

Т.В. Гавриш  
І.М. Фоміна  
Н.О. Боровікова

Навчально-методичний посібник  
до виконання лабораторних робіт

## БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ У ЗЕРНОПЕРЕРОБНІЙ ГАЛУЗІ



Харків 2024

ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Т.В. Гавриш, І.М. Фоміна, Н.О. Боровікова

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ У ЗЕРНОПЕРЕРОБНІЙ  
ГАЛУЗІ**

Навчально-методичний посібник до виконання лабораторних  
робіт для студентів спеціальності 181 «Харчові технології»

першого (бакалаврського) рівня вищої освіти  
(освітня програма «Харчові технології»)

Харків  
ДБТУ  
2024

Навчально-методичний посібник до виконання  
лабораторних робіт для студентів спеціальності 181  
«Харчові технології»  
«Біотехнологічні процеси у зернопереробній галузі» / укладачі:  
Гавриш Т.В., Фоміна І.М., Боровікова Н.О. – Х. : ДБТУ, 2024. –  
80 с.

Укладачі: Т.В. Гавриш  
І.М. Фоміна  
Н.О. Боровікова

Рецензент: О.В. Богомолів, доктор техн. наук, проф., зав.  
кафедри обладнання та інжинірингу переробних і харчових  
виробництв

Кафедра технології хлібопродуктів і кондитерських виробів

Схвалено науково-методичною комісією факультету  
переробних  
і харчових виробництв

Протокол від «02» лютого 2024 р. № 3

© Гавриш Т.В.,  
Фоміна І.М.,  
Боровікова Н.О.,  
укладачі,  
2024  
© Державний  
біотехнологічний  
університет,  
2024

## ЗМІСТ

Передмова		4
Лабораторна робота № 1	Дослідження технологічного процесу виробництва хліба.....	5
Лабораторна робота № 2	Дослідження якості продукції хлібопекарського виробництва.....	12
Лабораторна робота № 3	Вивчення процесу пліснявіння зерна.....	24
Лабораторна робота № 4	Мікробіологічний контроль якості круп.....	38
Лабораторна робота № 5	Визначення зараженості борошна картопляною хворобою.....	45
Лабораторна робота № 6	Мікробіологічний контроль якості та безпеки сухих кормів для непродуктивних тварин.....	52
Лабораторна робота № 7	Мікробіологічний контроль якості комбикормів.....	57
Література.....		65
Тестові завдання.....		67
Словник.....		74

## ПЕРЕДМОВА

Лабораторний практикум «Біотехнологічні процеси у зернопереробній галузі» може служити керівництвом для самостійної роботи студентів. Метою даного курсу є надання студентам ґрунтовних знань про особливості життєдіяльності мікроорганізмів під час зберігання зерна, а також під час виробництва зернопродуктів. Предметом вивчення є вивчення біотехнологічних та мікробіологічних процесів під час зберігання, переробки зернової сировини та контроль мікробіологічного та санітарно-гігієнічного стану виробництва зернопродуктів.

Практикум дає змогу оволодіти знаннями про біотехнологічні та мікробіологічні процеси при зберіганні та переробці зернової сировини; захворювання рослин та зерна; епіфітні, сапрофітні, фітопатогені мікроорганізми, їх вплив на якість зернової сировини та можливість отруєння при вживанні зернопродуктів; вплив різних чинників на інтенсивність розмноження мікроорганізмів під час зберігання зерна та зернопродуктів; кормові отруєння мікробного походження.

У лабораторному практикумі освоюються теоретичні основи регулювати біотехнологічними і мікробіологічними процесами під час зберігання зернової сировини та виробництва зернопродуктів та розглядається послідовність здійснення контролю мікробіологічного та санітарно-гігієнічного стану зернопереробного виробництва.

## **Лабораторна робота №1**

### **ВИЗНАЧЕННЯ ЕПІФІТНОЇ МІКРОФЛОРИ ЗЕРНА**

**Мета роботи** – ознайомитись з епіфітною мікрофлорою зерна.

**Об'єкт вивчення** – зерно злаків, насіння бобових культур.

**Обладнання та матеріали** – мікроскоп, знежирені предметне та покривне скло, біологічна петля або голка, склянки об'ємом 200 мл, скляна паличка, пінцет, серветки паперові, етиловий спирт, фільтрувальний папір, дистильована вода, стерильний пісок, стерильні піпетки на 10 и 1 мл, чашки Петри, розчин Люголя, метиленовий синій.

#### **✍ Теоретична частина**

На поверхні зерна живуть мікроорганізми. Частина мікроорганізмів потрапляє туди з ризосфери, частина заноситься з пилом і комахами. Однак на зерні, як і на всій поверхні рослин, розвиваються лише деякі мікроорганізми, так звані епіфіти. Епіфітні мікроорганізми, що розмножуються на поверхні стебел, листя і насіння рослин, отримали назву мікроорганізмів філосфери. Епіфіти харчуються продуктами екзосмоса рослин; стійкі до високих концентрацій фітонцидів, витримують періодичні коливання вологості.

Чисельність цих мікроорганізмів невелика, і видовий склад їх досить постійний: більше 90% складають гнильні бактерії, в основному - неспоронні (рід *Pseudomonas*). Особливо часто на зерні зустрічається *Erwinia herbicola*, що утворює на твердих середовищах золотаво-жовті колонії. Зустрічаються також *Pseudomonas fluorescens*, мікрококи, молочнокислі бактерії, дріжджі. Бацил і мікроскопічних грибів небагато.

Наприклад, серед виявленої епіфітної мікрофлори зерна ярої пшениці домінують бактерії, представлені наступними родами: *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Xanthomonas*, *Erwinia*. Проте слід

враховувати, що вищеперелічені мікроорганізми мажорні. У той же час деякі представники епіфітної мікрофлори, що не є мажорними видами, можуть становити небезпеку для здоров'я людини і тварин.

На збереженість зерна вирішальний вплив має вологість, температура, ступінь аерації, цілісність зерна і стан його покривних тканин.

У зрілому зерні вода знаходиться у зв'язаному стані і недоступна мікроорганізмам, які в цьому випадку перебувають у стані анабіозу. На зерні з підвищеною вологістю мікроорганізми розмножуються і тим швидше, чим вище температура. Розвиток мікробіологічних процесів на зерні, що зберігається з підвищеною вологістю призводить до помітного, а іноді і дуже значного підвищення його температури. Це явище отримало назву термогенез.

Самонагрівання зерна веде до зміни мікрофлори. Властиві зерну епіфітні мікроорганізми зникають. Починають рясно розмножуватися непігментовані неспороносні палички, витісняючи *Erwinia herbicola*. Пізніше з'являються термостійкі (термотолерантні) мікрококи, на щільних середовищах найчастіше утворюють дрібні білі плоскі колонії, а також плісняві гриби, актиноміцети. Самонагрівання понад 40-50°C сприяє розвитку спороутворюючих і термофільних бактерій. Під час самонагрівання змінюється видовий склад і плісневих грибів: види *Penicillium*, переважаючи спочатку, замінюються представниками роду *Aspergillus*.

За видовим складом мікрофлори можна судити не тільки про те, чи піддавалося зерно самонагріванню, але і наскільки далеко зайшов цей процес. Переважання *Erwinia herbicola* в мікробному ценозі зерна служить показником його гарної якості. Велика кількість спороутворюючих бактерій і грибів вказує на втрату насінням схожості.

Сприятливі умови для розвитку на поверхні зерна мікроорганізмів крім псування самого зерна сприяють накопиченню мікроорганізмами токсинів. При згодовуванні такого зерна худобі та домашній птиці виникають отруєння.

Таким чином, правильне зберігання зерна зводиться до того, щоб не допускати розвитку на ньому мікроорганізмів.

Слід розділити представників мікрофлори зерна на потенційно-небезпечні і потенційно-корисні для здоров'я тварин і людини. До потенційно-небезпечних серед виявлених видів можна віднести *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*.

*Stenotrophomonas maltophilia* – грамнегативні палички довжиною 0,5-1,5 мкм, облігатні аероби. На твердих середовищах колонії гладкі, блискучі, з рівними краями і коричневим або зеленуватим (на кров'яному агарі) пігментом, лактозонегативні колонії - на середовищах Ендо і Левіна. За літературними даними, *S. maltophilia* є найбільш яскравим прикладом збудника гнійно-септичних захворювань з природною множинною лікарською стійкістю. За останні 10 ... 15 років різко підвищилося етіологічне значення цих грамнегативних аеробів при гнійно-септичних інфекціях різної локалізації. Специфікою клінічних штамів бактерій даного виду є природна стійкість до більшості сучасних антимікробних препаратів широкого спектру дії: пеніцилінів, цефемам, карбапенемам, аміноглікозидів, фторхінолонів. Відомості по етіологічному значенні і властивості *S. maltophilia* за останні 10 ... 15 років отримані виключно завдяки штамів, виділених за кордоном. Під *Stenotrophomonas* включає 5 видів, з них клінічно значущим до теперішнього часу вважається тільки *S. Maltophilia*, широко поширений в навколишньому середовищі - ґрунті, воді, стічних водах, рослинах, продуктах рослинного і тваринного походження.

*Bacillus cereus* - аеробна (факультативно анаеробна) спороутворююча грампозитивна бацила. Захворювання з коротким інкубаційним періодом викликається наявним термостабільним токсином, а захворювання з тривалим - обумовлено продукцією термолабільного ентеротоксина in vivo.

Він продукує декілька токсинів, включаючи некротизуючий ентеротоксин, блювотний токсин, фосфоліпазу С, протеази, гемолізину і ентеротоксини, які є важливими детермінантами вірулентності. Ентеротоксин і блювотний



токсин відповідальні за симптоми діареї та блювання, що мають місце при гастроінтестинальних захворюваннях. Ми відзначали кілька випадків масових кормових токсикоінфекцій у свиней і сільськогосподарських птахів. Як правило, на середовищі Китта-Тароці виявляли велику кількість великих грампозитивних паличок, що ростуть також на агарі Мюллера-Хінтона і селективних середовищах (середя Мозеля) для *B.cereus*.

### 📌 **Послідовність виконання роботи**

1. Ознайомитись з інформацією наведеною у теоретичній частині.

2. Підготувати змиви для кількісного та якісного обліку КУО на зерні згідно варіанту наведеному у таблиці 1.

Таблиця 1

Варіанти завдань

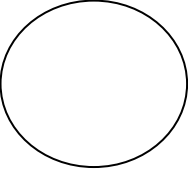
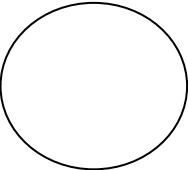
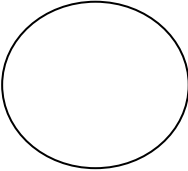
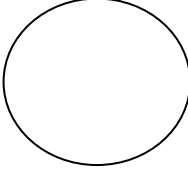
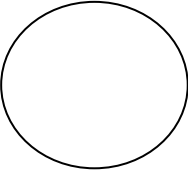
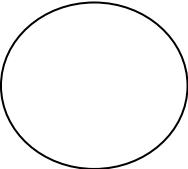
№ варіанту	Найменування культури
1	Пшениця
2	Тритікале
3	Жито
4	Ячмінь
5	Соя
6	Горох
7	Кукурудза

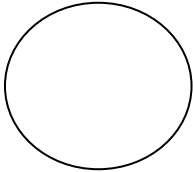
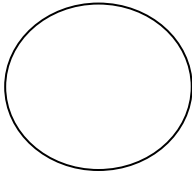
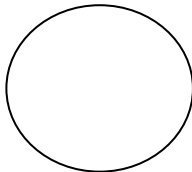
Для підготовки змивів наважку зерна 5 гр поміщують у колбу з 50 мл стерильної води та 2...3 гр піску. Колбу струшують круговими обертальними рухами 10 хв. З отриманої витяжки готують розведення (10:2; 10:3; 10:4). Окремими стерильними піпетками беруть по 10 мл суспензії і переносять у колби, що містять 90 мл дистильованої води.

3. З отриманих розведень зробити препарати «розчавлена крапля» забарвлений простим способом та подивитись під мікроскопом. Побачене занести до таблиці 2.

Таблиця 2

Результати досліджень

№ п/п	Найменування зразка	Рисунок побаченого
		
		
		
		
		
		

#### **4. Приготувати живильне середовище для виявлення епіфітної мікрофлори у зерні.**

Для цього беруть 500 г м'яса, звільненого від кісток, жиру та жил, розрізають на дрібні шматочки або пропускають через м'ясорубку, заливають 1 дм<sup>3</sup> водопровідної води і залишають при кімнатній температурі на 12 годин або в термостаті при +30 °С на 6 годин, при +37 °С – на 2 години. За цей час з м'яса екстрагуються різні речовини, у тому числі водорозчинні вітаміни. Після чого м'ясо віджимають через марлю, при цьому отримують м'ясну суспензію, яку кип'ятять 30 хвилин. Після того як, бульон охолоне, його фільтрують крізь вату, доливають водою до первісного об'єму, додають 0,5% NaCl та 1% пептону. Пептони являють собою суміш поліпептидів (продукти неповного розкладання білка) з більшим або меншим вмістом вільних амінокислот, ферментів, нуклеїнових кислот та деяких вітамінів. Їх одержують кислотним або ферментативним гідролізом м'яса або казеїну.

Отриманий МПБ стерилізують в автоклаві при тиску 1 атм протягом 20... 30 хвилин.

Для отримання натурального твердого середовища перед стерилізацією додають агар у кількості 1,5...3% (або желатин у кількості 10...15%) до маси рідини.

