МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УТВЕРЖДАЮ Директор ИПР

А.Ю. Дмитриев

«29» июня 2015 г.

ТИПЫ БРОЖЕНИЯ. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ СПИРТОВОГО, МОЛОЧНОКИСЛОГО, МАСЛЯНОКИСЛОГО БРОЖЕНИЯ

Методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплинам «Микробиология», «Фармакология, биохимия, микробиология» и «Биотехнология» для студентов ИПР, ИФВТ дневной формы обучения

Составитель А.П. Асташкина

Издательство Томского политехнического университета 2015 УДК 541.18(076.5) ББК 24.6я73 Т43

Типы брожения. Качественные реакции спиртового, молочнокислого, маслянокислого брожения: методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплинам «Микробиология», «Фармакология, биохимия, микробиология» и «Биотехнология» для студентов ИПР, ИФВТ дневной формы обучения / сост. А.П. Асташкина; Томский политехнический университет. — Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2015. — 18 с.

УДК 541.18(076.5) ББК 24.6я73

Методические указания рассмотрены и рекомендованы к изданию методическим семинаром кафедры физической и аналитической химии ИПР «29» июня 2015 г.

Зав. кафедрой ФАХ доктор химических наук, профессор

А.А. Бакибаев

Председатель учебно-методической комиссии

Рецензент

Кандидат химических наук, доцент кафедры ФАХ ИПР ТПУ $E.B.\ Muxee 6a$

- © Составление. ФГАОУ ВО НИ ТПУ, 2015
- © Асташкина А.П., составление, 2015
- © Оформление. Издательство Томского политехнического университета, 2015

План коллоквиума по теме «Виды брожения»

- 1. Какие условия необходимы для протекания каждого из видов брожения: спиртового, молочнокислого, уксуснокислого? Назовите ферменты процессов брожения.
- 2. Какие микроорганизмы вызывают молочнокислое брожение? Чем отличается гомоферментативный процесс от гетероферментативного? Назовите культурные расы дрожжей, вызывающих спиртовое брожение.
 - 3. В чем особенности жизнедеятельности чайного гриба?
 - 4. Каким способом можно обнаружить молочную кислоту?
- 5. Как можно получить культуру маслянокислых бактерий? Каковы особенности бактерий рода *Clostridium*?
- 6. Какие качественные реакции существуют для обнаружения масляной кислоты в культуральной среде?

Список литературы

- **1.** Калганова, Т.Н. Практикум по микробиологии и биотехнологии : лабораторные работы / Т.Н. Калганова. Южно-Сахалинск : СахГУ, 2011. 56 с
- 2. Нетрусов, А.И. Общая микробиология: учебник для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. Москва : Академия, 2007. 220 с.
- 3. Микроорганизмы: вирусы, бактерии, грибы: учеб. пособие. Санкт-Петербург: Изд-во «ЭЛБИ-СПб», 2003. 147 с.
- 4. Асонов, Н.Р. Микробиология / Н.Р. Асонов. Москва : ВО Агропромиздат, 1989. 230 с.
- 5. Аникеев, В.В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / В.В. Аникеев, К.А. Лукомская. Москва : Просвещение, 1983. 128 с.

Теоретическая часть

По своей биологической сути брожение — это эволюционно наиболее древний и примитивный способ получения энергии, при котором ATФ образуется в результате анаэробного окисления органических субстратов в реакциях субстратного фосфорилирования.

Энергетическое определение *брожения* — это совокупность анаэробных окислительно-восстановительных реакций, при которых органические соединения служат как донорами, так и акцепторами электронов. Как правило, доноры и акцепторы электронов образуются из одного и того же субстрата, подвергающегося брожению.

Сбраживанию могут подвергаться различные субстраты, но лучше других используются углеводы. При сбраживании углеводов и ряда других веществ образуются (по отдельности или в смеси) такие продукты, как этанол, молочная, муравьиная, янтарная кислоты, ацетон, углекислый газ, водород и др.

