

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

О. В. Казимирченко

**САНИТАРНО-ПИЩЕВАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ПРОДУКТОВ
ПИТАНИЯ**

Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ
для студентов, обучающихся в магистратуре по направлению подготовки
19.04.03 Продукты питания животного происхождения

Калининград
2023

УДК 579.2

Рецензент

кандидат биологических наук, доцент кафедры водных биоресурсов и
аквакультуры ФГБОУ ВО «КГТУ» Е. А. Масюткина

Казимирченко, О. В. Санитарно-пищевая безопасность продуктов питания: учеб.-методич. пособие по выполнению лабораторных работ для студ. магистратуры по напр. подгот. 19.04.03 Продукты питания животного происхождения / **О. В. Казимирченко.** – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВО «КГТУ», 2023. – 23 с.

В учебно-методическом пособии представлены учебно-методические рекомендации по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Санитарно-пищевая безопасность продуктов питания», включающие план проведения занятий, используемое оборудование и материалы, алгоритм проведения и обработки опытных данных, формы отчетов по лабораторным занятиям.

Локальный электронный методический материал. Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ. Рекомендовано к использованию в учебном процессе методической комиссией института рыболовства и аквакультуры ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» университет» «13» февраля 2023 г., протокол № 10

Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ рекомендовано к использованию в качестве локального электронного методического материала в учебном процессе методической комиссией института агроинженерии и пищевых систем 27 февраля 2023 г., протокол № 02

УДК 579.2

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Калининградский государственный технический университет», 2023 г.
© Казимирченко О.В., 2023 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Лабораторная работа №1.....	6
Лабораторная работа №2.....	8
Лабораторная работа №3.....	13
Лабораторная работа №4.....	15
Лабораторная работа №5.....	19

ВВЕДЕНИЕ

Целью освоения дисциплины «Санитарно-пищевая безопасность продуктов питания» является формирование знаний о санитарно-пищевой безопасности и микробиологическом контроле при производстве продуктов из водных биологических ресурсов, мясных и молочных продуктов, роли микрофлоры объектов внешней среды (воды, воздуха, оборудования, предметов обихода) и санитарных условий производства в обеспечении качества пищевых продуктов из водного сырья, мясных и молочных пищевых продуктов.

В результате изучения дисциплины студент должен:

знать:

- особенности микрофлоры водных биологических ресурсов и микрофлоры мяса и молока, и ее значение в производстве пищевых продуктов;
- взаимосвязь микрофлоры водных биологических ресурсов со средой их обитания, возбудителей пищевых отравлений и токсикоинфекций, передающихся через пищевые продукты водного происхождения;
- этапы изменения микрофлоры мяса и молока в процессе производства пищевых продуктов, возбудителей пищевых отравлений и токсикоинфекций, передающихся через мясные и молочные пищевые продукты;
- основные микробиологические процессы, протекающие при переработке, хранении и реализации продуктов водного происхождения, мясных и молочных продуктов.

уметь:

- провести санитарно-микробиологическое исследование сырья и пищевых продуктов из водных биологических ресурсов; исследование сырья (мяса, молока), мясных и молочных пищевых продуктов, а также объектов окружающей среды;
- выделить и идентифицировать группы микроорганизмов, нормируемых в данной категории пищевых продуктов;
- дать санитарно-микробиологическую оценку безопасности пищевых продуктов из водных биологических ресурсов, мясных и молочных продуктов.

владеть:

- специфическими правилами техники безопасности работы с микроорганизмами;
- навыками работы с живыми культурами микробов, микроскопическими препаратами, с питательными средами, лабораторным микробиологическим оборудованием;
- методами выделения чистой культуры и идентификации микроорганизмов;
- методиками микробиологического контроля качества пищевых продуктов и объектов окружающей среды;

- методиками микробиологического контроля качества мясных и молочных пищевых продуктов, продуктов из водных биологических ресурсов, объектов окружающей среды.

В результате прохождения лабораторных работ у студентов формируются умения по проведению санитарно-микробиологического исследования сырья и пищевых продуктов из водных биологических ресурсов, животного происхождения, а также объектов окружающей среды, выделению и идентификации групп микроорганизмов, нормируемых в данной категории пищевых продуктов, анализу санитарно-микробиологической безопасности пищевых продуктов из водных биологических ресурсов, мясных и молочных продуктов.

Студенты приобретают навыки работы с живыми культурами микробов, микроскопическими препаратами, с питательными средами, лабораторным микробиологическим оборудованием, а также навыки по методам выделения чистой культуры и идентификации микроорганизмов, микробиологического контроля качества пищевых продуктов и объектов окружающей среды.

Лабораторные работы по дисциплине проводятся в специализированной микробиологической лаборатории, отвечающей соответствующим требованиям. Выполнение работ осуществляется в лабораторных халатах при строгом соблюдении правил техники безопасности с живыми культурами микроорганизмов, спиртовыми горелками, микроскопами и другим лабораторным оборудованием.

