

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МУРМАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Кафедра микробиологии и биохимии

**Методические указания
к самостоятельной работе обучающихся**

По дисциплине Б1.В.06. ТЕХНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ
для направления подготовки: 19.06.01 Промышленная экология и биотехнологии
Направленность: «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных
производств»
Квалификация (степень) выпускника: Исследователь. Преподаватель-исследователь

Мурманск
2019

Составитель - Ускова И.В., к.б.н., доцент

Методические указания рассмотрены и одобрены кафедрой микробиологии и биохимии МГТУ, протокол № 12 от 18.06. 2019 года.

ОГЛАВЛЕНИЕ:

Цель дисциплины

Список рекомендуемой литературы

Содержание и методические указания к изучению тем дисциплины

1. **Целью изучения дисциплины** «Техническая микробиология» является подготовка обучающегося в соответствии с квалификационной характеристикой «Исследователь. Преподаватель-исследователь» и рабочим учебным планом направления 19.06.01 «Промышленная экология и биотехнологии» направленности «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств», что предполагает освоение обучающимися теоретических и практических знаний в области технической микробиологии.

Задачи дисциплины (модуля): углубленное изучение основ общей и промышленной микробиологии и микробиологии пищевых производств, формирование научного мировоззрения о роли микроорганизмов в различных процессах переработки и хранения пищевых продуктов. Это позволит будущим специалистам обеспечить высокий уровень санитарно-гигиенического состояния производства, предупредить потери и получить доброкачественную продукцию, учесть основные закономерности развития технически полезной и вредной микрофлоры при разработке новых видов пищевых продуктов.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная:

1. Ким И. Н., Кращенко В. В. **Микробиология переработки водных биологических ресурсов**: учеб. пособие для студентов вузов, обучающихся по направлению уровня бакалавриата 19.03.03 (260200) "Продукты питания животного происхождения" Москва: Моркнига – 2015.
2. Ускова (Перетрухина) И.В. **«Микробиология технологических и вспомогательных материалов»** Учебное пособие по дисциплине «Микробиология сырья и продуктов животного происхождения», для студентов направления 260200.62 "Продукты питания животного происхождения" очной формы обучения. Мурманск: Изд-во МГТУ – 2014.
3. Ускова (Перетрухина) И.В. **«Микробиология»** Методические указания к лабораторным работам по дисциплине «Микробиология» для студентов направления 260200.62 "Продукты питания животного происхождения" Мурманск: Изд-во МГТУ – 2014.
4. Общая санитарная микробиология: учебное пособие, ч.1. НГАУ – 2014.
5. Петухова Е. В., Крыницкая А. Ю., Канарская З. А. Пищевая микробиология: учебное пособие. Издательство КНИТУ – 2014.
6. Санитарная микробиология: учебное пособие. Агрус – 2014.
7. Ускова (Перетрухина) И.В. Методические указания к лабораторным работам по дисциплине **«Генетика микроорганизмов»** для студентов направления 020200.62 «Биология» профиль «Микробиология» и специальности 020209.65 «Микробиология». Мурманск: Изд-во МГТУ- 2012.
8. Богданова О. Ю. **Микробиология** метод. указания к изучению дисциплины для студентов высш. учеб. заведений биол. направлений подгот. и специальностей всех форм обучения Мурманск: Изд-во МГТУ - 2012.
9. Нетрусов А. И. **Микробиология**: учебник для вузов Москва: Академия - 2012.
10. Годова Г. В. Основы санитарной микробиологии пищевых продуктов: учебное пособие. Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева – 2012.
11. Сизенцов А., Мисетов И. А., Каримов И. Ф. Антибиотики и химиотерапевтические препараты: учебник. ОГУ – 2012.

12. Карпова Г. В., Студяникова М. А. Общие принципы функционального питания и методов исследования свойств сырья продуктов питания: учебное пособие. В 2-х частях. Ч.1. Оренбургский государственный университет – 2012.
13. Карпова Г. В., Студяникова М. А. Общие принципы функционального питания и методов исследования свойств сырья продуктов питания: учебное пособие. В 2-х частях. Ч.2. Оренбургский государственный университет – 2012.
14. Соколова О. Я. Производственный контроль молока и молочных продуктов: учебное пособие. ОГУ – 2012.
15. Госманов Р. Г., Галиуллин А. К., Волков А. Х., Ибрагимов А. И. **Микробиология**: учеб. пособие для вузов Санкт-Петербург; Москва; Краснодар: Лань, 2011.
16. Рубина Е. А., Малыгина В. Ф. **Микробиология**, физиология питания, санитария: учеб. пособие для сред. проф. образования Москва: Форум – 2011.
17. Ускова (Перетрухина) И.В. «Бактериология» Методические указания к лабораторным работам по дисциплине «Бактериология» для студентов направления 020200.62 «Биология» профиль «Микробиология» и специальности 020209.65 «Микробиология» Мурманск: Изд-во МГТУ – 2011.

