

SH. I. HAKIMOVA

OZIQ-OVQAT MIKROBIOLOGIYASI

*O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus
ta'lim vazirligi oliy o'quv yurtlari talabalari uchun o'quv
qo'llanma sifatida tavsiya etgan*

Taqrizchilar:

Toshkent milliy universitetining
tuban o'simliklar va mikrobiologiya kafedrası
mudiri, biol. fanlari doktori, prof. **A.X. Vaxobov**,
Toshkent kimyo-texnologiya instituti professori,
texn. fanlari doktori **S.X. Abdurazakova**

M u h a r r i r: S. Mirzaahmedova

Ushbu o'quv qo'llanmaning umumiy qismida zamonaviy mikroskopiya usullari, ozuqa muhitlarini tayyorlash, mikroorganizmlarning sof to'plamlarini ajratib olish, ularning turlarini o'rganish va miqdorini hisoblash masalalari yoritilgan.

O'quv qo'llanmaning ikkinchi qismi oziq-ovqat mikrobiologiyasiga taalluqli bo'lib, unda oziq-ovqat sanoatining turli sohalarida mikrobiologik nazorat olib borish haqidagi ma'lumot berilgan.

Kitobdan oziq-ovqat mutaxassisliklari bo'yicha ta'lim olayotgan talabalar (bakalavr, magistrlar), shuningdek barcha oziq-ovqat korxonalaridagi mikrobiologiya laboratoriyalari xodimlari qo'llanma sifatida foydalanishlari mumkin.

ISBN 5640-02202-7

H 4001010000 - 91 2005
M 351(04)2005

© «O'ZBEKISTON» nashriyot-matbaa
ijodiy uyi. T., 2005 y.

Mazkur laboratoriya amaliyoti o‘quv qo‘llanma sifatida oziq-ovqat mutaxassisliklari bo‘yicha kunduzgi hamda sirtqi bo‘limlarda bakalavrluk va magistrlik darajalari uchun ta‘lim olayotgan talaba-texnologlarga mo‘ljallangan. Laboratoriya amaliyoti umumiy va maxsus bo‘limlardan tashkil topgan.

Laboratoriya mashg‘ulotlari talabalarga mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash ko‘nikmalariga ega bo‘lish va ba‘zi nazariy kurs masalalarini chuqurroq o‘rganish imkonini beradi.

Umumiy bo‘limda talabalar oziq-ovqat korxonalarida mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish, uning asbob-uskunalaridan, zamonaviy mikroskopdan foydalanish hamda mikrobiologiya tadqiqotlari texnikasi bilan tanishadilar. Laboratoriya ishlarini bajarish jarayonida talabalar ozuqa muhitlarini tayyorlash va ularni sterillash usullarini o‘rganadilar, shuningdek mikroskopda ko‘rish usullarini o‘zlashtiradilar. Mikroorganizm to‘plamlari bilan ishlash qoidalari, ayniqsa, jamg‘arma mikroorganizmlarni va toza to‘plam ajratish usullarini o‘zlashtiradilar. Shuningdek, talabalarga mikroorganizmlarni identifikatsiyalashda qo‘llaniladigan, ularning morfologik-kultural va fiziologik-biokimyoviy xossalari to‘g‘risida ma‘lumotlar beriladi. Talabalar mikroorganizmlarni o‘stirish, ularning miqdorini hisobga olish hamda modda almashinuvi mahsulotlarini tahlil qilish usullari bilan tanishadilar.

Maxsus bo‘limda mikroorganizmlarning oziq-ovqat sanoati tarmoqlarida ishlatiladigan foydali turlari hamda texnologik jarayonlarni buzuvchi va oziq-ovqat mahsulotlarining aynishiga sabab bo‘luvchi zararli mikroblar tavsifi

berilgan. Talabalar xom ashyo, ishlab chiqarish substratlari va tayyor mahsulotni mikrobiologik tahlil qilish usullari, ishlab chiqarishning mikrobiologik va sanitariya-gigiyena nazoratini tashkil etish jarayoni bilan tanishadilar. Bu esa ularga kelgusida ishlaydigan tarmoqlarining mikrobiologik asoslarini chuqurroq o'rganishlarida katta yordam beradi.

Laboratoriya amaliy mashg'ulotlari faol o'tishi kerak. Buning uchun talabalar o'rganiladigan masalalar bilan oldinroq tanishishlari lozim. Mashg'ulot vaqtida o'qituvchi qisqa muddatli so'rov yo'li bilan talabalar materialni qay darajada o'zlashtirganliklarini aniqlaydi, tegishli joylarni tushuntiradi. Ish natijalarini daftarga qayd qiladi. O'qituvchi barcha mikroorganizmlar qalam bilan (lozim bo'lsa rangli qalamlar bilan) chizilganligini tekshirib chiqadi.

Mikrobiologiya laboratoriyasida talaba saranjom-sarishta bo'lishga o'rganishi, mikroob to'plamlari va stolda turgan barcha narsalar bilan to'g'ri muomala qilishi kerak. Ish tugagandan keyin talaba ish joyini yig'ishtirishi va qo'lini yuvishi lozim.

Qo'llanmada mashg'ulotlar soni o'quv rejasida ko'zda tutilganidan ko'p. Bu esa talabalarga dastur talablaridan kelib chiqqan holda, tanlagan mutaxassisliklari va konkret sharoitga yaqin bo'lganlarini tanlab olish imkonini beradi.

Muallif kitobxonlarning mazkur qo'llanmaga doir bildirgan barcha tanqidiy mulohazalari va takliflarini minnatdorlik bilan qabul qiladi. Bunday taklif va mulohazalar kelgusidagi ishlarda e'tiborga olinadi.

UMUMIY QISM

1. MIKROBIOLOGIYA LABORATORIYASI

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Mikrobiologiya laboratoriyasining joylashishi, maxsus xonalarda qanday ishlar bajarilishi va jihozlanishini o'rganish. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari bilan tanishish.

1.1. Laboratoriyaning joylashishi va jihozlanishi

Belgilangan maqsadga qarab (o'quv, ilmiy-tadqiqot, ishlab chiqarish) mikrobiologiya laboratoriyasi bir necha xonalardan tashkil topadi: mikroskopda ko'rish ishlari uchun mo'ljallangan xonalar, biokimyo laboratoriyasi, sterillash xonasi, yuvish xonasi, ozuqa moddali muhitlarni pishirish xonasi va termostat xonasi. Barcha xonalar quruq, yorug', yaxshi shamollatilgan, gaz, sovuq va issiq suv hamda ularni chetga chiqarish qurilmasi bilan ta'minlangan bo'lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriyasida talabalar o'quv va ilmiy-tadqiqot ishlarini amalga oshiradilar. Stollar deraza yaqinida, imkon qadar ko'proq yorug'lik tushishiga mo'ljallab joylashtiriladi. Mikroskopda ko'rish ishlari uchun yorug'lik bir tekisda taqsimlangan bo'lishi kerak. To'g'ri tushayotgan quyosh nurlari ko'zni charchatadi, ko'rish qobiliyatiga, optik asboblardan va mikroorganizmlarga zarar yetkazadi. Xona devorlari och rangli moyli bo'yoqlar bilan bo'yaladi. Pol esa lenoleum yoki oson yuviladigan plitalar bilan qoplanadi. Stollarning balandligi 0,7 m dan oshmasligi kerak. Stollarning yuza qismi yuvish va dezinfeksiya qilish oson bo'lishi uchun plastik yoki lenoleum bilan qoplanishi lozim. Ish jarayonida foydalaniladigan stul va kursilar vintli bo'lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriya xonasi bir kunda ikki marta nam latta bilan artib chiqiladi. Pol, devorlar va mebel vaqti-

vaqti bilan changyutgich bilan tozalanadi va 2—3% li soda aralashmasi (natriy bikarbonat), 3—5% li fenol yoki lizol aralashmasi (yashil sovun qo'shilgan fenol preparati), 0,5—0,3% li xloramin aralashmasi bilan artib chiqiladi. Bundan tashqari, bir oyda ikki-uch marta, ayniqsa mitselial zamburug'lar bilan ishlangandan keyin, laboratoriya xonalarida havodagi va turli yuzalardagi mikroorganizmlarni yo'q qilish uchun 30 minutdan bir necha soatgacha ultrabinafsha nurlanishli bakteritsid chiroqlar bilan ishlov beriladi. Shuni unutmaslik kerakki, ultrabinafsha nurlar ko'z shoh pardasining o'tkir yallig'lanishiga olib kelishi mumkin. Bunda, nur ta'sir qilgandan so'ng, ko'p o'tmasdan ko'zdan yosh oqishi va yorug'likdan qo'rqish kabi belgilar yuzaga keladi. Shu boisdan ham himoya ko'zoynaklaridan foydalanish lozim. Bakteritsid chiroq yoqilgan kichik xonalarda o'tirish mumkin emas.

Mutlaq sterillikni talab etuvchi ba'zi ishlar (toza to'plamlarni qayta ekish, mikroorganizm to'plamlarini ajratish, ekish, ilmiy tadqiqot ishlari) izolyatsiya qilingan maxsus xonalar — bokslarda amalga oshiriladi. Boks oldida maxsus dahliz (tambur) bo'lib, tashqaridan havo va u bilan birga mikroorganizmlar kirmaydigan qilib oynalangan bo'lishi kerak. Boks devorlari plitalar bilan qoplanishi yoki moyli oq bo'yoq bilan bo'yalishi, poli esa lenoleum bilan qoplanishi kerak. Boksdan stol, stullar, gaz gorekalari joylashtiriladi, bakteritsid chiroqlar osib qo'yiladi yoki qo'zg'aluvchan kronshteynga mahkamlanadi. Boks xonalari vaqti-vaqti bilan yuvib turiladi va dezinfeksiya qilinadi. Xona yig'ishtirilgandan keyin, ish boshlashdan oldin, poldan 2 m balandlikda joylashtirilgan bakteritsid chiroqlar bilan nurlantiriladi.

