цибулини; тканини шийки розм'якшуються, на розрізі вони жовтувато-рожеві, водянисті, наліт складається з безбарвних овальних спор, зібраних у голівки на розгалужених конідієносцях. Шийкова (сіра) гнилизна (*Botrytis allii*).

в) наліт чорний, цвілеподібний, плями погано виражені; конідії чорні, округлі, бородавчасті; при зберіганні вся цибулина перетворюється на чорну порошисту масу. Чорна цвіль (*Aspergillus niger*) – рис. 18;

г) наліт зелений, цвілеподібний; конідієносці з розгалуженими верхівками, що несуть ланцюжки округлих, дрібних, безбарвних конідій. Зелена цвіль (*Penicillium*) – рис. 19.

уражена тканина без нальоту:

а) ослизнення на лусочках цибулини – жовтувата або рожева гнилизна, цибулина неприємно пахне. Мокра бактеріальна гнилизна (Erwinia carotovora) – рис.17.

б) мокрі плями, уражені всі тканини, мають вигляд кашкоподібної маси з неприємним запахом; на межі хворої й здорової тканини – темна облямівка. Мокра бактеріальна гнилизна *(Pseudomonas xanthochlora*) рис.20

а б в г

Рис.19. Зелена цвіль (а-мікрофотографія, уражені *Penicillium* б-часник, в-лимон,г-яблуко)

а б в г

Рис. 18. *Aspergillus niger* (а-мікрофотографія, уражені б-цибулина, в-суниця, г-яблуко*)*

а б в

Рис.20. Мокра гнилизна *Pseudomonas xanthochlora,* уражені картопля (а), часник (б) та томат.

Капуста

На гниючих качанах наліт грибниці:

а) наліт сірий, пухнатий зі спор і міцелію, склероції дрібні (0,1 – 0,7 см), чорні; на розгалужених конідієносцях дрібні овальні конідії. Сіра гнилизна (Botrytis cinerea) – рис. 15;

б) наліт темно-сірий з темними голівками (спорангії), спори круглі з товстою оболонкою. Сіра цвіль (Rhizopus nigricans) – рис. 16; в) наліт білий, щільний, пластівчастий із чорними склероціями розміром до 3 см; наліт тільки з міцелію. Біла гнилизна (Sclerotinia sclerotiorum) – рис. 14.

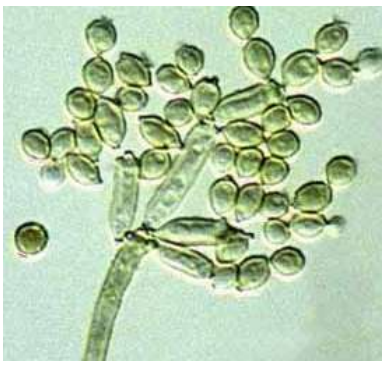
На гниючих кінчиках нальоту немає, качан ослизняється, неприємно пахне; в ураженій тканині маса бактерій. Слизовий бактеріоз (Erwinia carotovora) – рис.17.

Уражений качан або хвороба починається з нього: суха гнилизна качана, уражена тканина порохнява, іноді качани порожні, на поверхні листів бурі або сіруваті плями з пікнидами у вигляді чорних крапок, спори виходять із пікнид вузькою стрічкою. Фомоз (Phoma) – рис. 12.

Огірки та перці

На плодах плями:

а) плями різної величини, втиснені, із чорно-маслиновим бархатистим нальотом; спори яйцеподібні, темнозабарвлені або двоклітинні. Маслинова плямистість (Cladosporium cucumerinum) – рис. 21;



а б

Рис.21. *Cladosporium cucumerinum* (а-мікрофотографія, б-уражені огірки)

а б в

Рис. 22. *Colletotrichum lagenarium* (а-мікрофотографія, б і в-уражені відповідно гарбуз та огірок)

б) плями жовті, подовжені, втиснені з рожево-жовтими подушечками, спори яйцеподібні, одноклітинні, безбарвні. Антракноз (*Colletotrichum lagenarium*) – рис. 22;

в) на ураженій тканині білий пластівчастий наліт з міцелію, спороносіння відсутнє; на міцелії - чорні великі склероції. Біла гнилизна (Sclerotinia sclerotiorum) – рис. 14;

г) наліт сірий, пухнатий, із чорними дрібними склероціями, спори овальні, одноклітинні, безбарвні. Сіра гнилизна (*Botrytis cinerea*) – рис. 15.

Помідори

На плодах плями:

а) плями розпливчасті, бурі, з білим нальотом гриба, спори округлі, безбарвні. Фітофтороз (*Phytophtora infestans*) – рис. 6;

б) плями округлі, втиснені, із чорним нальотом, спори темні з довгим придатком, поперечними й поздовжніми перегородками. Макроспоріоз (*Alternaria solani*) – рис. 23;

в) ураження починається в місцях прикріплення плода до плодоніжки. Поступово поверхня плода стає чорною. Чорна гнилизна, або диплодінос (*Diplodina destructive*) – рис. 24.

а б в

Рис. 23. *Alternaria solani* (а-мікрофотографія, б-ураженй плід перцю, в-уражена гілка томатів)

а б в

Рис. 24. *Diplodina destructive* (а-мікрофотографія, б-розвиток міцелію, в-ураженй уражений кущ перцю)

Яблука й груші

На поверхні плодів:

а) бурі плями концентричними колами. М'якоть бурувато-коричнева (*Monilia fructigena*) – рис. 25;

б) бурі плями із дрібними чорними горбками, розташовані колами (*Sphaeropsis malorum*) – рис. 26;

а б в г

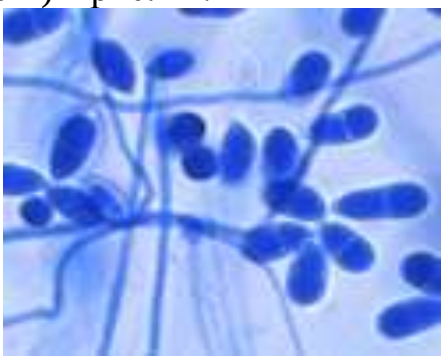
Рис. 25. *Monilia fructigena* (а-мікрофотографія, б-уражені ягоди черешні, в,г-уражені груша та яблука)

а б в

Рис. 26. *Sphaeropsis malorum* (а-мікрофотографія, б-уражені ягоди винограду, в-уражене яблуко)

в) плями зелені, зеленувато-сині, сіро-зелені (*Penicillium expansum*) рис. 19;

г) плями рожевого кольору, часто вражається насінева камера (*Trichothecium roseum*) – рис. 27.



