

Министерство образования и молодежной политики
Свердловской области
ГБОУ СПО СО «Режевской политехникум»

Рассмотрено:

На заседании ЦК

Протокол № 6 от «19» апреля 2019 г

Методические рекомендации

для студентов по выполнению лабораторного занятия

ОП.01. Микробиология, санитария и гигиена в пищевом производстве.

Специальность 19.02.10 «Технология продукции общественного питания»

Реж

Методические рекомендации по организации практической работы обучающихся составлены на основе рабочей программы по учебной дисциплине «Микробиология, санитария и гигиена в пищевом производстве» основной профессиональной образовательной программы (ОПОП) по специальности 19.02.10. «Технология продукции общественного питания»

Организация – разработчик: Государственное автономное профессиональное образовательное учреждение Свердловской области «Режевской политехникум»

Составитель :

Хамидуллина Р.А. – преподаватель

Лабораторный практикум.

Практические занятия должны быть тесно увязаны с теоретическим курсом микробиологии. На практических занятиях студенты закрепляют полученные теоретические знания, осваивают методы микробиологического исследования и правила работы с культурами микроорганизмов. Весьма важно, чтобы студенты научились соблюдать правила личной гигиены и профилактики, бережно относиться к лабораторному оборудованию и аппаратуре, особенно к микроскопу.

Микробиологическая лаборатория должна содержаться в идеальной чистоте. В ней не должно находиться никаких лишних предметов. Уборку лаборатории необходимо проводить регулярно и только влажным способом. Пол, стены, мебель следует обрабатывать растворами дезинфицирующих средств.

На первом практическом занятии студенты должны ознакомиться с техникой безопасности и режимом работы лаборатории. Например, входя в лабораторию, надеть халат, проверить, все ли предметы находятся на рабочем месте и исправлен ли микроскоп. Обо всех неисправностях и недостатков сообщать преподавателю. Во время выполнения практических работ соблюдать тишину, избегать излишнего хождения, открывания и закрывания дверей, что усиливает движения воздуха. В лаборатории не курить, не принимать пищу. Не выносить за пределы лаборатории какие бы то ни было материалы (пробирки, краски и т.п.). Личные вещи (книги, сумки) держать в отведенном для этого месте. При себе иметь цветные карандаши и тетрадь для записей занятий по микробиологии. Зарисовку морфологических признаков микроорганизмов производить непосредственно с препарата, а не из книги или таблицы.

По окончании занятий привести в порядок рабочий стол, протереть и убрать микроскоп, тщательно вымыть руки и снять халат.

Инструменты после использования должны обезвреживаться прокаливанием в пламени, кипячением, дезинфекцией и другими способами. Все использованные материалы с микроорганизмами, использованные микробные культуры и т.д. необходимо с начало обеззараживать дезинфекцией и только после этого мыть лабораторное оборудование.

Материалы по каждому занятию излагаются в следующей последовательности: вначале кратко формулируется цель занятия, затем определяется конкретное задание и порядок его выполнения, приводится перечень необходимого оборудования, а также методические указания по проведению занятий и контрольные вопросы.

ЛАБОРОТОРНАЯ РАБОТА №1

Тема: «Изучение устройства микроскопа и техники микроскопирования»

Цель занятия:

Учебная: Познакомиться с устройством бактериологического микроскопа, сформировать умения и навыки работы с ним, использовать занятия для закрепления теоритического материала.

Воспитательная: Использовать занятия для воспитания трудолюбия и аккуратности в работе.

Оборудование: микроскопы, предметные и покровные стёкла, металлические петли, фильтрованная бумага, кедровое масло, вода, пипетки, спиртовки, спички.

Ход работы: 1. Изучить устройство микроскопа, используя биологические микроскопы БИОЛАМ С-П или другие и методические указания данного пособия.

2. Перечислить в лабораторной тетради основные части микроскопа, дать характеристику сухим иммерсионным объективам, записать правила определения увеличения микроскопа.

3. Познакомиться с правилами работы с микроскопом.

4. Познакомиться со способами приготовления препаратов микроорганизмов.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Устройство биологического микроскопа.