Дополнительная:

1. Шагинурова Г. И., Перушкина Е. В., Ипполитов К. Г. Техническая микробиология: учебно-методическое пособие. Издательство КНИТУ - 2010.
2. Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения. Сибирское отделение Российской академии наук – 2010.
3. Микробиологический практикум: учебное пособие. Издательство КНИТУ - 2010.
4. Павлович С.А. Микробиология с микробиологическими исследованиями: учебное пособие.: Высшая школа - 2009.
5. Химические методы методы регуляции микробного роста: монография. КГТУ – 2008.
6. Ускова (Перетрухина) И.В. Методические указания для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Микробиология рыбы и рыбных продуктов» для студентов очной, вечерней и заочной формы обучения специальностей 260302 «Технология рыбы и рыбных продуктов», 020201 «Биология», 020803 «Биоэкология», 020209 «Микробиология». Мурманск: Изд-во МГТУ- 2007.
7. Под ред. Й. Ленгелера, Г.Древса, Г. Шлегеля Современная микробиология. Прокариоты: В 2-х томах. М.: Мир – 2005.
8. Нетрусов А. И. Микробиология: учебник для вузов М. : Академия – 2007.
9. Степаненко П. П. Микробиология молока и молочных продуктов. М.: [б. и.] 2006.

СОДЕРЖАНИЕ И МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ИЗУЧЕНИЮ ТЕМ ДИСЦИПЛИНЫ

МОДУЛЬ 1.

Тема 1-7. Значение санитарного состояния пищевого производства. Вода питьевая. Санитарно-гигиенический контроль пищевого производства. Пищевые заболевания, передаваемые через сырье и пищевые продукты.

Бактерии группы кишечных палочек. Сальмонеллы. Энтерококки. Анаэробные споровые сульфитредуцирующие микроорганизмы (*Cl. perfringens*).

Бактерии группы протей. Стафилококки и стрептококки. Санитарно-показательные значения, общего количества микроорганизмов в объектах внешней среды.

Микрофлора воздуха и ее происхождение. Значение степени зараженности воздуха микроорганизмами в цехах переработки пищевой продукции и в камерах холодильников. Санитарно-показательная микрофлора воздуха. Микробиологический анализ воздуха на рыбообрабатывающем предприятии.

Микрофлора почвы. Значение почвы как источника инфицирования воды и пищевого сырья. Санитарная оценка почвы.

Микрофлора воды. Пути и источники бактериального загрязнения водоемов. Зоны сапробности водоемов. Загрязнение водоемов вирусами. Различия в микробном населении морских и пресных вод. Санитарно-показательная микрофлора воды. Процессы самоочищения открытых водоемов. Влияние степени загрязнения водоема питьевого водоснабжения. Оценка качества питьевой воды по микробиологическим показателям. Требования, предъявляемые к

пищевому льду. Принципы биологической очистки вод пищевых предприятий. Аэробные и анаэробные очистные сооружения, устройство, принцип действия.

Микрофлора оборудования, тары, упаковки. Микробиологический контроль чистоты оборудования, тары и инвентаря на рыбном предприятии.

Детергенты и дезинфицирующие средства, используемые на рыбообработывающих предприятиях. Споридицидные антисептики, фунгициды.

Схема санитарно-микробиологических анализов. Определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ), выделение сальмонелл, учет плазмокоагулирующих стафилококков, бактерий группы кишечных палочек.

Стандартизация санитарно-бактериологических показателей качества рыбных продуктов. Санитарные требования, предъявляемые к предприятиям, выпускающим рыбную продукцию. Организация санитарно-микробиологического контроля на этих предприятиях.

Патогенные микроорганизмы. Инфекции, источники и пути распространения. Бациллоносительство.

Пищевые (элементарные) заболевания: инфекции и отравления. Пищевые инфекции: тиф, дизентерия, холера. Пути инфицирования продуктов, профилактика.

Пищевые отравления. Токсикоинфекция и интоксикация общие признаки и отличия. Отравления, вызываемые кишечной палочкой, протеем, сальмонеллами, шигеллами, стафилококком. Отравления, вызываемые *Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*, *Vac. cereus*. Отравления, вызываемые галофильными вибрионами. Пищевые микотоксикозы. Характеристика и распространенность возбудителей пищевых отравлений, пути и источники инфицирования ими рыбных продуктов, условия размножения в продуктах. Профилактика пищевых отравлений. Основные возбудители инфекционных заболеваний животных, передающихся человеку (туберкулез, сибирская язва, менингит и др.).