а б

Рис. 2. Trichothecium roseum(а-мікрофотографія, б-уражене яблуко)

Цитрусові

а) на розм'якшених плодах біла пластівчаста грибниця, із чорними неправильної форми склероціями до 1 – 3 см величиною, спороносіння відсутнє. Біла гнилизна *(Sclerotinia sclerotiorum*) – рис. 14;

б) на плодах м'яка водяниста, злегка втиснена, зморщена шкірочка, на поверхні грибниця, що утворює вузьку білу облямівку навколо блакитного нальоту спор; спори ланцюжками, яйцеподібні, гладкі. Блакитна цвіль *(Penicillium*) рис. 19;

в) гнила тканина розм'якшена, водяниста, легко продавлюється; на поверхні рясна поверхнева грибниця з маслиново-зеленим нальотом спороносіння; спори розташовані ланцюжками, округлі. Маслиново-зелена цвіль (*Penicillium*) рис. 19.

г) на плодах бурі язви, спочатку світлі а зі збільшенням в розмірах темніють у разі проникнення до соковитої серцевини плоду викликають втрату вологи і затвердіння. Уражуються здебільшого апельсини та мандарини (солодкі плоди). Збудник захворювання *Alternaria radacina* рис. 13.

Завдання на виконання

1. Провести фітопатологічне обстеження ураженої сировини: Описати й замалювати зовнішній вигляд уражень на плодах і овочах. Описати й замалювати зовнішній вигляд уражень на зрізі. Визначити збудників захворювання

мікроскопуванням. Зробити фіксовані препарати бактерій і препарати грибів методом "роздавлена крапля". Замалювати. Пересіяти гриби на тонку пластинку поживного середовища.

2. Провести посів сировини для виготовлення консервів (капусти, моркви, картоплі, грибів, яблук, буряку тощо) на МПА для визначення МАФАМ та на солодовий агар з крейдою для визначення молочнокислих бактерій). Для цього з середньої проби на стерильну, попередньо зважену, чашку Петрі, взяти наважку 5 г, яку потім розмішати у колбі з 90 $см^3$ води та піском (піску – 2 – 3 г). Колбу протягом 10 хвилин збовтувати рухами по колу.

З одержаної суспензії приготувати розведення: 10^4 – для овочів, 10^2 – для яблук. На чашки Петрі висіяти 1 $см^3$ суспензії відповідного розведення і розподілити її по поверхні середовища за допомогою шпателя Дригальського. Потім чашки інкубувати при t=30 ^{o}C протягом 48 – 72 годин.

Аналіз одержаних результатів:

1. Користуючись навчальним визначником, встановити збудника вражень картоплі, овочів і плодів і скласти висновок.
2. На наступному лабораторному занятті виконати облік бактеріальної забрудненості сировини для виготовлення консервів. Результати досліджень занести у таблицю 3:

Таблиця 3

Об’єкт дослідження	Ступінь розведення	Кількість колоній на чашці Петрі			Кількість мікроорганізмів у 1 г сировини	Примітка
		Бактерії	Гриби	Загальна		

За одержаними результатами зробити висновки та записати їх у протокол.

Контрольні запитання

1. Що таке фітопатогенні мікроорганізми?
2. Чим епіфітна мікрофлора плодів та овочів відрізняється від фітопатогенної? Відповідь проілюструйте прикладами.
3. Які методи викорисовуються при фітопатологічному аналізі?
4. Як впливають на ураження фітопатогенними мікроорганізмами умови зберігання плодів і овочів?
5. Чому підвищена температура й вологість провокують захворювання плодів і овочів?
6. Які методи мікробіологічного контролю сировини використовуються у промисловості?
7. Яке завдання має мікробіологічний контроль сировини консервного виробництва?
8. Які заходи щодо зниження мікробної контамінації плодів і овочів застосовуються у промислових умовах?

Лабораторна робота 4

Облік бактеріальної забрудненості сировини для виготовлення консервів. Мікробіологічний контроль допоміжних матеріалів

Мета роботи: оцінити результати визначення бактеріальної забрудненості сировини для виготовлення консервів, опанувати методи мікробіологічного контролю допоміжних матеріалів консервного виробництва, засвоїти методи обліку бактеріальної забрудненості сировини

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників, зразки допоміжних матеріалів для виготовлення консервів (сіль, цукор, лавровий лист, кориця, перець, коріандр тощо). Крім цього, на кожну бригаду: 1 чашка Петрі з МПА, 1 чашка Петрі з середовищем Ендо; 1 чашка Петрі з МПА + 20% NaCl; 1 пробірка з печінковим бульйоном; 1 пробірка з простим агаром для створення анаеробних умов після посіву; 1 пробірка з сульфатним агаром з металевою пластиною або цвяхом (у кожну пробірку розміщують чисту залізну пластинку або цвях, заливають розплавленим сульфатним агаром та стерилізують); стерильні ступка і товкачик; стерильний пісок; 1 стерильна піпетка, шпатель Дригальського; колба з 90 $см^3$ стерильної водопровідної води; 3 пробірки з 9 $см^3$ стерильної водопровідної води.

Загальні відомості

До допоміжних матеріалів в консервному виробництві належать: цукор, спеції, поварська сіль та інші.

Як показали дослідження, цукор та спеції можуть бути джерелом забруднення консервів спорами термофільних мікроорганізмів, які здатні витримувати високі температури стерилізації. При розвитку цих спор у некислотних консервів (зелений горошок, цукрова кукурудза) виникає плоско-кисле псування (плоске скисання). Банки у цьому випадку не мають зовнішніх ознак псування, але продукт у банках робиться кислим, неприємним на смак.

Мікробіологічне дослідження допоміжних матеріалів передбачає визначення спор термофілів у цукрі та спеціях, а також – дослідження солі.

Мікробіологічні дослідження цукру

Для аналізу від кожної партії досліджують п’ять мішків. З кожного мішка беруть пробу 250 г та вміщують у стерильну колбу з термостійкого скла ємністю 250 $см^3$. На колбі попередньо роблять позначку на 100 $см^3$. наважку цукру у колбі заливають стерильною водою та доводять об’єм розчину до 100 $см^3$. Швидко нагрівають до кипіння та кип’ятять 5 хвилин, потім знов доводять стерильною водою до позначки та охолоджують.

