521 группа дисц. Микробиология

Дата 3 декабря 2020 г

**Тема лабораторной работы:** Знакомство с микрофлорой квашеных овощей, силоса

**Цель занятия**: ознакомиться с микрофлорой квашеных овощей и силоса, правилами взятия проб для исследования. Определить микрофлору проб приготовлением и микроскопией мазков.

Микрофлора квашеной капусты. В начале процесса сквашивания капусты развиваются аэробные микроорганизмы – бактерии и дрожжи, занесенные с сырьем. Они образуют небольшие количества кислот – уксусной, муравьиной, молочной, а также спирт и СО2. Постепенно создаются анаэробные условия, благоприятствующие развитию молочнокислых бактерий. Сначала развивается гетероферментативная молочнокислая бактерия Leuconostos mesenterioides (лейконосток), образующая эфиры, придающие заквашенному продукту характерный запах. Лейконосток сменяют палочковидные молочнокислые бактерии, например, гомоферментативная мезофильная бактерия Lactobacillus plantarum, которой принадлежит основная роль в процессе квашения капусты. Развиваются и гетероферментативные бактерии, в частности, кислотоустойчивая бактерия Lactobacillus brevis, а также дрожжи, вызывающие спиртовое брожение. Количество клеток микроорганизмов в этот период сквашивания в 1 мл достигает нескольких миллионов. Чрезмерное развитие Lactobacillus brevis может привести к порче – излишней кислотности капусты, приобретение ею острого привкуса. Также качество капусты снижается и при интенсивном развитии дрожжей. Порчу квашеной капусты вызывают гнилостные и маслянокислые бактерии, которые придают прогорклый вкус, резкий, неприятный запах. Спорообразующие бактерии, обладающие пектолитическими ферментами, вызывают размягчение (дряблость) капусты, появление неприятного запаха и вкуса. Размягчение капусты также возникает и под действием собственных ферментов.

Микрофлора силоса. В начале процесса силосования преобладают бактерии из группы энтеробактерий, имеются также и другие аммонификаторы, плесневые грибы и дрожжи. При соблюдении всех правил силосования такая микрофлора через 1-2 суток начинает подавляться продуктами жизнедеятельности молочнокислых бактерий. Последующие процессы протекают при доминировании молочнокислых бактерий, вначале молочнокислых стрептококков, а затем молочнокислых палочек. Численность кокковых форм невелика. Они менее устойчивы к более высокой концентрации молочной кислоты и другим продуктам жизнедеятельности микробов. Конечная величина рН в этой фазе достигает 4,0-4,2. Количество молочной кислоты в доброкачественном силосе составляет 1,5-2% от массы корма, а рН в нем не должен быть выше 4,0-4,2.

Взятие проб квашеной капусты и силоса. Пробы необходимо брать в три срока: а) во время закваски капусты и закладки силоса для определения эпифитной микрофлоры; б) через 10-15 дней после закваски и закладки для определения микрофлоры созревшего продукта; в) при вскрытии силоса.

В общей массе силоса не во всех участках одинаково проходят микробиологические процессы, поэтому в башне берут три пробы силоса: первую и вторую на расстоянии одного метра от верха и низа, третью – между ними. В траншеях, в зависимости от длины, берут 2 или 3 пробы на глубине одного метра от поверхности. В круглых ямах пробы берут в центре после снятия верхнего слоя, также на глубине одного метра. Пробы силоса помещают в стерильные банки с притертыми пробками.

***Микроскопическое исследование квашеной капусты и силоса***. В фарфоровой ступке (с небольшим количеством стерильной дистиллированной воды) растирают кусочек капусты или силоса. Из растертой массы на предметном стекле пестиком делают мазок, затем его фиксируют и окрашивают эритрозином. Мазок рассматривают под иммерсионной системой и зарисовывают. В хорошем продукте встречаются единичные палочки и кокки, в плохом – обнаруживается большое количество кокков и палочек.

Микробиологическое исследование проводят для выявления разных физиологических групп микроорганизмов: молочнокислых, маслянокислых, гнилостных, газообразующих, дрожжей и плесеней. Перед посевом готовят разведения. С этой целью на технических весах отвешивают 40 г капусты или силосной массы. Навески с соблюдением правил стерильности переносят в стерильные банки с притертыми пробками, в которые налито 360 мл стерильной воды. Чтобы «отмыть» микроорганизмы, содержащиеся на поверхности растений, капусту и силос взбалтывают в течение 10 мин на шуттель-аппарате или руками. В банках получается разведение 1:10. Приготовить колбы со стерильной водой по 90 мл в каждой и пронумеровать: II, III, IV, V, VI, VII. Последующие разведения готовят путем внесения 10 мл разведения 1:10 во вторую колбу с 90 мл стерильной воды, в результате чего получается разведение 1:100. Из второй колбы 10 мл разведения 1:100 переносят в третью колбу, получается разведение 1:1000 и т.д. Содержимое колбы перед взятием разведения взбалтывают в течение 3 мин. после приготовления разведений готовят посуду (чашки Петри, пробирки), питательные среды, делают надписи.

Физиологические группы микроорганизмов определяют на следующих питательных средах:

Мясо-пептонный агар (МПА) – гнилостную микрофлору;

Сусло-агар (СА) - плесени и дрожжи;

Сусло-агар с мелом (САМ) молочнокислые бактерии;

Молоке – молочнокислые бактерии;

Лактозе – газообразующие (кишечные) бактерии;

Картофельной среде Рушмана – маслянокислые бациллы.

В приготовленную посуду и среды, начиная с последней колбы, вносят по 1 мл разведения: на МПА с I, II, III, IV, V разведениями; на СА с I, II, III, IV; на САМ со II, III, IV, V, VI, VII; на молоко со II, III, IV, V, VI, VII; на сусло пивное со II, III, IV, V, VI, VII; на лактозу с I, II, III, IV, V; на картофельную среду Рушмана с I, II, III, IV, V разведениями.

После приготовления питательных сред в соответствии с методикой и охлаждения питательных сред до 50-45ºС (а САМ и после тщательного взбалтывания), их вносят в чашки Петри с внесенными разведениями. Легкими вращательными движениями чашек смешивают разведения со средой и оставляют на ровной поверхности для застывания. Чашки Петри переворачивают вверх дном ставят в термостат и выдерживают при температуре 30-35ºС в течение трех суток.

На четвертые сутки проводят учет физиологических групп микроорганизмов. Численность микроорганизмов на плотных питательных средах определяют путем подсчета колоний, на жидких питательных средах – путем обнаружения роста микробов из разных разведений, а на молоке – по его свертыванию. Та из свернувшихся сред, в которую было внесено наибольшее разведение, и будет определять количество молочнокислых микроорганизмов в квашеных овощах и силосе. На плотных средах в чашках Петри подсчет ведут из трех разведений, в каждом из которых выросло не менее десяти колоний.

**Задание 1:** законспектировать виды и характеристику микроорганизмов, участвующих при квашении овощей и силоса, технику приготовления разведений, технику выращивания микроорганизмов и технику микроскопирования.

**Задание 2**: приготовить препараты из предложенных проб квашеных овощей и силоса, провести микроскопирование, зарисовать микрофлору проб.

Контрольные вопросы:

1. Какие микроорганизмы принимают участие в квашении овощей, какова их роль?
2. Какие микроорганизмы принимают участие в силосовании кормов, какие виды брожения происходят, какие условия необходимо создавать?
3. Какие признаки определяют качество силоса?