**5. Для виявлення мікрофлори зерна з кожної колби взяти по 1 мл суспензії відповідного розведення і внести їх у стерильні чашки Петрі в двох повторностях. У кожену чашку Петрі вилити по одній пробірці розплавленого, але попередньо охолодженого до 50 °С МПА. Оставити до повного застигання. Після чого чашки перегорнути дном у верх та залишити для інкубації при температурі 30°С до наступного заняття.**

### **Висновки по роботі.**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### **Контрольні питання**

1. Які мікроорганізми відносяться до епіфітів?
2. Яку групу мікроорганізмів називають фітопатогенами?
3. Які епіфіти характерні для зерна злакових культур?
4. Якими продуктами харчуються епіфіти?
5. Які фактори впливають на збереженість зерна?
6. Дайте визначення поняття «термогенез».
7. Надайте характеристику *Stenotrophomonas maltophilia*.
8. Надайте характеристику *Bacillus cereus*.

## **Лабораторна робота №2** **ВИЗНАЧЕННЯ ФУЗАРІОЗУ НАСІННЯ ЗА** **ОРГАНОЛЕПТИЧНИМИ ОЗНАКАМИ**

**Мета роботи** – ознайомитись з зовнішніми ознаками захворювання зерна різними видами фузаріозу.

**Об'єкт вивчення** – зерно злакових, бобових культур та кукурудзи.

**Обладнання та матеріали** – мікроскоп, знежирені предметне та покривне скло, біологічна петля або голка, скляна паличка, пінцет, серветки паперові, етиловий спирт, фільтрувальний папір, гліцерин, ваги лабораторні, лупа, дошка лабораторна, скальпель, чашки для наважок

### **✍ Теоретична частина**

Захворювання, які уражують рослини можна розділити на шкідливі та нешкідливі. До шкідливих токсичних грибів, які можуть викликати захворювання людини відносяться недосконалі гриби роду *Fusarium* (“п’яний хліб”). Міцелій розпростерто-пластівчастої форми забарвлений в різні кольори: біло-рожевий, пурпурно-червоний, вишневий.

Уражаються цим грибом зерно пшениці, ячменю, жита, вівса, кукурудзи та бобових культур. Розвиток хвороби здійснюється в період збирання врожаю, а також в погано просушеному зерні під час зберігання.

Розрізняють дві форми ураження насіння злакових культур грибом *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*.

Перша – з очевидними зовнішніми ознаками проявлення:

- зернівка щупла, легка, зморшкувата, біла;

- зернівка втрачає блиск і скловидність;
- ендосперм крихкий;
- борідка глибока;
- на поверхні коростинки біло-рожевого кольору (рис. 1).

Іноді зерно набуває малинового кольору.

Грибниця пронизує всю зернівку, іноді спостерігається потемніння зародкового кінця – “чорний зародок”. Такі ознаки на зерні виникають при сильному і ранньому зараженні.

Друга форма – прихована ураженість: зерно без зовнішніх ознак інфекції, грибниця тільки в насіннєвій оболонці. Така форма ураженості частіше трапляється при пізньому або слабкому ранньому інфікуванні.

У вологій камері на зернівках утворюється дуже тонкий, ніжний, пухнастий біло-рожевий наліт грибниці та спороношення гриба (рис. 2).

При мікроскопічному аналізі спори мають вигляд:



Рис. 1. Зовнішні ознаки фузаріозного зараження насіння



Рис. 2. Зростання фузаріозної грибниці на насінні

- мікроконідії –  
одноклітинні або  
з 1...2  
перегородками,  
овальні,  
яйцеподібні,  
грушеподібні  
(рис 3 а);
- макроконідії – з  
3...9  
перегородками, серпоподібні, веретеноподібні, різної  
кривизни та вигнутості (рис. 3 б).

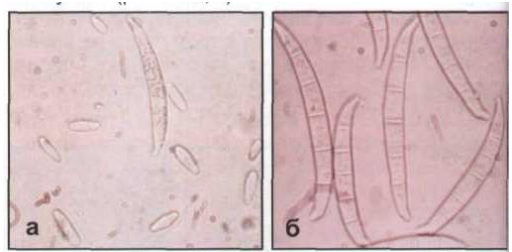


Рис. 3. Спори (мікро- (а) та макроконідії (б) збудників фузаріозу,  $\times 600$



Рис. 4. Уражене зерно фузаріозом під час його зберігання

Гриби збудники фузаріозу здатні розвиватися на зерні під час його зберігання, при цьому внаслідок розвитку грибниці зерно склеюється в щільні грудки (рис. 4).

Під час зберігання зерна ураженого фузаріозом гриб збудник утворює

токсини стійкі до високих температур. Споживання його може викликати отруєння людей, при цьому спостерігається розлад травлення, блювання, тремтіння, іноді – смерть.

Фузаріоз качанів кукурудзи викликає гриб роду *F. moniliform* і *F. graminearum*.

Під час ураження качанів кукурудзи *F. moniliform* спостерігається:

- нальот грибниці білого кольору, пухнастий;
- в центрі осередку зернівка цілком зруйнована;
- зернівки легко ламаються і кришаться .

Конідії бувають двох типів:

- макроконідії – веретено або серпоподібні з 3...5 перегородками;
- мікроконідії – овальні чи грушоподібні одно- або двоклітинні, знебарвлені, в масі – рожевуваті (рис. 5).



Рис. 5. Макро- і мікроконідії  
*F. moniliforme*

Гриб роду *F. moniliforme*, який є найчастішим збудником фузаріозу качанів, не має токсичних властивостей. Але встановлено, що інші збудники фузаріозу качанів – утворюють в зерні мікотоксини.

Ураження зерна кукурудзи грибом роду *F. graminearum* за зовнішніми ознаками схоже з ознаками ураження злакових культур.

Фузаріоз бобових культур (гороху, сої) викликають гриби роду *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum*.

Уражене зерно фузаріозом дрібне, щупле, зморшкувате, недорозвинене (рис. 6).

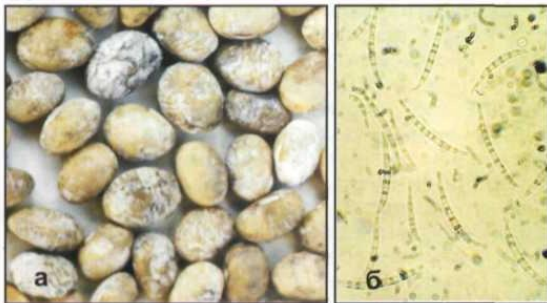


Рис. 6. Уражене фузаріозом насіння гороху та сої

В умовах вологої камери насіння вкривається тонким ніжним пухнастим світло-кремовим або блідо-рожевим нальотом. Грибниці і спороношення гриба (мікро- і макроконідій). При мікроскопічному аналізі видно, що макроконідії багатоклітинні, серповидні, веретеподібні, з різною формою і ступенем зігнутої (рис. 7), а мікроконідії



одноклітинні, або з однією перегородкою, овальні, яйцеподібні, грушоподібні.



При зберіганні зерно бобових культур уражується фузаріозом в умовах високої вологості насіння (більше 15%) за температури зберігання  $+24...+31^{\circ}\text{C}$ .

Рис. 7. Наліт грибниці фузаріїв на сої (а); макроконідії (б),  $\times 300$

### **Послідовність виконання роботи**

#### **1. Зробити кількісний облік мікроорганізмів посівів епіфітної мікрофлори зерна.**

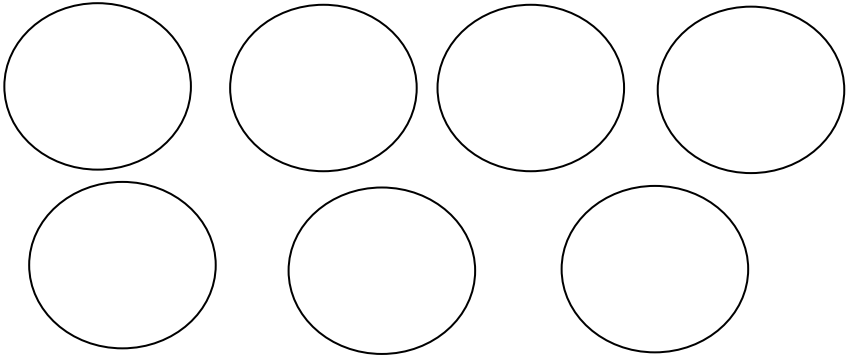
Для цього розраховує під лупою кількість утворюючих колоній мікроорганізмів на живильному середовищі в чашках Петрі та розраховують кількість КУО на 1 гр зерна.

#### **2. Визначити якісний склад мікрофлори зерна.**

Колонії згрупувати по культуральним ознаками. Та описати властивості колоній (табл. 1)



З кожної групи колоній приготувати препарати «розчавлена крапля» забарвленого простим способом, виявити належність мікроорганізмів до роду або сімейству і визначити чисельність бактерій кожної групи у відсотках загального числа мікроорганізмів. Зарисувати побачене під мікроскопом.



На підставі мікробіологічного аналізу зробити висновок про якість зерна. На свіжому доброякісному зерні переважає *Erwinia herbicola* (до 80%), що утворює блискучі помаранчеві колонії.

Зустрічається *Pseudomonas fluorescens*, що формує жовтувато-зеленуваті флуоресціюючі колонії; непігментовані неспорутворюючі палички; дріжджі - блискучі, опуклі, часто забарвлені в рожеві тони колонії.

На несвіжому зерні, що зберігалось при підвищеній вологості, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas fluorescens* не виявляються. Виявляються мікрококи, створюючі дрібні білі блискучі плоскі колонії; спорутворюючі палички; актиноміцети, а також неспороносні палички.

**3. Ознайомитись з зовнішніми ознаками зараження зерна фузаріозом, які наведені у теоретичній частині.**

**4. Візуально виявити фузаріозні зерна у культурах згідно варіанту наведеному у таблиці 2.**

Таблиця 2

Варіанти завдань	
№ варіанту	Найменування культури
1	Пшениця
2	Тритікале
3	Жито
4	Ячмінь
5	Соя
6	Горох
7	Кукурудза

Для цього беруть дві наважки зерна по 50 гр та в умовах гарного освітлення виявляють зерна з признаками фузаріозу, в тому числі з рожево-малиновим або з помаранчево-охряним забарвленням згідно з таблицею 3. А також зробити зріз зародку та встановлюють його окрас.

Фузаріозні зерна, що виявлені з кожної наважки, зважують на вагах з точністю до 0,01 г.

Вміст фузаріозних зерен виражають у відсотках за формулою:

$$V_{фз} = m_1 / m_2 \times 100 \quad (1)$$

де:  $m_1$  – маса наважки, гр;

$m_2$  – маса фузаріозних зерен, гр.

За кінцевий результат приймають середнє арифметичне значення двох паралельних визначень.

Таблиця 3

## Ознаки зараженості зерна фузаріозом

Ознаки	Фузаріозне зерно	Знебарвлене нефузаріозне зерно (3 ступеня)	Рожевозабарвлене нефузаріозне зерно
Форма і виповненість зерна	Більшість зерен зморшкуваті, щуплі; мають загострені бочка і сильно вдавлену борозенку, рідше уражені зерна роздуті з відшаровуючою крошкуватою оболонкою	Не відрізняється від нормальнозабарвленого зерна, може бути слабо зморшкуватою	Не відрізняється від нормальнозабарвленого зерна
Зовнішній вигляд, поверхня зерна	Зерно, білясте, крейдовидне, повна втрата блиску	Оболонки зерна знебарвлені. Часткова або повна втрата блиску. Зерно має кремовий відтінок за рахунок просвічуючого ендосперму	На фоні нормально забарвлених оболонок є плями рожево-червоних відтінків по всій поверхні зерна, частіше в області зародка. Зерно має нормальний блиск
Структура зерна	Значна або повна втрата скловидності. Ендосперм рихлий, кришиться, з борошнистою консистенцією	Незначне зменшення скловидності в порівнянні з нормальнозабарвленим зерном	Ендосперм за скловидністю не відрізняється від нормально забарвленого зерна
Наявність грибноі інфекції і життєздатність зародка	На зародкової частини і в борозенці є міцелій гриба. Зародок нежиттєздатний, на зрізі має темний колір.	Зародок життєздатний, на зрізі солом'яно-жовтого кольору, фузаріозна інфекція відсутня.	Зародок життєздатний, на зрізі солом'яно-жовтого кольору. Фузаріозна інфекція відсутня

## **5. Приготувати живильне середовище для виявлення фузаріозу у зерні.**

Для цього взяти 500 г м'яса, звільненого від кісток, жиру та жил, розрізають на дрібні шматочки або пропускають через м'ясорубку, заливають 1 дм<sup>3</sup> водопровідної води і залишають при кімнатній температурі на 12 годин або в термостаті при +30 °С на 6 годин, при +37 °С – на 2 години. За цей час з м'яса екстрагуються різні речовини, у тому числі водорозчинні вітаміни. Після чого м'ясо віджимають через марлю, при цьому отримують м'ясну суспензію, яку кип'ятять 30 хвилин. Після того, як бульон охолоне, його фільтрують крізь вату, доливають водою до первісного об'єму, додають 0,5% NaCl та 1% пептону. Пептони являють собою суміш поліпептидів (продукти неповного розкладання білка) з більшим або меншим вмістом вільних амінокислот, ферментів, нуклеїнових кислот та деяких вітамінів. Їх одержують кислотним або ферментативним гідролізом м'яса або казеїну.

Отриманий МПБ стерилізують в автоклаві при тиску 1 атм протягом 20... 30 хвилин.

Для отримання натурального твердого середовища перед стерилізацією додають агар у кількості 1,5...3% (або желатин у кількості 10...15%) до маси рідини.

## **6. Підготувати зразки зерна до оцінювання ступеня зараженості фузаріозом.**

Для цього з середнього зразка беруть 100 ... 150 зерен і маркують. Пробу загортають в марлеві мішечки дозволяють вільно циркулювати рідиною, але утримують аналізований матеріал.