Лабораторная работа №1.

Подготовка микробиологической посуды, приготовление питательных сред, используемых для микробиологического анализа животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения

Цель работы: формирование умений и навыков по особенностям техники безопасности при осуществлении микробиологических посевов животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения, работе с живыми культурами микроорганизмов; подготовке лабораторной посуды к стерилизации и приготовлению питательных сред.

Задание по работе: прочитать и законспектировать правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; подготовить чашки Петри, стеклянные пипетки, ступки, пестики, шпатели к тепловой стерилизации; приготовить физиологические растворы, питательные среды, требуемые для микробиологических посевов животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения; заполнить отчет о работе в табличной форме, сделать выводы.

Материалы и оборудование: чашки Петри, пробирки биологические, пипетки, фарфоровые ступки, пестики, шпатели, ватно-марлевые пробки, питательные среды различного назначения, хлорид натрия, электронные весы, электроплитка, шпатели, дистиллированная вода, мерные цилиндры, колбы.

Методические указания по выполнению работы.

1. Ознакомиться с правилами работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории. Внести личные данные и поставить подпись в Журнале регистрации инструктажа по охране труда на рабочем месте для студентов;

2. Завернуть в плотную бумагу чашки Петри, пипетки, фарфоровые ступки, пестики, шпатели; перед заворачиванием пипеток в бумагу в конец пипетки, который помещается в дозатор, вставить ватный тампон на глубину не более 1 см. Посуда должна быть подготовлена таким образом, чтобы не оставалось не обернутых бумагой участков.

3. Подготовленную лабораторную посуду передать в стерилизационную комнату для проведения сухожаровой стерилизации;

4. В колбах приготовить различные питательные среды для микробиологических посевов: мерным цилиндром отмерить необходимое количество дистиллированной воды, внести определенную навеску сухой питательной среды согласно прописи, указанной на банке со средой.

Для проведения первичных микробиологических посевов животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения потребуются следующие питательные среды:

- 1) Рыбопептонный агар;
- 2) Питательный агар Сабуро;
- 3) Среда Кесслера;
- 4) Азидный агар;

- 5) Питательный бульон с добавлением 6% хлорида натрия;
- 6) Железосульфитный агар;
- 7) Пептонная вода с добавлением 3% хлорида натрия;
- 8) Дифференциально-диагностический агар;
- 9) Забуференная пептонная вода;
- 10) Питательный бульон для листерий;
- 11) Физиологический раствор (в колбах, пробирках).

5. Содержимое колб размешать, колбы поставить на электроплитки, среды довести до кипения, постоянно помешивая во избежание пригорания сред. Питательные среды прокипятить не менее трех раз до получения прозрачности раствора.

6. Горячие питательные среды в объеме 10 мл разлить по пробиркам. Пробирки закрыть ватно-марлевыми пробками. Собранные пробирки накрыть бумажным колпачком, на котором написать название питательной среды, связать жгутом.

7. В колбе приготовить 100 мл физиологического раствора: в мерную колбу внести 0,9 г хлорида натрия NaCl, довести объем дистиллированной водой до 100 мл. Содержимое колбы тщательно перемешать.

8. Приготовленный физиологический раствор в объеме 10 мл разлить по пробиркам. Пробирки закрыть ватно-марлевыми пробками. Собранные пробирки накрыть бумажным колпачком, на котором написать название среды, связать жгутом.

9. Подготовленные питательные среды передать в автоклавную для автоклавирования.

Форма предоставления отчётных материалов.

По результатам проделанной работы заполнить таблицы, сделать выводы.

Таблица 1

Подготовка посуды к стерилизации

Вид лабораторной посуды	Количество лабораторной посуды	Наименование и режим стерилизации лабораторной посуды

Таблица 2

Приготовление питательных сред

Наименование питательных сред	Объем и количество питательной среды (в зависимости от вида лабораторной посуды)	Рецептуры и способ приготовления питательных сред	Наименование и режим стерилизации питательных сред

Вопросы для самопроверки

1. Расскажите о правилах работы и технике безопасности в микробиологической лаборатории.

2. Каковы требования к технике безопасности при проведении первичных микробиологических посевов животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения?

3. Каковы требования к технике безопасности при проведении идентификации групп микроорганизмов, нормируемых в животном сырье, вспомогательных материалах, продуктах животного происхождения?

4. Как подготавливается лабораторная посуда к стерилизации? Какой метод стерилизации лабораторной посуды используется?

5. Расскажите о правилах приготовления питательных сред.

6. Какой метод используется при стерилизации питательных сред?

7. Какие методы применяются для стерилизации питательных сред, содержащих ингредиенты, разрушающиеся при температуре выше 100 °С?

Лабораторная работа №2

Методики посева материала и пересева культур бактерий на питательные среды. Изучение культур бактерий по культуральным, морфологическим и физиолого-биохимическим признакам.