1) Для дослідження збудників плоскокислого псування консервів (*Bacillus termoliquefaciens, B. stearothermophilus, B. aerotherrmophilus, B. panis viscosus*) використовують такі поживні середовища: м’ясопептонний агар з 1% глюкози та 0,004% бромкрезолпурпура. З охолодженого розчину цукру стерильною піпеткою відбирають 2 $см^3$ та виливають у стерильну чашку Петрі з поживним середовищем. Посів витримують у термостаті при 55 ^oC протягом 36-48 годин.

2) Для визначення термофільних анаеробів, які не утворюють сірководень (типу *Clostridium thermosoccharolyticum*), беруть шість пробірок печінкового бульйону. У кожну пробірку із середовищем додають стерильною піпеткою 3-3,5 $см^3$ цукрового розчину та для утворення анаеробних умов зверху розміщують шар простого агару з t=45 ^oC. Пробірки розташовують у термостаті на 48 годин при t=55 ^oC.

3) Для визначення термофільних анаеробів, які утворюють сірководень (*Clostridium niqrificans*), беруть 6 пробірок, у кожну вміщують чисту залізну пластинку або цвях, заливають розплавленим сульфатним агаром та стерилізують. Потім у кожну пробірку приливають 3-3,5 $см^3$ розчину цукру та ретельно перемішують. Пробірки витримують у термостаті 3 доби при t=55 ^oC.

Мікробіологічні дослідження солі

Для аналізу солі відбирають середню пробу в кількості 100 г від кожної партії. З цієї проби беруть та розчиняють у стерильній воді у колбочці з позначкою на 100 $см^3$, розчин доводять до позначки. З розчину, який приготували, беруть 1 $см^3$ та висівають у чашки Петрі.

1) При дослідженні загального обсіменіння чашки заливають м'ясопептонним агаром.

2) Для визначення галофітів та галофобів використовують поживне середовище – агар м'ясопептонний з 10% або 20% солі.

3) При дослідженні на фекальне забруднення, коли потрібно визначити присутність кишкової палички, посів роблять на середовище Ейкмана.

4) При визначенні спороутворюючих мікроорганізмів посів у чашки Петрі досліджувального розчину солі проводять після попереднього прогрівання при 80 ^oC на водяній бані протягом 30 хвилин. Після висівання чашки Петрі заливають м'ясопептонним агаром. Інкубацію посівів проводять у термостаті при 37 ^oC протягом 5 діб.

Мікробіологічні дослідження прянощів

Для мікробіологічного дослідження кожного виду прянощів пробу відбирають по 50 г з трьох одиниць упаковки. Проби змішують, з середньої проби беруть 1-2 г та переносять у колбу з позначкою на 100 $см^3$, доводять стерильною водою до позначки. Суміш енергійно струшують протягом 5 хвилин, дають осісти великими частинками і після відповідного розведення роблять посів на різні поживні середовища.

Для аналізу на загальне обсіменіння висівають 1 $см^3$ досліджуваного зливу чи його розведення на МПА у чашки Петрі та інкубують при t=37 ^oC протягом 1-2 діб.

Завдання на виконання

1. Провести мікробіологічні дослідження цукру для визначення термофільних анаеробів, які не утворюють сірководень, при висіві на печінковий бульйон; термофільних анаеробів, які утворюють сірководень, при висіві на сульфатний агар з металевою пластиною або цвяхом.

2. Провести мікробіологічні дослідження солі на дослідження загального обнасінення при висіві на МПА; галофілів при висіві на МПА з 20% NaCl; бактерій групи кишкової палички при висіві на середовище Ендо; спороутворюючих

мікроорганізмів при висіві на МПА після попереднього прогрівання при 80 ^{o}C на водяній бані протягом 30 хвилин.

3. Провести мікробіологічні дослідження прянощів.

Аналіз одержаних результатів:

1. Провести облік колоній для визначення бактеріальної забрудненості цукру:

1.1 Облік збудників плоскокислого псування консервів. Досліджувані чашки Петрі вийняти із термостата та розглянути зміни кольору середовища. Зміна кольору середовища від фіолетового до жовтого або наявність жовтих ореолів навколо колоній вказує на присутність спор термофілів – збудників плоскокислого псування. Їх кількість підрахувати у кожній чашці окремо та вивести середнє арифметичне для однієї чашки. Результат помножити на 5, отримавши кількість колоній, які виросли з 10 г цукру даного зразка. Підраховану кількість звірити з діючими стандартами.

1.2 Облік результатів аналізів на наявність термофільних анаеробів, які не утворюють сірководень (типу *Cl. thermosaccaharolyticym*), провести таким чином: пробірки, у яких є ріст, позначити знаком (+), відсутність росту позначити знаком (-). Кількість тих чи інших підрахувати та порівняти з існуючими нормами бактеріальної забрудненості.

1.3 Облік результатів аналізів на наявність термофільних анаеробів, які утворюють сірководень, провести таким чином: мікроорганізми “сульфітного” псування утворюють чорні колонії, газоутворення не спостерігається. Провести облік колоній чорного кольору та обсіменіння цукру виразити як кількість спор у 10 г зразку.

2. Провести облік колоній для визначення бактеріальної забрудненості солі.

Якщо кількість колоній велика, то чашку Петрі розподілити на рівні сектори, підрахувати кількість колоній у кількох секторах, потім знайти середнє арифметичне та помножити це число на кількість секторів. Отримане число помножити на розведення і, таким чином, визначити кількість мікроорганізмів у 1 см^3 розчину солі.

Сіль вважається придатною для виробництва, якщо загальна кількість мікроорганізмів не перевищує 1000 колоній на 1 г при всіх інших показниках, що відповідають вимогам ДСТУ.

3. Провести облік колоній для визначення бактеріальної забрудненості прянощів.

Розрахунок загальної бактеріальної забрудненості прянощів провести за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 10 \cdot (V + n)}{C \cdot н}$$

Де *X* – кількість бактерій у 1 г продукту; *a* – кількість колоній, які виросли у чашці Петрі; *C* – об’єм проби, який внесли до чашки Петрі; *n* – число розведень; V – об’єм води, який добавили до наважки; н – наважка продукту.

