

ҮК Мік 2209 Микробиология

Зертханалық жұмыс № 9

Тақырып: Тағам өнімдерінің микрофлорасын зерттеу

Зертханалық жұмыстың мақсаты: Тағам өнімдерінің микрофлорасын бөлу және анықтау әдістерін үйрену. Тағам өнімдеріндегі микробиологиялық контаминацияның түрлерін анықтау. Микрофлораның тағам өнімдерінің сапасы мен қауіпсіздігіне әсерін зерттеу. Бактерияларды практика жүзінде идентификациялау үшін бөліп алған культуралардың тазалығын зерттеу.

Зертханалық жұмыстың міндеті: бөліп алған бактерия культураларының тазалығын анықтау.

Жұмысқа қажетті материалдар мен құралдар:

- Тағам өнімдері (сүт, ет, көкөніс, жемістер, консервілер және т.б.)
- Қоректік орта (плотон агар, МРС агар, Сабуро агар және т.б.)
- Петрир табақшалары
- Сынауықтар, пипеткалар
- Инкубатор
- Микроскоп
- Стерилизациялық құралдар (автоклав, дезинфекциялау сұйықтықтары)
- Лабораториялық халат, қолғап, көз қорғаныш құралдары

Жұмыстың барысы:

Үлгі Дайындау: Тағам өнімдерінен үлгілерді алыңыз. Үлгілердің таңдауына байланысты, оларды кесіп, ұсақтап, стерильді сынауықтарға салыңыз.

Үлгілерді стерильді физиологиялық ерітіндімен (0,9% натрий хлориді ерітіндісі) сұйылтыңыз және жақсылап араластырыңыз.

Қоректік Ортаға Егу: Стерильді пипеткалармен немесе ауыстырғыштармен сұйылтылған үлгілерді қоректік ортаға егіңіз.

Егу әдістерін (күю, жырту, штамптау) қолдана отырып үлгілерді қоректік ортаға орналастырыңыз.

Культивирлеу: Петрир табақшаларын немесе басқа ыдыстарды инкубаторға орналастырыңыз.

Инкубацияның температурасы мен уақытына байланысты, әдетте 24-48 сағат 30-37°C температурада культивирленеді.

Колонияларды Зерттеу: Өсіп жатқан колонияларды бақылап, олардың морфологиялық сипаттамаларын сипаттаңыз (түсі, пішіні, өлшемі).

Колониялардың микроскоппен тексеріңіз. Әртүрлі микроағзалардың ерекшеліктерін анықтаңыз (грам бояу, қозғалғыштық, споралар және т.б.).

Микрофлораны Анықтау: Колонияларды сандық және сапалық тұрғыдан сипаттаңыз.

Микробиологиялық идентификация әдістерін қолдана отырып микроағзалардың түрлерін анықтаңыз (биохимиялық тесттер, ПТР және т.б.).

Нәтижелерді Талдау: Тағам өнімдеріндегі микробиологиялық контаминацияның түрлерін және олардың концентрацияларын бағалаңыз.

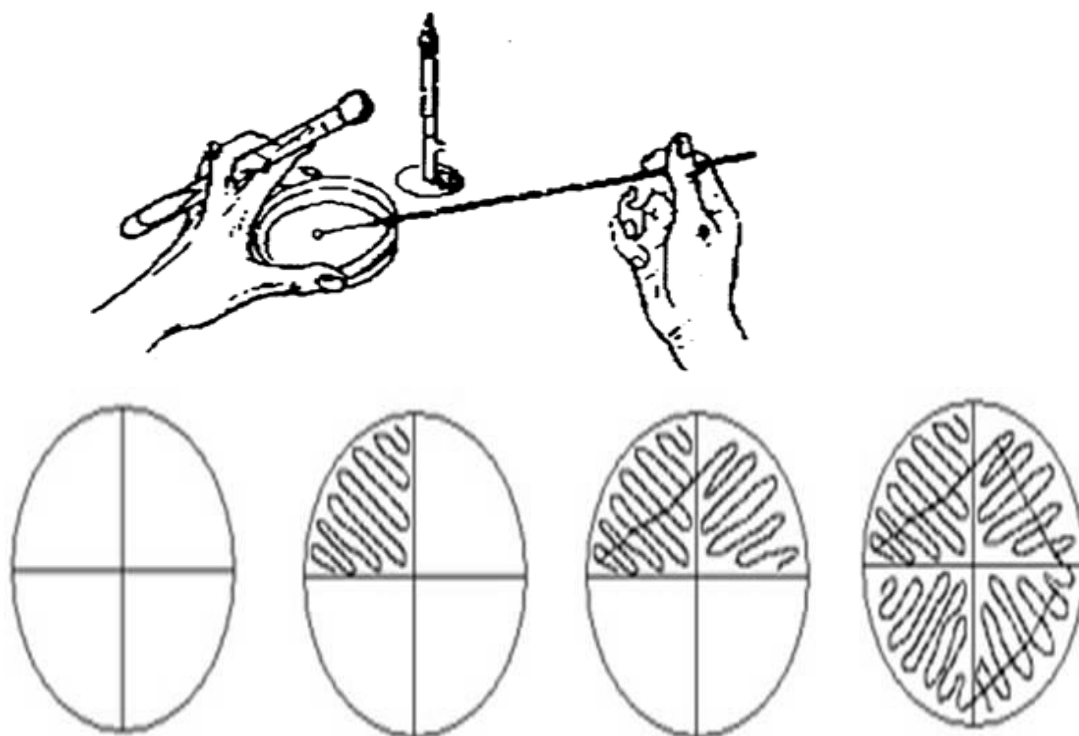
Микрофлораның тағам өнімдерінің сапасы мен қауіпсіздігіне әсерін зерттеңіз.