1. Типы брожения

В зависимости от того, какие продукты преобладают или являются особенно характерными, различают брожение спиртовое, молочнокислое, муравьинокислое, маслянокислое, пропионовокислое и другие. Основные типы брожений — спиртовое, молочнокислое и маслянокислое были открыты в середине девятнадцатого века Л. Пастером, хотя продукты брожений были известны человеку с незапамятных времен.

1.1. Спиртовое брожение

Типичными возбудителями спиртового брожения являются некоторые виды дрожжей (Saccharomyces cerevisiae, S. uvarum, Schizosaccharomyces pombe и др.) и бактерий (Erwinia amylovora, Sarcina ventriculi, Zymomonas mobilis). Кроме того, этиловый спирт образуют мезофильные бактерии (Leuconostoc mesenteroides, Lactococcus lactis, Clostridium sporogenes, Spirochaeta aurantia), а также термофильные бактерии (Thermoanaerobacter ethanolicus, Clostridium thermohydrosulfuricum, C. Thermocellum).

Схематично процесс спиртового брожения можно представить следующим образом (рис. 1).

Сбраживание глюкозы проходит по гликолитическому пути до стадии синтеза пировиноградной кислоты. Далее осуществляется ее декарбоксилирование пируватдекарбоксилазой при участии тиаминпирофосфата, в результате чего образуются ацетальдегид и CO_2 . Ацетальдегид выступает конечным акцептором водорода. При помощи алкогольде-гидрогеназы он восстанавливается до этанола.

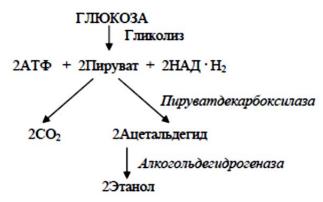


Рис. 1. Схема спиртового брожения

Суммарная реакция процесса спиртового брожения выражается следующим уравнением:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\Phi_{_{\rm H}} + 2AД\Phi \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 + 2AT\Phi + 2H_2O$$

Энергетический выход спиртового брожения составляет две молекулы АТФ на одну молекулу катаболизированной глюкозы.

Спиртовое брожение широко используется для получения технического и пищевого спирта, вина, пива, а также в хлебопечении. В последнем случае значение имеет не образующийся спирт, а углекислый газ, который выделяется в большом количестве и вызывает разрыхление, подъем теста и его специфический запах.

1.2. Маслянокислое брожение

Маслянокислое брожение проходит в строго анаэробных условиях и осуществляют его облигатно-анаэробные бактерии рода *Clostridium*. Маслянокислые бактерии нередко причиняют вред, вызывая порчу продуктов — прогоркание масла, сметаны, квашеных овощей, силоса, а также при недостаточной стерилизации — порчу консервированных грибных и мясных продуктов. Для производства масляной кислоты используют картофель, зерно, мелассу (отходы сахарного производства).

Масляноксилое брожение, как и в случае спиртового брожения, идет по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты, которая далее подвергается декарбоксилированию с образованием ацетил-КоА (рис. 2).

Основной продукт брожения — масляная кислота синтезируется в результате конденсации двух молекул ацетил-КоА. Превращение ацетил-КоА в масляную кислоту сопряжено с процессами восстановления, в которых в качестве доноров водорода используются молекулы ${\rm HA}{\rm J}{\cdot}{\rm H}_2$, образующиеся ранее в процессе гликолиза. Кроме того, одна

из молекул ацетил-КоА, присоединяя неорганический фосфат, может подвергаться фосфорилированию, превращаясь в ацетилфосфат и далее в ацетат, что сопровождается синтезом АТФ при субстратном фосфорилировании. Это третья молекула АТФ, которая синтезируется при маслянокислом брожении (две другие молекулы АТФ образуются при расщеплении глюкозы по гликолитическому пути).