Результати розрахунків бактеріальної забрудненості допоміжних матеріалів консервного виробництва занести у підсумкову таблицю 4:

Таблиця 4

Результати аналізів допоміжних матеріалів

Досліджу-ваний зразок	Загальна кількість м/о у 1 г (1 см^3) продукту	Число спор термофілів	Відмітка про наявність анаеробів		Примітки
			не утв. H_2S	утв. H_2S	
1	2	3	4	5	6
Цукор		не більше 75 спор у 5 дослідже-них зразках, у середньому, не більше 50 спор у 10 г	не більше, як в 4 з 6 засіяних пробірок	не більше 2-х колоній у 6 засіяних пробірках	
Сіль	не більше 1000 колоній на 1 г продукту				
Прянощі: 1. Перець молотий 2. …					

За одержаними результатами зробити висновки порівнявши одержані показники з нормативними та записати їх у протокол.

Контрольні запитання

1. Охарактеризуйте методи обліку мікробної забрудненості допоміжних матеріалів, які використовуються для виготовлення консервів.
2. Які методи зберігання рослинної сировини та продуктів її переробки є найефективнішими?
3. Дайте характеристику мікробіологічних методів дослідження цукру, солі, прянощів. Поясніть вибір поживних середовищ для проведення цих досліджень.
4. Від яких факторів залежить мікрофлора прянощів?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 5

Мікрофлора овочів та плодів при солінні та заквашуванні. Облік бактеріального забруднення допоміжних матеріалів консервного виробництва

Мета роботи: засвоїти мікробіологічні основи консервування методом соління та заквашування, опанувати методи обліку мікробної забрудненості допоміжних матеріалів консервного виробництва

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників, зразки квашених капусти, огірків, томатів, мочених яблук, ферментованих маслин, оливок; змиті з пробірок тест-культури мікроорганізмів: *Sarcina flava, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, Erwinia aroidea* (по 1 пробірці). Крім цього, на кожну бригаду: 1 стерильна чашка Петрі; 1 пробірка з дріжджовою водою з 20% желятини; 1 стерильна піпетка; набір пробірок з м'ясо-пептонним бульоном (МПБ) з концентрацією NaCl 0%, 5%, 10%, 20%.

Загальні відомості

При заквашуванні та солінні плодів та овочів основним консервантом є молочна кислота, яка пригнічує розвиток гнилісних та маслянокислих і сприяє збільшенню кількості молочнокислих бактерій (принцип ценанабіозу).

Іншим фактором, який використовується при консервуванні методом соління або заквашування, є збільшення осмотичного тиску за умови високої концентрації розчинених у середовищі речовин. При цьому у більшості мікроорганізмів наступає плазмоліз клітини – протоплазма виділяє воду та ущільнюється; пригальмовуються процеси обміну речовин і клітина переходить у стан анабіозу.

Підвищений осмотичний тиск при солінні або заквашування плодів і овочів створюється додаванням солі у концентрації від 2-2,5% до 8% залежно від виду сировини.

Слід пам'ятати, що деякі види мікроорганізмів здатні легко переносити високі концентрації розчинених у середовищі речовин та навіть мають потребу в них. Такі мікроорганізми носять назву осмофілів. Осмофільні мікроорганізми, стійкі до високих концентрацій повареної солі, називаються галофітами. Деякі з них є збудниками псування харчових продуктів, одержаних в результаті консервування методом соління або заквашування.

Продукцію заквашування та соління необхідно охороняти від розвитку кислотознижувальної мікрофлори – плівчастих дріжджів, міцеліальних грибів.

Завдання на виконання

1. Провести дослідження мікрофлори розсолу огірків і кислої капусти шляхом приготування фіксованого препарату та виявити капустяну паличку (Lactobacillus fermenti), огіркову паличку (Lactobacillus cucumeris), молочнокислі бактерії Leuconostok mesenterioides, Lactobacillus plantarum та ін. Забарвити препарати водним розчином фуксину основного та виявити бактерії, що утворюють капсули.
2. Провести бактеріологічний аналіз культури молочної плісняви роду Oidum (розсіл кислої капусти). Для цього сік капусти у кількості 1 $см^3$ внести у пробірку з 9 $см^3$ стерильної водопровідної води (розведення 1:10). Потім 1 $см^3$ розведення внести на дно стерильної чашки Петрі та залити розплавленим середовищем –

дріжджовою водою з 20% желатину. Чашки залишити при кімнатній температурі на 24 години.

3. Визначити вплив концентрації повареної солі в середовищі МПБ на бактерії. Для цього зробити посів тестових культур бактерій у МПБ із 5%, 10% і 20%-ою концентрацією NaCl і без солі (контроль). Посів бактерій зі змивів чистої культури робити бактеріологічною петлею, дотримуючись правил асептики. Бактеріологічну петлю перед кожним посівом стерилізувати в полум'ї пальника. Пробірки з засіяними середовищами помістити в термостат із температурою 25 °С. Попередньо всі пробірки зібрати в склянку із вкладеною етикеткою з вказаним прізвищем студента й номером групи.

Аналіз одержаних результатів.

На наступному лабораторному занятті провести:

1. дослідження морфології молочної плісняви роду *Oidium*, виділеної з розсолу кислої капусти.
2. оцінку інтенсивності росту бактерій в поживному середовищі з різним вмістом NaCl. Результати досліджень занести у підсумкову таблицю 5:

Таблиця 5

Тестова культура бактерій	Концентрація NaCl у середовищі, %				Примітка
	0	5	10	20	

Контрольні запитання

1. Охарактеризуйте методи обліку мікробної забрудненості допоміжних матеріалів консервного виробництва.
2. Дайте характеристику мікроорганізмів – збудників псування консервованої продукції, вміст яких контролюється і регламентується у цукрі та спеціях.
3. За якими мікробіологічними показниками можна зробити висновок про придатність повареної солі для використання у консервному виробництві?
4. Дайте визначення поняття «осмофільні мікроорганізми». У чому полягає небезпека осмофілів для консервованої продукції?

Лабораторна робота 6

Мікрофлора овочів та плодів при солінні та заквашуванні (закінчення) Мікрофлора компотів, повидла, джемів, варення. Мікрофлора банкових консервів.