Вопросы для самопроверки

1. Что такое санитарно-показательные организмы?
2. О чем свидетельствует обнаружение санитарно-показательных организмов в рыбных продуктах и объектах внешней среды?
3. Какие микробы относятся к группе санитарно-показательных?
4. Что такое общая обсемененность исследуемого объекта бактериями?
5. Что такое условно-патогенная микрофлора?
6. Какое значение имеет степень зараженности воздуха микроорганизмами для санитарного состояния консервных предприятий?
7. Каков микробный состав микрофлоры воздуха?
8. Какие санитарно-показательные организмы обнаруживаются в воздухе?
9. Опишите схему выделения коагулазоположительных стафилококков.
10. Расскажите о микробном составе почвы. Какие санитарно-показательные организмы контролируют в микрофлоре почвы?
11. Опишите схему выделения из почвы *Cl. perfringens*.
12. Какое значение имеет обсемененность почвы бактериями для санитарного состояния консервного предприятия и качества выпускаемой рыбной продукции?
13. Опишите микрофлору воды и ила естественных водоемов.
14. Каковы пути заражения воды патогенной и условно-патогенной микрофлорой?
15. Какое значение имеет качество воды для консервного производства?
16. Какие требования предъявляются к микробиологическим показателям питьевой воды и пищевого льда?
17. Расскажите об очистке воды питьевого водоснабжения.
18. Каковы особенности сточных вод рыбоперерабатывающего предприятия?
19. На какие зоны делится вода водоемов по степени загрязнения?
20. Какие естественные факторы способствуют самоочистке водоемов?
21. Охарактеризуйте полисапробную зону. Какие микробиологические процессы протекают в этой зоне?
22. Расскажите о микробиологических процессах, протекающих в мезосапробной зоне. Чем отличаются микробиологические процессы, протекающие в α -мезосапробной зоне, от процессов, протекающих в β -мезосапробной зоне?
23. Какие процессы и какая микрофлора характерны для олигосапробной зоны? Какие микроорганизмы характерны для чистой воды?
24. Опишите устройство и работу очистных прудов и полей орошения.
25. Расскажите об устройстве и работе аэротенков и биофильтров.
26. Какие группы организмов входят в биоценоз активного ила и активной пленки? Какую роль в переработке загрязнений играет каждая группа микроорганизмов?
27. Какие очистные сооружения, работающие по анаэробному типу, вам известны? Опишите их устройство.
28. Опишите микробиологические процессы, протекающие при сбрасывании осадка сточных вод в анаэробных условиях. Охарактеризуйте возбудителей этих процессов.
29. С какой целью перерабатываются осадки сточных вод?
30. Какое значение имеет для качества выпускаемых рыбных продуктов санитарное состояние тары, инвентаря, оборудования консервных цехов?
31. Что такое антисептики? Чем отличается действие микробицидных антисептиков на микроорганизмы? Что такое споридицидные и фунгицидные антисептики?

32. Что такое детергенты? Какие вам известны моющие и дезин-фицирующие средства, разрешенные к использованию в рыбной про-мышленности?
33. Опишите схему выделения и идентификации сальмонелл из пищевых продуктов?
34. Опишите схему выделения плазмокоагулирующего стафилококка из рыбных продуктов?
35. Опишите схему выделения кишечной палочки и палочки протей из рыбных продуктов.
36. Опишите схему санитарной обработки оборудования на рыбоконсервном предприятии.
37. Какие санитарные требования предъявляются к консервному предприятию? Кто является ответственным за их выполнение?
38. Приведите схему санитарно-бактериологического анализа смывов с рук работников и оборудования рыбного предприятия.
39. Какие виды естественного и искусственного иммунитета вам известны?
40. Какова роль пищевых продуктов, воды, воздуха в распространении инфекции?
41. Что такое экзо- и эндотоксины? Каковы их основные свойства?
42. Что такое бациллоносительство?
43. Дайте характеристику токсикозу и токсикоинфекции.
44. Расскажите о токсикозе, возбуждаемом стафилококками. Охарактеризуйте золотистый стафилококк.
45. Расскажите о ботулизме. Назовите и охарактеризуйте возбудителя этого заболевания.
46. Назовите основные признаки заболеваний, возбуждаемых *E. coli*, *Proteus vulgaris*.
47. Что такое сальмонеллез? Расскажите о возбудителе этой инфекции. Какие продукты могут быть причиной сальмонеллеза?
48. Что вам известно о *Vibriopara haemolyticus*? Какого рода пищевые отравления он может возбуждать?
49. Расскажите о пищевых отравлениях, возбуждаемых *Cl. perfringens*, дайте характеристику этой бактерии.
50. Какого рода пищевые отравлений может возбуждать *Vac. cereus*. Как обнаружить *Vac. cereus* в консервах?
51. Расскажите о миксотоксикозах.
52. Расскажите о возбудителях инфекционных заболеваний животных, передающихся человеку.

МОДУЛЬ 2.

Тема 1. Микрофлора сырья и гидробионтов. На общую обсемененность рыбы и ее порчу влияют следующие факторы:

- общее микробное число (ОМЧ) воды, из которой выловлена рыба;
- степень наполнения желудка рыбы и характер ее питания;
- метод добычи рыбы;
- способ доставки;
- прием и хранение сырья.

В результате освоения данной темы магистр должен:

- знать естественную микрофлору сырья и гидробионтов и ее влияние на качество продукции;
- знать содержащиеся в рыбе микроорганизмы, патогенные для человека;
- ориентироваться в нормативно-технической документации;
- уметь провести микробиологический контроль сырья.

Вопросы для самопроверки.

1. Пороки рыбы-сырца.
2. Деление микроорганизмов по способности вызывать инфекцию.
3. Какие заболевания относятся к пищевым отравлениям.
4. Что такое токсигенность, виды токсинов.
5. Пищевые токсикоинфекции и токсикозы.
6. Определение качества сырья бактериоскопическим и бактериологическим методами.
7. Контроль санитарно-гигиенического контроля производства.
8. Что включает в себя основной и дополнительный контроль и при каких условиях проводится.

Тема 2. Микрофлора живого и свежего сырья. Влияние первичной обработки на микрофлору сырья.

Микробиология свежего сырья. Охлажденное и замороженное сырье. Изменение микрофлоры во время хранения продукции. Микрофлора кулинарных продуктов. Микрофлора соленой продукции и пресервов. Консерванты в пищевой промышленности. Микрофлора копченых продуктов, икры и беспозвоночных. Изменение микрофлоры в процессе хранения скоропортящихся продуктов. Микробиология и биохимия рыбных жиров. Контроль производства и продукции.

Тема 3. Микрофлора нерыбных объектов морского промысла.