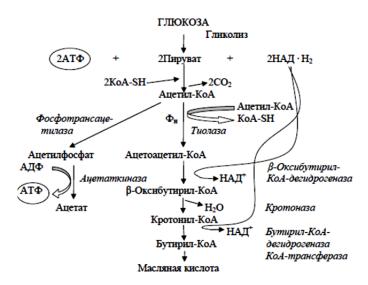


Рис. 2. Схема маслянокислого брожения

Определение энергетического выхода маслянокислого брожения и установление его уравнения затруднено из-за лабильности процесса, состоящего из двух основных ответвлений. Количественное соотношение между обоими ответвлениями зависит от многих внешних факторов (состав среды, стадия роста бактерий и др.). В целом на одну молекулу сбраживаемой глюкозы в маслянокислом брожении образуется 3,3 молекулы АТФ.

Маслянокислое брожение имеет практическое применение для получения масляной кислоты, которая используется в парфюмерной промышленности.

1.3. Молочнокислое брожение

Молочнокислое брожение вызывают молочнокислые бактерии, которые с помощью ферментов сбраживают углеводы (глюкоза, лактоза и др.) до молочной кислоты и других продуктов.

Молочнокислые бактерии широко распространены в природе (почве, на поверхности растений), входят в состав нормальной микрофлоры человека и животных. В промышленности используют культурные расы бактерий, которые имеют ряд преимуществ перед дикими формами. Молочнокислые бактерии по характеру сбраживания гексоз (глюкоза, фруктоза, манноза, галактоза), дисахаридов (лактоза, мальтоза, сахароза) и полисахаридов (декстрин, крахмал), согласно терминологии А.И. Клюйвером и Г.Л. Донкером (1925 г) относятся к гомоферментативным и гетероферментативным.

1.3.1. Гомоферментативное молочнокислое брожение

Гомоферментативное молочнокислое брожение представляет собой эволюционно самый древний и примитивный метаболический путь. Последовательность биохимических превращений осуществляется по гликолитическому пути согласно схеме Эмбдена-Мейергофа-Парнаса — по именам исследователей, внесших большой вклад в изучение этого процесса (рис. 3). Образующаяся пировиноградная кислота под действием лактатдегидрогеназы восстанавливается до молочной кислоты (\approx 90 % всех продуктов брожения). Оптическая активность, образуемого лактата различна у разных бактерий и зависит от стереоспецифичности фермента, а также от наличия в клетке лактатрацемазы, превращающую D-лактат в L-форму. Лишь небольшая часть пирувата подвергается декарбоксилированию с превращением в уксусную кислоту, этиловый спирт, углекислоту и следы ацетоина.

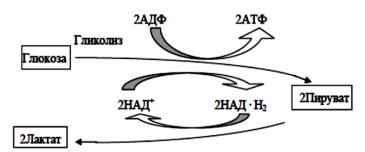


Рис. 3 Схема гомоферментативного молочнокислого брожения

Основной энергетический субстрат для молочнокислых бактерий при данном типе брожения – моносахара (преимущественно, глюкоза) и дисахара (лактоза, мальтоза).

Возбудителями гомоферментативного молочнокислого брожения являются молочнокислые бактерии *Streptococcus cremoris, S. lactis, Lactobacillus bulgaricus, L. lactis* и др. Гомоферментативные молочнокислые бактерии включают морфорлогически разные группы — кокки (роды *Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus*) и палочковидные формы (род *Lactobacillus*).

Представители Гомоферментативных молочнокислых кокков рода Lactococcus образуют в основном молочную кислоту в конфигурации D—, а рода Pediococcus в конфигурации DL—. Представители рода Lacto-bacillus образуют разные формы молочной кислоты D—, L—, DL—.

1.3.2. Гетероферментативное молочнокислое брожение

Процесс гетероферментативного молочнокислого брожения более сложный, чем гомоферментативного типа. При этом типе брожения расщепление углеводов происходит по пентозофосфатному пути. Конечными акцепторами водорода являются пировиноградная кислота и ацетальдегид. Из пировиноградной кислоты образуется молочная кислота и этанол, а ацетилфосфат обладает фосфат на АДФ, превращаясь в уксусную кислоту.

Так в процессе гетероферментативного брожения кроме лактата образуются уксусная кислота, этиловый спирт (иногда, глицерин, маннит), углекислого газа и иные побочные продукты.