Biokimyo laboratoriyasi kimyo stollari, havosi almashinadigan shkaflar, idish va reaktivlar uchun shkaflar, shuningdek zaruriy asboblari — fotoelektrokolorimetrlar (FEK), spektrofotometr, pH-metr, texnik va analitik tarozilar, sovutgichlar, vakuum-nasoslar va shu kabilar bilan jihozlanadi.

Preparatlar xonasida ish stollari, turli asboblari, idishlar va reaktivlar joylashtiriladigan shkaflar, sentrifuga va boshqa vibratsiya apparatlari, preparat va toza to'plamlarni saqlash uchun sovitgichlar, termostatlar joylashtiriladi.

Sterillash xonasida ozuqa muhitni va idishlarni sterillash uchun avtoklavlar, ishlatilgan laboratoriya idishlariga (tirik mikroorganizmlar qolgan kolbalar, probirkalar, pipetkalar) issiqlik bilan ishlov berish uchun alohida avtoklav, Kox apparati, quritish shkaflari, asboblari sterilizatori va stol joylashtirilishi kerak. Sterillash xonasi sterilizatorni ochgandan keyin chiqadigan bug' qoldiqlarini chiqarib yuborish uchun yaxshi ventilyatsiya moslamasi bilan jihozlangan bo'lishi lozim. Sterilizatordan chiqayotgan bug' bosim ko'tarilmasdan avval rezina naycha bilan tashqariga yoki suvli chelakka yo'naltiriladi. Eshik (oynalanmagan) va deraza tashqariga ochilishi kerak.

Yuvish xonasi issiq va sovuq suv o'tkazilgan qulay rakovina yoki vannalar, idishlarni quritish uchun stellajlar, gaz yoki elektr plitalari, ozuqa muhitlarni qaynatish uchun idishlar, tarozilar, suv distillyatorlari bilan jihozlanadi. Yuvish xonasida havoni so'ruvchi, quritish va boshqa shkaflar bo'lishi kerak. Havo so'ruvchi shkaflar suv bug'lari hamda shisha va turli idishlarni yuvishda ishlatiladigan ba'zi reaktivlarni chiqarib yuborishda kerak bo'ladi. Pol va devorlar plita bilan qoplangan bo'lishi kerak.

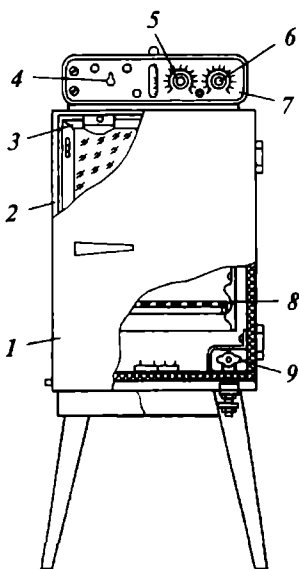
Termostat xonasida kolba va probirkalar uchun stellajlar qo'yiladi, maxsus fundamentda rotatsion tebratgichlar o'rnatiladi. Termostat xonasidagi harorat 30—45°C atrofida bo'lishi kerak.

O'quv laboratoriyasida har qaysi talabaga doimiy ish joyi va asboblari biriktirib qo'yiladi. Laboratoriya stolida mikroskop uchun yoritgich, spirt yoki gaz gorelkasi, bo'yoqlar to'plami, bakteriologik ilmoq va ignalar, probirkalar uchun shtativ, pipetkalar, shisha shpatellar, oddiy va chuqurchali buyum shishalar, qopqoq shishalar, shisha ko'prikcha va

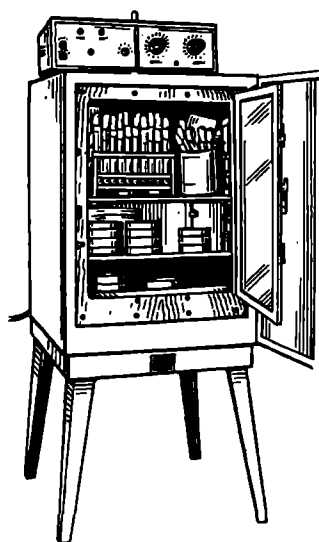
preparatlarni bo'yash uchun vannacha, doka salfetka, shishaga chizadigan qalam, immersion yog', qum soat, buyum shisha o'lchamida kesilgan filtr qog'oz, gugurt, dezinfeksiya qilish uchun suyuqlik, paxtali banka bo'lishi kerak.

Mikroskop stolga joylashtiriladi va shisha qalpoq yoki polietilen yopqich bilan berkitib qo'yiladi. Ish joiy juda toza holda saqlanishi kerak. Stolning usti lizol, 70% li (hajmi bo'yicha) etanolli xloramin shimdirilgan paxtali tampon bilan artiladi.

Apparat va asboblari. Termostatlar (1, 2-rasmlar) berilgan doimiy haroratda ozuqa muhitida mikroorganizmlarni



1-rasm. Quruq havoli elektr termostat: 1—tashqi eshik; 2—korpuz; 3—ichki eshik; 4—termostatni elektr tarmog'iga ulaydigan tumbalar; 5—haroratni aniq o'rnatish uchun potensiometr; 6—haroratni taxminiy o'rnatish uchun potensiometr; 7—boshqarish bloki; 8—tokchalar; 9—isituvchi element.



2-rasm. Termostat. Tokchalarda mikroorganizmlar ekilgan probirkalar va Petri likobchalari.

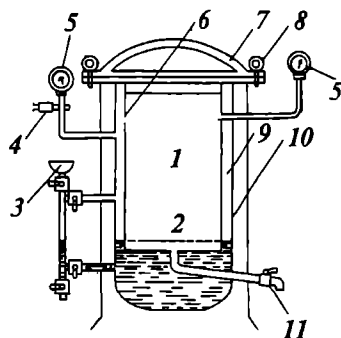
o'stirish uchun mo'ljallangan. Laboratoriyada alohida guruh mikroorganizmlarni rivojlantirish uchun talab etiladigan turli haroratli bir nechta termostat: mezofillar uchun $-28-30^{\circ}\text{C}$, termofillar uchun $-43-55^{\circ}\text{C}$, patogen mikroorganizmlar uchun -37°C li termostatlar o'rnatiladi. Termostatlar har xil shaklda, o'lchamda va tuzilishda bo'ladi. Ular unchalik katta bo'lmagan shkaf ko'rinishidan bir nechta bo'limlardan tashkil topgan politermostat yoki alohida termostat xonasigacha bo'lishi mumkin.

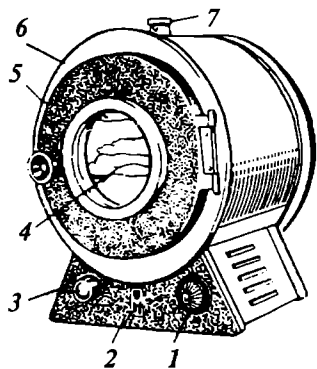
Avtoklavlar yuqori bosim ostida to'yingan bug'lar yordamida idishlar, ozuqa muhiti va boshqa materiallarni sterillash uchun mo'ljallangan. Avtoklavlar har xil konstruksiyada (vertikal, gorizontal) bo'lishi mumkin. Lekin ularning tuzilish sxemasi bir xil bo'ladi (3-rasm).

Termoregulyatorli quritish shkafi (4-rasm) laboratoriya idishlarini quritish va sterillash, turli materiallarni doimiy massasigacha quritish uchun mo'ljallangan. Quritish shkafi issiqlikka chidamli materiallardan (metall va asbest) tayyorlanadi va ishchi kamerasi 200°C gacha bo'lgan haroratga mo'ljallanadi. Shkafning ichi teshikli metall listlardan tayyorlangan polkalar bilan jihozlangan bo'lib, ularning ustiga quritiladigan idishlar yoki materiallar joylashtiriladi.

3-rasm . Avtoklavning tuzilish sxemasi:

- 1—sterilizatsiyalash kamerasi;
- 2—sterilizatsiya qilinadigan materiallarni qo'yadigan taglik;
- 3—avtoklavga suv quyish uchun voronka; 4—saqllovchi klapan;
- 5—manometr; 6—sterilizatsiyalash kamerasiga par o'tadigan teshik; 7—qopqoq;
- 8—vintli qisqich; 9—suv-parli kamera; 10—qozon; 11—suvni tushirib yuboradigan kran.





4-rasm. Quritish shkali:
 1—shkalali termoregulatorning dastasi; 2—asbobni o'chiruvchi murvat;
 3—signal beruvchi lamp; 4—taglik; 5—eshikcha;
 6—korpus; 7—termometr uchun teshik va ventilyatsiya qalpoqchasi.

Sovitgichlar ishlatiladigan yoki muzeyga oid mikro-organizmlar to'plami, ozuqa muhitlari, ba'zi bir reaktivlar va aralashmalarni $+4^{\circ}\text{C}$ atrofidagi haroratda saqlash uchun ishlatiladi.