Мета роботи: провести оцінювання мікрофлори солених плодів та овочів, опанувати методи аналізу мікрофлори банкових консервів, ознайомитись з мікроорганізмами, що можуть розвиватися у компотах, повидлі, варенні, джемах

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників; зразки варення або джемів,

які збродили; змиті з пробірок тест-культури мікроорганізмів: *Sarcina flava, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, Erwinia aroidea, Candida valida, Rhodotorula glutinis, Rhizopus nigricans, Aspergillus niger, Penicillium chryzogenum, Fusarium culmorum* (по 1 пробірці). Крім цього, на кожну бригаду: 1 чашка Петрі з МПА; 1 чашка Петрі з сусло-агаром; 1 чашка Петрі з середовищем Ендо; 2 стерильні піпетки; шпатель Дригальського; колба з 90 $см^3$ стерильної водопровідної води; 3 пробірки з 9 $см^3$ стерильної водопровідної води; набір пробірок з суслом і глюкозою у концентрації 0%, 20%, 40%, 60% та набір пробірок з МПБ з pH 3, 5, 7, 9.

Загальні відомості

При виробництві компотів, варення, а також повидла та джемів збудниками мікробного псування може бути як мікрофлора сировини, так і мікроорганізми другорядного забруднення у процесі виробництва. Цей засіб консервування базується на підвищеному осмотичному тиску середовища, яке створюється за рахунок високих концентрацій цукру. Головними збудниками мікробного псування варення, повидла, джемів є осмофільні дріжджі, які попадають до продукту з сировиною, а також – із забрудненою тарою.

Слід пам‘ятати, що термостійкість осмофільних дріжджів у присутності цукру підвищується. Вважається, що присутність у 1 г непастеризованого джему (повидла, варення) більше, як 5 тисяч дріжджових клітин веде до швидкого зброджування продукту.

Прокисання непастеризованих солодких продуктів можуть викликати оцтовокислі бактерії та осмофільні мікроскопічні гриби. При виробництві компотів з pH 3,7 та нижче (з цитрусових, слив, вишні) найбільшу небезпеку викликають осмофільні дріжджі, в готових компотах з pH 3,7-4,5 (з груш, яблук, персиків) при значній забрудненості сировини можуть бути виявлені спори маслянокислих бактерій, сінної палички, анаеробних бактерій.

Завдання на виконання

1. Провести бактеріологічний аналіз варення, яке збродило для виявлення осмофільних дріжджів. Для цього невелику кількість варення внести у пробірку із стерильною водопровідною водою та ретельно розмішати. Петлю суспензії помістити на поверхню застиглого сусло-агару у чашках Петрі. Розсів виконати шпателем Дригальського. Чашки витримати у термостаті при t=30 ^oC протягом 24-48 годин.

2. Дослідити вплив концентрації глюкози на дріжджі та плісняві гриби. Для цього зробити посів тестової культури дріжджів або міцеліальних грибів у пробірки з стерильним суслом із 20%, 40%, 60%-ою концентрацією глюкози і без глюкози (контроль). Посів дріжджів та грибів зі змивів чистої культури робити бактеріологічною петлею, дотримуючись правил асептики. Бактеріологічну петлю перед кожним посівом стерилізувати в полум'ї пальника. Пробірки з засіяними середовищами помістити в термостат із температурою 30 ^0C.

3. Визначити вплив pH середовища на бактерії Для цього зробити посів тестових культур бактерій у МПБ pH 3, 5, 7, 9. Посів бактерій зі змивів чистої

культури робити бактеріологічною петлею, дотримуючись правил асептики. Бактеріологічну петлю перед кожним посівом стерилізувати в полум'ї пальника. Пробірки з засіяними середовищами помістити в термостат із температурою 25^0С.

Попередньо всі пробірки зібрати в склянку і вкласти в нього етикетку з написом прізвища студента й номери групи.

На наступному лабораторному занятті проаналізувати виконані досліди.

Аналіз одержаних результатів:

1. Провести оцінку росту пліснявих грибів і дріжджів на середовищі з різною концентрацією глюкози. Результати досліджень занести у підсумкову таблицю 6:

Таблиця 6

Тестова культура мікроорганізмів	Концентрація глюкози у середовищі, %				Примітка
	0	20	40	60	

2. Провести оцінку інтенсивності росту бактерій на середовищі з різними значеннями pH. Результати досліджень занести у підсумкову таблицю 7:

Таблиця 7

Тестова культура мікроорганізмів	Значення pH середовища				Примітка
	3	5	7	9	

3. Провести дослідження морфології осмофільних дріжджів, виділених із збродженого варення.

Проаналізувавши одержані результати зробити висновки та записати їх у протокол.

Контрольні запитання

1. Які процеси лежать в основі заквашування капусти, солоних огірків, мочіння яблук, ферментації оливок?
2. Які умови сприяють розвитку молочнокислих бактерій на овочах при заквашуванні?
3. Дайте характеристику стадій бродіння в процесі заквашування капусти.
4. На якій стадії бродіння розвиваються гомоферментативні молочнокислі бактерії?
5. Охарактеризуйте основні вади квашеної капусти, їх причини та заходи запобігання.
6. Зазначте основні причини вад солоних огірків та заходи запобігання їх виникненню.
7. Які форми молочнокислих бактерій виявляються на препаратах доброякісної квашеної капусти?
8. Охарактеризуйте вплив концентрації повареної солі у середовищі на ріст мікроорганізмів.

9. Дайте характеристику явищ плазмолізу та плазмоптизу. Як ці явища використовуються у технологіях консервування рослинної сировини?

Лабораторна робота 7

Мікробіологічний аналіз баночних консервів і соків. Мікрофлора та мікробіологічний аналіз сушених та заморожених плодів та овочів.

Мета роботи: засвоїти методи бактеріологічного дослідження баночних консервів.

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників; зразки баночних консервів та соків; зразки сушених та заморожених плодів і овочів; стерильні скляні трубочки d=0,8 – 1 см. Крім цього, на кожну бригаду: 1 стерильна чашка Петрі; 1 пробірка з 10 $см^3$ МПА; 1 чашка Петрі з сусло-агаром; 1 пробірка з середовищем Кеслера (оснащена скляним поплавком); 1 чашка Петрі з середовищем Ендо; 3 стерильні піпетки; шпатель Дригальського; колба з 90 $см^3$ стерильної водопровідної води; 3 пробірки з 9 $см^3$ стерильної водопровідної води.

Загальні відомості

Мікрофлора баночних консервів

Розповсюдженими методами консервування харчових продуктів є їх фасування, герметизація та обробка стерилізуючими факторами.

Відповідно до вимог стандартів рослинні консерви, доброякісні за бактеріологічними показниками, характеризуються сукупністю таких властивостей:

а) нормальним зовнішнім виглядом;

б) герметичністю;

в) промисловою стерильністю.