Возбудителями гетероферментативного молочнокислого брожения являются палочковидные лактобациллы из родов Lactobacillus (Lactobacillus brevis) и Streptobacterium, вариабельные по форме Bifidobacterium (Bifidobacterium bifidum) и кокковые род Leuconostoc (Leuconostoc mesenteroides) и др.

Молочнокислое брожение находят широкое применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека в процессе приготовления кисломолочных продуктов, в хлебопечении, квашения овощей и фруктов, для силосования кормов, биологической выделки кож и т. п.

Таким образом, анализируя рассмотренные типы брожений, можно заключить, что наиболее выгодным для клетки с энергетической точки зрения, является маслянокислое. В этом случае при потреблении одной молекулы глюкозы образуется в среднем 3,3 молекулы АТФ.

Лабораторная работа № 1 «Спиртовое брожение»

Цель: познакомиться с процессом и качественными реакциями спиртового брожения, с морфологией возбудителей этого вида брожения.

Материалы и оборудование

Оборудование и посуда: водяная баня, термостат, спиртовка, штатив с лапкой, пробка с газоотводной трубкой, плоскодонная термостой-кая колба на 200–250 см³.

Растворы: 10 % раствор сахарозы, 10 % раствор NaOH, йод кристаллический, насыщенный раствор $Ca(OH)_2$, конц. H_2SO_4 , крист. $K_2Cr_2O_7$.

Объект исследования: дрожжи пекарские (1 г). **План работы:**

- 1. Познакомиться с процессом спиртового брожения.
- 2. Провести и записать качественные уравнения реакций.

Размножение дрожжей происходит в присутствии углеводов (глюкоза, сахароза) в аэробных условиях при оптимальных температурах 25–35 °C. Спиртовое брожение идет в анаэробных условиях, образующийся спирт вреден для дрожжей, и при его накоплении брожение прекращается.

Экспериментальная часть

Для изучения процесса спиртового брожения готовят суспензию дрожжей. Для этого в колбу на 250 см³ вносят 20 см³ 10 % раствора сахарозы и 2 г пекарских дрожжей. Колбу закрывают ватно-марлевой пробкой и выдерживают 1 час в термостате при 30°C.

1. Качественные реакции процесса брожения

1.1. Определение этилового спирта

К 10 см³ исследуемой суспензии в пробирку добавить 1–2 см³ раствора 10 % щелочи и подогреть на спиртовке, не доводя до кипения. После этого в пробирку внести несколько кристалликов йода и снова нагреть над пламенем горелки. В присутствии спирта выпадает желтый осадок с характерным запахом.

Качественные реакции:

$$C_2H_5OH+4J_2+6NaOH = CHJ_3 \downarrow +HCOONa + 5NaJ + 5H2O$$

 $C_2H_5OH+4J_2=CJ_3CHOHJ + 4HJ$
 $CJ_3CHOHJ = CJ_3COH + HJ$
 $CJ_3COH + NaOH = HCOONa + CHJ_3 \downarrow$

1.2. Определение уксусного альдегида

В пробирку к 2-3 см³ исследуемой суспензии вносят кристаллик $K_2Cr_2O_7$ и добавляют 2-3 капли конц. H_2SO_4 . Смесь нагревают над пламенем спиртовки. Вследствие восстановления хрома, происходит изменение цвета с оранжевого на зеленый. Выделяющийся уксусный альдегид ощутим по запаху.

Качественная реакция

$$K_2Cr_2O_7 + 4H_2SO_4 + 3C_2H_5OH = K_2[Cr_2(SO_4)_4] + 3CH_3COH + 7H_2O$$

1.3. Определение углекислого газа

В колбу емкостью 250 см^3 наливают 50 см^3 10 % раствора сахарозы вносят 10 см^3 исследуемой дрожжевой суспензии. Колбу плотно закрывают пробкой с изогнутой трубкой и помещают на водяную баню (35–40 °C). Нижний конец трубки погружают в пробирку с насыщенным раствором $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (рис. 4).