Sentrifuga suspenziya va aralashmalarning suyuq va qattiq fazalarini ajratish uchun xizmat qiladi. Sentrifuga ikkita rotor bilan jihozlangan bo'lib, ular elektr dvigateling valiga ketma-ket o'rnatiladi: to'rtta stakanli rotor-krestovina va shisha yoki polietilen probirkalar uchun uyachalari bo'lgan burchakli rotor. Rotorlarning aylanish tezligi — 3000 dan 6000 ob/min. gacha.

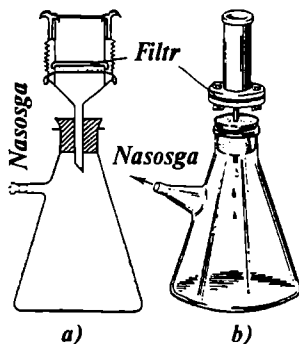
Laboratoriya pH-metri vodorod ionlarining (pH) aktivligi va oksidlanish-qaytarilish potensialini (Eh) o'lchash uchun mo'ljallangan.

Refraktomer quruq moddalar, shakar, spirt, aminokislotalar, vitaminlar va ekstrativ moddalar miqdorini aniqlash uchun ishlatiladi. Shkala sindirish ko'rsatkichini va quruq moddalar miqdorining massa % ni ko'rsatadi.

Fotoelektrokolorimetr bo'yalgan va kolloid aralashmalarining optik zichligi hamda o'tkazuvchanlik koeffitsiyentlarini o'lchash uchun qo'llaniladi. Asbob 315—630 nm spektr doirasida ensiz tasmali yorug'lik filtrlari to'plami bilan jihozlanadi. Kalorimetr — nefelometr aralashmalarining loyqalanish darajasi bo'yicha mikroorganizm hujayralari konsentratsiyasini baholash imkonini beradi.

Spektrofotometr optik zichligini hamda suyuq va qattiq moddalarining o'tkazuvchanlik koeffitsiyentlarini o'lchash uchun ishlatiladi.

Zeyts filtrlari asbest va selluloza aralashmasidan tayyorlangan, qalinligi 3—5 mm va diametri 33—140 mm bo'lgan disklardan tashkil topgan bo'lib, selluloza miqdori ortib borgan sari filtrning g'ovakligi oshadi. Filtrlar, odatda nikellangan metalldan tayyorlangan voronkaga (5-rasm) o'rnatiladi.



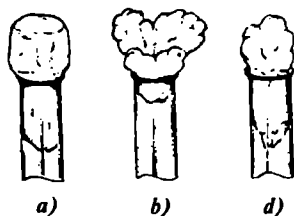
5-rasm. Zeyts filtrlari:

a—shisha tutqichli;

b—metall tutqichli.

Voronka ikki qismdan iborat: yuqori qismi silindr ko'rinishida va pastki qismi esa konus ko'rinishida bo'ladi. Ularning o'rtasiga metall to'rga asbest filtr qo'yiladi. Shundan keyin voronka burab qo'yiladi yoki maxsus vintlar yordamida zich qilib tortiladi. Ensiz tubus esa Bunzen kolbasining rezina tiqiniga o'rnatiladi.

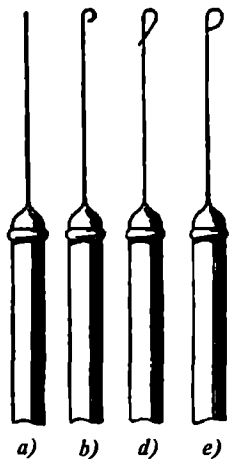
Idishlar. Mikrobiologik tadqiqotlar uchun har xil shisha idishlar talab etiladi. Petri likobchasi (diametri 10 sm, balandligi 1,5 sm) qattiq ozuqa muhitda mikroorganizmlarni o'stirishda, tebratgichga o'rnatiladigan kolbalar aerob mikroorganizmlarni o'stirishda, probirkalar va naychali kolbalar (6-rasm) bijg'ish jarayonlarini o'rganishda qo'llaniladi. Shuningdek, oddiy kimyoviy idishlardan ham keng foydalaniladi. Bular jumlasiga tubi yassi, konusimon, Erlenmeyer kolbasi, tubi dumaloq, o'lchov kolbalari; darajalangan (1,2,5,10 ml li) pipetkalar, Mor pipetkalari (1,2,5,10,20,25,50,100 ml li), kapillyarli Paster pipetkalari 18x2,0, 18x1,5, 15x1,5 sm li biologiya probirkalari (rang-



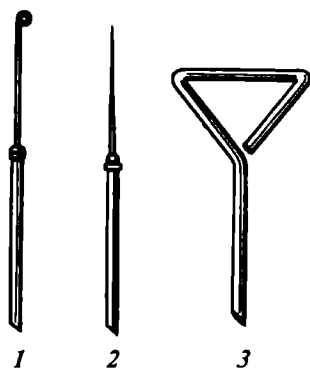
6-rasm. Paxta tiqinlarni tayyorlash:

a—to'g'ri; b va

d—noto'g'ri.



7-rasm. Mikroblarni ekishda qo'llanadigan igna (a) va ilmoq: b va d—ilmoq noto'g'ri yasalgan; e—ilmoq to'g'ri yasalgan.



8-rasm. Mikroorganizmlarni ekishda go'llanadigan asboblari:
1—mikrobiologik ilmoq;
2—mikrobiologik igna;
3—shpatel.

siz), byuretkalar, tomizg'ichlar, voronkalar, menzurka, silindr, byuks, sklyankalar kiradi.

Paxtali tiqinlarni tayyorlash. Ozuqa muhitlarni tayyorlash va sterillash hamda mikroorganizmlar to'plamini o'stirish uchun ishlatiladigan kolba va probirkalar paxtali tiqinlar (6-rasm) bilan berkitiladi. Tiqinlar qo'lda yoki maxsus mashina yordamida tayyorlanadi. To'g'ri tayyorlangan tiqin 3-5 sm uzunlikda, probirkaga zich kiradigan, mahkam va ko'p marta ishlatilganda o'z shaklini o'zgartirmaydigan bo'lishi kerak. Agar paxtali tiqinni doka bilan o'rab, yuqori qismi ip bilan mahkam bog'lab qo'yilsa, u yaxshi saqlanadi.

Jihoz. Mikrobiologiya amaliyotida ilmoqlar, ninalar, shpatellar (7-8-rasmlar), pinset, qaychi, tiqinlar uchun parma, pipetkalar uchun metall silindr, probirkalarni sterillash uchun teshikchali sim yoki metall savatchalar, probirkalar uchun plastmassa yoki metall shtativlar va shu kabi boshqa jihozlar qo'llaniladi.

Ilmoq va ninalar uzunligi 8 sm va diametri 0,4—0,5 mm bo'lgan platina, nikel yoki xromli nikel simlardan tayyorlanadi hamda shisha yoki metall ushlagichlarga payvandlanadi. Ekish uchun shpatellar 4—5 mm qalinlikdagi shisha tayoqchalardan tayyorlanadi.

1.2. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari

Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlayotganda xavfsizlik texnikasi va qoidalariga rioya qilinishi lozim. Mikrobiologiya laboratoriyasida faqat oq xalat, shapkacha yoki durrachada ishlash talab etiladi. Laboratoriyaga begona buyumlarni olib kelishga ruxsat etilmaydi. Ish joyida ortiqcha narsa bo'lmasligi kerak. Faqat bitta joyda ishlash, o'ziga birkirilgan asbob-uskunalardan foydalanish va barcha narsalarni belgilangan joyiga qo'yish lozim. Ichida mikroorganizmlar to'plami bo'lgan kolba va probirkaga siyoh bilan aniq qilib yozib qo'yilishi, reaktivlar va aralashmalar solingan idishlarga esa yorliqlar yopishtirilishi kerak. Spirtovkalar bilan ishlayotganda spirt bug'larining alanganib ketishidan ehtiyot bo'lish lozim. Spirtovkani yonib turgan boshqa spirtovkadan yondirish mumkin emas. Spirtovkani faqat maxsus qalpoqchalar bilangina o'chirish kerak. Paxtali tiqinlar yona boshlaganda ularni puflab o'chirishga harakat qilmaslik kerak. Bu yonishni kuchaytiradi, xolos. Yonayotgan tiqinni probirkaga, kolbaga tiqish yoki ustiga mato yopish kerak.

Ishni boshlashdan oldin va ish tugagach, tadqiqot o'tkazilayotgan stol usti yuviladi hamda dezinfeksiya qilinadi. Mikrob biomassasi qo'l, stol va atrofdagi narsalarni ifloslantirmasligi zarur. Ilmoqlar, ninalar va pinsetlarni mikroorganizmlarga tekkandan so'ng spirtovka yoki gaz gorelkasida kuydirish va maxsus shtativga qo'yish kerak. To'kilib ketgan mikrob suspenziyasi dezinfeksiya yordamida zararsizlantirilishi lozim.

Ish tugagandan so'ng mikroblar bilan ifloslangan idishlarni qaynatish yoki avtoklav yo'li bilan sterillab, tirik hujayralarni o'ldirish kerak. Shundan keyingina idishlarni yuvish mumkin. Mikroblar qattiq muhitning yuzasiga dezinfeksiya eritmasi quyiladi. Bir sutka o'tgandan so'ng muhitni tashlab yuborish, idishni yuvish mumkin. Ishlatilgan pipetkalar 3% li xloramin eritmasiga solib qo'yiladi va shundan keyingina ular yuviladi va sterillanadi. Buyum va qoplama shishalar ham ish tugagandan so'ng dezinfeksiya aralashmasiga solib qo'yiladi va keyin oqar suvda yaxshilab yuviladi. Idishlarni faqat rezina qo'lqoplar yordamida yuvish lozim. Mikroorganizmlar bilan pala-partish ishlash natijasida havoda mikroab aerizoli hosil bo'lishi mumkin.