Для видалення поверхневої заспоренності проводять ретельну стерилізацію поверхні зерна. Зерна ретельно промивають проточною водопровідною водою, спочатку з додаванням будь-якого миючого засобу (ПАР), а потім без нього. Це дозволяє змити шматочки ґрунту та інших домішок. Вся стерилізована поверхня тканини повинна бути змочена водою, тому необхідно проконтролювати відсутність на ній

бульбашок повітря. Тільки після цього зерно піддають поверхневій стерилізації.

В якості стерилізуючих агентів використовують 70% етиловий спирт - 2-3 хв або 0,5% марганцево-кислий калій. Після стерилізації зерна ретельно промивають дистильованою водою, кілька разів повторюючи процедуру. У боксі зерна беруть стерильним пінцетом, просушують фільтрувальним папером, швидко проносять їх над полум'ям і розкладають на поверхню агаризованого живильного середовища, розлитого в чашки Петрі. Для отримання достовірних результатів надзвичайно важливо брати зерна із зразка без відбору за зовнішніми ознаками.

В залежності від розміру в одну чашку Петрі з живильним середовищем поміщають для аналізу 5-10 зерен на однаковій відстані один від одного. Чашки Петрі з аналізованими зразками, як правило, тримають в термостаті при температурі 23 ... 25 °С. Через 7 діб їх переглядають і відзначають маркером колонії грибів, що вирости навколо зернівок.

### **7. Виявити ступінь зараженості зерна методом «паперових рулонів».**

На місці фільтрувального паперу розміром 20...50 см проводять олівцем лінію на відстані 3-4 см від верхнього краю. На змочену водою до повного зволоження папір по лінії розкладають зерна (25 шт.) зародком вниз через рівні проміжки (1,5 см), накривають таким же аркушем паперу, поверх якого в зоні розташування насіння накладають стрічку щільного поліетилену (пергаменту) шириною 5 см . Усі смуги разом змотують в нетугі рулони, поміщають в ємності з водою, яка доходить до 1/3 висоти рулону, а ємності - у термостат. Для оцінки енергії проростання на 5-ту добу рулон акуратно розгортають і підраховують відсоток зерен, які дали паросток. Потім рулони повертають у термостат, і на 10-ту добу аналізують схожість, заселеність насіння грибними патогенами і їх шкідливість за ступенем ураження проростків. Поразка проростків грибами оцінюють за 5-тибальною шкалою:





## **Лабораторна робота №3** **ВИВЧЕННЯ ПРОЦЕСУ ПЛІСНЯВІННЯ ЗЕРНА**

**Мета роботи** – ознайомитись з ознаками ураження зерна пліснявими грибами, гельмінтоспориозом, альтернаріозом та фузаріозом.

**Об'єкт вивчення** – зерно злаків, бобових та насіння олійних культур.

**Обладнання та матеріали** – мікроскоп, знежирені предметне та покривне скло, біологічна петля або голка, склянки об'ємом 200 мл, скляна паличка, пінцет, серветки паперові, етиловий спирт, фільтрувальний папір.

### **✍ Теоретична частина**

Здатність фітопатогенних мікроорганізмів розвиватися та заражати рослини залежить від природних особливостей мікроба, стану рослини та зерна і умов навколишнього середовища.

Сапрофітні цвілеві гриби становлять поверхневу мікрофлору насінь. Зерно може уражатися в період дозрівання врожаю при підвищеній вологості й низьких температурах. На зволжених насіннях гриби швидко розвиваються та нерідко вражають зародок.

При висушуванні насінь до вологості 13-14% гриби не гинуть, а тільки припиняють свій розвиток. Захворювання розвивається при порушенні режимів зберігання. Спори цвільових грибів зберігаються в зерносховищах, при сприятливих умовах вони можуть викликати масове зараження зерна. Активний розвиток цвілі спостерігається при недотриманні режимів зберігання зерна.

При посіві заражених насінь у непрогрітий ґрунт на них з новою силою відбувається розвиток цвілі, що й викликає прорідження посівів.

Таким чином, умови навколишнього середовища можуть сприяти або знижувати можливість захворювання рослин (зерна). З факторів навколишнього середовища важливе

значення має вологість.

За умов підвищеної вологості на зернівках злаків, бобових та насінні олійних культур утворюється наліт грибів – збудників пліснявіння – різного забарвлення в залежності від виду збудника. До збудників пліснявіння зерна відносяться гриби роду *Penicillium*, *Mucor*, *Triothcium*, *Stemphylium*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Rizopus*.

Цвільові гриби розвиваються на зерні, у процесі своєї життєдіяльності виділяють отруйні речовини – токсини. Ці токсичні речовини знижують їстівні і кормові властивості зерна, погіршують посівні якості насіння, іноді до повної втрати схожості (рис. 1).



Рис. 1. Пеніцилова цвіль

Цвільові гриби можуть бути

причиною захворювань людини та сільськогосподарських тварин. Так, деякі види грибів можуть спричиняти мікози – хвороби, що розвиваються внаслідок паразитування їх на живих тканинах та органах (наприклад, аспергільоз легенів, що викликається грибом *Aspergillus*, нефротоксикози та гепатити – *Penicillium*). Такі хвороби зустрічаються у людей, зайнятих на виробництві, що контактують з сировиною, в значній мірі зараженою токсиноутворюючими грибами.

Залежно від виду патогену на поверхні насіння утворюється міцелій різного кольору (світлозабарвлений або, що буріє; пухкий, жовто-зелений; від світло-блакитних, зелених до темних тонів; зелене - сизий міцелій; густий повстяний наліт; темно-червоний наліт із чорними крапками (спорангіями)).

На насіннях утворюються їхня грибниця й конідіальне спороутворення.

У грибів роду *Penicillium* (частіше *P. glaucum*. Fr.) - зелене пліснявіння - грибниця безбарвна, рідше ясно-сіра, зеленувато-жовтувата або червонувата. Конідієносці зеленувато-жовті або безбарвні з поперечними перегородками, на вершині розгалужені. Іноді вони з'єднані в пучки. Конідії безбарвні, одноклітинні, зібрані у вигляді ланцюжків, кулясті або еліпсоподібні, діаметром 2-4 мкм, із гладкою, іноді щетинистою або бородавчатою оболонкою (рис. 2).



Рис. 2. Гриби роду *Penicillium*

Фузаріозна цвіль. Гриби роду *Fusarium* мають добре розвинену повітряну грибницю різного фарбування. Конідієносці неоднакової довжини, прості або розгалужені. Макроконідії переважно серпо- або веретено-подібні, частіше з 3-5 перегородками, розміром 17-60 X 2-5 мкм, у масі світлозабарвлені. На грибниці утворюються у вигляді піоноти або в спороложах (спородохіях) (рис. 3).



Рис. 3 Фузаріозна цвіль

Мікроконідії одноклітинні, рідше з перегородками, еліпсо- або яйцеподібні, рідше кулясті, розміром 4-26 X 1,5-5 мкм, утворюються на конідієносцях у вигляді голівок або ланцюжків.

Чорнувата цвіль. У грибів роду *Aspergillus* (частіше *A. niger* Tiegh.) грибниця світлозабарвлена, рідше коричнювата, повстяна або павутинна. Конідієносці прості, світлозабарвлені, іноді буруваті, із гладкою або нерівною оболонкою, на вершині з булавовидним або напівкулястим здуттям, на якому радіально утворюються еліптичні або циліндричні стеригми. Конідії кулясті або еліп- 6-8 мкм (рис.4).



Рис. 4 Гриби роду *Aspergillus*

*Aspergillus glaucus* Fr. - утворює пухкий, жовто-зелений наліт; конідієносці нерозгалужені, роздуті на вершині й несуть стеригми, що розходяться радіально й відділяються на кінцях у вигляді ланцюжка; спори дрібні, кулясті, щетинисті, зелені, діаметром 7-15 мкм (рис. 5).

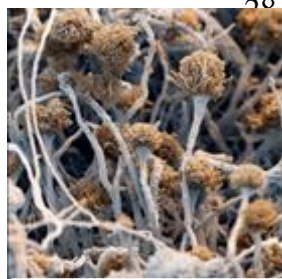


Рис. 5 Цвільові гриби  
*Fungus aspergillus*

*Trichothecium roseum* Fr. - утворює густий повстяний наліт; конідієносці нерозгалужені, що несуть на кінці голівки грушоподібні двуклітинні спори розміром 12-18 X 8-10 мкм (рис. 6).



Рис. 6 *Trichothecium roseum* Fr.

*Mucor mucedo* Fres. - утворює білий пухнаний наліт з темними крапками (спорангіями), спорангієносці одиночні, спорангії спочатку жовті, пізніше темно-сірі, 100-200 мкм у діаметрі, спори циліндричні 12-15 x 5,5 мкм;

*Rhizopus nigricans* Eht. - утворює темно-червоний наліт із чорними крапками (спорангіями), спорангієносці коричневі, зібрані в пучки (по 3-5) висотою до 4 мм; спорангії кулясті, діаметром 100-200 мкм, спори одноклітинні, округлі або еліптичні, розміром 8-14 X 6-11 мкм, із сіркою складчастою оболонкою (рис. 7).

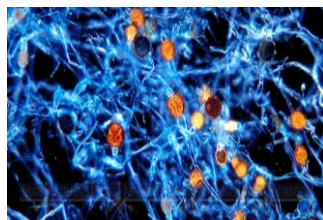


Рис. 7 *Rhizopus nigricans* Eht

При пророщенні зерна може також утворюватися чорний наліт, викликаний розвитком грибів з пологів *Bipolaris* і *Drechslera*, і брудно-сірий наліт внаслідок розвитку гриба *Alternaria tenuis*

Альтернаріоз на посівах пшениці проявляється в період цвітіння рослин і молочної спілості зерна у вигляді темних плям на колоскових лусочках. Пізніше, під час дозрівання зерна, спостерігається почорніння зародка («чорний зародок»).

Значне поширення альтернаріоза буває в роки з високою температурою (вище 24°) і вологістю повітря в період цвітіння пшениці й молочної спілості зерна. Насіння, уражені альтернаріозом, фізіологічно недорозвинені. Вони мають низьку енергію проростання й схожість. Рослини, вирощені з таких насін'я, відстають у рості й розвитку, внаслідок врожайності (рис. 8).



Рис. 8 Зерна, заражені альтернаріозом

Борошно із зерна з «чорним зародком» має темнуватий колір і низькі хлібопекарські якості.

Для виявлення збудника пліснявіння повинні знати зовнішні ознаки даного виду гриба:

### *Penicillium*

(пеницил – блакитна цвіль) – наліт жовтуватозеленкуватосірий, сіро-блакитний, сіро-зелений, темно-зелений. Спори:

- одноклітинні, в основному кулеподібні, іноді яйцевидні чи еліптичні;



Рис. 9. Спороношення *Penicillium*

- гладенькі, а в масі світло-забарвлені; зібрані в ланцюжки на конідієносцях у вигляді одно- чи багатоярусних китичок (рис. 9).

*Fusarium Link* (*F. graminearum* Schwabe, *F. avenaceum* Sacc., *F. culmorum* Sacc.) —



утворюють рівний, ніжний, павутинистий білий наліт або білий з рожевим, карміновим або малиновим відтінком, конідії двох типів - макроконідії (веретеновидно-серповидні, безбарвні, з 3-5 перегородками, розміром 41 – 80 X 4-6, 35-64 X 3,3-5, 1 і 29-46 X 6,1-7,1 мкм) і одноклітинні безбарвні мікроконідії (рис. 10).

*Aspergillus* (аспергіл) – наліт зеленкуватий, димчасто-сірий, від жовтого до графітово-оливкового. Спори:

- одноклітинні;
- кулеподібні, яйцеподібні, еліптичні;
- гладенькі або шипуваті;
- зібрані в радіальну голівку або склеєні у вигляді колонки (рис. 11).



Рис. 11.

Спороношення  
*Aspergillus*, ×300

*Mucor* (мукор – головчата цвіль) – наліт спочатку світлий, потім сіро-зелений чи темно-бурий, швидко зростає (рис.12). Спори:

- еліптично-циліндричні, на кінцях заокруглені, нерівнобокі;
- формуються у кулястих темних в містилищах-голівках, добре помітних на світлій грибниці неозброєним оком у вигляді чорних крапочок

Рис. 12. Спори *Mucor*,  
×300



***Triothecium*** (трихотеций – рожева цвіль) – наліт спочатку білий, потім рожевий, густий, порошкоподібний. Спори:

- грушовидні, з однією перегородкою, злегка перетягнуті, з нижньою меншою несиметричною клітиною;
- зазвичай скупчені в голівку;
- в масі – рожеві.



Рис. 13 *Trichothecium roseum*

***Botrytis*** (ботритіс – сіра цвіль) – наліт грибниці пухнасто-паутинистий, від димчастого до сіро-оливкового кольору. Спори овальні, як правило, темнозбарвлені, скупчені у вигляді голівок або грон на розгалужених кондієносцях (рис. 14).



Рис. 14. Спори (конідії) грибу *Botrytis*, × 300

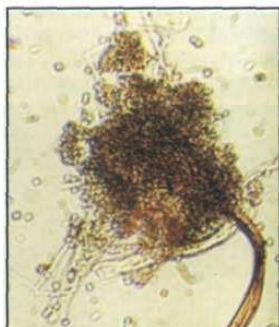


Рис. 15. Спори (конідії) грибу *Rizopus*, ×300

***Rizopus*** (ризопус)

– наліт рихлоповстятий, сірий чи бурувато-сірий, швидко зростає. Спори еліптичні або округлі, формуються в кулястих спорангіях (рис. 15).

***Stemphylium*** (стемфілій) – наліт темний до коричневого, пухнастий. Спори шипуваті або бородавчасті, округло-квадратні, з черепицеподібними перегородками: поперечними (3...10) та поздовжніми (1...10 і більше).