Через несколько минут в пробирке с известковой водой начинают поступать пузырьки газа. Следят за выделением пузырьков и помутнением жидкости. Известковая вода начинает интенсивно мутнеть за счет образования карбоната кальция.

Лабораторная работа № 2 «Молочнокислое брожение»

Цель: познакомиться с химизмом молочнокислого брожения, с качественными реакциями на молочную кислоту, с морфологией молочнокислых бактерий.

План работы:

- 1. Сделать качественные реакции на молочную кислоту, записать уравнения реакций.
- 2. Определить кислотность молока, вычислить количество молочной кислоты в 100 мл молока и увеличение кислотности по мере скисания молока.
- 3. Познакомиться с морфологией молочнокислых бактерий. Приготовить препараты, окрасить метиленовым синим и по Граму, рассмотреть с иммерсией, зарисовать.

Материалы и оборудование:

Посуда: колбы на 50 см³, пипетки на 10 см³, фильтровальная бумага, вата, предметные стекла, спиртовки, микроскопы, промывалки.

Растворы:0,1н NaOH, насыщенный раствор CuSO₄, 5% KMnO4, 10% аммиачный раствор AgNO3, конц. H_2SO_4 , раствор фенолфталеина, водный раствор метиленового синего, жидкость Никифорова, раствор генцианвиолета, раствор Люголя, 96% этиловый спирт, раствор карболового фуксина, дистиллированная вода.

Объекты исследования: свежее и кислое молоко, кефир.

Молоко благоприятная среда для развития микроорганизмов, поэтому при соответствующих температурных условиях микроорганизмы в молоке активно размножаются. При соблюдении санитарных правил в молоке преобладают микрококки, молочнокислые бактерии, стрептококки, сарцины. Загрязненное молоко содержит значительное количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП), а также гнилостных и маслянокислых бактерий. Во время хранения количество содержащихся в нем бактерий и соотношение между отдельными их видами. Характер этих изменений зависит от продолжительности, температуры хранения и состава микрофлоры в молоке в начале его хранения.

1. Качественная реакция на молочную кислоту

Принцип реакции состоит в переводе молочной кислоты в уксусный альдегид в кислой среде в присутствии перманганата и взаимодействии альдегида с аммиачным серебром, дающего реакцию «серебряного зеркала». Аммиачный раствор нитрата серебра готовят следующим

образом: к 1–2 см³ 10% раствора нитрата серебра в пробирке по каплям приливают аммиак, что приводит к выпадению осадка оксида серебра, постепенно растворяющего в избытке аммиака.

В коническую колбу на 250 см^3 фильтруют через бумажный складчатый фильтр кислое молоко. К 5 см³ фильтрата добавляют 2 см³ раствора концентрированной H_2SO_4 . Коническую колбу помещают на плитку и доводят до кипения. Аккуратно снимают колбу с плитки и по каплям прибавляют 5 см³ 5 раствора КМпO₄.

В этих условиях происходит окисление молочной кислоты перманганатом калия до уксусного альдегида:

$$2KMnO_4 + 3H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 3H_2O + 3O_2$$

 $CH_3CHOHCOOH + 5[0] = 5CH_3COH + 5CO_2 + 5H_2O.$

Для проведения характерной реакции быстро покрывают горлышко колбы фильтровальной бумагой, смоченной аммиачным раствором нитрата серебра. Фильтровальную бумагу аккуратно прижимают к краям колбы, продолжая нагревание. Уксусный альдегид улетучивается, его пары поступают в поры фильтровальной бумаги, и вступает в реакцию с аммиачным раствором нитрата серебра. На бумаге появляются серебристые разводы, за счет образования металлического серебра.

$$CH_3COH + 2[Ag(NH_3)_2]OH + 3H_2O = CH_3COOH + 2Ag + 4NH_4OH$$

2. Определение количества молочной кислоты

Количество молочной кислоты (кислотность молока) определяют методом титрования и по разности между объемами 0,1н раствора щелочи, пошедшего на титрование культуральной среды до и после роста бактерий. Кислотность выражают в градусах Тернера (°Т) или процентах молочной кислоты. Градус Тернера— условная величина, и соответствует 1 см³ 0,1н раствору NaOH, израсходованного на нейтрализацию 100 см³ молока. Поскольку известно, что молекулярная масса молочной кислоты составляет 90, то для приготовления 1 л 1н раствора требуется 90 г молочной кислоты, значит в 1 см³ 0,1н раствора содержится 0,009 г кислоты, что соответствует °Т.