При порушенні режимів стерилізації або герметичності тари у консервованих продуктах можуть накопичуватися різні мікроорганізми: в консервах із зниженою кислотністю – спорові та безспорові гнилісні бактерії, у консервах з підвищеною кислотністю – дріжджі, ацидофільні бактерії. Тому при виробництві консервів потрібно суворо дотримувати санітарно-технічні вимоги, контролювати температурні параметри технологічних процесів.

Мікроорганізми, розвиваючись у консервах, утворюють газоподібні продукти обміну, що зумовлює здуття банки – біологічний бомбаж. Інші види мікроорганізмів зумовлюють псування консервів без здуття – плоскокисле псування. Збудниками цього псування є кислотоутворювальні термофільні аеробні бактерії (які переважно утворюють молочну й оцтову кислоти) *Bacillus aerothermophyllus* і *B. stearothermophyllus*. Такий вид псування може бути у всіх видів консервів, але частіше в овочевих і м'ясо-рослинних. Життєдіяльність цієї мікрофлори виявляється через деякий час.

З патогенної мікрофлори, яка здатна розвиватися у баночних консервах, найбільш небезпечною для людини є анаеробна спорова паличка збудника ботулізму *Clostridium botulinum*, а також – стафілококи, що здатні викликати інтоксикацію при вживанні неякісної консервованої продукції.

При бактеріологічному аналізі баночних консервів визначають:

1) наявність мезофільних та термофільних аеробних та анаеробних мікроорганізмів;

2) наявність збудника ботулізму та його токсинів; при розслідуванні харчових отруєнь – палички *Clostridium perfingens* або плазмокоагулюючих стафілококів.

Токсигенні збудники аналізуються в спеціальних лабораторіях

Мікрофлора сушених плодів та овочів.

Перспективним методом збереження соковитої рослинної продукції є низькотемпературне заморожування, що дає змогу закладати на тривале зберігання плоди й овочі різних строків дозрівання, зберігати їхню якість, харчову й біологічну цінність. Асортимент замороженої продукції постійно оновлюється й доповнюється. На даний час асортимент швидкозамороженої продукції нараховує близько 300 найменувань: ягоди, плоди, овочі, заморожені як у вигляді монокультур, так і різних сумішей з них. За харчовою цінністю заморожені продукти можна віднести до високоякісних продуктів, які можуть доповнювати, а при необхідності й заміняти свіжі продукти.

У заморожених плодах, ягодах і овочах виявляється досить багато мікроорганізмів. В основному це клітини, які витримують низьку температуру (психрофіли). У заморожених продуктах визначають кількість МАФАМ, БГКП, патогенні мікроорганізми, у тому числі сальмонели, дріжджі й плісняві гриби.

Мікрофлора заморожених плодів та овочів.

На сьогоднішній день одержують сушені плоди й овочі у вигляді пластівців і порошків. Переваги порошків у тому, що вони легко відновлюються в одноманітні гомогенні пюре або пасти.

Овочі сушать до залишкової вологості 10 – 12 %, плоди – до 18 – 25 %. Для зберігання сухих овочів й плодів потрібні значно менші площі. Ці продукти являють собою концентровані й висококалорійні продукти харчування. При сублімаційному висушуванню готова продукція після відновлення майже рівноцінна свіжим плодам і овочам.

При визначенні безпеки сухих плодів і овочів використовують ті ж мікробіологічні показники, що й для заморожених плодів і овочів.

Завдання на виконання

1. Ознайомитись з методикою підготовки баночних консервів для досліджень. У протоколі відмітити:

а) банки, які досліджують, витримують у термостаті попередньо при t=37 ^{o}C протягом 5 діб (при дослідженні на наявність термофільних бактерій, банки витримують у термостаті дві доби при t=55 ^{o}C);

б) перед розкриванням перевіряють герметичність банки. З цією метою банку нагрівають у кип'яченій воді 5-7 хвилин; поява бульбашок газу у будь-якому місці поверхні банки вказує на порушення герметичності. Така банка не підлягає бактеріологічному аналізу;

в) розкривають консерви з витримуванням суворих вимог стерильності: перед розкриванням банку струшують та протирають ретельно спиртом; верхню кришку обпалюють у полум'ї пальника, потім обпаленим пробійником розкривають у центрі кришки, отвір роблять діаметром 1-1,5 см та накривають стерильною половинкою чашки Петрі.

Для проведення бактеріологічного аналізу на наявність мезофільних аеробних та анаеробних бактерій стерильною піпеткою відібрати з банки рідинну масу з щільними частками та зробити посів на поживне середовище:

- для визначення мезофільних аеробних бактерій 1 г продукту перенести в пробірку з МПБ;
- для визначення мезофільних анаеробних бактерій 5 г продукту внести на дно пробірки і залити 10 $см^3$ розплавленого та охолодженого до 60-70 ^oC МПА;

Залишити пробірки у вертикальному положенні при t= 37 ^oC на 24-48 годин у термостаті.

2. Провести бактеріологічний аналіз сушених та заморожених плодів та овочів:
   - для визначення кількості МАФАМ виконують ряд послідовних розведень за схемою наведеною на рис. 1. обираючи наважку продукту та кратність розведення згідно приведених у табл.11 та 12 нормативних даних, висів проводять глибинним способом (стерильною піпеткою вносять 1 $см^3$ відповідного розведення у стерильну чашку Петрі з наступним заливанням розплавленим та охолодженим до t= 40 ^oC МПА, одразу після заливання чашку встановлюють на горизонтальну поверхню і круговими рухами перемішують її вміст) після застигання середовища чашку помістити догори дном в термостат з температурою 37 °С на дві доби.
   - для визначення кількості дріжджів і пліснявих грибів на поверхню застиглого і підсушеного СА наносять краплю суспензії певного розведення і за допомогою скляного шпателя розподіляють її по всій поверхні. Засіяні чашки перевертають догори дном і залишають при кімнатній температурі.

Аналіз посівів проводять після термостатування на наступному занятті.

Контрольні запитання.

1. Охарактеризуйте джерела мікрофлори баночних консервів та її зміни у процесі виробництва.
2. Які технологічні операції при підготовці продуктів до стерилізації знижують обсіменіння продукту мікроорганізмами, а які підвищують його?
3. Які види біологічного браку овочевих і фруктових консервів існують?

Лабораторна робота 8

Мікробіологічний аналіз консервів і соків (закінчення)
Мікрофлора та мікробіологічний аналіз сушених та заморожених плодів та овочів (закінчення).