Bakteritsid chiroqlar bilan ishlayotganda qora yoki oddiy himoya ko'zoynaklari taqib olish kerak. Chiroq nuriga himoyasiz ko'z bilan qarash mumkin emas. Bu ko'rish qobiliyatining yo'qolishiga olib kelishi mumkin.

Yuqori bosim, kuchlanish ostida yoki yuqori haroratda ishlaydigan apparatlar bilan ishlayotganda xavfsizlik qoidalariga qat'iy rioya qilinishi talab etiladi.

Laboratoriyada chekish, ovqatlanish, suv ichish, ko'p yurishga ruxsat etilmaydi. Mikroab to'plamlarini laboratoriya xonasidan chetga olib chiqish qat'iy man etiladi.

Mashg'ulot tugagandan so'ng ish joyi va uskunalarini tartibga keltirish lozim. Kimyoviy reaktivlar bilan ishlash qoidalariga hamda shaxsiy gigiyena qoidalariga qat'iy rioya qilish lozim. Ish tugagandan so'ng va ovqatlanishdan oldin qo'llarni dezinfeksiya qilish va sovun bilan yaxshilab yuvish kerak.

Talabalar va laboratoriya xodimlari laboratoriyada ishlash tartibi bilan tanishtirilganligi va ularga yo'riqnomalar berilganligi to'g'risida maxsus jurnalda qayd qilinadi.

2. MIKROSKOPLAR. MIKROORGANIZMLARNING PREPARATLARINI TAYYORLASH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad: biologik mikroskopning tuzilishini o'rganish, mikroskopda ko'rish texnikasini o'zlashtirish. Faza — tafovutli, lyuminessent va elektron mikroskoplarning ishlash prinsipini bilish. Buyum va qoplagich oynalarni tayyorlash; probirka, kolba, Petri likopchalarida qattiq va suyuq ozuqa muhitlarda o'stirilgan mikroorganizmlarni tadqiqot uchun tanlash. «Ezilgan tomchi», «osilgan tomchi», «tamg'a» deb ataladigan preparatlarni tayyorlash, ularni mikroskopda ko'rish va chizish. Tirik va fiksatsiya qilingan mikroorganizm hujayralarini bo'yash, mikroskopda ko'rish va chizish.

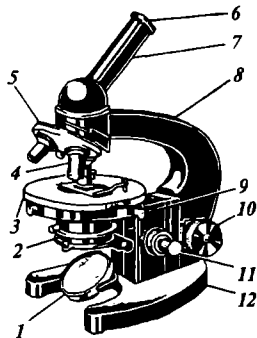
2.1. Mikroskop va mikroskoplarda ko'rish

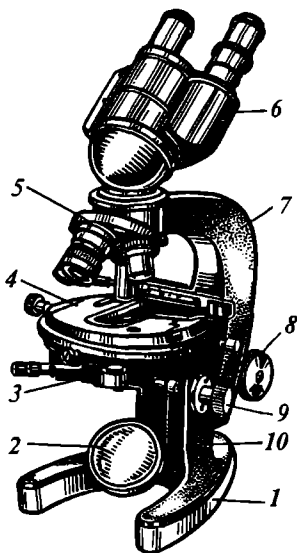
2.1.1. Yorug'lik mikroskopida ko'rish

Mikroskopning tuzilishi. Biologik mikroskoplar shafof preparatlarni ulardan o'tadigan yorug'likda 56 dan 2000 marta kattalashtirib ko'rish uchun qo'llaniladi. Mikroskop (yunoncha Micros — kichik, skop — ko'raman) — bu qurollanmagan ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan mayda organizmlar va organizm tuzilmalari hamda o'simlik va hayvon to'qimalari tuzilmalarining tasvirini bir necha marta kattalashtirish uchun mo'ljallangan optik asbob. Respublikamizda ko'pincha MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, MBR-1 (9-rasm), MBR-2, MBR-3

9-rasm. Biologik mikroskop MBR-1:

- 1—oyna; 2—kondensor;
- 3—predmet stolchasi;
- 4—obyektiv; 5—revolver;
- 6—okulyar; 7—tubus;
- 8— tubus-ushlagich;
- 9—predmet stolchasining joyini siljitadigan vintlar;
- 10—makrometrik vint;
- 11—mikrometrik vint;
- 12—shtativ asosi.





**10-rasm. Biologik
mikroskop MBR-3:**

- 1—mikroskopning asosi;
2—oina; 3—kronshtein
kondensor bilan;
4—predmet stolchasi;
5—revolver obyektivlar
bilan; 6—binokulyar tubus;
7—tubus ushlagich;
8—makrometrik vint
dastasi; 9 —mikrometrik
vint dastasi; 10 —mik-
romexanizm qutisi.

Har qanday obyektivni revolverni aylantirib tubus ostiga olib borish mumkin. Revolverda qiya va tik tubusni mahkamlash uchun uyacha mavjud. Qiya tubusni tik o'q atrofida aylantirib xohlagan holatga keltirish va vint bilan mahkamlash mumkin. Tubusning yuqori tomoniga almashtiriladigan okulyarlar qo'yiladi.

Tubus ushlagich va unga o'rnatilgan sistemalar vintlari yordamida harakatlantiriladi. Makrometrik vint tubusni mikroskopning optik o'qi bo'ylab har ikkala tomonga tez hara-

(10-rasm), MBR-4, Biolam — R-1, Biolam-70 va boshqa turdagi mikroskoplar keng qo'llaniladi. Mikroskop mexanik va optik qismlardan tashkil topgan.

Mikroskopning mexanik qismi shtativ, buyum stolchasi, revolver, tubus, makro- va mikrometrik vintlarni o'z ichiga oladi. Shtativ odatda metall yoki plastmassadan yasalgan bo'ladi. Shtativning pastki qismi mikroskopning tirgak-oyoqchasi vazifasini bajaradi, yuqori qismi esa (yon shaklida) tubusni ushlab turish uchun xizmat qiladi. Tubus ushlagichning yuqori qismida revolver qurilmasi joylashgan bo'lib, u ikkita plastinkadan tashkil topgan va tubus bilan tutashtirilgan. Pastki plastinka o'z o'qi atrofida aylanadi va obyektivlarni burab mahkamlash uchun uyachaga ega, yuqori qismi esa qo'zg'almaydigan qilib mahkamlangan.

katlantirish va boshlang'ich (xomaki) fokusga olish uchun ishlatiladi. Uning bir marta aylanishi tubusni 20 mm siljishiga to'g'ri keladi. Mikrometrik vint esa nozik fokusga olish uchun mo'ljallangan. Uning to'liq bir marta aylanishi tubus ushlagichni 0,1 mm ga ko'taradi yoki tushiradi. Mikrometrik vintning barabanida 50 ta bo'linma chizilgan bo'lib, ularning har biri sistemani ikki mikrometrga siljishiga to'g'ri keladi. Mikrometrik fokusga olish mexanizmi tishli g'ildiraklar va richagdan tashkil topgan. U buzilib qolmasligi uchun ehtiyotkorlik bilan ishlatilishi lozim. Uni oxirigacha burash tavsiya etilmaydi. Vintlar soat strelkasi yo'nalishida buralganda mikroskopning tubus ushlagichi pastga tushadi, aksincha esa yuqoriga ko'tariladi.

Preparatni yorituvchi nurlarning o'tishi uchun buyum stolchasining o'rtasida tuynuk yasalgan. Stolchani uning chap va o'ng tomonlarida joylashgan ikkita vint yordamida gorizontal tekislik bo'ylab 8 mm ga siljitish mumkin. Bu esa preparatning har qanday nuqtasini ko'rish maydoni markaziga joylashtirish imkonini beradi. Stolchani yuzasida preparatni mahkamlash uchun ikkita qisqich mavjud.

Mikroskopning optik qismi yoritish apparati, obyektiv va okulyarlardan tashkil topgan. Yoritish apparati buyum stolchasining ostida joylashtirilgan. U ko'rish maydonini bir tekisda yoritish uchun mo'ljallangan va ko'zgu hamda iris diafragmali kondensordan tashkil topgan. Ko'zgu yassi va botiq yuzali bo'lib, yorug'lik nurlarini qaytarish uchun xizmat qiladi. Yassi yuzali ko'zgu tabiiy yorug'lik yaxshi bo'lganda va mikrofotosyomkalarda ishlatiladi. Botiq yuzali ko'zguidan esa sun'iy yorug'likda va tabiiy yorug'lik kuchsiz bo'lganda foydalaniladi.

Ko'zguning tepasida kondensor joylashgan. U yorug'lik manbaidan tushayotgan va ko'zgu qaytarayotgan parallel nurlarni preparat saxnida bitta nuqtaga, fokusga yig'adi. Kondensor yassi-qabariq (yuqori) va ikki tomonlama qabariq (pastki) ikkita linzadan iborat. Bu linzalar iris diafragma

bilan birgalikda silindrik gardishga o'rnatilgan. Iris diafragma pastki linza ostida joylashgan bo'lib, harakatlanadigan bir necha o'roqsimon plastinkalardan tashkil topgan. Bu plastinkalarni richag yordamida qisqartirib yoki kengaytirib preparatning yoritilishini tartibga solish mumkin. Bo'yalgan preparatlar ko'p hollarda yorug'likni tutib qoladi. Shu tufayli ular diafragmani ochib qo'ygan holda ko'riladi. Bo'yalmagan preparatlar («osilgan tomchi» yoki «ezilgan tomchi») yarim ochiq diafragmada kuchsiz yorug'lik dastasida ko'riladi. Bunday ko'rish maydonida bo'yalmagan mikroob shakllarining tafovutliligi ortadi. «Biolam» seriyasidagi mikroskoplarda qo'shimcha gardishli qaytarma linza bo'lib, undan ko'p kattalashtirmaydigan obyektivlar bilan ishlaganda foydalaniladi. Kondensator ostida yorug'lik filtri uchun qaytarma halqa joylashgan.