Збудниками пліснявіння при зберіганні зерна можуть бути також гриби родів *Helminthosporium*, *Alternaria*.

Збудником захворювання зернових колосових культур є недосконалі гриби *Helminthosporium*, *Helminthosporium sativum*, *Drechslera graminea*, *Drechslera teres*.

На насінні зернових колосових культур під час ураження гелмінтоспориозом з'являється бура пігментація різних відтінків, від світлого до темно-коричневого кольору. Можливе почорніння чи покориженіння зародкового кінця насінини – “чорний зародок”, при цьому зерно невивпнене та щупле (рис. 16).



Рис. 16. Зовнішній вигляд зерна: ураженого гелмінтоспориозом (а) та здорового (б)

В умовах вологої камери на поверхні уражених насінин утворюється



Рис. 17. Спороношення *H. sativum* на насінні в умовах вологої камери

густий низький оксамитовий наліт – спороношення гриба (рис 17).

Грибниця

розвивається всередині тканин, на поверхню ураженої насінини виходить тільки кондіальне спороношення.

При мікроскопічному аналізі спори гелмінтоспориозу мають різний вигляд:



*H. sativum* (збудник темно-бурої плямистості) – конідії веретеновидні, прямі чи злегка вигнуті, темно-оливкові, з 2...13 поперечними перегородками, на кінцях заокруглені, проростають крайніми клітинами (рис. 18).



Рис. 18. Конідії збудників гельмінтоспоріозу *H. Sativum*,  $\times 300$

*D. graminea* (збудник смугастого гельмінтоспоріозу) – конідії циліндричні, іноді розширені в основі, звужені на кінці; прямі, рідше зігнуті, на кінцях заокруглені, з 3...6 перегородками, звичайно без перетяжок, спочатку незабарвлені, при визріванні оливкові чи жовто-бурі (рис. 19 а).

*D. teres* (збудник сітчастого гельмінтоспоріозу) – конідії циліндричні, іноді на верхівках звужені, прямі чи злегка вигнуті, з 3...8 перегородками, з 3 помітними перетяжками, спочатку незабарвлені потім зеленувато-бурі чи жовтуваті (рис. 19 б).

Збудником захворювання альтернаріозу є недосконалий гриб *Alternaria*, який уражує злакові культури.

Насіння пшениці, ячменю, жита при сильному ураженні «чорнозародкове», з бурою пігментацією чи без зовнішніх ознак. При цьому альтернаріозне насіння – на відміну від ураженого гельмінтоспоріозами – добре виповнене, крупне, з великою вагою 1000 зернин (рис. 20).



Рис. 19. Конідії збудників гельмінтоспоріозу *D. graminea* (а), *D. teres* (б),  $\times 300$

При пророщуванні у вологій камері на уражених зернівках розвивається пухнастий повстятий наліт грибниці і спороношення гриба – спочатку світлий,



Рис. 20. Насіння, уражене альтернаріозом димчасто-сірий, потім темніючий до оливково-чорного.

При мікроскопічному обстеженні видно, що спори (конідії) зворотно-булавовидні, оливкові чи чорнувато-бурі, з 3...6 поперечними і повздовжніми перегородками (рис. 21), зібрані в ланцюжки, що легко розпадаються.



Рис. 21. Конідії грибів роду *Alternaria*,  $\times 300$

Насіння, уражене альтернаріозом, фізіологічно недорозвинуте. Рослини такого насіння відстають у рості і розвитку внаслідок чого знижується врожай. Борошно із зерна з «чорним зародком» має темнуватий колір і низькі хлібопекарські властивості.

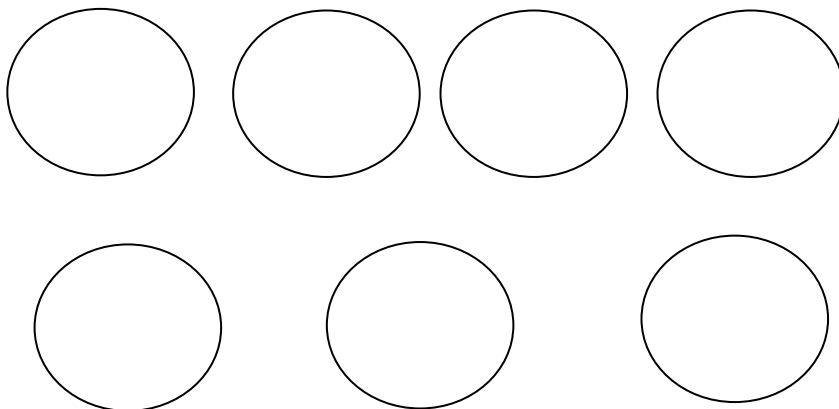
## **Послідовність виконання роботи**

**1. Вивчити візуально та описати зовнішній вигляд колоній фузаріозу. Ознаки занести до таблиці 1.**

**Таблиця 1**

Варіант №	Культура	Окраска міцелію	Кількість колоній	Поверхні колонії	Краї колонії	Форма колоній	Пушистість міцелію
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							

**2. Приготувати препарат “роздавлена крапля” з міцелію гриба. Відмітити характер гіф, наявність спор, форму конідій. Зарисувати побачене під мікроскопом.**



**3. Оцінити заселеність насіння грибними патогенами і їх шкідливість за ступенем ураження проростків.** Поразка проростків грибами оцінюють за 5-бальною шкалою:

0 – здорові, без нальоту грибів;

1 – здорові, присутній наліт грибиці на насінні;

2 – потемніння тканини проростків у вигляді слабких штрихів і дрібних плям;

3 – проросток слабкий, некроз тканини обширний;

4 – в момент проростання насіння гинуть і загниває.

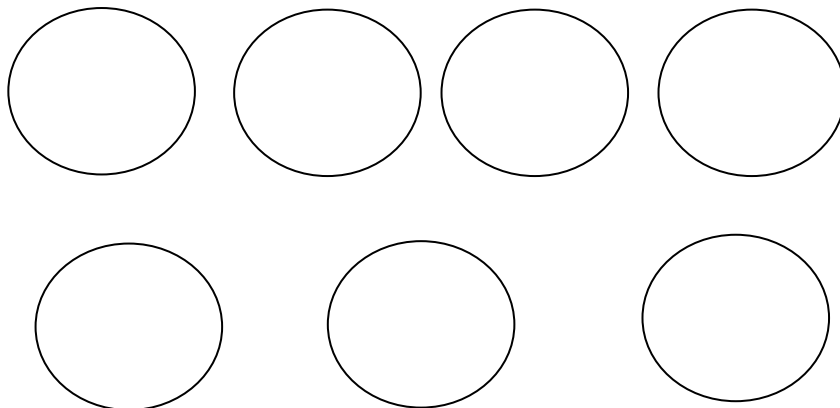
Результати занести до таблиці

2

*Таблиця 2*

№ варіанту	Культура	Поразка паростків, бали

**4. Приготувати препарат “роздавлена крапля” з міцелію гриба. Описати морфологічні властивості. Зарисувати побачене під мікроскопом.**



5. Ознайомитись з зовнішніми ознаками цвільових грибів – збудників пліснявіння насіння, а також з зовнішніми ознаками зараження зерна альтернаріозом, гельмінтоспоріозом та фузаріозом, які наведені у теоретичній частині.

6. Встановіть ураженість зерна цвілевими грибами шляхом його пророщення на зволоженому фільтрувальному папері в термостатах при 18—20 °С у плинні 7 днів.

7. Визначити вплив перманганату калію на розвиток цвілі. Для цього паралельний зразок зерна перед пророщенням на зволоженому фільтрувальному папері необхідно обробити 0.0005% розчином  $KMgO_4$ .

#### Висновки по роботі

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

#### Контрольні питання

1. Які види грибів викликають пліснявіння?
2. Вкажіть зовнішні ознаки пліснявіння збудником якого є грибок роду *Rizopus*.
3. Вкажіть зовнішні ознаки пліснявіння збудником якого є грибок роду *Botrytis*.
4. Вкажіть зовнішні ознаки пліснявіння збудником якого є грибок роду *Mucor*.
5. Вкажіть зовнішні ознаки пліснявіння збудником якого є

- гриб роду *Triothecium*.
6. Вкажіть зовнішні ознаки пліснявіння збудником якого є гриб роду *Stemphylium*.
  7. Вкажіть зовнішні ознаки пліснявіння збудником якого є гриб роду *Aspergillus*.
  8. Назвіть різновиди збудників захворювання зерна гельмінтоспоріозом.
  9. Вкажіть зовнішні ознаки ураження зерна гельмінтоспоріозом.
  10. Назвіть зовнішні ознаки ураження зерна альтернаріозом.
  11. Назвіть форми ураження насіння фузаріозом.
  12. Вкажіть збудник, який викликає фузаріоз качанів кукурудзи.
  13. Назвіть зовнішні ознаки захворювання пшениці фузаріозом.
  14. Назвіть різновиди грибів які викликають фузаріоз бобових культур.

Лабораторна робота № 4  
**МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ КРУП**

**Мета роботи** – провести мікробіологічний контроль якості крупи.

**Об'єкт вивчення** – крупи.

**Обладнання та матеріали** – мікроскоп, знежирені предметне та покривне скло, біологічна петля або голка, склянки об'ємом 200 мл, скляна паличка, пінцет, серветки паперові, етиловий спирт, фільтрувальний папір.

### **✍ Теоретична частина**

Мікрофлора крупи за якісним складом близька до мікрофлорі зерна, з якого вона виготовлена, але кількість мікроорганізмів в ній дещо менше. На обсіменінні крупи мікроорганізмами позначається характер попередньої обробки зерна: ступінь лущення, шліфування, технологія виробництва. Так, крупа, отримана із зерна, яка зазнала гідротермічної обробки - пропарювання, містить менше мікроорганізмів, ніж крупа, отримана з непропареного зерна. У крупі виявляється вторинна мікрофлора, яка потрапляє в крупу з навколишнього середовища в процесі виробництва.

Мікрофлора крупи залежить від мікрофлори зерна, що переробляється. Ступінь обсіменіння свіжозбираного зерна, круп'яних сільськогосподарських культур, а також однієї і тієї ж культури протягом кількох років вирощування може значно змінюватися в залежності від забрудненості району вирощування. В 1 г доброякісного зерна (пшениці, ячменю, проса, рису, вівса, гречки і т.п.) знаходяться тисячі і мільйони клітин мікроорганізмів.

До нормальної мікрофлори обумовленої сировиною належать такі: 90% всіх мікроорганізмів зерна становлять бактерії, 5-7% - спори цвілевих грибів і невелике число дріжджів. Серед бактерій зерна переважає вид - безспоріві, факультативно-аеробна паличка, яку називають ще гербіколою. Вважається, що велика кількість клітин гербіколи на зерні є

показником хорошої якості зерна. Зустрічаються також мікрококи, молочнокислі бактерії, спорові аеробні палички. Серед цвілевих грибів свіжозбираного зерна переважають які називають польовими плесенями. Серед цвілевих грибів свіжозбираного зерна мало пеніциллів і аспергиллів.

Переважає компонентом бактеріальної флори крупи, виготовленої з непропареного зерна, є в крупі з зерна, що пройшла гідротермічну обробку, характерне переважає спорових бактерій і мікрококків. З спорових бактерій найчастіше виявляються і цвілі представлені найчастіше пенициллами і аспергиллами, іноді виявляються мукові гриби.

Під час зберігання крупи склад грибів змінюється: польові цвілі відмирають, а домінуючою пліснявою стають пеніцилл і аспергілли, які називають пліснявою зберігання.

При проведенні мікробіологічного контролю круп по ДСТУ 1055:2006 оцінюють:

- загальна кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів;
- наявність бактерій групи кишкових паличок;
- наявність патогенних мікроорганізмів, зокрема бактерії роду *Salmonella*, *B. Cereus*;
- кількість пліснявих грибів та дріжджів.

За мікробіологічними показниками крупи повинні відповідати вимогам, зазначеним у таблиці 1.

Таблиця 1  
Мікробіологічні показники крупів

Назва показника	Норма	Метод контролювання
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО в 1 г, не більше ніж	$5 \cdot 10^3$	Згідно з ГОСТ 10444.15
Бактерії груп кишкових паличок (коліформи) в 0,01 г продукту	Не дозволено	Згідно з ГОСТ 26972



Патогенні мікроорганізми, зокрема бактерії роду <i>Salmonella</i> , в 25 г продукту	Не дозволено	Згідно з ДСТУ ISO 12824
<i>B. cereus</i> , в 0,1 г продукту	Не дозволено	Згідно з ГОСТ 10444.8
Плісневі гриби, КУО в 1 г, не більше ніж	50	Згідно з ГОСТ 10444.12

### 📌 Послідовність виконання роботи

**1. Для визначення загальної кількості мікроорганізмів** отриманих на попередньому занятті, підрахувати колонії міцеліальних грибів та зробити розрахунок їх кількості в 1 г досліджуемого матеріалу, отримані дані занести до таблиці 2.

Вміст мікроорганізмів в 1 г борошна Б розрахувати за формулою  

$$B = A \cdot 10^n$$

де А – кількість колоній;

10 – коефіцієнт розведення;

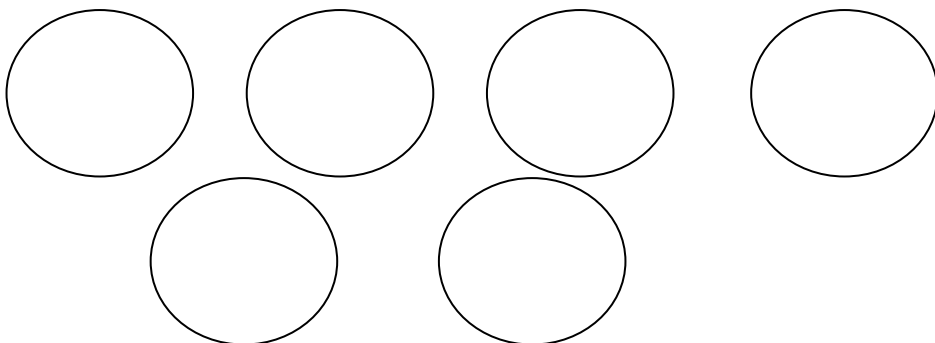
n – порядковий номер розведення (n = 2).