Цель работы: формирование умений и навыков по методам посева материала и пересева культур бактерий на питательные среды различного назначения, особенностям роста бактерий на твердых и жидких питательных средах; изучению культуральных, морфологических и физиолого-биохимических признаков.

Задание по работе: пересеять культуры бактерий методом «штриха», «истоющего штриха» в чашки Петри на рыбопептонный агар, на скошенный рыбопептонный агар, методом «укола» в пробирку с углеводной средой, произвести пересев культуры бактерий в жидкую среду; изучить культуральные, морфологические и физиолого-биохимические признаки бактерий; заполнить отчет о работе в табличной форме, сделать выводы.

Материалы и оборудование: чашки со стерильным рыбопептонным агаром, пробирки со стерильным скошенным рыбопептонным агаром, пробирки с углеводной средой, пробирки с жидкой питательной средой (рыбопептонный бульон или пептонная вода), пробирки с культурами бактерий на скошенном рыбопептонном агаре, в пробирке с углеводной средой, с жидкой питательной средой, набор красителей для окраски по методу Грама, фильтровальная бумага, стеклянная чаша со стеклянным мостиком, бактериологическая петля, предметные стёкла, спиртовая смесь для обезжиривания предметных стекол или кусочки мыла, микроскоп с иммерсионным объективом, иммерсионное масло, вода, карандаши (маркеры) по стеклу, вата, марлевые салфетки, спиртовка, спирт этиловый, спички, песочные часы.

Методические указания по выполнению работы

1. В пламени спиртовки обжечь бактериологическую петлю по всей длине металлической части.

2. Охлаждённую петлю ввести в пробирку с культурой (предварительно обжечь пробку и горлышко пробирки) и аккуратно взять часть бактериального налёта, стараясь не повредить поверхность питательной среды. Обжечь горлышко и пробку, пробирку закрыть и поставить в штатив.

3. Отобранную культуру бактерий перенести в чашку с рыбопептонным агаром и произвести рассев материала методом «штриха». Штрихи наносить как можно ближе друг к другу, чтобы полностью засеять поверхность питательной среды в чашке Петри.

4. Обжечь пробку и горлышко пробирки, пробирку закрыть и поместить в штатив. Остатки культуры на петле сжечь в пламени, не допуская разбрызгивания.

5. В пламени спиртовки вновь обжечь бактериологическую петлю по всей длине металлической части.

6. Охлаждённую петлю ввести в пробирку с культурой (предварительно обжечь пробку и горлышко пробирки) и аккуратно взять часть бактериального налёта, стараясь не повредить поверхность питательной среды. Обжечь горлышко и пробку, пробирку закрыть и поставить в штатив.

7. Отобранную культуру бактерий перенести в чашку с рыбопептонным агаром и произвести рассев материала методом «истощающего штриха». Штрихи наносить как можно ближе друг к другу, чтобы произвести рассев материала по трем зонам штрихов.

8. Обжечь пробку и горлышко пробирки, пробирку закрыть и поместить в штатив. Остатки культуры на петле сжечь в пламени, не допуская разбрызгивания.

9. Обеззараженной в пламени спиртовки бактериологической петлей отобрать культуру бактерий согласно правилам, описанным выше, и штрихом произвести рассев культуры по поверхности скошенного рыбопептонного агара снизу вверх, не повреждая питательную среду. Обжечь пробку и горлышко пробирки, пробирку закрыть и поместить в штатив. Остатки культуры на петле сжечь в пламени, не допуская разбрызгивания.

10. Обеззараженной в пламени спиртовки бактериологической петлей отобрать культуру бактерий согласно правилам, описанным выше, и методом «укола» произвести пересев культуры в столбик питательной среды с углеводом. Обжечь пробку и горлышко пробирки, пробирку закрыть и поместить в штатив. Остатки культуры на петле сжечь в пламени, не допуская разбрызгивания.

11. Обеззараженной в пламени спиртовки бактериологической петлей отобрать культуру бактерий согласно правилам, описанным выше, и произвести пересев культуры в жидкую питательную среду, разлитую в пробирку (например, рыбопептонный агар, пептонная вода). Обжечь пробку и горлышко

пробирки, пробирку закрыть и поместить в штатив. Остатки культуры на петле сжечь в пламени, не допуская разбрызгивания.

12. Засеянные пробирки, чашку Петри подписать карандашом (маркером) по стеклу с указанием латинского названия культуры бактерий, даты посева, фамилии исполнителя.

13. Засеянные пробирки, чашку Петри поместить в термостат с установленной температурой 37 °С.

14. После термостатирования посевов охарактеризовать культуральные признаки выросшей культуры бактерий на скошенном рыбопептонном агаре, на рыбопептонном агаре в чашке Петри.