O b y e k t i v l a r — mikroskopning eng muhim va qimmatli qismi hisoblanadi. Ular metall gardishga mahkamlangan linzalar tizimidan tashkil topgan. Oldingi (frontal) linza — eng kichik bo'lib, asosiy kattalashtirish u orqali amalga oshiriladi. Qolgan boshqa linzalar (korreksion) optik tasvir kamchiliklarini tuzatadi. Obyektivlar axromatlar va apoxromatlarga bo'linadi. Axromatlarda oltitagacha linza bo'ladi. Bunday obyektivlarning nuqsoni — bu xromatik aberatsiya, ya'ni yorug'likning spektr tarkibiy qismlariga ajralishidir. Apoxromatlar esa bunday nuqsondan xoli. Ular turli kimyoviy tarkibdagi shishalardan tayyorlangan o'nta, ba'zi hollarda esa o'n ikkitagacha linzadan tashkil topadi. Apoxromatlar tasvirning bir tekisda aniq bo'lishiga yordam beradi. Bunday obyektivlarning gardishiga «APOXR» degan belgi qo'yilgan bo'ladi.

Foydalanish usuliga ko'ra barcha obyektivlar quruq va immersion (moyga botirilgan) turlarga bo'linadi. Quruq obyektivlarda frontal linza va qurilayotgan preparat o'rtasida havo bo'ladi. Immersion obyektivlarda esa frontal linza va preparat o'rtasiga moy (kedr, kanakunjut, qalampir-munchoq

moylari va boshqa) to'ldirilgan bo'ladi. Ustida preparat tayyorlangan oyna, obyektivlar oynasi va moy (kedr moyi) ning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi deyarli bir xil (1,52 va 1,515) bo'ladi. Nurlar bir muhitdan ikkinchisiga o'tayotganda sinmaydi, yorug'lik sochilib ketmaydi, ko'rilayotgan obyektlar tasviri o'zgar olmaydi va yaxshi ko'rinadi. Boshqa moylar ham oynanikiga yaqin yorug'likni sindirish ko'rsatkichiga ega: kanakunjut moyi (1,48—1,49), qalampirmunchoq moyi (1,53) va kanakunjut va qalampirmunchoq moylarining omuxtasi (1,515) shular jumlasidandir. Havо va oynaning yorug'likni sindirish ko'rsatkichlari turlicha (1,0 va 1,52), shu tufayli yorug'lik nurlari bir muhitdan ikkinchisiga o'tayotganda sinadi, sochilib ketadi, ko'rilayotgan obyektlarning tasviri qisman buziladi. Quruq sistemalar (x8, x10, x20, x40, x60) ning kattalashtirish imkoniyati uncha yuqori bo'lmaganligi sababli ko'rilayotgan obyektlarning tasviri juda buzilib ketishi kuzatilmaydi.

Immersion obyektivlar (x90, x100) qisqa fokus masofasi va ko'p marta kattalashtirish imkoniyati bilan ajralib turadi. Shuning uchun frontal linza va ko'rilayotgan obyekt orasidagi masofa uncha katta emas. Bu esa mazkur sistemadan foydalanayotganda linza va preparatni shikastlamaslik uchun juda ehtiyotkorlik bilan ishlashni talab etadi.

Okulyarlar tubusning yuqoridagi uchida erkin o'rnatilgan. Mikroskop okulyari ikkita yassi qabariq linzadan tashkil topgan bo'lib, ularning qabariq tomoni obyektivga qaratilgan va metall gardishga solingan. Linzalar o'rtasida doimiy metall diafragma o'rnatilgan. Diafragma yonidan keladigan nurlarni tutib qoladi, optik o'qqa yaqin nurlarni o'tkazadi. Bu esa tasvirning tafovutini kuchaytiradi. Ko'z tomonga qaragan linza ko'z linzasi, obyektiv tomonga qaragani esa yig'uvchi linza deb ataladi. Qisqa okulyarlar kuchliroq, uzunlari esa kuchsiz kattalashtirish imkoniyatiga ega. Kattalashtirish imkoniyatiga qarab okulyarlar x5, x7, x10, x12,5, x15, x20 kabi belgilar bilan belgilanadi. Obyektiv va okulyar-

lardagi sonlar bu sistemalarning kattalashtirish imkoniyatlarini bildiradi. Maxsus kompensatorli okulyarlar obyektiv-aproxromatlar bilan ishlash uchun xizmat qiladi. Bunday okulyarlarning gardishiga «KOMP» belgisi tushirilgan bo'ladi.

Mikroskopning asosiy tavsiflariga kattalashtirish va yo'l qo'yish imkoniyatlari kiradi. Mikroskopning umumiy kattalashtirishi obyektiv va okulyarning kattalashtirish darajalari ko'paytmasiga teng. Masalan, kattalashtirish darajasi x_8 va okulyarniki x_7 bo'lganda, mikroskopning kattalashtirish imkoniyati 56 ga teng, agar obyektivning kattalashtirish darajasi x_{90} va okulyarniki x_{20} bo'lsa, bu ko'rsatkich 1800 ga tengdir.

Binokulyar mikroskop ikkita okulyarga ega va obyektни ikkala ko'z bilan ko'rish imkonini beradi. Binokulyar mikroskopning umumiy kattalashtirish imkoniyatini aniqlash uchun obyektiv va okulyarning kattalashtirish darajalari ko'paytmasini uchinchi songa — binokulyar nasadkaning kattalashtirish darajasiga ko'paytirish lozim. Binokulyar nasadkada okulyar o'rtasida uning kattalashtirish darajasi ($x_{1,5}$; $x_{1,6}$) ko'rsatiladi.

Olinadigan tasvirning aniqligi mikroskopning ruxsate tish imkoniyati, ya'ni ushbu asbob yordamida ko'rish mumkin bo'lgan obyektlar yoki ular detallarining eng kichik o'lchamlari bilan belgilanadi. Bu mikroskoplarni, shu jumladan elektron mikroskoplarni ham baholashda eng muhim ko'rsatkichlardan biridir. Yo'l qo'yiladigan eng yuqori imkoniyat elektron mikroskoplarniki hisoblanadi. Elektron mikroskoplarning yuqori yo'l qo'yish imkoniyatiga juda kichik uzunlikdagi elektron to'lqinlar yordamida erishiladi. Nurlanish manbai tarqatayotgan to'lqinlar uzunligi qanchalik qisqa bo'lsa, mikroskopning yo'l qo'yiladigan imkoniyati shunchalik yuqori bo'ladi. Obyektни to'lqin uzunligi yanada qisqaroq bo'lgan nurlanish yordamida yoritish yoki muhitning nurni sindirish ko'rsatkichini, yo'l qo'yiladigan imkoniyatni oshirish mumkin.

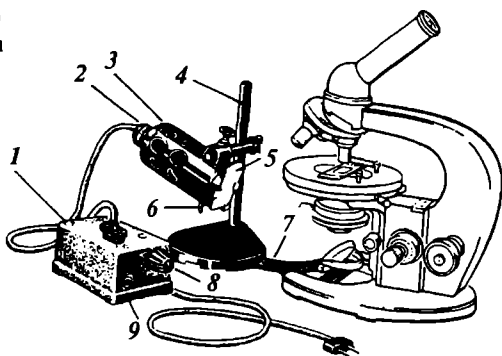
Hozirgi vaqtda yaqqol (bo'rtma) tasvirli mikroskoplar ham mavjud. Ular o'rganilayotgan obyektни uch o'lchovda kuzatish imkonini beradi. Proyeksiyon mikroskoplarda preparatlarning yoritilishi katta ahamiyatga ega. U qanchalik yuqori bo'lsa, preparatning ko'rinishi ham shunchalik yaxshi bo'ladi. Bunday imkoniyat kuchli yorug'lik kuchaytirgichli lazer mikroskoplarda mavjud. Lazer mikroskoplar biologik obyektlarni yemirmaydi va tasvirni ekranga tushirish imkonini beradi.

Mikroskopda ko'rish texnikasi. Mikroskop bilan ishlaganda kunduzgi tarqoq yorug'lik yoki sun'iy yorug'likdan foydalanish mumkin. Zamonaviy mikroskoplarda yorug'lik manbai mikroskopning asosiga o'rnatilgan. MBI-1, MBR-1, MBR-3 va boshqa mikroskoplarda bunday moslama yo'q. Shu sababli sun'iy yoritish uchun maxsus yoritkichlar ishlatiladi. Masalan, OI-19 (11-rasm).

Mikroskop bilan ishlash muayyan malakaga ega bo'lishni talab etadi. Shuning uchun uni ishlatishdan oldin mikroskopdan foydalanish qoidalarini o'zlashtirish lozim. Mikroskopni g'ilofdan chiqarayotganda bir qo'l bilan tubus ushlagichdan, ikkinchi qo'l bilan esa shtativ oyoqchasidan ushlash kerak. Mikroskopni qiyshaytirish mumkin emas. Chunki bunda okulyar tubusdan tushib ketishi mumkin.