Мета роботи: опанувати методику оцінювання результатів аналізу мікрофлори баночних консервів.

Матеріали та обладнання: мікроскопи; предметні та покривні скельця; крапельниці з дистильованою водою; набір барвників.

Загальні відомості

Критеріями безпеки консервованих харчових продуктів (промислова стерильність) є відсутність у консервованому продукті мікроорганізмів, здатних розвиватися при температурі зберігання, встановленій для конкретного виду консервів, і мікроорганізмів й мікробних токсинів, небезпечних для здоров'я людини.

Бактеріологічний контроль за якістю консервів проводиться залежно від активної кислотності (pH) продуктів консервування, специфічності їхньої мікрофлори і теплової обробки. Відповідно до цього всі консерви підрозділяються на 5 груп:

А — консерви, що мають pH вище 4,4, виготовлені без нормованого внесення кислоти (крім томат-продуктів) (табл.8);

Б — томат-продукти (табл.8);

В — консервовані огірки, патисони, слабкокислі овочеві маринади і мариновані гриби, а також салати, вінегрети тощо - консерви, що мають pH від 8,7 до 4,4, виготовлені з нормованим внесенням кислоти (табл.9);

Г — овочеві маринади з pH менш 3,7, консервована квашена капуста, супи фруктові і всі плодово-ягідні консерви (табл.9);

Д — пастеризовані шпик солоний чи копчений бекон, сосиски, шинка й інші м'ясні продукти в герметичній тарі з обмеженим терміном збереження при 0...6°С (табл.9).

Особливу санітарно-епідемічну небезпеку становлять консерви групи А, оскільки у слабо кислому середовищі може розмножуватися і виділяти токсин збудник ботулізму. Менш небезпечні консерви, що мають кисле середовище, груп Б и В, і особливо Г, а також піддані копченню з добавкою консервантів і обмеженим терміном збереження при низькій температурі консерви групи Д. Слід зазначити, що випуск консервів груп А, Б, В і Д дозволяється тільки на підприємствах, забезпечених мікробіологічним контролем на кожній зміні.

Таблиця 8

Визначення промислової стерильності консервів групи А та Б

Мікроорганізми, виявлені в консервах	Вимоги промислової стерильності	Результат	Висновок
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (спороутворювальних)	Не більше 11 КУО/г продукту		
Мезофільні клостридії	Не більше 1 КУО/г		
Плісняві гриби	Не допускаються		
Дріжджі	Не допускаються		

Таблиця 9

Визначення промислової стерильності консервів групи В и Г

Мікроорганізми, виявлені в консервах	Вимоги промислової стерильності	Результат	Висновок
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікро-організмів (газоутворювальні спороутворювальні)	Не допускаються		
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікро-організмів (спорові не утворюють газу)	Не більш 9 КУО/г		
Мезофільні клостридії	Не більш 1 КУО/г		
Плісняві гриби	Не допускаються		
Дріжджі	Не допускаються		

Таблиця 10

Визначення промислової стерильності консервів групи Е

Мікроорганізми, виявлені в консервах	Вимоги промислової	Результат	Висновок
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів	Не більш 11 КУО/г		
Бактерії групи кишкової палички	Не допускаються в 1 $дм^3$		

Плісняві гриби	Не більш 5 КУО/г		
Молочнокислі бактерії	Не допускаються в 1 $см^3$		

Таблиця 11

Мікробіологічні показники якості замороженої плодоовочевої продукції

Найменування продукту	КМАФАМ, КУО /г не більше		Маса продукту, г, у якій не допускаються				Дріжджі, КУО/г, не більше		Плісняві гриби, КУО/г, не більше		Висновок
			БГКП		патогенні мікроорганізми, у тому числі сальмонели						
	норматив	результат	норматив	результат	норматив	результат	норматив	результат	норматив	результат	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Овочі й картопля свіжі заморожені, овочі свіжі цільні бланшовані, швид козаморожені	$1 \cdot 10^4$		I		25		$1 \cdot 10^2$		$1 \cdot 10^2$		

Закінчення таблиці 11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Овочі свіжі й цільні неблан-шовані швид-козаморожені	$1 \cdot 10^5$		0,01		25		$5 \cdot 10^2$		$5 \cdot 10^2$		

Овочі зелені й листові швидкозаморожені	$5 \cdot 10^5$		0,01		25		$5 \cdot 10^3$		$5 \cdot 10^2$		
Напівфабрикати з картоплі швидкозаморожені	$5 \cdot 10^4$		0,01		25		$1 \cdot 10^3$		-		
Салати й суміші із бланшованих овочів швидкозаморожені	$5 \cdot 10^4$		0,1		25		$1 \cdot 10^2$		$1 \cdot 10^2$		
Фрукти, ягоди, виноград швидкозаморожені й продукти їхньої переробки	$5 \cdot 10^4$		0,1		25		$2 \cdot 10^2$		$1 \cdot 10^3$		
Плоди кісточкових швидкозаморожені	$5 \cdot 10^5$		0,1		25		$5 \cdot 10^2$		$1 \cdot 10^3$		
Ягоди свіжі у вакуумному пакуванні швидкозаморожені	$5 \cdot 10^4$		0,1		25		$2 \cdot 10^2$		$5 \cdot 10^2$		
Напівфабрикати десертні плодовоягідні	$1 \cdot 10^5$		0,1		25		$1 \cdot 10^3$		$1 \cdot 10^3$		

Таблиця 12

Мікробіологічні показники якості сухих плодів і овочів

Найменування	КМАФАнМ,	Маса продукту, г, у якій не допускаються	Плісняві	Висновок

продукту	КУО/г, не більше		БГКП		патогенні мікроорганізми, у т. ч. сальмонели		гриби, КУО/г, не більше		
	норматив	результат	норматив	результат	норматив	результат	норматив	резуль	
1	2		4		6	7	8		10
Овочі сушені	$5 \cdot 10^5$		0,01		25		$5 \cdot 10^2$		
Картопля сушена та інші коренеплоди	$2 \cdot 10^4$		0,01		25		$5 \cdot 10^2$		
Чіпси картопляні	$1 \cdot 10^4$		0,1		25		-		
Фрукти та ягоди (сухофрукти)	$5 \cdot 10^4$		0,1		25		$5 \cdot 10^2$		
Плоди та ягоди, пюре плодово-ягідне сублімованого сушіння	$5 \cdot 10^4$		0,1		25		100		
Цукати	$1 \cdot 10^4$		1		25		50		
Гриби сушені	$5 \cdot 10^5$		0,001		25		$5 \cdot 10^2$		
Десерти овочеві й фруктові (теплового сушіння)	$5 \cdot 10^4$		1		25		100		
Порошки овочеві (сублімованого сушіння)	$5 \cdot 10^4$		0,01		25		100		

Завдання на виконання

1. Виконати облік результатів аналізу консервів і соків. Із середовищ з ознаками росту зробити мазок для мікроскопіювання та забарвити препарат за Грамом. Результати занести у відповідну таблицю 8-10 відповідно до групи консерви, яку досліджували

2. У протоколі досліджень відмітити хід аналізу, наявність або відсутність мікрофлори та її морфологію, а також відповідність досліджених зразків нормативним значенням.