Рыба и другие пищевые продукты – хорошая питательная среда для многих микроорганизмов, однако активность их развития и существования можно регулировать. В пищевой и рыбной промышленности используют чистые культуры микроорганизмов, которые осуществляют различные биохимические реакции, участвуют в процессах созревания рыбы, мяса, сыров. Микробиологические культуры широко применяются в биотехнологии для получения микробной биомассы (хлебопекарные дрожжи), аминокислот, витаминов, ферментов, антибиотиков, различных органических кислот, спирта и т.п.

В результате освоения данной темы студент должен знать:

- факторы среды и принципы консервирования;
- применение антисептиков и антибиотиков;

- пороки рыбных продуктов;
- микробиологический контроль при производстве рыбных продуктов.

Микрофлора моллюсков и ракообразных. Микрофлора водорослей. Особенности микробной порчи ракообразных по сравнению с порчей рыбы. Биохимические процессы порчи, таксономическая принадлежность возбудителей порчи и их характеристика. Влияние первичной обработки на микрофлору моллюсков, ракообразных, млекопитающих. Допустимые нормы обсемененности, санитарно-показательная и условно-патогенная микрофлора нерыбных объектов морского промысла.

Вопросы для самопроверки.

1. Особенности микробной порчи ракообразных по сравнению с порчей рыбы.
2. Допустимые нормы обсемененности, санитарно-показательная и условно-патогенная микрофлора рыбного производства.
3. Механизм воздействия высокой концентрации соли на микрофлору рыбы.
4. Изменение видового состава и количественной обсемененности рыбы бактериями в процессе посола.
5. Микробиологические процессы при созревании рыбы пряного посола, характеристика возбудителя.
6. Зависимость технологии производства кулинарных продуктов и контроля.
7. Динамика изменения микрофлоры рыбы в процессе производства и хранения фарша.
8. Пороки кулинарных изделий - вспухание, прокисание, прогоркание, биохимия процессов порчи, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей.
9. Изменение видового состава и обсемененности рыбы в процессе холодного копчения и хранения рыбы.
10. Профилактика порчи, использование пищевых консервантов для увеличения срока хранения вяленой и провесной рыбы.
11. Антимикробные факторы копильного дыма, действующие на микрофлору рыбы холодного копчения.
12. Антимикробные факторы, действующие на микрофлору при горячем копчении рыбы.
13. Биохимические и микробиологические основы созревания вяленой рыбы.
14. Патогенная и условно-патогенная микрофлора рыбной муки.

Тема 4. Способы консервирования сырья, основанные на принципах биоа, анабиоза

Сырье охлажденное и мороженое. Воздействие на микрофлору сырья низких температур. Изменение видового состава и обсемененности сырья микрофлорой в процессе охлаждения, заморозки и хранения охлажденной и замороженного сырья. Влияние вида и способа упаковки продукта на длительность хранения. Использование пищевых антисептиков, антибиотиков, глазури и γ - излучения для увеличения срока хранения охлажденной и мороженой продукции. Биохимические процессы микробной порчи охлажденной и мороженой продукции, возбудители порчи, их таксономическая принадлежность, характеристика. Влияние размораживания на микрофлору продукта. Санитарные мероприятия на холодильнике.

Соленая продукция и пресервы. Галофобы, факультативные галофилы, облигатные галофилы. Механизм воздействия высокой концентрации соли на микрофлору продукта. Изменение видового состава и количественной обсемененности продукции бактериями в процессе посола. Микробиологические процессы при созревании рыбы пряного посола, характеристика возбудителя. Использование чистых культур бактерий для ускорения созревания рыбы пряного посола и улучшения ее качества. Пороки соленой рыбы микробиологического характера, возбудители, характеристика, меры профилактики и исправления пороков. Фуксин. Ржавление. Омывание. Загар.

Изменение видового состава и обсемененности рыбы бактериями в процессе созревания пресервов. Воздействие консервантов, используемых при производстве пресервов на микрофлору рыбы. Биохимические процессы микробного характера, протекающие при созревании пресервов. Микробная порча пресервов. Бомбаж. перекисление, растворение. Биохимические процессы, происходящие при порче, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей. Меры профилактики порчи. Пастообразные деликатесные продукты типа пресервов. Микробиологические процессы, протекающие при созревании продукции. Биохимия процессов, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей Санитария пресервных и посольных цехов. Микробиологический контроль при производстве соленой рыбы и пресервов.

Вяленая и провесная продукция. Изменение видового и количественного состава микрофлоры сырья в процессе вяления. Биохимические и микробиологические основы созревания вяленой продукции. Микрофлора - причина порчи вяленой и провесной продукции при неправильном хранении. Биохимические уравнения процессов порчи, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей порчи. Профилактика порчи, использование пищевых консервантов для увеличения срока хранения вяленой и провесной продукции. Микробиологический контроль при производстве вяленой и провесной продукции.

Сушеная продукция.

Причины подавления активности микроорганизмов при производстве сушеной продукции. Использование пищевых консервантов для продления срока хранения сушеной продукции. Биохимические процессы, протекающие при порче сушеной продукции. Таксономическая принадлежность возбудителей порчи, их характеристика. Микробиологический контроль при производстве сушеной продукции.