Для изучения микроорганизмов пользуются сложными оптическими приборами – микроскопами (от греч. mikros – малый, skoreo – смотрю). Наиболее распространёнными микроскопами являются БИОЛАМы и другие с предельным увеличением до 1350 раз. Микроскопами имеют две основные части: механическую и оптическую.

Механическая часть состоит из штатива, в котором различают ножку, основание и тубусодержатель и предметного столика, прикреплённого к основанию штатива. Предметный столик перемещается в горизонтальной плоскости с помощью двух винтов, находящихся слева и справа. На поверхности столика имеются две клеммы для закрепления препарата. Кроме того, на нём можно установить крестообразный столик, служащий для передвижения препарата в двух взаимно перпендикулярных направлениях с помощью двух винтов, расположенных справа. или наклонного тубуса, на котором крепится револьвер, куда ввинчиваются 2-4 объектива. Замена объективов производится при повороте револьвера вокруг оси.

Оптическая часть микроскопов состоит из осветительного аппарата, объективов и окуляров. Осветительный аппарат расположен под предметным столиком и состоит из зеркала, конденсора и ирис-диафрагмы.

Зеркало имеет две поверхности: плоскую и вогнутую, оно отражает световые лучи и направляет их к конденсору. При естественном освещении и при малых увеличениях употребляется плоское зеркало, при искусственном, как и при естественном при больших увеличениях – вогнутое.

Конденсор – представляет собой системы сильных линз для усиления яркости освещения рассматриваемого объекта. Собирая лучи света, отраженные зеркалом, конденсор концентрирует их в плоскости препарата. Передвигается конденсор в вертикальном направлении при п Тубусодержатель поднимается и опускается с помощью макро метрического и микрометрического винтов, предназначенных для грубой и точной фокусировки объекта. Поворот винта на один оборот поднимает или опускает тубусодержатель на 2 мм, микрометрического – на 0,1 мм. Вверху тубусодержатель имеет гнездо для прямого омощи винта. При опускании

конденсора после зрения микроскопа затемняется, при поднятии - освещается.

Ирис-диафрагма, расположенная под конденсором, состоит из тонких металлических сегментов, которые при помощи рычажка можно сдвигать или раздвигать, регулируя этим поступление света в конденсор.

Объективы являются наиболее важной частью микроскопа. Они ввинчиваются в гнёзда револьвера и состоят из системы линз, заключённых в металлическую оправу. Передняя, или фронтальная, линза объектива являются самой маленькой и единственной, дающей увеличение. Остальные линзы в объективе только исправляют недостатки полученного изображения и называются коррекционными.

Кроме того, объективы делятся на сухие и иммерсионные. Сухими называются объективы, при работе с которыми между фронтальной линзой и рассматриваемым предметом находится слой воздуха. Иммерсионными (от лат. Immersion – погружаю) называются объективы, фронтальная линза которых при работе погружается в нанесённую на препарат каплю жидкости с показателем преломления, близким к показателю преломления стекла. Лучшим для этой цели является кедровое масло с коэффициентом преломления 1,515 (коэффициент преломления стекла 1,53). Световые лучи при переходе из стекла в слой кедрового масла не преломляются и, не отражаясь, попадают в объектив. Таким образом достигается наилучшее освещение предмета. Биологические микроскопы обычно имеют 3-4 объектива с цифровым обозначением 10 (или 8), 20, 40, 60, 90X (иммерсионный), показывающими собственное увеличение этих объектов.

Окуляр (от лат. oculus – глаз) вставляются в верхний конец тубуса. Окуляр представляет собой систему двух плоско-выпуклых линз, обращённых выпуклостью в сторону объектива. Линза, обращённая к глазу, называется глазной, обращённая к препарату – собирающейся. Расстояние между линзами равно полу сумме их фокусного расстояния. Окуляры помечаются цифрами, показывающими их собственное увеличение 5, 7, 10, 15X.

Для того, чтобы определить увеличение данной системы микроскопов, следует умножить показатель увеличение объектива на показатель увеличения окуляра. Например, при окуляре 10X и объективе 40X увеличение микроскопа равно 400.