15. На обезжиренном предметном стекле приготовить тонкий мазок из культуры бактерий, снятой бактериологической петлёй со скошенного питательного агара. Мазок подсушить над пламенем спиртовки и зафиксировать в пламени. Остуженный мазок окрасить по *методу Грама*: на фиксированный мазок положить кусочек фильтровальной бумаги и налить краситель генциан фиолетовый на 2 минуты; пинцетом снять фильтровальную бумагу, слить остаток красителя со стекла и налить раствор Люголя на 2 минуты до почернения препарата; на препарат нанести несколько капель 96%-го спирта на 30 секунд; препарат тщательно промыть водопроводной водой и далее докрасить водно-спиртовым раствором фуксина Пфейфера в течение двух минут; препарат промыть водопроводной водой. Окрашенный препарат подсушить фильтровальной бумагой, по центру стекла нанести каплю иммерсионного масла.

16. Препарат, приготовленный из культуры бактерий, микроскопировать. Описать морфологические признаки бактерий (грампринадлежность, форма клеток, их взаимное расположение, наличие или отсутствие в клетках споры), клетки бактерий зарисовать. Определить чистоту культуры бактерий.

17. Охарактеризовать физиологические признаки изучаемой культуры бактерий при росте в углеводной среде: определить подвижность бактерий, тип дыхания, отношение к температуре.

Подвижность бактерий определяют по росту в столбике питательной полужидкой среды. Подвижные бактерии вырастают на всей поверхности среды и (или) вызывают ее диффузное помутнение, неподвижные – растут строго по уколу.

При определении *типа дыхания* бактерий также анализируют характер роста бактерий в столбике полужидкой среды. Аэробы, развитие которых происходит в атмосфере кислорода, растут поверхностной пленкой. Анаэробы, не нуждающиеся в кислороде, растут в глубине среды, у дна пробирки. Факультативные анаэробы, размножение которых может происходить как при наличии, так и в отсутствие молекулярного кислорода, растут в виде поверхностной пленки и равномерно по всему уколу. Микроаэрофильные бактерии, требующие для своей жизнедеятельности малое количество кислорода только на первых этапах развития, растут в верхней трети столбика полужидкой среды.

При определении отношения изучаемых бактерий к *температуре* учитывают, что оптимальная температура развития мезофильных бактерий от +10 до +15 °С, максимальная – около +30 °С, минимальная – от -10 °С до 0 °С; у психрофильных бактерий оптимальная температура развития от +25 до +40 °С, максимальная – около +45 +50 °С, минимальная – +5 + 10 °С; у термофильных бактерий оптимальная температура развития от +50 +60 °С, максимальная – около +70 +80 °С (могут выдерживать +100 °С), минимальная – около +30 °С.

18. Охарактеризовать биохимические признаки изучаемой культуры бактерий при росте в углеводной среде: определить характер расщепления углевода: при расщеплении углевода до кислоты происходит изменение цвета среды в пробирке; при выделении газа в пробирке появляются пузырьки или происходят разрывы в столбике среды.

19. Определить ферментную активность изучаемой культуры бактерий по тестам на цитохромоксидазу и каталазу.

1) Для выявления фермента *цитохромоксидазы* на предметное стекло поместить кусочек фильтровальной бумаги, на бумагу нанести каплю смешанного реактива на оксидазу (1%-ый спиртовой α-нафтол и 1%-ый водный β-диметилпарафенилдиамин, смешанные в соотношении 1:1) и в каплю бактериологической петлей внести часть колонии бактерий. Реакция считается *положительной*, если в течение 1 мин появляется синее окрашивание культуры бактерий. При *отрицательной* реакции цвет в месте нанесения культуры не меняется.

2) Для выявления фермента *каталазы* на предметное стекло нанести каплю 3,5%-й перекиси водорода. Внести в нее бактериологическую петлю с культурой бактерий и выдержать несколько секунд. При наличии каталазы вследствие выделения газообразного кислорода колония бактерий начинает «пениться» (выделяются пузырьки газа), при отсутствии каталазы – выделение пузырьков газа отсутствует.

Форма предоставления отчётных материалов.

По результатам проделанной работы заполнить таблицы, сделать выводы.

Таблица 1

Пересев культуры бактерий

Наименование бактериальной культуры	Метод и техника посева	Вид питательной среды для посева	Условия инкубации культуры бактерий

Таблица 2

Культуральные признаки бактерий со скошенного рыбопептонного агара

Интенсивность и характер роста культуры	Поверхность колонии, оптические свойства колонии	Цвет колонии	Край колонии	Консистенция культуры

Таблица 3

Культуральные признаки колонии бактерий по росту на рыбобептонном агаре в чашке Петри

Поверхность колонии, оптические свойства колонии	Край колонии	Цвет колонии	Поверхность колонии	Консистенция

Таблица 4

Морфологические признаки бактерий на окрашенном препарате

Грам-принадлежность	Форма бактерий	Расположение бактерий	Наличие споры у бактерий и ее расположение	Чистота культуры	Рисунок препарата