Кислотность рассчитывают по следующему выражению:

$$X = \frac{V_{\text{шелочи}} \cdot 100}{V_{\text{аликвоты}}}.$$

Общее содержание молочной кислоты выражается в процентах.

Кислотность парного молока колеблется от 10 до 25 °Т. Предельная кислотность молока колеблется от 110 до 115 °Т.

Для определения кислотности в коническую колбу объемом 250 см³ вносят 50 см³ свежего молока. Из колбы с помощью пипетки отбирают аликвоту 10 см³. Колбу плотно закрывают ватно-марлевой пробкой и помещают в термостат (30–35 °C) на 3–7 дней. Аликвоту помещают в коническую колбу на 50 см³ куда добавляют 20 см³ дистиллированной воды и 2–3 капли фенолфталеина для установления исходной кислотности. Смесь тщательно взбалтывают и титруют 0,1н раствором щелочи до слаборозовой окраски индикатора.

Рассчитывают исходную кислотность по уравнению 1 и кислотность через 3 дня. Делают вывод о влияние кислотности на качество молока.

Лабораторная работа № 3 «Маслянокислое брожение»

Цель: познакомиться с химизмом маслянокислого брожения, с качественными реакциями на масляную кислоту, с морфологией маслянокислых бактерий.

План работы:

- 1. Выделить культуру маслянокислых бактерий.
- 2. Познакомится с химизмом маслянокислых бактерий. Сделать качественные реакции на масляную кислоту, записать уравнения реакций.
- 3. Познакомиться с морфологией маслянокислых бактерий. Приготовить препараты «раздавленная капля», окрасить по Граму, рассмотреть с иммерсией, зарисовать.

Материалы и оборудование:

Посуда: пробирки на 20 см³, пипетки на 10 см³, фильтровальная бумага, вата, предметные стекла, спиртовки, микроскопы, промывалки.

Растворы: раствор 5 % FeCl₃, 96 % этиловый спирт, конц. H_2SO_4 , раствор Люголя, раствор карболового фуксина, дистиллированная вода.

Объекты исследования: картофель.

Маслянокислое брожение — сложный процесс превращения углеводов в масляную кислоту и другие продукты, совершаемый группой анаэробных спороносных бактерий рода *Clostridium*. Распаду подвергаются не только сахара, но и более сложные углеводы под действием сложных различных активных ферментов маслянокислых бактерий.

Схематично процесс можно выразить следующим образом:

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{маслянокислое брожение}} CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$$

Образующаяся масляная кислота в невысоких концентрациях является стимулятором роста растений.

1. Выделение маслянокислых бактерий

Для получения культуры маслянокислых бактерий рода *Clostridium* за 5 дней до начала занятий закладывают опыт. Неочищенный промытый картофель нарезают ломтиками и помещают в 5 пробирок. Пробирку заполняют на 1/3 объема. В пробирки добавляют щепотку мела, и заполняют дистиллированной водой на 2/3 объема. Пробирки аккуратно помещают в водяную баню при температуре 80 °C на 10–15 мин. После этого закрывают ватно-марлевыми пробками и ставят в термостат с температурой 35 °C на 5 дней. В этих условиях уже через два-три дня в жидкости обнаруживают бактерии маслянокислого брожения. Культура мас-

лянокислых бактерий является при этом элективной. Для их преимущественного развития созданы анаэробные условия, бесспоровые формы других видов, убиты предварительным нагреванием, добавка мела нейтрализует образующиеся кислоты и способствует развитию бактерий.

