

Лабораторна робота № 7

Тема: Дослідження морфологічних особливостей молочнокислих бактерій.

Мета заняття: Ознайомитися з корисною мікрофлорою заквасок і класифікацією кисломолочних продуктів залежно від складу мікрофлори заквасок. Ознайомлення з морфологічними особливостями молочнокислих бактерій. Закріплення практичних навичок відбору культури для дослідження.

Обладнання та матеріали: Мікроскоп; спиртівка; предметні скла; бактеріологічного петлі; імерсійне масло; метиленовий синій; фільтрувальна папір; лоток з рейками; промивалка. Кисломолочні продукти (кефір, сметана, сир, ряжанка, йогурт, кисломолочні біфідопродукти, кисломолочний продукт з ацидофільної паличкою); рідкі закваски на стерильному молоці.

Теоретичні відомості

Молочнокислі бактерії широко поширені в природі і використовуються в багатьох біотехнологічних процесах, пов'язаних з виробництвом молока і кисломолочних продуктів. Середовищем існування цих бактерій є молоко, молочні продукти, поверхня рослин, ризосфера і прикоренева зона. Разом з рослинами молочнокислі бактерії потрапляють в шлунково-кишковий тракт людини і тварин, складаючи його мікрофлору.

Бактерії роду *Bifidobacterium* переважають у кишечнику грудних дітей, особливо тих яких вигодовують грудьми, оскільки ці бактерії потребують вуглеводів, що містять N-ацетилглюкозамін, який знайдений тільки в жіночому молоці. Виявлені вони і в кишковій флорі дорослих людей, а також в гниючому мулі.

Основною властивістю молочнокислих бактерій, за якою їх об'єднують в окрему велику групу мікроорганізмів, є здатність утворювати в якості головного продукту бродіння молочну кислоту. Молочнокисле бродіння здійснюють бактеріальні організми, гетерогенні за морфологією, які відносяться з полдо родів *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. Молочнокислі бактерії за характером продуктів зброджування гексоз (глюкоза, фруктоза, маноза, галактоза), дисахаридів (лактоза, мальтоза, сахароза) і полісахаридів (декстрин, крохмаль) відносять до гомоферментативних і гетероферментативних.

Найбільш широке застосування молочнокислі бактерії знайшли у виробництві кисломолочних продуктів в харчовій промисловості. Гомо- і гетероферментативні молочнокислі бактерії давно використовуються в хлібопекарстві. Їх асоціації з дріжджами, сприятливі для створення аромату, смаку, пористості, забарвлення і свіжості, називаються заквасками. Молочнокисле бродіння знаходиться в основі силосування кормів і квашення овочів (капусти, огірків), плодів, ягід (маслин, яблук) і т. д. Ці процеси протікають за рахунок природних мікроорганізмів, що знаходяться на об'єкті заквашування.

Останнім часом використовують спеціальні закваски, що забезпечують проведення процесів в прогнозованих режимах і з очікуваними результатами. Молочнокислими продуктами є різні сири, одержані з знежиреного або незбираного молока. Молочнокислі бактерії включають в різні композиції профілактичних і лікувальних препаратів: біфідумбактерин, біфікол, колібактерин, лактобактерин. За допомогою молочнокислих бактерій в промисловості досить широко використовують отримання молочної кислоти.

ІНСТРУКЦІЯ

Завдання 1. Приготувати тимчасовий препарат з кислого молока

Для приготування препарату на чисте предметне скельце наносять петлею невелику краплю досліджуваного матеріалу та рівномірно розподіляють на площині близько 1 см². В якості досліджуваного матеріалу використовують сквашене молоко або інший молочнокислий продукт.

При дослідженні сиру та сирних виробів на скло наносять краплю води, вводять в неї петлею продукт, ретельно перемішують та розтирають на площині 1 см². Препарат висушують при кімнатній температурі, фіксують на полум'ї пальника та фарбують метиленовим синім. Метиленовий синій - кращий барвник для молочнокислих бактерій в молоці, тому що він слабо зафарбовує основний фон (казеїн) та добре - клітини.

Враховуючи особливості субстрату (молоко), препарат фіксованих клітин готують так.

1. На предметне скельце з пробірки нанести краплю культуральної рідини, яку рівномірно розмазати покривним склом.

2. Мазок висушити і одночасно знежирити сумішшю спирту та ефіру (1:1) упродовж 10 хв., яку безпосередньо наносити на мазок.

3. Після випаровування суміш налити повторно. Висушений мазок фарбувати розчином метиленового синього за Лаффлером.

Завдання 2. Вивчити морфологію молочнокислих бактерій

Препарати вивчити під мікроскопом.

Під час досліджень, в зразку добре видно дрібні округлі клітини *Streptococcus lactis* у вигляді коротких ланцюжків. Вони накопичують до 1% молочної кислоти. Оптимальна температура для розвитку мікроорганізмів – 30°C, вони кислотостійкі, накопичують до 3,5% молочної кислоти.

В полі зору можуть бути молочнокислі стрептококи (*Streptococcus lactis*, *S. cremoris*) – шароподібні клітини, розташовані у вигляді коротких чи довгих ланцюжків. Палички довжиною 4-5 мкм *Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*).

Часто у прокислих молочних продуктах можна спостерігати величезні клітини молочної цвіль (*Oidium lactis*), цвільові гриби (*Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*), дріжджі (*Torula amara*, *T. lactis*), спороутворюючі бактерії родів *Bacillus* та *Clostridium*

При мікроскопіюванні звертають увагу на співвідношення кокових та паличковидних бактерій в різних мазках, виявляють клітини дріжджів в мазках з кефіру.

Після ретельного мікроскопіювання замальовують мікрофлору молочнокислих продуктів.

Контрольні питання

1. Якими морфологічними ознаками характеризуються молочнокислі бактерії?
2. Що таке закваски? З чого готуються виробничі закваски на молочних підприємствах?
3. Перелічіть групи кисломолочних продуктів залежно від складу мікрофлори заквасок.
4. Які мікроорганізми входять до складу мікрофлори йогурту, ряжанки?
5. Які кисломолочні продукти отримують з використанням мезофільних молочнокислих стрептококів?
6. Які продукти готують з використанням ацидофільних паличок і біфідобактерій? У чому цінність цих продуктів?