Таблиця 2

Визначення загальної кількості бактерій та пліснявих грибів у борошні

Найменування зразка	Кількість зразка, що досліджується, г	Кількість колоній МАФМ, КУО/г	Кількість колоній на м'ясопептонному агарі	Кількість пліснявих грибів, КУО /г

3 чашок Петрі із засіяними середовищами, на попередньому занятті, зробити препарат «розчавлена крапля» забарвленого метиленовим синім. Подивитись під мікроскопом та зарисувати побачене.



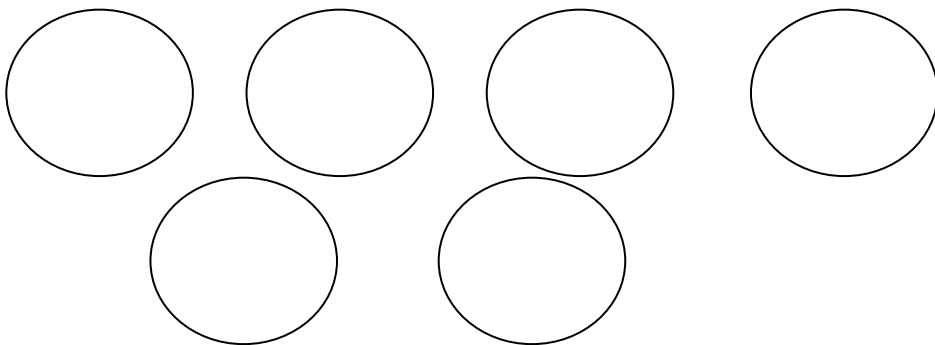
**2. Визначення наявності амілолітичних бактерій в борошні.** Після інкубування на поверхню агару з вирощеними на ньому колоніями нанести розчин Люголю. Наявність амілолітичних бактерій врахувати по відсутності синього забарвлення навколо колоній, отримані дані занести до таблиці 3.

Таблиця 3

Визначення амілолітичних бактерій в борошні

Найменування зразка	Кількість зразка, що досліджується, г	Кількість колоній на м'ясопептонному агарі	Кількість колоній с зоною просвітлення	Кількість амілолітичних бактерій в 1 г

**3. Для визначення картопляної хвороби борошна** з чашок Петрі із засіяними середовищами, на попередньому занятті, зробити препарат «розчавлена крапля» забарвленого метиленовим синім. Подивитись під мікроскопом, зарисувати побачене під мікроскопом.



**4. Для визначення загальної кількості мікроорганізмів отриманих на попередньому занятті , підрахувати колонії міцеліальних грибів та зробити розрахунок їх кількості в 1 г досліджуемого матеріалу, отримані дані занести до таблиці 4.**

Таблиця 4

Визначення загальної кількості бактерій та пліснявих грибів у борошні

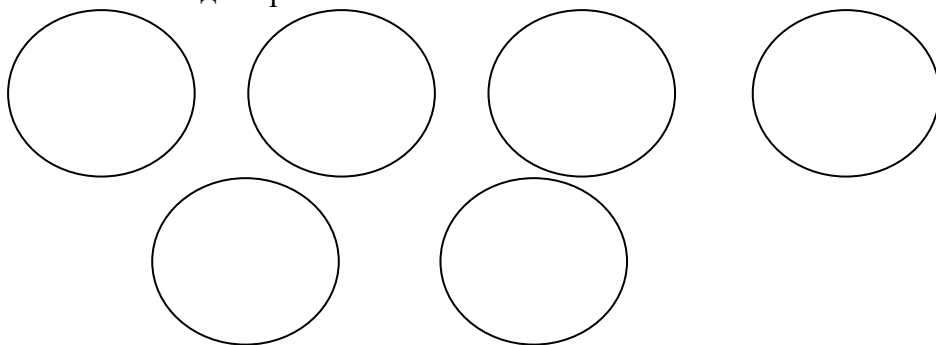
Найменування зразка	Досліджувальна кількість, г	Кількість колоній МАФАНМ, КОЕ/г	Кількість колоній на мясопептонному агарі	Кількість пліснявих грибів, КОЕ/г

**5. Визначення наявності амілолітичних бактерій в борошні.** Після інкубування на поверхню агару з вирощеними на ньому колоніями нанести розчин Люголю. Наявність амілолітичних бактерій врахувати по відсутності синього забарвлення навколо колоній, отримані дані занести до таблиці 5.

## Визначення амілолітичних бактерій в борошні

Найменування зразка	Досліджувальна кількість, г	Кількість колоній на мясопептонному агарі	Кількість колоній с зоною просвітлення	Кількість амілолітичних бактерій в 1 г

**6. Для визначення картопляної хвороби борошна з чашок Петрі із засіяними середовищами, на попередньому занятті, зробити препарат «розчавлена крапля» забарвленого метиленовим синім. Подивитись під мікроскопом, зарисувати побачене під мікроскопом.**



**7. Встановіть ураженість різних крупи (відповідно до варіанту завдання) цвілевими грибами шляхом його пророщення на зволоженому фільтрувальному папері в термостатах при 18-20°C у плінні 7 днів.**

**8. Провести мікробіологічний контроль крупи відповідно до ДСТУ 1055:2006.**

## Висновки по роботі

---

---

---

---

### Контрольні питання

1. Які мікроорганізми виявляються в зерні і крупі?
2. Які фактори впливають на склад мікрофлори крупи?
3. Як змінюється мікрофлора круп при зберіганні?
4. Як впливають мікроорганізми на якість крупи?

## Лабораторна робота № 5 ВИЗНАЧЕННЯ ЗАРАЖЕНОСТІ БОРОШНА КАРТОПЛЯНОЮ ХВОРОБОЮ

**Мета роботи** – ознайомлення з ознаками ураження хліба картопляною паличкою.

**Об'єкт вивчення** – хліб з пшеничного борошна.

**Обладнання та матеріали** – термостат, технічні ваги, мірний циліндр, фарфорові чашки, борошно пшеничне, дріжджі пресовані, сіль, цукор, вода.

### ✍ Теоретична частина

Картопляна хвороба викликається розвитком у м'якушці хліба бактерій підвиду *B.Subtilis* ssp. *mesentericus* (картопляна паличка).

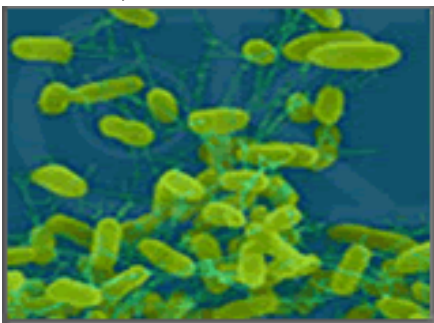


Рис. 1 - *B.Subtilis* ssp. *mesentericus*

Це спороносна бактерія, яка має вигляд тонкої палички розміром 3...10 мкм, що часто утворює довгі нитки. Вегетативні клітини рухливі, грампозитивні, утворюють овальні спори, при цьому клітини не роздуваються, а зберігають свою циліндричну форму. Колонії жовто-бурі, сухі, зморшкуваті. На поверхні рідких середовищ утворюють

складчасту плівку, на скибочках картоплі – складчастий наліт. Картопляна паличка патогенна для тварин і людини.

Картопляна паличка широко поширена в природі. Вона є в ґрунті, повітрі, рослинах. Ці бактерії в останні роки є розповсюдженими на борошномельних підприємствах і хлібозаводах, які викликають картопляну хворобу хліба.

В останні роки зерно перед його переробкою на борошно не миється, а тільки зволожується, тому при розмелі зерна картопляна паличка потрапляє в борошно. При сприятливих

умовах бактерії картопляної палички швидко розмножуються. Оптимальними умовами для розвитку спор картопляної палички є:

- температура близько  $+40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- наявність вологи;
- наявність живильного середовища зниженої кислотності.

Клітини картопляної палички не витримують нагрівання до  $+80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , а спори залишаються життєздатними при  $+120\text{ }^{\circ}\text{C}$ , тому бактерії при випічці хліба гинуть, а спори залишаються життєдіяльними.

Кисле середовище гнітить розвиток бактерій картопляної палички, тому в житньому хлібі, що має підвищену кислотність, картопляна хвороба розвивається рідше.

На розмноження картопляної палички значно впливає порушення санітарного та технологічного режиму зберігання та переробки зерна, борошна, а також випічки хліба і його зберігання. У зв'язку з цим велике значення має дотримання санітарних вимог і технологічних інструкцій, що діють в елеваторній, борошномельній і хлібопекарській промисловості, а також у торгівлі.

Під час розвитку картопляної хвороби відбувається посилене розмноження бактерій картопляної палички. У результаті цього під впливом активних амілаз картопляної палички у хлібі відбувається збільшення кількості декстринів, які надають м'якущі липкості. При цьому продукти розпаду білків, що утворюються під дією протеолітичних ферментів картопляної палички, мають різкий специфічний запах. Уражений картопляною хворобою хліб має неприємний специфічний запах, липку м'якушку, що тягнеться нитками, а потім у середині батона з'являється чорна порожнеча з сильним гнильним запахом (рис. 2).

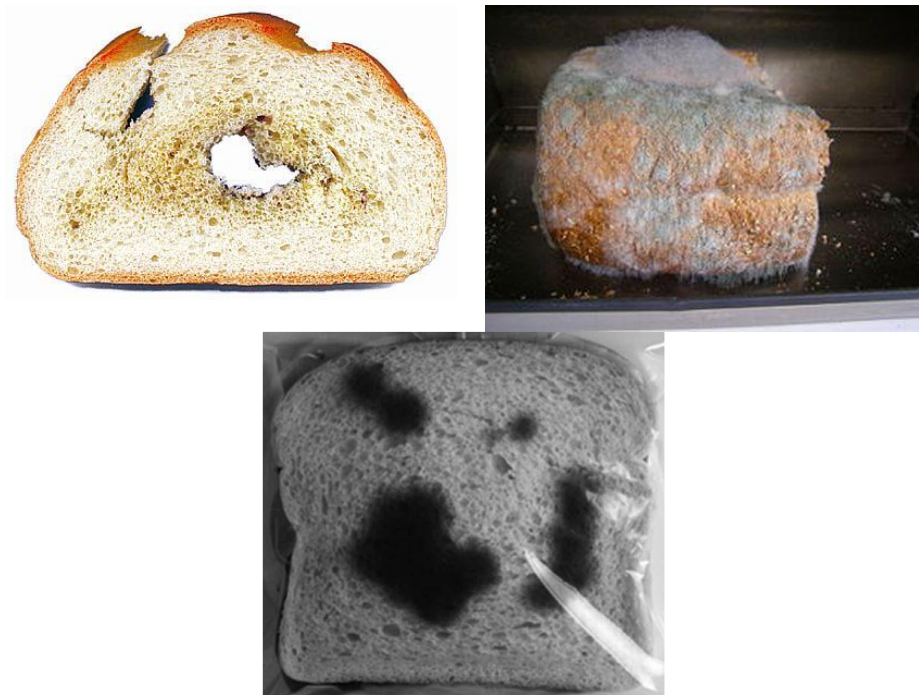


Рис. 2 - Хліб уражений картопляною паличкою

Заражене картопляною хворобою борошно повинно бути негайно перероблене. Всі комунікації та устаткування млина хлібозаводу повинні пройти санітарну обробку, дезінфекцію обладнання та приміщень. При цьому застосовують протирання поверхонь 3% розчином оцтової кислоти. Крім того, всі двері, вікна, панелі, підлоги, стіни протирають вологими ганчірками, змоченими в мильному розчині, потім промивають 3% розчином хлористого вапна з подальшим промиванням гарячою водою.

### ***Причини розвитку картопляної хвороби***

Поверхня зерна має різноманітну мікрофлору. Загальна чисельність мікроорганізмів в зерні і в борошні, як правило, не



перевищує 2-3 млн. на 1 г продукту. На загальне обсеменіння зерна впливає ряд факторів:

- погодні умови при вирощуванні,
- види і режим обробки зерна,
- характер помелу,
- тривалість зберігання продукту і т.д.

Спороносні бактерії з групи картопляної палички завжди знаходяться на поверхні зерна. В процесі помелу зерна, мікроорганізми, що знаходяться на його поверхні в значній кількості переходять в борошно, з борошном в тісто.

При випічці температура в центрі м'якушки хліба досягає 95...98 °С при цьому дріжджі, цвілі, а також вегетативна форма бактерій гинуть, але залишаються термостійкі спори бактерій, у тому числі і спори картопляної (або сінної) палички.

Бактеріальні клітини за допомогою власних ферментів гідролізують крохмаль з утворенням декстринів, що робить м'якушку хліба липкою. Також відбувається розщеплення білків протеолітичними ферментами, в результаті утворюються аміди, кінцевим продуктом яких є тирозин, що викликає потемніння м'якушки хліба. Тобто типовою причиною псування є ферменти, які особливо активні в слабокислих середовищах.