Продукты холодного и горячего копчения. Антимикробные факторы копильного дыма, действующие на микрофлору продуктов холодного копчения. Антимикробные факторы, действующие на микрофлору при горячем копчении сырья. Изменение видового состава и обсемененности сырья в процессе холодного копчения и хранения продукции. Использование пищевых антисептиков и пленочных материалов для увеличения сроков хранения продуктов холодного копчения. Микробиологический анализ при производстве продуктов холодного и горячего копчения. Санитария копильных цехов.

Продукция маринованная.

Консервирующие факторы, действующие на микрофлору при производстве маринованной продукции. Микробная порча маринованной продукции при превышении срока и условий ее хранения. Микробиологический контроль при производстве маринованной продукции.

Производство рыбной икры.

Микробиологические основы производства икры натуральной. Характеристика антисептиков. Изменение видового состава и обсемененности рыбной икры в процессе посола. Микробная порча рыбной икры при нарушении условий хранения. Биохимия процессов порчи, таксономическая принадлежность возбудителей и их характеристика. Санитария икорных цехов. Микробиологический контроль при производстве рыбной икры.

Тема 5 . Микробиология стерилизованных консервов

Выпуск доброкачественной продукции, безопасной в эпидемиологическом отношении и стабильной в хранении, обеспечивается, кроме строгого соблюдения технологических режимов и санитарной дисциплины, четко организованным санитарно-микробиологическим контролем.

Консервирование это процесс, применяемый для сохранения пищевого продукта, который заключается в уничтожении микроорганизмов, способных развиваться в продукте и вызывать его порчу.

В результате освоения данной темы студент должен:

- знать порядок санитарно-технического контроля при производстве консервов и полуконсервов, во время хранения и в период реализации в торговой сети;
- иметь понятие об остаточной микрофлоре консервов.

Воздействие высокой температуры на микрофлору сырья. Профилактический и дополнительный микробиологический контроль при производстве стерилизованных консервов. Точки и периодичность микробиологического контроля при производстве стерилизованных консервов. Микрофлора вспомогательных материалов (томат продуктов, овощного сырья, пряностей, муки, круп, сахара, соли, растительного масла и др.). Микробиологические основы разработки оптимальных режимов стерилизации рыбных консервов. Определение нормативного стерилизующего эффекта и фактической летальности процесса стерилизации. Лабораторная и промышленная проверка режима тепловой стерилизации. Допустимые нормы обсемененности различных видов рыбных консервов перед стерилизацией. Остаточная микрофлора консервов. Микробиологический брак консервов - бомбаж, плоско-кислая порча. Биохимия процессов порчи, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей порчи. Остаточная микрофлора консервов - причина пищевых отравлений. Инструкции и ГОСТы, используемые при производстве микробиологических анализов стерилизованных консервов. Санитария рыбоконсервного предприятия. Использование моющих и дезинфицирующих средств на рыбоконсервном предприятии. Личная гигиена работников консервного предприятия.

Вопросы для самопроверки.

1. Особенности микробиологического контроля производства консервов.
2. Факторы, гарантирующие безопасность употребления консервов в пищу.
3. Термостатирование консервов как метод выявления микрофлоры в консервированных продуктах.
4. Условия проведения микробиологического анализа консервов.
5. Определение промышленной стерильности консервированных продуктов.
6. Дефекты консервов.
7. Развитие остаточной микрофлоры консервов.

Тема 6. Микробиология производства кулинарных продуктов. Микрофлора технических рыбных продуктов.

Группы кулинарных продуктов. Зависимость технологии производства кулинарных продуктов и контроля. Динамика изменения микрофлоры рыбы в процессе производства и хранения фарша. Биохимия микробной порчи рыбного фарша, таксономическая принадлежность возбудителей порчи, их характеристика. Микробиологический контроль при производстве рыбного фарша. Рыбные кулинарии, фаршевые изделия - котлеты, колбасы, сосиски. Изменение микрофлоры сырья в процессе кулинарной обработки. Остаточная микрофлора кулинарных рыбных продуктов. Пороки кулинарных изделий - вспухание, прокисание, прогоркание, биохимия процессов порчи, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей. Микрофлора вспомогательных материалов, используемых при производстве кулинарных рыбных продуктов (сливочное масло, желатин, яйца или яичные продукты - меланж, яичный порошок). Микрофлора жареной, печеной и заливной рыбы. Санитария кулинарных цехов. Микробиологический контроль при производстве кулинарных рыбных продуктов.

Микрофлора нежирной и жирной рыбной муки. Патогенная и условно-патогенная микрофлора рыбной муки. Использование консервантов для предохранения рыбной муки от порчи. Микробная порча рыбной муки, биохимические процессы порчи, таксономическая принадлежность и характеристика возбудителей. Экспресс - анализ определения общей численности бактерий в рыбной муке. Микрофлора рыбного клея. Микрофлора рыбного клея - причина порчи при нарушении условий хранения. Консервирование рыбного клея.

В о п р о с ы д л я с а м о п р о в е р к и

1. Почему при охлаждении и замораживании микроорганизмы прекращают развиваться?
2. Опишите изменения в составе микрофлоры в процессе охлаждения, заморозки и хранения пищевых продуктов.
3. Назовите микрофлору, характерную для охлажденной и мороженой рыбной продукции. Какие виды порчи может возбуждать эта микрофлора?
4. Расскажите о способах, применяемых для увеличения срока хранения охлажденной и мороженой рыбной продукции.
5. Опишите санитарный контроль на холодильных предприятиях.
6. Расскажите о влиянии процесса дефростации, на микрофлору мяса и рыбы.
7. Опишите микробиологический контроль мороженой рыбы, отправляемой на экспорт.