11-rasm. Mikroskop bilan OI-19 yoritish asbobi:

- 1—transformator;
- 2—patron lampa bilan;
- 3—yoritgich korpusi;
- 4—yoritgich shtativi;
- 5—svetofiltr;
- 6—iris diafragmaning dastasi;
- 7—biriktiruvchi planka;
- 8—reostat dastasi;
- 9—vklyuchatel.



Ish stolida mikroskop stolning chetidan 3—5 sm masofada turishi kerak. Ishni boshlashdan oldin mikroskopning mexanik va optik qismlaridagi chang barmoqlarni linzaga tegizmasdan yumshoq quruq latta bilan tozalanadi.

Mikroskopning ko'rish maydonida to'g'ri yorug'lik hosil qilinadi. Revolver yordamida kattalashtirish darajasi x8 bo'lgan obyektiv mahkamlanadi. Revolver prujinasi chiqillagan ovoz chiqarsa va yengil taqalsa, obyektiv optik o'q bo'ylab o'rnatilgan hisoblanadi. Makrometrik vint yordamida obyektiv buyum stolidan 0,5—1 sm masofaga tushiriladi. Iris diafragma to'liq ochiladi va kondensor taqalgunga qadar ko'tariladi. Okulyarga qaraladi va ko'zguni burib, yorug'lik manbasidan tushayotgan yorug'lik nurlari iris diafragmaning tuynukchasi orqali obyektivga yo'naltiriladi. Agar to'g'ri yoritilsa, mikroskopning ko'rish maydoni yaxshi va bir tekis yoritilgan doira shaklida bo'ladi. Bo'yalgan preparatlarni mikroskopda ko'rishda kondensorning yuqoridagi linzasi buyum stolchasi sathida joylashgan bo'ladi. Bo'yalmagan preparatlarni ko'rayotganda kondensorni tushirish va iris diafragmani yopish yo'li bilan xohlagan yoritilish darajasiga moslanadi.

Tayyorlangan preparat buyum stolchasi ustiga qo'yiladi va qisqichlar bilan mahkamlanadi. Kattalashtirish darajasi x8 bo'lgan obyektiv yordamida bir nechta ko'rish maydoni kuzatiladi. Buyum stolchasi yon tomonida joylashgan vintlar bilan suriladi. Preparatning tadqiqot uchun zarur qismi ko'rish maydonining markaziga joylashtiriladi. Tubus ko'tariladi va revolverni aylantirish yo'li bilan x40 yoki x60 li obyektiv o'rnatiladi. Yon tomondan kuzatgan holda tubus obyektiv bilan birga makrometrik vint yordamida preparatga tekkunga qadar tushiriladi. Okulyarga qaraladi va tubus tasvir konturlari ko'ringunga qadar juda sekinlik bilan ko'tariladi. Mikrometrik vintni u yoki bu tomonga aylantirish yo'li bilan, lekin bunda u to'liq bir oborotdan ortiq buralmasligi lozim, aniq fokusirovka olinadi. Agar mikrovintni bura-yotganda qarshilik sezilsa, u oxirigacha yetgan bo'ladi. Bun-

day hollarda vint teskari tomonga bir-ikki to'liq oborot buraladi, makrovint yordamida yana tasvir topiladi va mikrovint bilan ishlashga o'tiladi. Mikroskopda ko'rayotganda ikkala ko'zni ham ochib ishlashga va ulardan navbati bilan almashib foydalanishga o'rganish lozim. Chunki bunda ko'zlar kamroq charchaydi.

Immersion obyektivlar bilan ishlaganda preparatga uncha katta bo'lmagan immersion yog' tomchisi tomiziladi. Revolverni burib markaziy optik o'q bo'ylab x90 yoki x100 li immersion obyektiv o'rnatiladi. Kondensor taqalgunga qadar yuqoriga ko'tariladi. Iris diafragma to'liq ochiladi. Yon tomonidan kuzatgan holda makrometrik vint yordamida tubus obyektiv moyga botgunga va linza preparatning buyum oynasiga tekkunga qadar tushiriladi. Bu frontal linza qo'zg'alib ketmasligi va shikastlanmasligi uchun juda ehtiyotkorlik bilan amalga oshirilishi lozim. Shundan keyin, okulyarga qaragan holda, makrometrik vintni o'zi tomonga juda sekinlik bilan burash va tubusni obyekt konturi ko'ringunga qadar ko'tarish kerak. Bunda immersion obyektivdagi bo'sh ishchi masofa 0,1—0,15 mm ga teng ekanligini unutmash lozim. So'ngra mikrometrik vint yordamida aniq fokusirovka olinadi. Stolchani yon tomonidagi vintlar yordamida surib, preparatda bir nechta ko'rish maydonlari ko'riladi.

Immersion obyektiv bilan ishlab bo'lgandan so'ng, tubus ko'tariladi, preparat chiqarib olinadi va obyektivning frontal linzasi avval quruq yumshoq latta salfetka bilan, keyin esa toza benzin bilan sal namlangan xuddi shunday salfetka bilan artiladi. Linza sirtida yog' qoldiqlarining qolishi mumkin emas. Chunki u chang o'tirishiga imkon beradi va vaqt o'tishi bilan mikroskop optikasining shikastlanishiga olib kelishi mumkin. Ish tugaganidan so'ng preparatni ish stolchasidan olish, kondensorni tushirish, tubus tagiga x8 li obyektivni qo'yish va mikroskopni g'ilofga solish yoki pleksiglas yoki shisha yopqich bilan o'rab qo'yish lozim.

2.1.2. Ko'ruv maydonini qorong'i qilib ko'rish, faza-tafovutli, lyuminessent va elektron mikroskoplarda ko'rish

Ko'ruv maydonini qorong'i qilib ko'rish obyektivning yo'l qo'yadigan imkoniyatini deyarli 10 barobar oshirish va o'lchamlari oddiy mikroskop doirasidan tashqarida joylashgan obyektlarni ko'rish imkonini beradi. Bunga obyektning qiyalama nurlar bilan yoritish orqali erishiladi. Bu usul suyuqlik yoki havoda joylashgan, oddiy ko'z bilan ko'rinmaydigan juda mayda zarralarni yon tomondan kuchli yoritish paytida yuz beradigan yorug'lik difraksiyasi hodisasiga (Tindal hodisasi) asoslangan.

Mikroskopning oddiy kondensori qorong'i maydonli kondensor bilan almashtiriladi. Ko'ruv maydoni qorong'i qilingan mikroskopda ko'rish tirik mikroorganizmlarni o'rganishda qo'llaniladi. Achitqi hujayralarini kuzatayotganda kam yaltirayotgan sitoplazma fonida qora, optik bo'sh vakuolalar, kuchli yaltirab turadigan liposoma donalari yaxshi ko'rinadi. O'layotgan hujayralarning protoplasti oq-sutrang ko'rinishga ega.

Faza-tafovutli mikroskopda ko'rish. Faza-tafovutli mikroskopda ko'rish tirik obyektlarni bo'yamasdan va fiksatasiya qilmasdan o'rganish imkoniyatini beradi. Bu usul yordamida bo'yalmagan obyektlar ranglaridagi farq (kontrastlik) kuchaytiriladi. Bo'yalmagan preparatlar yorug'likni yutmaydi. Ular inson ko'zi ko'rmaydigan yorug'lik to'lqinlari fazasini o'zgartiradi. Golland fizigi F. Sernike yorug'lik to'lqinlari fazasini o'zgartirdi va faza-tafovutli obyektiv linzasiga halqasimon kulrang qatlam tushirish yo'li bilan ularni ko'rinadigan qildi. Faza-tafovutli moslama faza-tafovutli obyektivlar (axromatlar), diafragmali revolver kondensori va yordamchi mikroskopdan tashkil topgan.

Faza obyektivlarning oddiyalaridan farqi shundaki, ularda linzaning ichki sirtida joylashgan qora halqa ko'rinishidagi faza plastinkasi mavjud. Kondensor esa oddiy mikroskoplardagi singari, ammo revolver moslamasi bilan birlashti-

rilgan. Revolver plastinkasi aylangandan halqasimon diafragmalar obyektivning faza plastinkasiga nisbatan o'z o'rnini o'zgartiradi. Faza-tafovutli qurilmani yorug'lik mikroskopida ham o'rnatish mumkin. Buning uchun oddiy obyektivlar faza-tafovutli obyektivlar bilan, kondensor esa diafragmali revolver kondensor bilan almashtiriladi.

Faza-tafovutli qurilmalar hujayra tuzilishini: bakteriyalarning xivchin va qobiqlarini, achitqi hamda zamburug'larning yadro va mitoxondriyalarini o'rganish imkoniyatini beradi.

Lyuminessent mikroskopda ko'rish. Lyuminessensiya — bu kattalashtiruvchi optik asboblarda yordamida kuzatiladigan juda mayda obyektlarning nurlanish hodisasidir. Birinchi lyuminessent mikroskop 1908 yilda A. Kyoler va G. Zidentropf tomonidan yaratilgan.

Obyektlarning nurlanishi ikkiga bo'linadi: obyektning o'z nurlanishi (oldindan bo'yalmagan holda) va hosil qilingan nurlanish (namunaga bo'yoq bilan ishlov berish natijasida). Obyektga to'lqin uzunligi qisqa bo'lgan ko'zga ko'rinmas ultrabinafsha yoki ko'k-binafsha nurlar bilan ta'sir qilinganda inson ko'zi ko'radigan uzunroq yorug'lik to'lqiniga ega lyuminessensiya qo'zg'aladi. Bu hodisa lyuminessent mikroskopda ko'rish uchun asos qilib olingan.