### ***Боротьба та профілактика картопляної хвороби***

Попередження бактеріального псування хліба проводиться шляхом обмеження доступу мікроорганізмів до продукту. Дуже важлива мікробіологічна чистота сировини. Зерно повинно проходити ретельну очистку, а в подальшому зберігатися в належних умовах (температура, вологість, аерація). Також важливо дотримуватися гігієнічних норм на всьому протязі процесу приготування хліба і його зберігання. Т.к. розвиток картопляної хвороби найбільш інтенсивно відбувається при температурі 30-40 ° С, необхідно максимально швидко прискорити процес охолодження хліба, шляхом установки кондиціонування в остивочному приміщенні. Пакування не до кінця охолодженого хліба також призводить до

прискорення розвитку мікробіологічного псування. Для зниження ризиків зараження важливі мийка і дезінфекція обладнання і виробничих зон.

Для профілактики та боротьби з картопляною хворобою застосовують такі способи:

- Хімічні (консерванти);
- Фізичні (пастеризація).

У хлібопекарській та кондитерській промисловості в якості консервантів застосовують 4 кислоти: пропіонова, оцтову, молочну, сорбінову. Кожна з них має свій спектр дії на мікроорганізми:

- пропіонова кислота і її солі чинять вплив на плісняви,
- оцтова кислота та її солі ефективно впливають на бактерії (добре впливає на плісняві гриби),
- молочна кислота і солі молочної кислоти мають середню ефективність на бактерії (необхідно створити дуже низьке рН середовище),
- сорбінова кислота і її солі на життєздатність дріжджів. Причому, активні недісоційовані форми кислот: вони проникають в клітку мікроорганізма, гальмують його активність.

На практиці зазвичай використовують солі кислот, тому вони мають порошкоподібний стан і їх легше дозувати. Крім того, існують капсульовані форми сорбінової кислоти і пропіонату Са, ці форми дозволяють не надавати дію на хлібопекарські дріжджі під час бродіння, таким чином, не змінюють хід технологічного процесу.

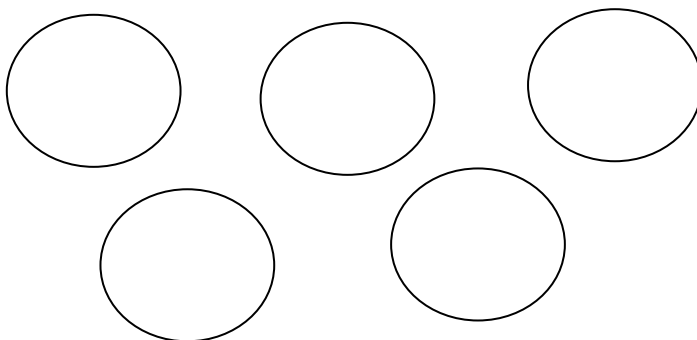
## 📌 Порядок виконання роботи

**1. Вивчити візуально та описати зовнішній вигляд цвілі насіння. Ознаки занести до таблиці 1.**

Таблиця 1

Варіант №	Культура	Збудник пліснявіння	Окраска міцелію	Ступінь ураження зернини	Наявність спор	Пушистість міцелію
1						
2						
3						
4						

Зарисувати побачене



**2. Приготувати препарат “роздавлена крапля” з міцелію гриба. Відмітити характер гіф, наявність спор, форму конідій. Зарисувати побачене під мікроскопом.**

**3. Зробити висновок по впливу перманганату калію на розвиток мікроорганізмів.**

**4. Ознайомитись з ознаками захворювання хліба картопляною хворобою та збудником цієї хвороби, що наведені у теоретичній частині.**

**5. Приготувати дослідні зразки хліба з різних сортів борошна або з борошна різних виробників.**

Для цього відважити на технічних вагах:

- 200 г борошна пшеничного I або II сорту;
- 3 г солі;
- 6 г пресованих дріжджів (2,6 г сухих дріжджів);
- 9 г цукру;

За допомогою мірного циліндра відмірити води 60...70 мл (з розрахунку, що мука має вологість 14%), щоб одержати тісто вологістю 44,5 % (з муки I сорту) або вологістю 45,5 % (з муки II сорту).

Температура води повинна бути 40...45 °С, тоді початкова температура тіста буде 32 °С.

Замісити тісто і помістити його в термостат, в якому підтримується температура 32 °С і відносна вологість 80...85 %, на 170 хв. В процесі бродіння тіста зробити 2 обминання.

Зброджене тісто розділити на 2 рівні частини і покласти у форму.

Форми з тістом помістити в термостат з температурою 32...33 °С і відносною вологістю 80...85 % для розстоювання. Форми з тістом помістити в лабораторну піч і випікати тісто за температури 220...230 °С протягом 20 хв.

**6. Після остигання хліба протягом 1 години помістити в термостат і витримувати протягом 24 г за температури 45 °С.**

### Висновки по роботі.

---



---



---



---

### Контрольні питання

1. Дайте характеристику картопляної палички.
2. Наведіть оптимальні умови для розвитку спор картопляної палички.
3. Які процеси відбуваються у м'якущі хліба під час розвитку картопляної хвороби.
4. Які засоби застосовують для інактивації картопляної палички.

## Лабораторна робота № 6

### МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ СУХИХ КОРМІВ ДЛЯ НЕПРОДУКТИВНИХ ТВАРИН

**Мета роботи** – провести мікробіологічний контроль якості та безпеки кормів для непродуктивних тварин.

**Об'єкт вивчення** – корм для непродуктивних тварин.

**Обладнання та матеріали** – мікроскоп, знежирені предметне та покривне скло, біологічна петля або голка, склянки об'ємом 200 мл, скляна паличка, пінцет, серветки паперові, етиловий спирт, фільтрувальний папір, індикатори, генціан віолет, розчин Люголю.

#### ✍ Теоретична частина

Корми і кормові добавки є джерелом поживних та біологічно активних речовин в організмах непродуктивних тварин, а саме собак та кішок. Поживність корму залежить від його хімічного складу: вмісту білка, жиру, вуглеводів, мінеральних речовин, вітамінів. До особливостей хімічного складу та відповідного рецептурного вмісту цих кормів належить збільшений рівень білкових речовин та жирів, що безпосередньо впливає на їх якість під час зберігання. Тому особливу увагу слід приділяти санітарній безпеці: наявності мікроорганізмів та грибів, зокрема плісняви, які виділяють токсичні продукти життєдіяльності – токсини. Вони можуть бути присутні у сировині, потрапляти в корм через контакт із засобами виробництва, транспортування, зберігання, разом із доданими добавками, водою або повітрям. При виготовленні кормів для непродуктивних тварин використовують різні відходи забою (голови, копита, кишки, кров, жир, сухожилля тощо), а також частини туш, забраковані для виробництва м'ясопродуктів. Сировина для виробництва кормів зазвичай сильно забруднена мікрофлорою та містить токсичні та інші елементи, що впливають на якість і безпеку кормів.

Деякі види кормів більше схильні до обміненія мікроорганізмами і швидше втрачають поживні властивості, тоді як інші є більш стійкими до мікробного псування або піддаються впливу лише певних видів мікроорганізмів. Фактори, що впливають на формування мікрофлори, включають структуру корму, його хімічний склад, показники рН, вологість, температуру, наявність кисню та мікробний антагонізм. Різні умови для розмноження мікроорганізмів створюються також під час переробки різних видів рослинної і тваринної сировини.

Відомо, що за органолептичними показниками псування кормів виявляється на 1-2 місяці пізніше, ніж за біохімічними. Також відомо, що з сухих кормів для непродуктивних тварин, що знаходяться в реалізації, ентеробактерії (114 культур), сальмонели (74 культури) і протей (58 культур) виділяються протягом всього року, з найінтенсивнішим обміненієм влітку, найменш інтенсивним взимку та помірним навесні й восени. Основними факторами, які впливають на розвиток мікроорганізмів у кормах під час зберігання, є вологість середовища та активність води. Низький рівень рН (менше 4,5) діє як інгібітор для бактерій. Мінімальна вологість середовища для розвитку бактерій повинна бути не менше 30%, а для грибів – 15%. Під час зберігання кормів основними факторами, що можуть призводити до їх псування, є збудники інфекційних хвороб, плісняві гриби та дріжджі. Найбільш частими збудниками псування кормів є бактерії *Erwinia aroidea* та *Pseudomonas marginalis*.

Під час зберігання сухих кормів для непродуктивних тварин спостерігається збільшення вмісту аміно-аміачного азоту, загальної кислотності, кислотного та перекисного числа. Бактеріальне обміненія, залежно від температурно-вологісного режиму, до шостого місяця зберігання зростає у 20-36 разів, а потім поступово знижується, проте все ще перевищує початкові показники в 1,5-9 разів.

Мікробну безпечність (кМАФАНМ, БГКП, сальмонели, коагулазопозитивні стафілококи, цвілеві гриби та дріжджі) визначають після послідовних розведень суспензій корму та

висівання їх у чашки Петрі зі звичайними та селективними живильними середовищами. Культивування проводять при температурі 37 та 26 °С відповідно протягом 2–7 діб від часу посіву. У чашках, де відзначають ріст культур, підраховують загальну кількість колоній та описують їх характеристики. Морфологію та тинкторіальні властивості мікроорганізмів вивчають за допомогою мікроскопії мазків, фарбованих за Грамом. Морфологію грибів досліджують у затемненому полі світлового мікроскопа при середньому збільшенні ( $\times 40$ ).

### **Порядок виконання роботи**

**1. Зробити послідовне розведення суспензій корму та висів їх у чашки Петрі із звичайними та селективними живильними середовищами. (за інформацією, що надано на попередніх заняттях).**

**2. Визначити мікробну безпечність (кМАФАнМ, БГКП, сальмонели, коагулазопозитивні стафілококи, цвілеві гриби та дріжджі).**

**3. Провести культивування зразків за температури 37 та 26 °С відповідно протягом 2–7 діб від часу посіву. Порахувати загальну кількість колоній та характеризували їх. За кінцевий результат дослідження брати середнє арифметичне, одержане в усіх чашках. (отримані дані занести до табл. 1.)**

**4. Вивчити морфологію та тинкторіальні властивості мікроорганізмів шляхом мікроскопування фарбованих за Грамом мазків.**

**5. Наявність та морфологію грибів визначити в затемненому полі світлового мікроскопа на середньому збільшенні ( $\times 40$ ).**

** Висновки по роботі.**

---

---

---

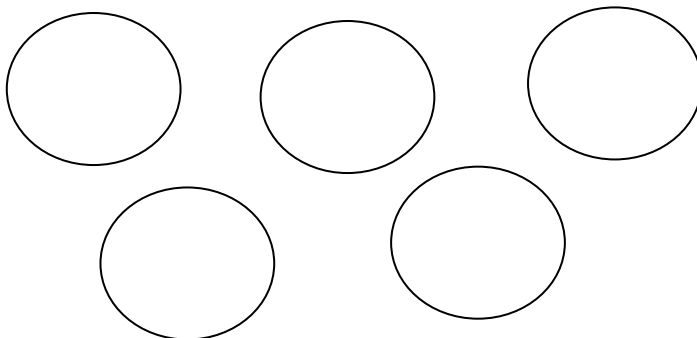
---

Таблиця 1. Показники мікробної безпеки сухих кормів

Показник	Максимально допустимий вміст, КУО	Результат досліджень		
		....	....	.....
Загальна мікробна забрудненість (кМАФАнМ), КУО в 1 г	не більше $5 \times 10^5$			
Ентеробактерії, КУО/г за відсутності ентеропатогенних штамів кишкової палички	не більше 300			
Патогенні штами кишкової палички в 25 г	не допускається			
Сальмонели в 25 г	не допускається			
Коагулазопозитивні стафілококи в 1 г	не допускається			
Загальна кількість грибів, КУО в 1 г	не більше $5 \times 10^4$			



Відобразить (зарисуйте або зробіть фотографію) отриманого результату мікробіологічних досліджень.



### Контрольні питання

1. Від чого залежить поживність корму?
2. Фактори, що впливають на формування мікрофлори.
3. Мінімальна вологість середовища для розвитку сторонньої мікрофлори в кормах.
4. Процеси, які спостерігаються під час зберігання сухих кормів для непродуктивних тварин.

Лабораторна робота № 7  
**МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ  
КОМБІКОРМІВ**

**Мета роботи** – провести мікробіологічний контроль якості комбікормів.

**Об'єкт вивчення** – комбікорма.

**Обладнання та матеріали** – мікроскоп, знежирені предметне та покривне скло, біологічна петля або голка, склянки об'ємом 200 мл, скляна паличка, пінцет, серветки паперові, етиловий спирт, фільтрувальний папір, індикатори, генціан віолет, розчин Люголю.

### **✍ Теоретична частина**

Проблема підвищення продуктивності тварин була і залишається актуальною для всіх структур сільськогосподарського виробництва. Для її вирішення використовуються різноманітні способи, включаючи напрямки щодо вдосконалення генетичного потенціалу тварин, розробці високоефективних технологій вирощування, створення міцної кормової бази та ін. Роль комбікормової промисловості в створенні міцної та повноцінної кормової бази надзвичайно велика. Комбікорми промислового виробництва є обов'язковою складовою частиною інтенсивних технологій вирощування тварин.

Разом тим, вимоги до їх якості значно зростають. Вони повинні задовольняти потреби тварин не тільки у всіх необхідних поживних і біологічно активних речовинах, але й відповідати ветеринарно-санітарним вимогам. Комбікорми повинні бути нетоксичними, не містити патогенних мікроорганізмів і мати невисокий рівень загальної бактеріального обсіменіння.

Ветеринарно-санітарна якість комбікормів залежить від мікробіологічної характеристики вихідної сировини, хоча й інші фактори, в тому числі і технологічні, можуть чинити на неї певний вплив.

Мікроорганізми є серйозною причиною зниження якості і псування кормів. Залежно від виду ураження і ступеня розвитку мікроорганізмів відбувається розкладання поживних речовин корму, утворення і накопичення в ньому шкідливих продуктів обміну, а також розмноження патогенних мікроорганізмів і утворення їх токсинів.