8. Почему при посоле микроорганизмы впадают в состояние анабиоза?
9. Опишите микрофлору соли. Что такое галофилы, галофобы, галотолерантные формы микроорганизмов?
10. Каким способом можно уничтожить микрофлору, обсеменяющую соль?
11. Опишите закваски, применяемые в рыбной промышленности.
12. Расскажите об использовании молочнокислых бактерий.
13. Какие пороки соленых продуктов микробиологического характера вам известны? Какие меры профилактики следует принимать, чтобы избежать их появления?
14. Опишите микрофлору, характерную для пресервов на разных стадиях их созревания.
15. Какие полезные микробиологические процессы идут при созревании пресервов? Напишите их уравнение и назовите возбудителей.
16. Какие пороки пресервов микробиологического происхождения вам известны?
17. Расскажите о санитарии пресервных и посольных цехов.
18. Расскажите о микрофлоре соленой икры.
19. Какие консервирующие факторы действуют при производстве маринованных продуктов?
20. Какие абиотические факторы действуют на микрофлору при производстве продуктов холодного копчения?
21. Перечислите консервирующие факторы дыма. Расскажите подробно, как они действуют на бактерии?
22. Расскажите об изменении качественного и количественного состава микрофлоры рыбы в процессе холодного копчения.
23. Опишите способы, применяемые для увеличения срока хранения рыбных продуктов холодного копчения,
24. Опишите схему микробиологического контроля при производстве рыбы холодного копчения.
25. Какие консервирующие факторы имеют место при производстве продуктов горячего копчения?
26. Опишите микробиологический контроль при производстве рыбных продуктов горячего копчения?
27. Как долго хранится продукция горячего копчения? Как увеличить срок ее хранения?
28. Перечислите санитарные требования, предъявляемые к копильным цехам.
29. Каковы требования, предъявляемые к условиям хранения сушеной и вяленой продукции?
30. Расскажите о микрофлоре рыбного фарша. Как зависит ее количество и видовой состав от способа приготовления рыбного фарша и санитарии в цехе?
31. Расскажите о микрофлоре кулинарных рыбных продуктов. Какие существуют нормы ее обсемененности после обжарки и после упаковки?
32. Расскажите подробно о способах и периодичности микробиологического контроля в производстве стерилизованных рыбных консервов.
33. Опишите способы и периодичность микробиологического контроля при панировании, обжаривании, охлаждении, укладке рыбы в банки, заливке и закатке в процессе производства стерилизованных консервов.
34. Каковы требования микробиологического контроля к консервам перед стерилизацией?
35. Расскажите о микрофлоре вспомогательных материалов: томатопродуктов, овощного сырья, пряностей, муки, круп, сахара, растительного масла.
36. Опишите схему микробиологического контроля стерилизованных консервов. В каких случаях он обязательно проводится?
37. Что такое промышленная стерильность консервов?
38. Как экспериментально определить термостойкость спор бактерий?
39. Какие факторы учитываются при выборе режима тепловой стерилизации консервов?
40. Как экспериментально определить необходимую летальность процесса стерилизации консервов?
41. Что такое стерилизующий эффект (F-эффект)?
42. Что такое остаточная микрофлора консервов?
43. Какие вам известны представители остаточной микрофлоры? Дайте им характеристику.
44. Какие микроорганизмы являются причиной порчи стерилизованных консервов? Какой вид порчи они возбуждают?
45. Каковы требования к личной гигиене работников консервного предприятия?
46. Расскажите о санитарии консервного предприятия.

Гибридологический анализ микроорганизмов. Тетрадный анализ

Гибридологический анализ наследования признаков у микроорганизмов провести достаточно сложно. Следует сразу же сказать, что микроорганизмы - это сборная группа, в которую входят представители эукариот (дрожжи), прокариот (бактерии) и вирусы. Общая особенность всех микроорганизмов - весьма малые размеры (от 0,01 до 100 мкм). Различий же между этими организмами очень много. Поэтому нельзя дать общих рецептов гибридизации микроорганизмов. Лучше вести речь о конкретных видах этих организмов. Рассмотрим в качестве примера грибы, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Жизненный цикл дрожжей короткий - 1-2 ч. Размножаются они вегетативно, образуя в короткий срок концентрированные культуры (микроорганизмы, размноженные в жидкой среде до миллионов и миллиардов клеток - особей). Чистые культуры, т. е. культуры особей одного вида, образовавшиеся в результате бесполого размножения одной клетки с одним ядром, называют еще клонами. Клон поддерживаемый без отбора, может терять наследственную однородность (в результате мутационного процесса). Если в клоне ведется отбор на наследственную однородность (по определенным признакам, конечно), то его называют штаммом. Потомки отдельной клетки, выросшие на плотной среде, нося название колонии. В колонии или культуре дрожжей число клеток достигает

10^6 - 10^9 . Дрожжи способны размножаться не только бесполом путем, но и половым. Более того, клетки дрожжей бывают двух типов спаривания (a и α). Для того чтобы осуществить гибридизацию, необходимо поместить рядом клетки двух типов спаривания. Для упорядочения расположения колоний можно нанести клетки одного типа спаривания в виде горизонтальных штрихов на питательной среде чашки Петри, а клетки другого типа спаривания - в виде вертикальных, или посеять смешанную культуру. Для того чтобы следить за образованием гибридов, используют *метод генетической маркировки*.