Таблица 5

Физиологические признаки бактерий по росту на углеводной среде

Тип дыхания	Отношение к температуре	Подвижность

Таблица 6

Биохимические признаки бактерий

Фермент цитохромоксидаза	Фермент каталаза	Расщепление углевода (указать наименование углевода)	
		кислота	газообразование

Вопросы для самопроверки

1. Как осуществляют культивирование микроорганизмов?
2. Что такое посев и пересев культур микроорганизмов?
3. Расскажите о технике пересева культуры бактерий методом «штриха» в чашку Петри на плотную среду и в пробирку на скошенную питательную среду.
4. Как осуществляют пересев культуры бактерий методом «истощающего штриха»?
5. Как осуществляют пересев культуры бактерий методом «укола»?
6. Как осуществляют пересев культуры бактерий в пробирку с жидкой питательной средой?
7. Как изучают культуральные признаки на скошенном рыбобептонном агаре? Какие признаки используют для описания культуры бактерий?
8. Как изучают культуральные признаки на рыбобептонном агаре в чаше Петри? Какие признаки используют для описания культуры бактерий?
9. Назовите основные формы бактериальных клеток, типы расположения клеток бактерий относительно друг друга.
10. Как определяют наличие споры у споровых палочковидных бактерий на окрашенном препарате?

11. Расскажите о способе приготовления фиксированного препарата из клеток бактерий и технике окраски бактерий по методу Грама.

12. Как по окрашенному препарату различают грамположительные и грамотрицательные клетки бактерий?

13. Расскажите о технике микроскопирования окрашенного бактериального препарата.

14. Перечислите морфологические признаки бактерий, которые определяются при микроскопии мазка, окрашенного по Граму.

15. Какие признаки относятся к физиологическим признакам и как их определяют по углеводной среде?

16. Как выявляют в клетках бактерий фермент цитохромоксидазу?

17. Как выявляют в клетках бактерий фермент каталазу?

18. Как определяют характер ферментации углевода?

Лабораторная работа №3

Микробиологический посев животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения: составление схем анализа, работа с нормативной документацией.

Цель работы: формирование умений и навыков по особенностям проведения микробиологических посевов животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения.

Задание по работе: изучить методики посевов животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения (*индивидуально для каждого студента согласно теме магистерского проекта*) для выявления санитарно-показательных, условно-патогенных, патогенных микроорганизмов и бактерий порчи; составить схемы посевов; изучить соответствующую нормативную документацию, выписать нормативные показатели микробиологической безопасности животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения; заполнить отчет о работе в табличной форме, сделать выводы.

Материалы и оборудование: нормативная документация, регламентирующая объем испытаний по определению микробиологической безопасности животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения и методы анализа, демонстрационные материалы по схемам посевов.

Методические указания по выполнению работы

1. По нормативным документам, регламентирующих объем испытаний по определению микробиологической безопасности животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения, выписать нормативные микробиологические показатели.

2. По нормативным документам, регламентирующим методики микробиологического анализа животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения, составить схемы посевов:

- проведение 10-кратный разведений навески продукта;
- определение показателя КМАФАнМ (количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов);
- определение количества молочнокислых бактерий;
- определение санитарно-показательных бактерий;
- определение условно-патогенных бактерий;
- определение патогенных бактерий;
- определение микробов-порчи.

3. Составить перечень необходимых питательных сред, лабораторной посуды.

Форма предоставления отчётных материалов.

По результатам проделанной работы заполнить таблицы, сделать выводы.

Таблица 1

Микробиологические нормативы безопасности (патогенные микроорганизмы)

Показатель	Масса продукта (г), в которой не допускается		
	животное сырьё	вспомогательные материалы	готовый продукт
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы			
<i>Listeria monocytogenes</i>			

Таблица 2

Микробиологические нормативы безопасности (санитарно-показательные, условно-патогенные микроорганизмы, микробы-порчи)

Показатель	Допустимый уровень
КМАФАнМ	
Молочнокислые бактерии	
БГКП (коли-формы)	
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Enterococcus</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	
Бактерии рода <i>Proteus</i>	
Сульфитредуцирующие клостридии	
Парагемолитические вибрионы	
Дрожжи	
Плесени	

Таблица 3

Первичные микробиологические посе́вы животного сы́рья, вспомога́тельных материалов, продукта животного происхождения

Показатель	Нормативный документ на метод анализа	Необходимые питательные среды, лабораторная посуда, другие материалы