Неблагополуччє по ветеринарно-санітарної якості сировина є причиною забруднення мікроорганізмами технологічного обладнання, повітряного середовища об'єктів комбикормового підприємства, транспортних засобів, включаючи автомобільний і залізничний транспорт. Всі вони, обсіменені патогенними мікроорганізмами, можуть бути причиною виробництва комбикормів з відхиленнями від ветеринарно-санітарних вимог.

У санітарній оцінці кормів особливе значення мають такі показники, як загальне бактеріальне обсіменіння, кількісний вміст грибів, наявність патогенних мікроорганізмів, токсинів і пов'язаної з ними токсичності. Названі показники і визначають рівень санітарного стану кормів.

У ветеринарній практиці відомо поширення коліінфекції, сальмонельозів, стафілококів, мікотоксикозів через використовувані корми, які можуть містити патогенні, токсигенні форми збудників цих та інших захворювань. Більше того, крім безпосереднього збитку заподіюваній тваринництву - це і зниження інтенсивності росту, і падіж, продукти харчування обсіменені сальмонелами, кишковою паличкою, патогенними стафілококами і містять мікотоксини, є небезпечними для здоров'я людини. У зв'язку з цим вивчення ветеринарно-санітарної якості сировини і комбикормів видається актуальним напрямком для підвищення економічної ефективності галузі тваринництва та профілактики небезпечних захворювань людей.

Цим же цілям покликані служити і дослідження з розробки об'єктивних показників ветеринарно-санітарної якості. Як у нас в країні, так і за кордоном цей напрям, отримуючи все більше інформації про низький ветеринарно-санітарної якості кормів і негативних наслідки використання їх

тваринами, пропонують відповідні обмеження по ряду показників. У розвиток цих питань проводилися і наші дослідження після вивчення ветеринарно -санітарного стану сировини , що надходить на комбікормові підприємства .

Крім обмеження рівня деяких показників у сировині , що поставляється на комбікормові підприємства , досить актуальні дослідження і з вишукування способів поліпшення санітарної якості, як сировини , так і готової продукції.

Нааявні в літературі відомості вказують переважно на використання деяких технологічних процесів (гранулювання, екструдкування) з метою підвищення поживної цінності сировини і комбікормів . Вплив же названих прийомів на санітарну якість сировини і готової продукції комбікормових підприємств вивчено недостатньо.

Включення в об'єкти досліджень вже широко використовуються на комбікормових підприємствах процесів гранулювання і екструдкування , а також порівняно недавно запропонованих ліній підготовки сировини за італійською технологією дозволить зробити висновок і про зміну санітарної якості під впливом високої температури і тиску.

Однак вишукування нових способів знезараження і знешкодження сировини і комбікормів є нагальною проблемою для комбікормових підприємств. У зв'язку з цим і було вивчено вплив УФ-, ІЧ- променів, а також струмів НВЧ на санітарний стан зернової сировини, сировини тваринного походження і комбікормів. В якості критеріїв оцінки способів знезараження і знешкодження сировини і комбікормів враховувалися ступінь зниження загальної бактеріальної, грибною обсіменіння, інактивація стафілококів, кишкової палички, а при знешкодженні - зниження або зняття токсичності.

При оцінці ветеринарно- санітарної якості кормів і ефективності знезаражувальної дії різних технологічних прийомів використовуються різноманітні методи .

Одним з основних показників, який необхідно контролювати, є токсичність. У практичній роботі для визначення цього показника в зерновій сировині і комбікормах

використовують ряд біологічних методів. Так, для попередньої оцінки якості зернової сировини і комбікормів використовується метод на рибах гуппі, що дозволяє це зробити досить швидко. Застосовувався досить тривалий час метод по шкірній пробі на кролику, не позбавлений недоліків, оскільки дозволяє виділити токсичні речовини, що володіють лише дермацідними властивостями. Природно, вірогідність контролю при цьому знижується. Виходячи з цього і були проведені дослідження з використанням в якості тест - об'єкта білих мишей.

Для визначення токсичності білкової сировини тваринного походження метод триразового введення екстракту «за ОС» не задовольняє практику лабораторного контролю через надмірну трудомісткість і тривалості спостереження за білими мишами. Тому очевидна необхідність проведення досліджень з метою усунення названих недоліків.

Здійснення контролю трав'яного борошна за показником токсичності взагалі неможливо через відсутність відповідного об'єктивного методу, що вказує на необхідність проведення робіт у цьому напрямку. У зв'язку з широким розповсюдженням в зовнішньому середовищі резистентних штамів стафілококів, що пов'язано з наростанням числа носіїв і впливом антимікробних препаратів на них, зросла частота стафілококових захворювань. Продукти тваринництва, корми, обсіменені стафілококами, можуть бути небезпечними для здоров'я тварин і людини. Тому вивчення обсіменіння сировини, комбікормів стафілококами і вдосконалення методу їх виділення є актуальним напрямком.

Виходячи з важливості розглянутих проблем як для комбікормових підприємств, так і для тваринництва наші дослідження були спрямовані на вивчення ветеринарно - санітарного стану сировини, в тому числі і сировини надходить з імпорту, комбікормів і різних об'єктів комбікормового підприємства, на розробку вимог до сировини по ветеринарно-санітарними показниками, ветеринарних і санітарних правил для комбікормових підприємств, а також на пошук способів знезараження сировини і комбікормів і на розробку,

вдосконалення методів визначення стафілококів, токсичності комбікорми і різних видів сировини.

У ветеринарних лабораторіях проводять такі дослідження:

- ✓ визначення загальної бактеріального обміненія кормів;
- ✓ визначення присутності бактерій групи кишкової палички;
- ✓ визначення присутності бактерій з роду сальмонел;
- ✓ визначення присутності бактерій анаеробів.

### Порядок виконання роботи

**1. Ознайомитись з інформацією наведеною у теоретичній частині.**

**2. Визначити загальну кількість мікробних клітин у кормі згідно з варіантом наведеним у табл. 1.**

Таблиця 1 – Варіанти завдання

№ варіанта	Назва корму
1	К 60-4-89
2	ПК 1-3-89
3	ПК 55-3-89
4	ПК 110-1

У стерильну пробірку поміщають 1 г корму , взятого із середнього зразка (взяття корму для навішування одноразове), додають 9 мл фізіологічного розчину і ретельно струшують (отримують розведення 1:10). З отриманої суспензії готують наступні розведення (1:100 , 1:1000 , 1:10000 , 1:100000 , 1:1000000). Після осідання зважених часток з верхнього шару рідини роблять посіви.

Після 24 - 48 -годинного термостатирования проводять підрахунок колоній, що вирости тільки в чашках , де містяться не більше 300 колоній. Результати , отримані при підрахунку

колоній, множать на розведення, підсумовують і визначають кількість мікробів в 1 г корму.

*Наприклад, в одній чашці виявилось 200 колоній, в іншій - 21 і в третьому - 1. У ці чашки посів проводили з пробірок з розведеннями відповідно - 1:10000, 1:100000, 1:1000000. Отже, 1 г корму містить :*

$$\frac{200 \times 10000 + 21 \times 100000 + 1 \times 1000000}{3} = 1,7 \text{ млн. мікробних клітин..}$$

### **3. Приготувати живильне середовище середовище - м'ясо-пептонний агар (МПА).**

Для цього яловичину звільняють від кісток, жиру, сухожиль, пропускають через м'ясорубку. 1 кг отриманого м'ясного фаршу заливають 2л водопровідної води і кип'ятять протягом години, накип знімають. Після кип'ятіння м'ясу воду остиджують для застигання жиру, який легко при цьому віддаляється, фільтрують через ватно-марлевий фільтр до повної прозорості, потім доливають водопровідною водою до початкового об'єму, розливають у пляшки і стерилізують 20 хвилин при температурі +120°C.

До 1л м'ясної води додають 1г пептону і 0,5 г хлориду натрію, кип'ятять на слабкому вогні при постійному помішуванні до повного розчинення доданих інгредієнтів. Приготований таким чином бульйон фільтрують, встановлюють слаболужну реакцію (рН 7,2-7,4) і додають 0,2-2г подрібненого агар-агару (залежно від якості агар-агару і призначення середовища). Після додавання агар-агару рідина кип'ятять на слабкому вогні при постійному помішуванні до повного розчинення агару. При помутнінні середовища її прояснюють. Приготований агар фільтрують чи декантирують, розливають в пробірки або у флакони і стерилізують в автоклаві при температурі +120°C протягом 20 хвилин.

**4. Для кількісного обліку мікробного обсіменіння в стерильні бактеріологічні чашки вносять по 1 мл кожного розведення і заливають 10-15 мл стерильного, розплавленого і охолодженого до температури 44-45 °С м'ясо-пептонного агару.**

Обережно похитуючи чашки, засіяний матеріал рівномірно розподіляють в агарі. Після застигання середовища чашки поміщають (догори дном) в термостат при температурі 37 ° С.

**5 . Визначення загальної бактеріального обсіменіння м'ясо -кісткового борошна можна проводити експресними методом із застосуванням резазуріна.**

Для цього в стерильну пробірку поміщають 1 г м'ясо - кісткового борошна, взятої із середньої проби, додають 10 мл МПБ і струшують, а з іншу пробірку для контролю вносять лише 10 мл МПБ і поміщають їх у термостат при 40 С на 2 години.

Після цього в пробірки додають по 1 мл 0,01 %-ного розчину резазуріна і знову витримують у термостаті протягом двох годин.

Результати реакції враховують у цей період через кожні 30 хвилин. З відновлення резазуріна ( зміна забарвлення від синього до рожевого кольору) визначають загальну мікробну забрудненість м'ясо -кісткового борошна.

Якщо в пробірці з м'ясо -кісткового борошном настає рожеве забарвлення пізніше 2 годин, це відповідає бактеріального обсіменіння до 500 тис. мікробних клітин в 1 г продукту, а при фарбуванні вмісту пробірки в рожевий колір до 2 годин - більше 500 тис.

Контролем служить пробірка з 10 мл МПБ і 1 мл 0,01 % розчину резазуріна, витримана в термостаті при тому ж температурному режимі і експозиції та без зміни кольору вмісту. Отримані дані занести до таблиці 2.

Таблиця 2

Результати реакції

№ вар-ту	Назва	Час забарвлення	Колір



## Висновки по роботі.

---

---

---

---

### Контрольні питання

1. Дайте характеристику картопляної палички.
2. Наведіть оптимальні умови для розвитку спор картопляної палички.
3. Які процеси відбуваються у м'якушці хліба під час розвитку картопляної хвороби.
4. Які засоби застосовують для інактивації картопляної палички.

## Література.

1. Гудзь С.П., Гнатуш С. О., Звір Г. І. Санітарна мікробіологія : підручник для студ. вищ. навч. закл.. Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2016. 348 с.
2. Волкогон В. В., Козар С. Ф. Мікробіологія сільськогосподарська //Енциклопедія Сучасної України: електронна версія [онлайн]/ гол. редкол.:І. М. Дзюба, А. І. Жуковський, М. Г. Железняк та ін.; НАН України, НТШ. Київ: Інститут енциклопедичних досліджень НАН України, 2019. URL:[https://esu.com.ua/search\\_articles.php?id=67573](https://esu.com.ua/search_articles.php?id=67573) (дата перегляду: 08.06.2022).
3. Дзигун Л.П. Біологія базидієвих макроміцетів *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill та *Ceriporus squamosus* (Huds.) Quel. в культурі : дис. ... канд. біол. наук : 03.00.21. Київ, 2020. 203 с.
4. Пирог Т. П. Загальна біотехнологія : підручник / Т. П. Пирог, О. А. Ігнатова. Київ : НУХТ, 2009. 336 с.
5. Назарова Л. Н. Прогрессирующие болезни зерновых культур / Л. Н. Назарова, Е. А. Соколова // Агро XXI. – 2000. – №4. – С. 2-3.
6. Ефективна модифікація фунгіцидного препарату з мікроелементами, отриманими за нанотехнологіями / [Гавриленко О. С., Хоміцька О. А., Пашенко А. Г., Загорулько О. В., Нестерчук Т. В.] // Одеська національна академія харчових технологій. Наукові праці. – 2014. – Вип. 46, Том 1. – С. 95–97.
7. ДСТУ ISO 4833:2006 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахування колоній за температури 25 оС (ISO 4833:2003, IDT). – [Чинний від 01.10.2007].
8. ДСТУ ISO 7954:2006 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Загальні настанови з підрахунку дріжджів і мікроскопічних грибів. Техніка підрахування колоній, культивованих за температури 25 0С. – [Чинний від 01.10.2007].
9. ДСТУ 4138-2002 Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. – К. : Держстандарт України, 2003. – 173 с.

10. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – Київ: Юнівест маркетинг, 2020. – 895 с.
11. Туренко В.П. Новітній асортимент засобів захисту рослин від шкідливих організмів: навч. посіб. / В.П. Туренко, М.О. Білик, В.І. Мартиненко та ін. – Харків: Майдан, 2021. – 356 с.

## ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

### 1. Ризосфера це:

- а) вузька ділянка ґрунту, що прилягає до коріння рослини і потрапляє під безпосереднє дію корневих виділень і ґрунтових мікроорганізмів;
- б) мікроорганізми ґрунту;
- в) рідина, що виділяється рослинами.

### 2. Чи впливає на вміст мікроорганізмів у зерновій масі транспортування:

- а) так;
- б) ні.

### 3. Епіфітні мікроорганізми це:

- а) мікроорганізми не здатні проникати через оболонку рослинних клітин, які не мають шкідливого впливу на розвиток рослин;
- б) мікроорганізми здатні проникати через оболонку рослинних клітин, які не мають шкідливого впливу на розвиток рослин;
- в) мікроорганізми здатні проникати через оболонку рослинних клітин і мають шкідливий вплив на розвиток рослин.