Микроорганизмдердің тазалығы мұқият тексерілуі керек. Ол әдетте бірнеше әдістерді қолдану арқылы жүзеге асады: көзбен көру, микроскоптан бақылау және тығыз қоректік орталарға егу.

Микроорганизмдердің тазалығын міндетті түрде микроскоптан бақылау керек. Ол үшін клеткалардан бекітіліп боялған препарат дайындап, иммерсиялық жүйеде қарау керек немесе тірі клеткалардан жаншылған тамшы препаратын жасап, фазалы-контрастылы құралды пайдаланып қарау керек. Көпшілік микроорганизмдердің таза культуралары морфологиялық тұрғыда біркелкі болу керек. Бірақ кейбір бактериялардың, мысалы: микобактериялардың, нокардия және т.б. клеткалары өзгермелі болып келеді. Осыған байланысты мұндай культураларды микроскоптан қарағанда біраз қиындықтар туғызады. Сондықтан да ең алдымен бөліп алған культураны қолайлы ортаға егеді. Өсіп шыққан колониялардың біркелкілігі зерттеліп отырған культураның тазалығын көрсетеді. Ол екі жолмен жүзеге асады.

Шпательмен жаймалап егу. Зерттеліп отырған бактерия культурасының клетка үлгісін микробиологиялық тұзақ арқылы алып тиісті орта құйылған Петри табақшаларының біреуіне салады. Содан кейін оны шпательмен жаймалайды, сосын сол шпателді бірден екінші табақшаға екінші, үшінші табақшаларға жайып егеді. Бұл әдістің негізінде клеткаларды сирету жатыр. Себебі микроорганизмді бір табақшадан екінші және үшінші табақшаға шпательмен бірінен кейін біріне еккенде клетка сирейді. Өсіп шыққан колониялардың біркелкілігі клеткалардың тазалығын, көрсетеді.

Тұзақпен сиретіп егу. Бактерия клеткасын тұзақпен алып сызық бойымен сирете егу жүргізеді (24-сурет). Әрбір жаңа сызықты жүргізгенде, тұзақты оттың жалынында залалсыздандырады. Егу жүргізіп болған соң барлық Петри табақшаларын микроорганизмдердің өсу жылдамдығына сәйкес термостатқа 1-7 тәулік мерзімге қояды. Жеке колониялар өсіп шығуына кедергі келтіретін судың конденсаты пайда болмау үшін табақшаның қақпағын төмен қаратып қояды. Микроорганизмдердің тазалығын сызық бойы немесе өсіп шыққан жеке колониялардың біркелкілігінен анықтауға болады.



Сурет 24- Бактериялардың тығыз қоректік ортасында сызық (штрих) бойымен егу.

Тығыз қоректік орталарға егу әдісі (Кох әдісі)

Әдістің мәні зерттеліп отырған белгілі микроорганизм суспензиясын Петри табақшасына қатты қоректік ортаға егіп, өскен колонияларды санау болып табылады. Кохтың қағидасы бойынша мұндағы әр колония бір жасушаның көбею нәтижесі ретінде саналады. Зерттелетін суспензияның белгілі көлемін қатты қоректік ортаға егу арқылы өсіп шыққан колониялардың саны негізінде бастапқы құрамында қанша микроорганизм жасушалары болғандығын айтуға мүмкіндік береді. Көбінесе Кох әдісі бойынша жүргізілген микроорганизмдерді сандық анықтау нәтижелерін жасуша саны арқылы емес, колония түзетін бірлік (КТБ) ретінде көрсетеді.

Егу 3 кезеңнен тұрады: сұйылту дайындау, Петри табақшасына тығыз қоректік орталарға отырғызу, өскен колонияларды санау.

Өскен колонияларды санау. Өсу жылдамдығына байланысты Петри табақшасында өскен колониялардың санын дақылдаудың 1-15 тәулігінен кейін санайды. Табақшадағы колониялардың орташа санын анықтайды да формула бойынша 1 мл-дегі жасушалар санын есептейді:

$$M = \frac{a \cdot 10^n}{V}$$

мұндағы M - 1мл-дегі микроорганизм жасушаларының саны; a - Петри табақшасындағы микроорганизмдер колониясының орташа саны; 10 - сұйылту коэффициент; n - егу жүргізілген сұйылтудың реттік саны; v - егуге алынған суспензияның көлемі.

Қажетті құралдар мен материалдар:

ЕПА ортасы құйылған табақшалар, Дригальский шпателі, залалсыздандырылған тұзақтар, заттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар.

Тапсырмалар:

1. Бөліп алған бактерия культураларының шпательмен жаймалап егу арқылы тазалығын анықтау.
2. Бөліп алған бактерия культураларының шпательмен тұзақпен сиретіп егу арқылы тазалығын анықтау.

Бақылау сұрақтары:

1. Тағам өнімдерінен микрофлораны зерттеу үшін қандай қоректік орта қолданылады және олардың ерекшеліктері қандай?
2. Микробиологиялық контаминацияның қандай түрлері тағам өнімдерінде кездеседі және оларды қалай анықтауға болады?
3. Микрофлораның тағам өнімдерінің сапасы мен қауіпсіздігіне әсерін бағалау үшін қандай әдістер мен құралдар қажет?
4. Тағам өнімдерінің микрофлорасын зерттеу кезінде қандай стерильділік шараларын сақтау қажет?
5. Колонияларды сипаттау және микроскоп арқылы зерттеу кезінде қандай ерекшеліктерді назарға алу керек?