Действительно изображение предмета даёт объектив. Окуляр же только увеличивает изображение, данное объективом и, не прибавляя ничего нового, даёт увеличенное обратное и мнимое изображение рассматриваемого объекта.

ПРАВИЛА ПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОСКОПОМ

Работая с микроскопом, необходимо соблюдать определённые правила обращения с ним.

1.Микроскоп вынимают из футляра и переносят к рабочему месту, держа его одной рукой за ручку штатива, а другой поддерживая за ножку штатива. Наклонять микроскоп в сторону нельзя, так как окуляр может выпасть из тубуса.

2.Микроскоп помещают на рабочем столе на расстоянии 3-5см от края стола ручкой к себе.

3.Сначала ставят объектив с малым увеличением (Х8) и при этом увеличение устанавливают наилучшее освещение, которое достигается при регулировке положение зеркала, конденсора и диафрагмы. При просмотре неокрашенных препаратов применяют суженную ирис-диафрагму и опущенный конденсор, при наблюдении окрашенных препаратов – открытую диафрагму и поднятый конденсор.

4.На предметный столик помещают препарат и закрепляют его клеммами.

5.Опускают объектив (Х8) при помощи макрометрического винта почти до соприкосновения с предметным стеклом на расстоянии около 0,5см от предметного столика. Медленно врашают макровинт против часовой стрелки до появления чёткого изображения препарата, после чего наводят резкость микрометрическим винтом.

6.Повернув револьвер, устанавливают объективы с большим увеличением (Х20, Х40 или Х60).

7. Во время микроскопирования нужно держать оба глаза открытыми пользоваться ими пополам.

8. После окончания работы, следует снять препарат с предметного столика, опустить конденсор, поставить под тубус объектив 8x, мягкой тканью протереть микроскоп и убрать его в футляр.

МЕТОДЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Существует два основных способа приготовления прижизненных препаратов микроорганизмов: «висячая капля» и «раздавленная капля».

Препарат «висячая капля». Небольшую каплю суспензии (взвеси) микробных клеток наносят на покровное стекло и осторожно накладывают на него предметное стекло с луночкой так, чтобы капля свободно помещалась в центре углубления. Края луночки предварительно смазывают вазелином, препарат переворачивают и микро скопируют. Этот метод применяют главным образом для изучения подвижности микробов.

Препарат «раздавленная капля» неокрашенный (нативный). На предметное стекло наносят каплю жидкости (при работе с бактериями, дрожжами – водопроводную воду, при работе с микроскопическими грибами – смесь равных объёмов этилового спирта и глицерина), вносят в неё немного исследуемых микроорганизмов, размешивают и накрывают покровным стеклом. Излишек выступившей жидкости удалят фильтровальной бумагой.

Микро скопируют препарат, как правило, сухой системой (объективы 8x, 20x, 40x). Препарат позволяет установить форму клеток преимущественно крупных микроорганизмов, их размеры, расположение, подвижность.

Препарат «раздавленная капля» прижизненно окрашенных микроорганизмов. К капле микробной суспензии на предметном стекле добавляют каплю слабого раствора (1:1000) красителя (метиленового синего или фуксина), затем размешивают и накрывают покровным стеклом.

Подобным образом рекомендуется дифференцировать живые и мертвые клетки, например при исследовании пекарских дрожжей. Мёртвые клетки обычно прокрашиваются быстрее и ярче вследствие посмертного повышения проницаемости клеточной оболочки. **Лабораторная работа №3**

Тема: «Определение бактериальной обсемененности пищевых продуктов»

Цель работы:

Учебная: Познакомиться лабораторными методами исследования пищевых продуктов; использовать занятие для закрепления теоретического материала.

Воспитательная: использовать занятие для выработки чувства ответственности перед избранной профессией.

Оборудование: микроскопы, предметные стекла, спиртовки, иммерсионное масло, фильтровальная бумага ,краска, образцы мяса, кисломолочные продукты.