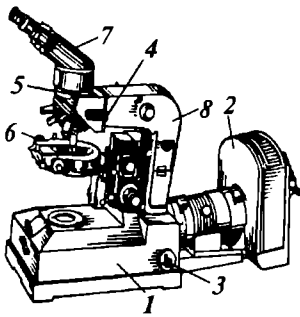
Lyuminessent mikroskopda ko'rish uchun ML turidagi, "Lyumam" va boshqa shu kabi mikroskoplardan foydalaniladi. ML-2 lyuminessent mikroskopi (12-rasm) kuchli yorug'lik manbasi (simob-kvarsli lampa), yorug'lik filtrlari va biologik mikroskopdan tashkil topadi. Yorug'lik manbasi va mikroskop ko'zgusi o'rtasiga ko'k-binafsha filtr o'rnatiladi. Qisqa to'lqinli yorug'lik nurlari preparatga tushadi va uning nur taratishiga turtki bo'ladi. Mikroskop okulyariga sariq yorug'lik filtri o'rnatiladi. U ko'k-binafsha nurlarni (spektrning qisqa to'lqinli qismini) qaytaradi va ko'zga ko'rinadigan uzun to'lqinli nurlarni o'tkazadi.

Lyuminessent mikroskopda ko'rishda ikkinchi lyuminessensiya katta ahamiyatga ega. U o'rganilayotgan obyektlarga

12-rasm. ML-2

lyumenesent mikroskopi:

1—mikroskopning asosi; 2—simob lampali yoritkich; 3—o'tuvchan va aks etgan yorug'likni o'zgartiradigan dasta; 4—qoramtir maydonning halqasimon diafragmasini ulaydigan dasta; 5—revolver svetofiltri bilan; 6—predmet stolchasi; 7—binokulyar tubus; 8—tubus ushlagich.



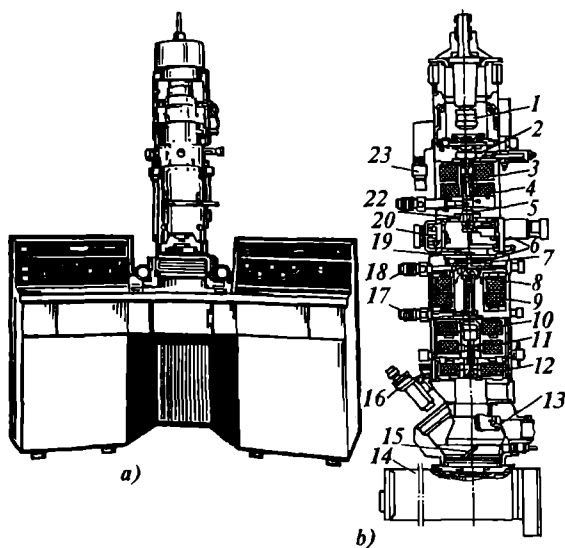
uzun to'liqinli ultrabinafsha va qisqa to'liqinli ko'k-binafsha nurlar ta'sirida nur tarqatish xususiyatiga ega bo'lgan maxsus bo'yoqlar (fluoroxromlar) bilan ishlov berilgandan keyin yuzaga keladi. Fluoroxromlar tabiiy yoki sintetik bo'lishi mumkin. Ular ko'p suyultirilib (10^{-3} dan 10^{-5} gacha) qo'llaniladi. To'q sariq akrudin, auramin, karifosfin, rivanol, rodamin, fiolflavin, tri poflavin, fluoressin va boshqa shu kabi fluoroxromlardan keng foydalaniladi. Lyuminesent mikroskopda shaffof va shaffof bo'lmagan tirik obyektlarni o'rganish mumkin. Ular rangli, yanada yirikroq va tafovutli ko'rinadi.

Elektron mikroskopda ko'rish. Birinchi elektron mikroskop 1928—1931 yillarda M. Knoll va E. Ruska (1986 yilda Nobel mukofotiga sazovor bo'lgan) tomonidan yaratilgan. Elektron mikroskopda yorug'lik dastasi elektronlar oqimi bilan almashtirilgan. Elektron nurlarning uzunligi yorug'lik nurlari uzunligidan ko'p marta qisqa. Bu esa ko'p marta kattalashtirish va yorug'lik mikroskopi yordamida ko'rib bo'lmaydigan obyektlarni kuzatish imkonini beradi (13-rasm). Elektron mikroskoplarning yoritadigan (PEM), rastarli (REM),



13-rasm. Kurtaklanayotgan achitqi xujayralari skanerlovchi mikroskopda.

emission, ko'zguli va boshqa turlari mavjud. Ko'rsata olish imkoniyati 0,5 nm dan kichik bo'lgan PEM larga Rossiyada yaratilgan EVM-100 l ni kiritish mumkin. Uning ko'rsata olish imkoniyati — 0,3 nm. Yaponiyada ishlab chiqarilgan JEM-100B va JEM-1200 EX ("Djeol" firmasi), PEM larning ko'rsata olish imkoniyati 0,2 va 0,14 nm ga tengdir (14-rasm).



14-rasm Elektron mikroskop JEM-100B

(ruxsat etish imkoniyati 0,2 nm):

- a*—umumiy ko'rinishi; *b*—tuzilish sxemasi; 1—elektron pushka; 2—pushka shlyuzining vakuum klapani; 3—birinchi kondensor linzasi; 4—ikkinchi kondensor linzasi; 5—ikkinchi kondensor linzasining stigmatori; 6—elektronlar taramini og'dirish sistemasi; 7—namunani ushlab turuvchi; 8—obyektiv linzasining stigmatori; 9—obyektiv linzasi; 10—birinchi oraliq linza; 11—ikkinchi oraliq linza; 12—proyeksiya qiladigan linza; 13—fotoeksponometr datchigi; 14—fotokamera; 15—fluopessent ekran; 16—binokulyar; 17—selektor diafragma mexanizmi; 18—aperturali diafragmaning mexanizmi; 19—namunani ifloslanishdan asraydigan moslama; 20—namunalar ushlagichlari uchun magazin; 21—elektronlar taramini joyidan siljituvchi kompensator; 22—yustirovka dastasi.

Elektron mikroskopda linza sifatida elektromagnit linzalar qo'llaniladi. Ular elektron oqimlari harakatini boshqaradigan elektromagnit maydonini hosil qiladi. Shisha linzalardan foydalanish mumkin emas. Chunki elektronlar shishadan o'tmaydi. Elektronlarning manbasi sifatida potensiali 30-100 kV ga teng bo'lgan 0,1 mm diametrli volfram tola xizmat qiladi. Havo elektronlar harakatiga to'sqinlik qiladi. Shuning uchun mikroskopning ichida vakuum holati saqlab turilishi kerak.

Elektron pushkadan uchib chiqayotgan yuqori energiyali (60 kV, to'lqin uzunligi 0,05 Å ga teng) elektronlar oqimi kondensator linza bilan bir joyga to'planadi va o'rganilayotgan obyektga yo'naltiriladi. Elektronlar dastasi obyektни yorib o'tadi, sochilib ketadi va obyektiv linzasining yo'nalishini o'zgartiradigan maydonida yig'iladi. Obyektning birinchi kattalashtirilgan haqiqiy tasviri yuzaga keladi. Uni maxsus ko'rish oynasi orqali kuzatish mumkin. Shundan so'ng elektronlar oqimi proyeksion linzaning (okulyar linzasiga o'xshash) elektromagnit maydoniga tushadi. U birinchi tasvirni kattalashtiradi va obyekt tasvirini x40000—50000 ga kattalashtirish imkonini beradi. Fluorescentlanuvchi ekranida yoki fotoplyonkada yana 5—6 marta kattalashtirilgan tasvir hosil qilinadi. Buning uchun ekran ostiga fotokamera o'rnatiladi. Umumiy kattalashtirish x200000—300000 va hatto x1000000—2000000 ni tashkil etishi mumkin.

Elektron mikroskop yorug'lik mikroskopi bilan ko'rib bo'lmaydigan viruslar, faglar, mikoplazma, prokariot va eukariotlarning nozik hujayra tuzilishi, ularning makro- va mikro tuzilma elementlari va boshqa submikroskopik organellarni kuzatish imkonini beradi.

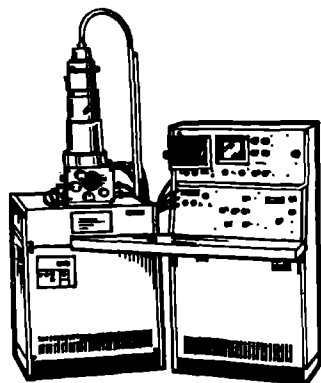
Elektron mikroskopda ko'rish uchun preparatlar shaffof va mustahkam bo'lishi kerak. Ular juda yupqa maxsus plyonkalar — kollodiy podlojkalarda tayyorlanadi. Plyonkani qalinligi — 1 mkm. Ularni hosil qilish uchun kollodiyning amilasetatdagi 0,5—2% li eritmasidan foydalaniladi.