Рассмотрим пример, позволяющий визуально оценивать возникновение гибридов. Дрожжи, образующие красные и гладкие колонии, можно поместить рядом с клетками, которые способны образовать белые морщинистые колонии. Если через некоторое время появятся белые гладкие колонии, т. е. колонии, сочетающие свойства двух исходных, значит они гибридные (на перекрестках двух типов штрихов). Но частота их возникновения очень мала - $1/10^5$ клеток, а на чашке Петри, куда высевают дрожжи, может расти 50 - 500 колоний. Найти гибрид в этом случае очень трудно, поэтому метод генетической маркировки дополняют обязательно методом *автоматического отбора*. Это значит, что среда, на которую будут высеваны клетки родительских штаммов, должна способствовать росту только гибридов. Надо сказать, что для выращивания микроорганизмов используют среды трех типов. *Полная среда* содержит все необходимые для клеток питательные вещества. Ее готовят по-разному, но один из способов приготовления - получение автолизата самих дрожжей, к которому добавляется пептон (смесь аминокислот). На такой среде растут не только клетки дикого типа - прототрофы, но и ауксотрофы, т. е. клетки, неспособные синтезировать те или иные вещества. Другой тип среды - *минимальная*, она содержит глюкозу и соли K, Na, Mg и некоторые другие. На такой среде растут только прототрофы. И наконец, *селективные* среды, которые готовятся на базе минимальной с добавлением одного или нескольких определенных веществ. Если клетки не росли на минимальной среде, но растут на селективной, которая отличается от первой только содержанием, например, аргинина, значит клетка - ауксотроф по аргинину, все остальные необходимые ей вещества она способна синтезировать. Если клетки способны расти на полной среде, а при внесении в нее антибиотика не растут, значит они чувствительны к этому антибиотику. В этом случае селективная среда может быть приготовлена на основе полной. Использование селективных сред позволило увеличить число признаков, которые могут быть подвергнуты анализу, у микроорганизмов практически до бесконечности: альтернатива устойчивости-чувствительности может быть определена к любым физическим (температура, например), химическим (яды и т. д.), фармацевтическим (антибиотики и т. д.) факторам.

Теперь можно вернуться к вопросу о том, как подбирать клетки для скрещивания, чтобы среда автоматически отбирала гибриды. Чаще всего берут для гибридизации ауксотрофы, причем не способные синтезировать разные вещества. Например, ауксотроф по лизину и ауксотроф по рибофлавину не растут на минимальной среде, но гибрид (диплоид) успешно растет, так как он прототроф. Просмотр чашек Петри с минимальной средой позволяет очень легко обнаружить колонии, т. е. гибриды.

Гибридные клетки (2n) могут делиться митозом, поддерживая диплоидную культуру, но для изучения наследования признаков необходимо, чтобы произошел мейоз и образовались гаплоидные продукты - споры, которые, в свою очередь, способны размножаться бесполом путем, поддерживая гаплоидные

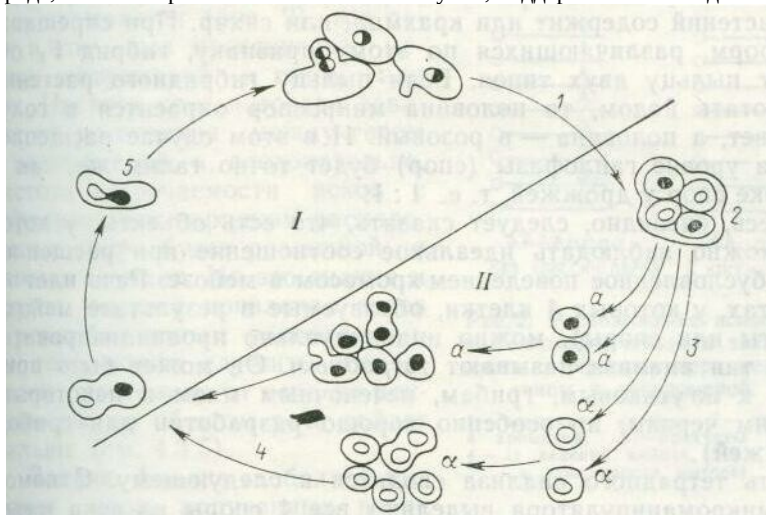


Рис. 1. Жизненный цикл дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

a и α - типы спаривания. I - диплофаза, II - гаплофаза. 1 - мейоз, 2 - аск, 3 - аскоспоры, 4 - копуляция, 5 - зигота.

культуры до тех пор, пока вновь не произойдет копуляция и образование зиготы, и весь цикл не повторится вновь (рис. 1). В лабораторных условиях культуры для генанализа, как правило, поддерживают в гаплофазе, а после образования гибридов (зигот, которые, делясь, дают диплоидную культуру) стимулируют мейоз, или, как принято говорить, споруляцию. Добавка ацетата натрия в культуру является прекрасным индуктором споруляции: через 12 - 48 ч уже можно получать аски. Споры у дрожжей, как у всех аскомицетов, заключены в сумку. Правда, в отличие от нейроспоры (линейные аски) споры у дрожжей лежат не в определенном порядке, т. е. нелинейно, поэтому их называют секториальными, или неупорядоченными. Если аски разрушить (для этого используют пищеварительный сок улиток), то образуется смесь спор, или так называемая *случайная выборка спор*. Их можно прорастить и определить фенотип и генотип на гаплоидных клонах. Этим существенно отличается генанализ, проводимый у дрожжей (и у других микроорганизмов), от генанализа высших организмов.

