

УДК 663 / 664 (076.5)

ББК 36 – 1 я 73

Д 84

Рецензент

доктор сельскохозяйственных наук, профессор О.В. Богатова

**Дусаева Х. Б.**

**Д 84      Основы биотехнологии и генной инженерии: методические указания к лабораторному практикуму/ Х.Б.Дусаева. – Оренбург: ИПК ГОУ ОГУ, 2008. – 43 с.**

Лабораторный практикум состоит из 9 лабораторных работ по анализу пищевого сырья и готовой продукции. Каждая работа включает теоретическое изложение материала, описание методики проведения опытов и задания. Методические указания предназначены для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Основы биотехнологии и генной инженерии» для студентов четвертого курса специальностей 260505.

ББК 36 – 1я 73

© Дусаева Х.Б., 2008

© ГОУ ОГУ, 2008

## Содержание

1 Лабораторная работа № 1 Изучение метода накопительных культур для выделения микроорганизмов разных физиологических групп .....	5
2 Лабораторная работа №2 Исследование влияния продолжительности брожения теста на показатели качества готового хлеба.....	8
3 Лабораторная работа №3 Ускоренный метод определения качества дрожжей.....	12
4 Лабораторная работа №4 Молоко как сырье для биотехнологических процессов.....	18
5 Лабораторная работа № 5 Изучение биотехнологических основ приготовления сыра.....	24
6 Лабораторная работа №6 Изучение изменения структурных элементов клеток – клеточных стенок, цитоплазмы, мембран, ядер, происходящих в процессе тепловой обработки продуктов.....	29
7 Лабораторная работа № 7 Исследование влияния состава посолочных смесей на органолептические показатели и выход мясопродуктов .....	32
8 Лабораторная работа №8.....	36
9 Лабораторная работа №9 Оценка качества муки.....	40
Список использованных источников.....	43
Приложение А.....	44

# **1 Лабораторная работа № 1 Изучение метода накопительных культур для выделения микроорганизмов разных физиологических групп**

## **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Картофель, мел, стерильное молоко, кефир.
2. Концентрированная серная кислота, 96 % этиловый спирт, 5 % раствор хлорного железа, синька Лефлера.
3. Пробирки, термостат, термометр, микроскопы, предметные стекла, чашки Петри, ватные пробки, электрическая плитка, спиртовки, спички.

Основа современного биотехнологического производства –микробиологический синтез, то есть синтез различных веществ с помощью микроорганизмов.

Для выделения микроорганизмов определенных физиологических групп Бейеринком, Виноградским предложена техника так называемых «накопительных культур». Техника накопительных культур основана на использовании элективных методов культивирования, т.е. создания таких условий при культивировании (наличие определенного источника углерода и энергии, азота, рН, освещенности, концентрации элементов питания и др.), которые будут благоприятны для развития микроорганизмов определенной физиологической группы, а другие организмы в этих условиях не могут размножаться или их рост будет весьма незначителен.

Так, подбирая определенный состав питательной среды и параметры культивирования и инокулируя среду какими-либо природными субстратами (почва, вода, ил) или техногенными (сточные воды и т.п.), содержащими разнообразные микроорганизмы, можно получить накопительную культуру микроорганизмов, характеризующихся определенными физиолого-биохимическими свойствами, например, способных окислять определенные органические субстраты, развиваться при определенном рН и температуре, способных фиксировать азот атмосферы и окислять неорганические соединения и др. в результате преимущественного развития микроорганизмов, приспособленных к данным условиям. Последовательные частые пересевы на такую же элективную жидкую среду предотвращают рост сопутствующих микроорганизмов, которые могли бы использовать продукты метаболизма или даже автолиза первичной культуры и, таким образом, позволяют получить обогащенную накопительную культуру.

При получении накопительных культур лучшим материалом для инокуляции служат субстраты, в которых происходит естественное «обогащение». Так, например, для выделения микроорганизмов, способных использовать органические соединения, загрязняющие сточные воды химических производств, - пробы сточных вод этих же производств или почвы, загрязненные этими стоками; для выделения микроорганизмов, окисляющих нефтепродукты, - это почвы, загрязненные нефтью и т. д.

О получении накопительной культуры судят визуально, по проявлению признаков роста микроорганизма: помутнению среды, появлению пленки, осадка, пигментов, выделению газообразных веществ и т. д.

Из накопительных культур выделяют чистую культуру микроорганизмов.

### **Получение накопительной культуры *Bacillus subtilis* var. *mesentericus* (картофельной палочки)**

Картофельная палочка широко распространена в природе, особенно на картофеле, куда она попадает из почвы. Картофельная палочка образует очень стойкие центральные споры, которые выдерживают нагревание при 100 °С в течение 6 ч.

*Накопительную культуру картофельной палочки* получают следующим образом: очищенный картофель нарезают ломтиками, помещают в чашки Петри и прогревают 10 мин при 100 °С в стерилизаторе (инактивируются все вегетативные клетки микроорганизмов), после чего помещают в термостат на 2-3 дня при 25- 30 °С. На картофеле прорастают споры и образуется крепкая морщинистая пленка, при микроскопировании которой видны подвижные палочки длиной до 4-5 мкм, часто соединенные в цепочки.

### **Получение накопительной культуры маслянокислых бактерий**

Маслянокислые бактерии сбраживают углеводы (глюкозу, сахарозу, крахмал) с образованием масляной кислоты. Кроме масляной кислоты образуется некоторое количество уксусной кислоты, водорода, углекислоты.

Маслянокислые бактерии строгие анаэробы, поэтому при их культивировании необходимо создавать условия, которые обеспечивают отсутствие кислорода.

*Накопительную культуру маслянокислых бактерий* получают следующим образом: в пробирку емкостью 50 мл помещают несколько кусочков неочищенного картофеля, четверть чайной ложки мела, заливают водопроводной водой (расстояние до пробки 2-3 см), закрывают ватной пробкой и пастеризуют при 80 °С в течение 10 мин в водяной бане, после чего помещают в термостат при 37 °С.

Через 1-2 суток в жидкости на дне пробирки при микроскопировании обнаруживается большое количество подвижных палочек. Отличительной особенностью маслянокислых бактерий является их способность накапливать в клетках запасное вещество – гранулезу, а также образовывать споры. При спорообразовании клетки утолщаются либо в середине (кlostридиальный тип), либо на конце клетки (плекотридиальный тип). После созревания спор гранулеза в клетках исчезает.

После 5-6 дней культивирования анализируют накопительную культуру. Для приготовления микроскопического препарата культуральную жидкость с микроорганизмами берут пипеткой со дна пробирки, вблизи ломтиков картофеля.

Для обнаружения в культуральной жидкости масляной кислоты проводят две качественные реакции:

1. В сухую чистую пробирку вносят 3-5 мл культуральной жидкости, взятой из середины пробирки с накопительной культурой. Добавляют 1-2 мл 5 % раствора хлорного железа. Слегка подогревают. Наблюдают появление кирпично-бурого окрашивания из-за образования маслянокислого железа.