### 4. Розвиток пліснявих грибів в складі епіфітної мікрофлори спостерігається при:

- а) теплій погоді і підвищеної вологості повітря;
- б) холодній погоді і підвищеної вологості повітря;
- в) сухій погоді і низької вологості повітря.

### 5. Основними джерелами мікрофлори зернової маси є:

- а) добрива, пісок, пил;
- б) комахи, пил, пісок, сміттєві домішки;
- в) всі варіанти вірні.

**6. До патогенних мікроорганізмів, що знаходяться в зерновій масі відносяться:**

- а) спороутворюючі бактерії, цвілеві гриби;
- б) головня, фузаріоз, ріжки;
- в) ящур, сибірська виразка.

**7. До фітопатогенних мікроорганізмів, що знаходяться в зерновій масі відносяться:**

- а) спороутворюючі бактерії, цвілеві гриби;
- б) головня, фузаріоз, ріжки;
- в) ящур, сибірська виразка.

**8. До сапрофітним мікроорганізмам, що знаходяться в зерновій масі відносяться:**

- а) спороутворюючі бактерії, цвілеві гриби, актиноміцети;
- б) головня, фузаріоз, ріжки;
- в) ящур, сибірська виразка.

**9. До якої групи мікроорганізмів відносяться фузариум:**

- а) сапрофітної;
- б) фітопатогенної;
- в) патогенної.

**10. Який групою мікроорганізмів викликається захворювання людини і тварини ящур:**

- а) сапрофітної;
- б) фітопатогенної;
- в) патогенної.

**11. Який групою мікроорганізмів викликається захворювання рослин ріжки:**

- а) сапрофітної;
- б) фітопатогенної;
- в) патогенної.

**12. Переносником патогенної мікрофлори є:**

- а) вітер;
- б) пил;
- в) гризуни, комахи, птахи.

**13. Чи є зернова маса сприятливим середовищем для розвитку патогенної мікрофлори:**

- а) так;
- б) ні.

**14. Чи надає вплив на розвиток мікроорганізмів у зерновій масі аерація:**

- а) так;
- б) ні.

**15. Гриби мезофіти, які знаходяться на зерні розвиваються при:**

- а) вологості зерна 16%;
- б) вологості зерна 10%;
- в) вологості зерна 25%.

**16. Термофільні бактерії знаходяться в:**

- а) свіжезбираному зерні;
- б) зерні в якому проходить процес самозігрівання;
- в) зерні в якому проходить процес самозігрівання та свіжезбираному зерні.

**17. Проморожування зернової маси призводить до:**

- а) інактивації мікроорганізмів;
- б) призупинення мікробіологічного псування;
- в) бурхливому розвитку мікроорганізмів.

**18. Запах цвілі в зерні викликає гриб роду:**

- а) *Penicillium*;
- б) *Fusarium*;
- в) *Aspergillus*.

**19. Під дією яких мікроорганізмів зернова маса набуває амбарний запах:**

- а) бактерії;
- б) цвілеві гриби;
- в) дріжджі.

**20. Назвіть зміни хімічного складу зерна під дією мікроорганізмів:**

- а) збільшення вмісту сухих речовин, зниження титруємої кислотності;
- б) зниження сухих речовин, збільшення титруємої кислотності, збільшення кислотного числа жиру, зниження білків, накопичення отруйних речовин;
- в) збільшення білків, вуглеводів, жиру.

**21. Гриби, збудники сірої гнилі вражають:**

- а) пшеницю, жито;
- б) овес, сорго, просо;
- в) кукурудза, горох, соняшник.

**22. Оливкова цвіль вражає:**

- а) пшеницю, жито;
- б) горох, соя;
- в) соняшник.

**23. Пікніда це:**

- а) плодове тіло конідіального спороношення грибів;
- б) плодове тіло конідіального спороношення дріжджів;
- в) захворювання зернових культур.

**24. Бактеріози рослин викликають:**

- а) дріжджі;
- б) гриби, віруси;
- в) бактерії.

**25. Пузирчаста головня це захворювання:**

- а) кукурудзи;
- б) пшениці, жита, ячменю;
- в) сої, гороху.

**26. Тверда головешка це захворювання:**

- а) кукурудзи;
- б) пшениці, жита, ячменю;
- в) сої, гороху.

**27. Кам'яна головня це захворювання:**

- а) кукурудзи;
- б) пшениці, жита, ячменю;
- в) сої, гороху.

**28. Вміст мікроорганізмів у борошні залежить від:**

- а) виходу борошна;
- б) марки обладнання на якому воно отримано;
- в) кваліфікації персоналу.

**29. Крохмалерозлагаючі бактерії викликають мікробіологічне псування:**

- а) самозігрівання;
- б) пліснявіння;
- в) прокисання.

**30. Мікотоксини це речовини що виробляються:**

- а) пліснявими грибами;
- б) вірусами;
- в) бактеріями.

**31. Чи впливає на вміст мікроорганізмів в зерні наявність комах:**

- а) так;
- б) ні.



**32. Для профілактики та боротьби з картопляною хворобою застосовують:**

- а) органічні кислоти;
- б) луги.

**33. Оптимальна температура для розвитку картопляної палички у хлібі:**

- а) 25...30 °С;
- б) 40...45 °С;
- в) 65...70 °С.

**34. Оптимальними умовами для розвитку спор картопляної палички є:**

- а) живильне середовище зі зниженою кислотністю;
- б) живильне середовище з підвищеною кислотністю;
- в) живильне середовище з нейтральною середою.

**35. Картопляна хвороба викликається розвитком у м'якущі хліба бактерій:**

- а) *B. Subtilis* ssp. *Mesentericus*;
- б) *Cladosporium*;
- в) *Aspergillus*.

**36. За стійкістю до дезінфікуючих речовин збудник сальмонельозу відноситься до:**

- а) менш стійкого мікроорганізму;
- б) стійкого мікроорганізму;
- в) високостійкого мікроорганізму.

**37. За стійкістю до дезінфікуючих речовин збудник туберкульозу відноситься до:**

- а) менш стійкого мікроорганізму;
- б) стійкого мікроорганізму;
- в) високостійкого мікроорганізму.

**38. Інфекційні захворювання тварин, що передаються крізь корма, воду та ґрунт відносяться до:**

- а) аліментарних;
- б) аерогенних;
- в) трансмісивних.

**39. Захворювання, властиві тільки людині, які є джерелом збудника інфекції це:**

- а) антропонози;
- б) зоонози;
- в) зооантропонози.

**40. До бактеріальних інфекційних захворювань тварин відносяться:**

- а) колібактеріоз;
- б) мікроспорія;
- в) чума.

## СЛОВНИК

**Аеробні організми** (гр. *aer* – повітря + *bios* – життя) – мікроорганізми, що потребують для оптимального росту і розвитку наявності вільного молекулярного кисню.

**Актиноміцети** (гр. *aktis* (актіс) – промінь + *mykes* (мікес) – гриб) – променисті гриби – самостійна група мікроорганізмів, у клітинах яких відсутнє справжнє ядро але вегетативне тіло представлене дуже тонкими, розгалуженими гіфами, які променисто розростаються у всі боки майже однаково.

**Анабіоз** (гр. *anabiosis* – оживання, повернення до життя) – стан організму, при якому життєві процеси тимчасово припиняються, або настільки уповільнюються, що зникають видимі ознаки життя, одна із форм пристосування організмів до виживання при різкому погіршенні умов існування (низька температура, відсутність вологи і т.д.), це явище використовують для отримання живих вакцин, консервування тканин, органів тощо.

**Анаеробні організми** (гр. *an* – проти + гр. *aer* – повітря + гр. *bios* – життя) – мікроорганізми, що розвиваються в умовах відсутності вільного кисню.

**Аскоміцети** (*Ascomycotina*) – сумчасті гриби, підвідділ вищих грибів, який включає три класи: Голосумчасті (*Archaeascomycetes*), Плодосумчасті (*Euscomycetes*) та Полостносумчасті (*Loculoascomycetes*).

**Аскоспори** (гр. *askos* (аскос) – сумка + *spora* (спора) – сім'я) – статеві спори, які розвиваються у сумках (асках) в результаті статевого процесу в сумчастих грибів.

**Ацидофіли** – мікроорганізми, які добре ростуть в кислому середовищі: оцтовокислі, молочнокислі, маслянокислі бактерії рН=3.

**Бактерії** (від лат. *bacteria* – паличка) – одноклітинні організми, які не мають справжнього ядра, мають примітивний ядерний апарат нитку ДНК замкнуту в кільце – нуклеоїд, не

мають мітохондрій та інших органел, клітинна оболонка без целюлози і хітина, а її каркас складає мукопептид муреїн, живуть за рахунок органічних речовин рослин-живителів, розпізнаються під мікроскопом.

**Бацили** (лат. *bacillum* (бациллум) – паличка) – бактерії паличкоподібної форми, які володіють здатністю утворювати спори

**Біомаса** (біо... + лат. *massa* – сукупність) – кількість живої речовини організмів, яка може бути виражена в одиницях сухої чи сирої маси та віднесена до одиниці площі або об'єму.

**Бродіння** – процес розкладання органічної речовини (переважно вуглеводів) мікроорганізмами в безкисневих (анаеробних) умовах. Бродіння здійснюється під впливом біокаталізаторів – ферментів і є джерелом енергії для клітин, необхідної для забезпечення їхньої життєдіяльності. Підчас бродіння відбувається утворенням невеликої кількості енергії.

**Гіфи** – тонкі розгалужені ниточки, які утворюють вегетативне тіло грибів.

**Грибниця (міцелій)** – вегетативне тіло грибів, яке складається з системи тонких розгалужених ниток, так званих гіф.

**Елективні середовища** – це найбільш сприятливі середовища для розвитку певного виду мікроорганізмів.

**Зоофільні гриби** – гриби, що уражають тварин і людей.

**Коки** (лат. *coccus* – зерно) – це кулясті бактерії, які бувають сферичні, еліпсоподібні, бобовидні і ланцетоподібні.

**Колонія** – це видиме неозброєним оком скупчення мікробних клітин.

**Культура мікроорганізмів** – популяція мікроорганізмів, що виросла на поживному середовищі.

**КУО** – колонійутворювальна одиниця.

**Мезофіли** – це мікроорганізми, для яких мінімальні температури – в межах від 0° до +10°C, оптимальні – близько

+25-+35 °С, максимальні – +40-+50°С. Це більшість патогенних і сапрофітних мікроорганізмів.

**Мезофіти** – середньовологолюбиві мікроорганізми, це плісняві гриби.

**Мікробіологічне забруднення** – поява в середовищі аномально великої кількості мікроорганізмів, що пов'язано з масовим їх розмноженням на антропогенних субстратах або в середовищах, змінених внаслідок господарської діяльності людини.

**Мікрококи (лат. *micro* – маленький)** – це кулясті бактерії які характеризуються поодиноким, парним або безладним розміщенням клітин. Вони знаходяться у воді, ґрунті, повітрі (*Micrococcus luteus*, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus albus* та інші).

**Мікроорганізми (гр. *mikros* – малий, маленький + *organon* – організм)** – організми розміром 50-500 мкм, які можна побачити лише під мікроскопом, до яких відносяться: гриби, бактерії, мікоплазми, актіноміцети, риккетсії, віруси та віроїди.

**Мікрофлора** – сукупність мікроорганізмів в угрупованні (біогеоценозі тощо).

**Міцелій (гр. *mykes* – гриб)** – вегетативне тіло грибів, те саме, що і грибиця. Він складається із системи тонких розгалужених ниток, які називаються гіфами.

**М'ясо-пептонний агар (МПА)** – найпоширеніше універсальне поживне середовище в мікробіологічних дослідженнях.

**М'ясо-пептонний бульйон (МПБ)** – рідке поживне середовище для культивування мікроорганізмів, яке складається із води та пептона (1-2%); слугує основою багатьох інших поживних середовищ.

**Патогенна мікрофлора** – сукупність мікроорганізмів, що заселяють поверхню або внутрішні клітини рослин чи тварин і здатні спричиняти захворювання.

**Посів** – це внесення клітин мікроорганізмів чи якого-небудь досліджуваного матеріалу (зразки ґрунту, проби води) в

стерильне поживне середовище для отримання чистої чи нагромаджуючої культури мікроорганізмів.

**Селективні середовища** – середовища, що сприяють росту одних видів мікроорганізмів і пригнічують ріст інших.

**Стафілококи (грец. staphylo – виноградне гроно)** – це кулясті бактерії, які при безладному поділі утворюють скупчення, що нагадують виноградні грона. Патогенні стафілококи є збудниками гнійних процесів (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*).

**Стрептококи (лат. strepto – витий)** – кулясті бактерії, які розміщені у вигляді ланцюжка, утворюються при поділі тільки в одній площині, як і диплококи (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus faecalis*).

Навчальне видання

## **БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ У ЗЕРНОПЕРЕРОБНІЙ ГАЛУЗІ**

Навчально-методичний посібник  
до виконання лабораторних робіт

для студентів спеціальності 181 «Харчові технології»  
першого (бакалаврського) рівня вищої освіти  
(освітня програма «Харчові технології»)

Укладачі:

ГАВРИШ Тетяна Володимирівна  
ФОМІНА Ірина Миколаївна  
БОРОВІКОВА Наталія Олексіївна

Відповідальний за випуск старший викладач кафедри  
Боровікова Н.О.

Авторська редакція

Підписано до друку 02.02.24 . Формат 60x84x16.  
Папір офсетний. Друк офсетний. Гарнітура Times New Roman.  
Умовн.друк.аркушів – 2,6. Обл.-вид. аркушів – .  
Тираж 20

Державний біотехнологічний університет,  
вул. Алчевських, 44, м. Харків, 61002.