Вопросы для самопроверки

1. Как нормируются микробиологические показатели безопасности животного сы́рья, вспомога́тельных материалов, продуктов животного происхождения?
2. Какие нормативные документы регламентируют объем микробиологических испытаний?
3. Какие нормативные документы регламентируют методы микробиологических анализов?
4. Как проводят 10-кратные разведения исходного навески продукта? Какие питательные среды и материалы необходимы?
5. Как определяют показатель КМАФАнМ? Какие питательные среды и материалы необходимы для определения данного показателя?
6. Как определяют молочнокислых микроорганизмов? Какие питательные среды и материалы необходимы для определения данной группы микроорганизмов?
7. Как определяют санитарно-показательных микроорганизмов? Какие питательные среды и материалы необходимы для определения данных групп микроорганизмов?
8. Как определяют условно-патогенные микроорганизмы? Какие питательные среды и материалы необходимы для определения данных групп микроорганизмов?
9. Как определяют патогенные микроорганизмы? Какие питательные среды и материалы необходимы для определения данных групп микроорганизмов?
10. Как определяют микробы-порчи? Какие питательные среды и материалы необходимы для определения данных групп микроорганизмов?

Лабораторная работа №4.

Микробиологический посев животного сы́рья, вспомога́тельных материалов, продукта животного происхождения: определение нормируемых групп микроорганизмов

Цель работы: формирование умений и навыков по методам микробиологических посевов животного сы́рья, вспомога́тельных материалов, продуктов животного происхождения.

Задание по работе: провести микробиологические животного сырья, вспомогательных материалов, продуктов животного происхождения по нормируемым показателям (*индивидуально для каждого студента согласно теме магистерского проекта*).

Материалы и оборудование: физиологический раствор, разлитый в колбы объемом 90 мл и пробирки (по 9 мл), стерильные чашки Петри, стерильные питательные среды: рыбопептонный агар, среда Кесслера, азидный агар, солевой рыбопептонный бульон (6% хлорида натрия), скошенный рыбопептонный агар, пептонная вода (3% хлорида натрия), дифференциально-диагностический агар, Сабуро, железосульфитный агар, питательная среда для молочнокислых бактерий, забуференная пептонная вода (в колбе, объем среды 225 мл), питательный бульон для листерий (в колбе, объем среды 225 мл), стерильные пипетки, дозаторы для пипеток, стерильные ступки, стерильные пестики, карандаши (маркеры) по стеклу, вата, марлевые салфетки, инструменты (ножницы, скальпели, пинцеты), погруженные в стакан со спиртом, предметные стекла, набор красителей для окраски препаратов по методу Грама, реактив на цитохромоксидазу, перекись водорода, дифференциально-диагностические среды, биологический микроскоп, иммерсионное масло, пинцеты, вата, бактериологическая петля, песочные часы, фильтровальная бумага, стеклянная чаша со стеклянным мостиком, емкость с дезинфицирующим средством, спиртовка, спирт этиловый, спички, термостаты.

Методические указания по выполнению работы.

1. В асептических условиях взвесить соответствующие навески животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения. Навески измельчить стерильным пестиком в стерильной ступке.

2. Измельчённые навески (10 г) предварительно развести в стерильном физиологическом растворе 10-кратно несколько раз.

3. Из соответствующих разведений произвести высевы в стерильные чашки Петри и в пробирки на жидкие и плотные питательные среды для определения показателей, нормируемых в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения.

4. Измельчённые навески анализируемых проб (по 25 г) поместить в соответствующие накопительные питательные среды для определения патогенных бактерий.

5. Посевы поместить в термостаты на требуемые температуры согласно нормативной документации.

6. После термостатирования на чашках с рыбопептонным агаром и агаром Сабуро произвести расчеты бактериальной обсемененности и обсеменённости животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения микроскопическими грибами. Сравнить полученные результаты с действующими нормативными документами по безопасности животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения.

7. В первичных посевах на наличие (отсутствие) санитарно-показательных, условно-патогенных, патогенных микроорганизмов провести

учет результатов по характерному изменению питательных сред, при необходимости произвести высев на дифференцирующие питательные среды для изучения физиолого-биохимических признаков.

8. При идентификации санитарно-показательных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов приготовить мазки, окрасить по методу Грама, микроскопировать. Описать морфологические признаки бактерий, провести сравнение с описанием морфологии анализируемой группы в соответствующей нормативной документации.

9. Полученные результаты свести в протоколы анализов животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения, написать заключение о микробиологической безопасности испытуемых образцов.

Форма предоставления отчётных материалов.

По результатам проделанной работы заполнить таблицы, сделать выводы.