3. Виконати облік результатів аналізу сушених та заморожених плодів і овочів. Результати занести у відповідну таблицю 11 чи 12 залежно від виду дослідженої продукції.

На цьому дослідження закінчуються. У висновках слід записати, що в практиці бактеріологічних лабораторій дослідження тривають далі, якщо знайдені мікроорганізми, які підозрілі на приналежність їх до патогенної та умовно патогенної мікрофлори. Якщо виявлено грамнегативні безспорові палички проводять посів на середовище Ендо чи Левіна для ідентифікації бактерій кишкової групи.

Контрольні запитання:

1. Охарактеризуйте залишкову мікрофлору овочевих і фруктових консервів. Які вимоги висуваються до залишкової мікрофлори?
2. Охарактеризуйте заходи по зниженню мікробної контамінації плодово-овочевих консервів, попередженню їх псування та харчових отруєнь людей.
3. Які мікроорганізми залишаються в життєздатному стані після заморожування плодів і овочів?
4. Що таке БГКП? Що вони характеризують?
5. Що характеризують у продукті дріжджі й плісняві гриби?
6. Чому в заморожених плодах і овочах нормується відсутність патогенних мікроорганізмів?
7. Чому потрібна низька залишкова вологість сухих плодів і овочів?
8. Як зберігають сухі плоди й овочі й чому?
9. При якій вологості розвиваються бактерії у сухих плодах і овочах?
10. При яких умовах зберігання сухих плодів і овочів розвиваються плісняві гриби?

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Анализ* и оценка качества консервов по микробиологическим показателям /Н.Н.Мазохина-Поршнякова, Л.П.Найдьонова, С.А.Николаева, Л.И.Розанова. – М.: Пищ. пром-сть, 1977. – 471 с.
2. *Вербина В.М.,* Каптерева Ю.В. Микробиология пищевых производств. – М.: Агопромиздат, 1988. – 255 с.
3. *Грегірчак КМ.* Мікробіологія харчових виробництв: Лабораторний практикум. -К.: НУХТ, 2009. – 302 с.
4. *Гусев М.В.,* Минеева Л.А. Микробиология. - 5-е изд. - М.: Изд. МГУ, 2002. – 348 с.
5. *Емцев В.Т.,* Шильникова В.К. Микробиология. - М.: Агропромиздат, 1990. -191 с.
6. *Жвирблянская А.Ю.,* Бакушинская О.А. Микробиология пищевой промышленности. - М.: Пищ. пром-сть, 1975. – 502 с.
7. *Жвирблянская А.Ю.,* Бакушинская О.А. Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности. – 2-е изд. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. – 312 с.
8. *Красінько В.О.* Мікробіологія консервного виробництва: Конспект лекцій для студ. спец. 6.091700 "Технологія зберігання, консервування та переробки плодів та овочів" напряму 0917 "Харчова технологія та інженерія" ден. та заоч. форм навчання / Уклад.: В.О.Красінько. – К.: НУХТ, 2009. – 41 с
9. *Лижинская К.А.* Микробиология с основами вирусологии. – М.: Просвещение, 1987. – 192 с.
10. *Микробиология:* Практикум: Уч. пос. для вузов. / Л.Г.Бранцевич, Л.Н.Лысенко и др. – Киев: Вища школа, 1987. – 200 с.
11. *Мікробіологія* консервного виробництва : Метод, рекомендації до вивч. дисципліни та викон. контрол. робіт для студ. напряму підготовки. 6.051701 "Харчові технології та інженерія" ден. та заоч. форм навчання / Уклад.: В.О.Красінько, С.М.Тетеріна. – К.: НУХТ, 2012. – 15 с
12. *Мудрецова-Висс К.А.* Микробиология. - М.: Экономика, 1985. – 256 с.
13. *Мюллер Г.,* Литц П., Мюнх Г. Микробиология пищевых продуктов растительного происхождения. – М.: Пищ. пром-сть, 1977. – 343 с.
14. *Практикум* по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; Под ред. В.К. Шильниковой. – 5-е изд. - М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
15. *Промышленная* микробиология / З.А.Аркадьева, А.М.Безбородов, И.Н.Блохина и др./ Под. ред. Н.С.Егорова. М.: Высшая школа, 1989. - 688с.
16. *Рабинович Г.Ю.,* Сульман Э.М. Санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды и пищевых продуктов с основами микробиологии: Учеб. пособие. 1-е узд. – Тверь: ТГТУ, 2005. – 220 с.
17. *Рыкова Л.И.,* Черняева М.И. Основы микробиологического контроля консервного производства. - М: Пищ. пром-сть, 1967. – 404 с.
18. *Херсум А.С.,* Халланд Е.Д. Консервированные пищевые продукты. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. – 320 с.

МІКРОБІОЛОГІЯ ГАЛУЗІ

ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ
для студентів напряму підготовки 6.051701
"Харчові технології та інженерія"
професійного спрямування «Технології зберігання,
консервування та переробки плодів і овочів»
денної та заочної форм навчання

Укладачі: Тетеріна Світлана Миколаївна, канд. техн. наук
Грегірчак Наталія Миколаївна, канд. техн. наук, доц.
Красінько Вікторія Олегівна, канд. техн. наук, доц.

Редактор
Верстка

Підп.до друку 00.00.12 р. Обл.-вид.арк. Наклад пр. Вид.№ / . Зам. №
РВЦ НУХТ. 01601, КИЇВ, ВУЛ. ВОЛОДИМИРСЬКА, 68
www.book.nuft.edu.ua
Свідоцтво про реєстрацію серія ДК № 1786 від 18.05.04 р.