Расщепление, которое в генанализе используется для определения числа генов, по которым различаются скрещиваемые формы, выражается другими соотношениями. Если скрещиваемые формы различаются аллелями одного

гена, то расщепление в свободной выборке спор будет 1:1 (а не 3:1). Для анализа полученных данных надо использовать статистические методы, так как реально полученные соотношения могут случайно отличаться от идеальных.

Очень близок к этому способу анализа у дрожжей пыльцевой анализ у высших растений. Дело в том, что пыльца многих растений содержит или крахмал, или сахар. При скрещивании форм, различающихся по этому признаку, гибрид F₁ образует пыльцу двух типов. Если пыльцу гибридного растения обработать йодом, то половина микроспор окрасится в голубой цвет, а половина - в розовый. И в этом случае расщепление на уровне гаплофазы (спор) будет точно таким же, как в выборке спор у дрожжей, т. е. 1:1.

Здесь, очевидно, следует сказать, что есть объекты, у которых можно наблюдать идеальное соотношение при расщеплении, обусловленное поведением хромосом в мейозе. Речь идет об объектах, у которых 4 клетки, образуемые в результате мейоза (гаметы или споры), можно индивидуально проанализировать. Такой тип анализа называют *тетрадным*. Он может быть применен к жгутиковым, грибам, печеночным мхам и некоторым морским червям, но особенно хорошо разработан для грибов (дрожжей).

Суть тетрадного анализа сводится к следующему. С помощью микроманипулятора выделяют все 4 споры из аска и выращивают клоны, которые оцениваются по фенотипу и генотипу. Процесс этот очень трудоемкий, но при определенном навыке удается часов за семь обработать до 100 асков. При тетрадном анализе получается идеальное соотношение 2:2, которое соответствует ожидаемому 1:1, и, кроме того, служит прямым доказательством в пользу хромосомной теории наследственности. Правда, иногда могут образовываться тетрады, несущие только 4 доминантные или 4 рецессивные аллели, либо в соотношении 3:1, или 1:3, но частота этих случаев очень мала (около 1 - 2%). Их появление можно объяснить как аномалиями деления, так и конверсией гена.

При тетрадном анализе у грибов с линейным расположением аскопор наблюдается так же, как у дрожжей, соотношение 2:2, но при этом прибавляется еще одна замечательная особенность: анализ порядка расположения спор в аске. Последовательность спор может быть разной: А, А, а, а; а, а, А, А; А, а, а, А; а, А, а, А; а, А, А, а. Особенно легко изучать порядок спор в тех случаях, когда учитываются признаки, по которым различаются сама споры. Например, у *Neurospora crassa* они могут быть окрашенными или неокрашенными. О чем, свидетельствует определенный порядок спор в аске?

Оказывается (рис. 2), все дело в том, был кроссинг-овер между центромерой и геном или нет. Частота кроссинговера зависит от расстояния между геном и центромерой, а, следовательно, частота встречаемости асков с определенным порядком расположения спор будет различной разных случаях. Но это значит и другое: частота появления асков с рекомбинантным расположением спор может служить показателем расстояния от гена до центромеры.

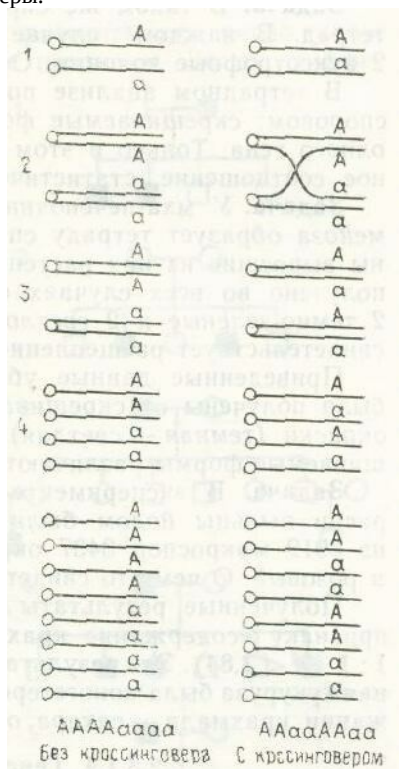


Рис.2. Расположение аскоспор у *Neurospora crassa* в зависимости от кроссинговера между геном и центромерой. 1- исходная клетка, 2 - стадия 4 хроматид, 3 - продукты I и 4 - II деления мейоза, 5 - 8 спор в аске (после мейоза).

Решение типовых задач

Задача. Анализ свободной выборки спор, полученных после гибридизации двух штаммов дрожжей, различающихся по типу спаривания и характеризующихся один - ауксотрофностью по аденину, другой - прототрофностью, показал, что выросшие из них гаплоидные колонии находились в соотношении: 348 ауксотрофов: 356 прототрофов. Что можно сказать о числе генов, по которым различались скрещиваемые формы?

Решение. Указанное соотношение близко к 1:1, различия между фактически полученным соотношением (356:348 = 704) идеальным (352:352 = 704) - случайные ($\chi^2 \leq 3,84$). Следовательно, скрещиваемые формы различаются двумя аллелям одного гена: ***ade+*** и ***ade***.