2. Качественные реакции на масляную кислоту

2.1. К 3–4 см³ исследуемой жидкости в пробирку добавляют 0,5 см³ 96 % этилового спирта и 1–2 капли концентрированной серной кислоты. Содержимое пробирки хорошо взбалтывают и нагревают над пламенем горелки. В присутствии масляной кислоты появляется запах масляно-этилового эфира, напоминающий запах ананаса:

$$CH_3(CH_2)_2COOH + CH_3CH_2OH = CH_3(CH_2)_2COOCH_2CH_3 + H_2O$$

2.2. К 5 см³ исследуемой жидкости добавить 2 см³ 5%-го раствора FeCl_{3.} Содержимое пробирки хорошо взбалтывают и нагревают над пламенем горелки. При нагревании образуется маслянокислое железо коричневого цвета:

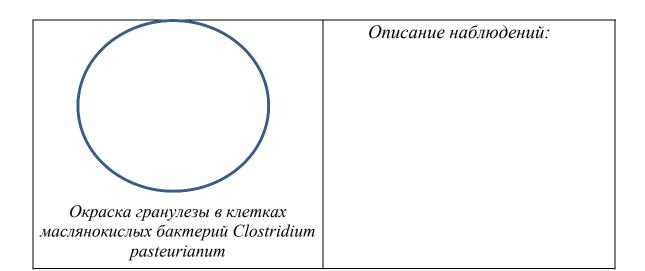
$$CH_3(CH_2)_2COOH + FeCl_3 = [CH_3(CH_2)_2COO]Fe + 3HCl$$

3. Микроскопическое исследование маслянокислых бактерий

В исследовании жидкости при микроскопировании обнаруживают главным образом *Clostridium pasteurianum*, подвижные палочки с закругленными концами, одиночные и парные. В клетках этих бактерий содержится гранулеза. В старых культурах у одного из концов клетки обнаруживают спору.

Для определения гранулез в клетке бактерий готовят препарат «Раздавленная капля».

- 1. На центр чистого обезжиренного предметного стекла пипеткой наносят каплю исследуемой жидкости. Каплю суспензии берут со дна пробирки трубочкой.
- 2. Этой же пипеткой равномерно, очень тонким слоем распределяют суспензию на 1/5 центральной части поверхности предметного стекла.
- 3. На предметное стекло наносят каплю концентрированного раствора Люголя и выдерживаю в течение 30 с. Промывают водой и накрывают покровным стеклом.
- 4. Микроскопируют при увеличении 100x с масляной иммерсией. Гранулеза окрашивается раствором Люголя в синий цвет.



Требования к оформлению отчета

Отчет по лабораторной работе должен включать в себя:

- 1) Титульный лист;
- 2) Цели выполнения лабораторной работы;
- 3) Основную часть (краткая характеристика объекта исследований; методика, результаты наблюдений и расчетов, представленные в форме таблиц, рисунков).
- 4) Обсуждение результатов выполнения лабораторной работы в виде кратких обоснований, разъяснений, анализов, оценок, обобщений и выводов.

Учебное издание

ТИПЫ БРОЖЕНИЯ. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ СПИРТОВОГО, МОЛОЧНОКИСЛОГО, МАСЛЯНОКИСЛОГО БРОЖЕНИЯ

Методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплинам «Микробиология», «Фармакология, биохимия, микробиология» и «Биотехнология»» для студентов ИПР, ИФВТ дневной формы обучения

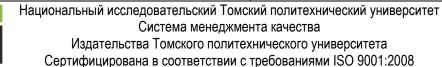
Составитель

АСТАШКИНА Анна Павловна

Издано в авторской редакции

Компьютерная верстка Д.В. Сотникова

Подписано к печати 12.10.2015. Формат 60х84/16. Бумага «Снегурочка». Печать XEROX. Усл. печ. л. 1,05. Уч.-изд. л. 0,95. Заказ 405-15. Тираж 100 экз.





ИЗДАТЕЛЬСТВО ТПУ. 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30 Тел./факс: 8(3822)56-35-35, www.tpu.ru