Таблица 1

Результаты микробиологического анализа животного сырья

Показатель	Нормируемое значение	Результат испытания
КМАФАнМ		
Молочнокислые бактерии		
БГКП (коли-формы)		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Enterococcus</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
Бактерии рода <i>Proteus</i>		
Сульфитредуцирующие клостридии		
Дрожжи		
Парагемолитические вибрионы		
Плесени		
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы		
<i>Listeria monocytogenes</i>		

Таблица 2

Результаты микробиологического анализа вспомогательных материалов

Показатель	Нормируемое значение	Результат испытания
КМАФАнМ		
БГКП (коли-формы)		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Enterococcus</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
Бактерии рода <i>Proteus</i>		
Сульфитредуцирующие клостридии		
Парагемолитические вибрионы		
Дрожжи		
Плесени		
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы		
<i>Listeria monocytogenes</i>		

Таблица 3

Результаты микробиологического анализа продукта животного происхождения
(указать наименование)

Показатель	Нормируемое значение	Результат испытания
КМАФАнМ		
Молочнокислые бактерии		
БГКП (коли-формы)		
Escherichia coli		
Enterococcus		
Staphylococcus aureus		
Бактерии рода Proteus		
Сульфитредуцирующие клостридии		
Парагемолитические вибрионы		
Дрожжи		
Плесени		
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы		
Listeria monocytogenes		

Вопросы для самопроверки

1. Как рассчитываются показатели общей бактериальной обсемененности животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения? Каковы правила расчета и записи окончательных результатов по данным показателям?

2. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в продукте животного происхождения (молоко и молочные продукты) молочнокислых микроорганизмов? Как записывают окончательные результаты в протоколах испытаний по данному показателю?

3. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения бактерий группы кишечных палочек? Как записывают окончательные результаты в протоколах испытаний по данному показателю?

4. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения фекальных энтерококков? Как записывают окончательные результаты в протоколах испытаний по данному показателю?

5. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения золотистого стафилококка? Как записывают окончательный результат в протоколе испытания по данному показателю?

6. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения протеусов? Как записывают окончательный результат в протоколе испытания по данному показателю?

7. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного

происхождения сульфитредуцирующих клостридий? Как записывают окончательный результат в протоколе испытания по данному показателю?

8. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, продукте животного происхождения паразитических вибрионов? Как записывают окончательный результат в протоколе испытания по данному показателю?

9. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения патогенных сальмонелл и листерий? Как записывают окончательные результаты в протоколе испытания по данным показателям?

10. По каким дифференцирующим признакам определяют наличие в животном сырье, вспомогательных материалах, продукте животного происхождения дрожжей и плесеней? Как рассчитываются показатели обсемененности животного сырья, вспомогательных материалов, продукта животного происхождения микроскопическими грибами? Как записывают окончательные результаты в протоколах испытаний по данным показателям?

Лабораторная работа №5.

Санитарно-микробиологический анализ продукта животного происхождения для установления сроков годности и условий хранения

Цель работы: формирование умений и навыков по порядку проведения и методологии оценки обоснования сроков годности и условий хранения продукта животного происхождения по микробиологическим показателям.

Задание по работе: изучить порядок проведения и методики оценки обоснования сроков годности и условий хранения продукта животного происхождения (*индивидуально для каждого студента согласно теме магистерского проекта*) по микробиологическим показателям; составить программу проведения испытаний; изучить соответствующую нормативную документацию; выписать обязательные и дополнительные нормативные показатели микробиологической безопасности, регламентируемые для анализируемого продукта; провести микробиологические испытания продукта (*работа каждого студента проводится согласно разработанной программе исследования пищевого продукта*); заполнить отчет о работе в табличной форме, сделать выводы.

Материалы и оборудование: нормативная документация, регламентирующая объем испытаний по определению микробиологической безопасности продукта животного происхождения в процессе хранения и методы анализа, демонстрационные материалы по схемам посевов; физиологический раствор, разлитый в колбы объемом 90 мл и пробирки (по 9 мл), стерильные чашки Петри, стерильные питательные среды: рыбопептонный агар, среда Кесслера, азидный агар, солевой рыбопептонный бульон (6% хлорида натрия), пептонная вода (3% хлорида натрия), дифференциально-

диагностический агар, питательная среда для молочнокислых бактерий, агар Сабуро, железосульфитный агар, забуференная пептонная вода (в колбе, объем среды 225 мл), питательный бульон для листерий (в колбе, объем среды 225 мл), стерильные пипетки, дозаторы для пипеток, стерильные ступки, стерильные пестики, карандаши (маркеры) по стеклу, вата, марлевые салфетки, инструменты (ножницы, скальпели, пинцеты), погруженные в стакан со спиртом, предметные стекла, набор красителей для окраски препаратов по методу Грама, реактив на цитохромоксидазу, перекись водорода, дифференциально-диагностические среды, биологический микроскоп, иммерсионное масло, пинцеты, вата, бактериологическая петля, песочные часы, фильтровальная бумага, стеклянная чаша со стеклянным мостиком, емкость с дезинфицирующим средством, спиртовка, спирт этиловый, спички, термостаты.

Методические указания по выполнению работы.

1. По нормативным документам, регламентирующим объем испытаний по определению микробиологической безопасности продукта животного происхождения в процессе хранения, выписать нормативные микробиологические показатели.