Ход работы:

- 1.Познакомиться с сущностью метода определения свежести мяса бактериоскопическим и выписать показатели свежести мяса в соответствии с ГОСТ.
2. Приготовить и окрасить мазки из образцов мяса, и рассмотреть их под микроскопом (объектив 90, иммерсионное масло), зарисовать их и сделать вывод о свежести мяса.
- 3.Познакомиться с методом оценки качества кисломолочных продуктов.
- 4.Приготовить и окрасить мазки из кефира или сметаны и рассмотреть их под микроскопом (объектив 90 ,иммерсионное масло), зарисовать их и сделать вывод о свежести кисломолочных продуктов.

Методические указания

В соответствии с ГОСТ свежесть мяса убойных животных, субпродуктов и птицы определяют по органолептическим показателям: внешнему виду и цвету поверхности туши и мышц на разрезе, консистенции, запаху, состоянию жира, сухожилий. Прозрачности и аромату бульона. Мясо сомнительной свежести хотя бы по одному из этих показателей подвергают химическому и бактериологическому анализу.

Бактериоскопический метод подсчета (метод отпечатков) применяется для оценки свежести. Однако может быть использован и для ориентировочной оценки количественного и качественного состава микрофлоры других продуктов-рыбы полуфабрикатов. Для микроскопического исследования из проб мяса готовят не меньше трех мазков-отпечатков: один из поверхностного слоя с глубины 1-2мм, другой с глубины 2-2.5 см, и третий с глубины 3-3,5 см.

Для приготовления препарата – отпечатка из поверхностного слоя мяса стерильными ножницами вырезают кусочек 0,5-1г срезанной стороной делают тонкие отпечатки на слегка подогретом предметном стекле. Чтобы приготовить препарат-отпечаток из глубоких слоев, поверхность мяса сначала прижигают нагретым шпателем, а затем стерильным скальпелем производят глубокий разрез, пинцетом раздвигают края, вырезают кусочек мяса и, прикладывая к поверхности предметного стекла. Делают отпечатки.

Приготовленные мазки подсушивают на воздухе, фиксируют на пламени спиртовки, окрашивают по Граму и микро скопируют. Просматривают не менее пяти полей зрения. В каждом поле подсчитывают отдельно кокковые и палочкообразные микробы, а затем вычисляют их среднеарифметическое количество в одном поле зрения.

Оценка свежести мяса микроскопическим методом.

Степень свежести мяса	pH	Характеристика отпечатков
Свежее	5,9-5,5	Микрофлора не обнаруживается или видны единичные экземпляры кокков. Дрожжей, палочек в поле зрения препарата. Отсутствуют остатки разложившейся ткани

Сомнительной свежести	6,6	мяса. Окраска микрофлоры грамположительная. На отпечатках 20-30 кокков или несколько палочек в поле зрения микроскопа. Ясно видны следы распада мышечной ткани. Окраска микрофлоры грамположительная или грамотрицательная.
Несвежее	6,7	В поле зрения много микроорганизмов, преобладают грамотрицательные палочки (почти все поле зрения усеяно ими). Много распавшейся ткани мышц.

При микроскопическом анализе кисломолочных продуктов обязательно обращают внимание на видовой состав микрофлоры продукта. Различные кисломолочные продукты характеризуются свойственной им микрофлорой, так как для приготовления обыкновенной простокваси, кефира, сметаны и творога используются закваски. Состоящие из чистых культур Str.Lactis,Str.cremrris,Str.

Поэтому, чтобы сделать вывод о свежести кисломолочного продукта. Необходимо хорошо знать микрофлору закваски и как она выглядит микроскопом.

Из продукта приготавливают окрашенные комбинированным фиксатором препараты (комбинированный фиксатор: смесь одной части метилового спирта, одной части эфира,0,2 части метиленового синего).При микроскопировании определяют морфологию и количественное соотношение молочнокислых микробов закваски. Регистрируют постороннюю микрофлору, которая определяет загрязненность продукта (дрожжи, бациллы, мицелий).Для определения свежести продукта используйте справочную таблицу.

Микрофлора кисломолочных продуктов

Название продукта	Микрофлора закваски
Простокваша, ряженка	Молочнокислые стрептококки, единичные палочки
Ацидофильное молоко	Молочнокислая палочка
Кефир, кумыс	Молочнокислые стрептококки, палочки, единичные клетки дрожжей

Творог, сметана

Молочнокислые стрептококки