2. Составить программу проведения испытаний, в которую следует внести перечень обязательных показателей безопасности, регламентируемых для анализируемого продукта согласно действующей нормативной документации; дополнительных показателей безопасности, необходимые для получения подробной санитарно-микробиологической характеристики и подтверждения стабильности продукта в динамике хранения.

3. При составлении программы микробиологического контроля предусмотреть проведение физико-химических исследований продукта, анализ органолептических показателей, уточнить вид упаковки готового продукта, температурные условия хранения.

4. Изучить порядок отбора проб и методы определения контролируемых показателей, используя соответствующие актуализированные ГОСТы на группы микроорганизмов.

5. Составить календарный план исследования анализируемого продукта с указанием периодичности, количества контрольных точек и проб продукции. Сроки исследования пищевого продукта должны по продолжительности превышать предполагаемый срок годности, указанный в нормативной документации, на время, определяемое как коэффициент резерва.

6. Составить перечень необходимых питательных сред, лабораторной посуды для проведения испытаний согласно разработанной программе.

7. Провести микробиологические испытания образцов пищевого продукта животного происхождения в процессе хранения.

8. Оценить полученные результаты и обосновать сроки годности анализируемого продукта.

Форма предоставления отчётных материалов.

По результатам проделанной работы заполнить таблицы, сделать выводы.

Таблица 1

Микробиологические нормативы безопасности продукта животного происхождения, определяемые в процессе хранения

Показатель	Масса продукта (г), в которой не допускается
Обязательные показатели	
Дополнительные показатели	

Таблица 2

Календарный план микробиологических исследований по установлению сроков годности пищевого продукта

Дата проведения испытания	Микробиологические показатели

Таблица 3

Перечень лабораторной посуды, питательных сред

Вид лабораторной посуды	Количество лабораторной посуды	Наименование и количество питательной среды

Таблица 4

Результаты микробиологических испытаний по суткам хранения

Наименование показателя	Нормативное значение	Результат испытания

По окончании проведения микробиологических испытаний оформить отчет о проделанной работе.

Отчет включает следующие разделы:

1. Краткая характеристика исследуемого продукта.

Приводится характеристика пищевого продукта по основным свойствам, калорийности, описываются составляющие (ингредиенты), привлекательность для потребителя, категория продукта.

2. Санитарно-микробиологические показатели безопасности пищевого продукта.

Со ссылкой на нормативные документы в табличной форме приводятся санитарно-микробиологические показатели готового пищевого продукта и его составляющих. Перечисляются актуализированные ГОСТы на методики определения санитарно-микробиологических показателей, нормируемых в продукте.

3. Результаты санитарно-микробиологических исследований пищевого продукта.

В табличной форме приводятся результаты исследований по составляющим продукта и готовому продукту. Следует сделать выводы о соответствии или несоответствии анализируемого продукта санитарно-микробиологическим критериям.

Далее описывается ход микробиологических исследований продукта в процессе хранения. Приводится календарный план исследований, согласно установленному сроку годности. Изменения показателей КМАФАнМ и обсемененности по микроскопическим грибам представляются в виде графиков: зависимость общей бактериальной обсемененности продукта (КОЕ/г) от сроков хранения (дни).

4. Заключение.

Согласно заданным свойствам продукта (по его составляющим) и полученным данным микробиологической безопасности приводится общий вывод по работе.

5. Список использованной литературы.

Приводится общий список использованной литературы в порядке цитирования по тексту. По тексту ссылки на литературу и нормативные документы указывают в квадратных скобках в конце предложения.

Вопросы для самопроверки

1. Расскажите об установлении порядка проведения микробиологической оценки обоснования сроков годности пищевого продукта животного происхождения.

2. Каковы методологические принципы микробиологических исследований для обоснования сроков годности пищевого продукта животного происхождения?

3. Что такое коэффициент резерва? Как он устанавливается для продуктов животного происхождения?

4. Как составляется программа микробиологических испытаний по оценке обоснования сроков годности пищевых продуктов?

5. Какие микробиологические показатели относятся к основным показателям, контролируемым в процессе хранения пищевого продукта при установлении срока годности?

6. Какие микробиологические показатели относятся к дополнительным показателям, используемым для подтверждения стабильности пищевого продукта в динамике хранения?

7. Как контролируются пищевые продукты, содержащие жизнеспособную технологическую микрофлору или обогащенную пробиотическими микроорганизмами?

8. Как проводится оценка пищевого продукта животного происхождения для обоснования сроков годности?

9. Охарактеризуйте критерии оценки при обосновании сроков годности пищевого продукта животного происхождения.

Локальный электронный методический материал

Оксана Владимировна Казимирченко

**САНИТАРНО-ПИЩЕВАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ПРОДУКТОВ
ПИТАНИЯ**

Редактор И. Голубева

Локальное электронное издание

Уч.-изд. л. 1,6. Печ. л. 1,4.

Издательство федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Калининградский государственный технический университет»
236022, Калининград, Советский проспект, 1