Plyonka ehtiyotkorlik bilan juda mayda teshikchali (1 mm da 4—10 ta teshik) tayanch metall to'rga yotqiziladi. Preparat tayyorlanadi, u distillangan suv bilan yuviladi, ya'ni yot aralashmalardan (muhit qoldiqlari, tuzlar) tozalanadi, quritiladi, metall (xrom) bilan changlantiriladi yoki fosfor-volfram kislotasi, uranilatsetat va boshqa shu kabilar yordamida tafovutlanadi. Hujayra tuzilishini o'rganish, maxsus ishlov berilgandan keyin viruslarning joylanishini aniqlash uchun ultramikrotomlarda juda yupqa qirqimlar tayyorlanadi. Shunday ekan, elektron mikroskoplarda mikroorganizmlar tirik holatda emas, balki fiksatsiya qilingan preparatlar ko'rinishida o'rganiladi.

Yorug'lik mikroskopida immersion sistema bilan ishlayotganda fokus chuqurligi 0,25 mkm ni tashkil etadi. Fokus uzunligini **skaner qiladigan (rastr) elektron mikroskop** yordamida 100 martadan ortiq kattalashtirish mumkin. U yorug'lik va yoritib ko'riladigan elektron mikroskoplar yordamida hosil qilinadigan ikki o'lchamli (yassi) tasvir o'rniga uch o'lchamli (bo'rtma) tasvir olish imkonini beradi. Skanerlaydigan mikroskopning ishlashi o'rganilayotgan obyekt yuzasi bo'ylab elektronlar dastasini televizion usulda yoyish prinsipiga asoslangan.

Bu uning fazoviy relyefini aniqlash imkonini beradi. Skanerlaydigan mikroskopning kattalashtirish imkoniyati elektronlar bilan yoritib ko'ruvchi mikroskoplarnikiga nisbatan ancha past bo'lsada, tasvir ravshanligi va bo'rtmaligining katta chuqurlikda bo'lishi hisobiga sifat yuqori darajada bo'ladi.

Skanerlaydigan nurlari bo'lgan birinchi soddalashtirilgan rastr elektron mikroskop REM M. Knoll tomonidan 1935 yilda yaratilgan. 1942 yilda V.K. Zvo-



15-rasm. REM qurilmasi.

rikin va boshqalar tomonidan (AQSh) yanada takomillashtirilgan REM ishlab chiqilgan. Sanoatda birinchi REM qurilmasi 1965 yilda paydo bo'lgan (Angliya, Kembridj) 15-rasm.

2.2. Tirik va fiksatsiya qilingan mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash

2.2.1. Tirik mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash

Buyum va qoplagich oynalarni tayyorlash. Preparatlar buyum oynasida tayyorlanadi va ustidan qoplagich oyna bilan yopiladi. Buyum oyna — bu qalinligi 1,2—1,4 mm dan oshmaydigan, chetlari yaxshi silliqlangan yupqa oyna plastinkalardir (76x26 mm). Qalinroq oynalar tasvir aniqligiga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bu esa immersion obyektiv bilan ishlashni qiyinlashtiradi. Qoplagich oynalarning o'lchamlari ularning qalinligi 0,15—0,17 mm bo'lsa, 18x18, 20x20, 18x24 mm va boshqacharoq bo'lishi mumkin. Katta qalinlikdagi qoplagich oynalar ham tasvir sifatini pasaytiradi.

Buyum va qoplagich oynalar toza hamda yog'siz bo'lishi kerak. Oynaning tozaligini tekshirish uchun uning sirtiga suv tomiziladi. Agar oynaning sirti yog'siz bo'lsa, suv tomchilari sekin quriyadigan qavariq pufakchalar hosil qilgan holda bir joyga to'planmasdan bir tekis yoyilib ketadi. Ishlatilgan oynalar 1—2 soat mobaynida xromli aralashmaga (1 litr suv + 50 gr kaliy dixromat + 100 gr texnik sulfat kislotasi) solib qo'yiladi. Shundan keyin ular iliq suv va spirt bilan chayiladi. Kundalik ishlarda buyum oynasi sirtidagi yog'larni ketkazish uchun u avval sovun bo'lagi bilan ishqalanadi va shundan keyin toza paxta ipli salftka bilan artiladi.

Toza buyum oynalari quruq holatda yoki 96% li spirt to'ldirilgan zich tiqinli bankalarda saqlanadi. Oynalarni pinset bilan olish lozim. Chunki barmoqlar ularning sirtida yog'li dog'lar qoldiradi. Oynalarni ishlatishdan oldin havoda qu-

ritish yoki filtr qog'oz, toza mato bilan artish kerak. Qoplagich oynalar ham yaxshi yuvilgan, quritilgan bo'lishi hamda maxsus qutilar va Petri likobchalarida saqlanishi lozim.

Tadqiqot uchun to'plamlarni ajratib olish. Laboratoriya sharoitida mikroorganizmlar qattiq va suyuq ozuqa muhitlarda probirkalar, kolbalar, Petri likobchalarida o'stiriladi. Suyuq muhitdan hujayralarni ajratib olish uchun sterillangan bakteriologik ilmoq yoki pipetkalaridan foydalaniladi. Qattiq muhitda o'sgan mikroorganizmlar ilmoq yoki preparoval ninalar yordamida olinadi. To'plamlarni olishda ularning yot mikroorganizmlar bilan ifloslanishini oldini olish uchun quyidagi qoidalarga rioya qilinishi lozim:

1. Spirtovka yoki gaz gorelka yoqiladi.

2. Suyuq muhitda o'stirilgan to'plamlar mavjud probirka kaftlar orasida sekin aylantiriladi, keyin chap qo'lda, bosh va ko'rsatkich barmoqlar orasida qiya holatda ushlanadi. Agar to'plam qattiq muhitda o'sgan bo'lsa, mikroorganizmlar to'plamining yuzasi yuqoriga qaratilgan bo'lishi va yaxshi ko'rinib turishi kerak.

3. Ilmoq vertikal holda gorelka alangasiga tutib turiladi va sim qizarguncha qizdiriladi, shundan keyin tutqichning unga tutash qismi ham kuydiriladi.

4. O'ng qo'lning jimjilog'i va nomsiz barmog'i bilan paxtali tiqinning tashqi qismi kaftga bosiladi, probirkadan sug'urib olinadi va boshqa narsalarga tekkizmasdan tutib turiladi.

5. Ochilgan probirkaning chetlari gorelka alangasida kuydiriladi.

6. Sterillangan ilmoq ehtiyotkorlik bilan to'plam bor probirkaga kiritiladi. Qattiq muhitdagi hujayralarni shikastlamaslik uchun ilmoq probirkaning ichki sirtiga yoki mikroorganizmlar bo'lmagan ozuqa muhitiga tekkizib sovutiladi. Yengil silliq harakat bilan ozgina mikroorganizm massasi yoki hujayrali suyuqlik tomchisi olinadi. Ilmoqni probirkadan chiqarayotganda olingan material probirkaning devorlari yoki chetlariga tegib ketmasligiga e'tibor qilish kerak.

7 Yana probirkaning chetlari, keyin paxtali tiqinning ichki uchi gorelka alangasida kuydiriladi va probirka yopiladi. Agar paxtali tiqin yona boshlasa, uni pullab o'chirishga harakat qilish yoki tashlab yuborish kerak emas. Uni zudlik bilan probirkaga tiqish va cho'g'langan joyini barmoq bilan bosib o'chirish lozim.

8. To'plam mavjud probirka shtativga qo'yiladi, olingan material esa preparat tayyorlash uchun ishlatiladi.

9. Ilmoqda qolgan mikroorganizm hujayralari gorelka alangasida kuydirib tashlanadi.

Petri likobchasida qattiq muhitda o'sgan mikroorganizm to'plamlari ham xuddi shu ketma-ketlikda ajratib olinadi: gorelka yoqiladi, ilmoq (igna) sterillanadi, shundan keyin chap qo'lning bosh va ko'rsatkich barmoqlari yordamida Petri likobchasining qopqog'i qiya ochiladi. Sterillangan ilmoq likobcha qopqog'i ostiga kiritiladi va mikroorganizm koloniyalaridan xoli muhitga tekkiziladi. Qizigan ilmoq muhitning erib ketishiga olib keladi. Yuzadan uncha ko'p bo'lmagan miqdorda mikroob hujayralari olinadi, shundan keyin zudlik bilan likopchaning qopqog'i berkitiladi. Ilmoq yordamida olingan material preparat tayyorlash yoki ekish uchun ishlatiladi. Ilmoq (igna) ni qizdirish orqali unda qolgan hujayralar yo'q qilinadi. Ho'l ilmoqni qizdirish vaqtida mayda suyuqlik tomchilari va ular bilan birga mikroob hujayralari ham aerazol hosil qilgan holda atrofga sachrashni mumkin. Shuning uchun ilmoq simning halqaga tutashgan joyidan boshlab qizdiriladi. Ilmoqda qolgan hujayralar quriydi, shundan keyin igna tutqich tik holatga keltirib, ilmoq qizdiriladi.

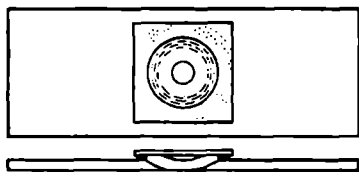
Suyuq muhitdan mikroorganizmlarni graduslarga bo'lingan yoki Paster pipetkasi bilan ajratib olish mumkin. Qog'ozga o'ralgan, sterillangan pipetkalar paxtali tiqin bilan berkitilgan yuqori uchidan tutgan holda sug'urib olinadi. Suyuq to'plam mavjud kolba (probirka) chap qo'lda ushlanadi. Pipetkaning yuqoridagi teshigini (tiqinli) ko'rsatkich barmoq bilan bekitgan holda o'ng qo'lning bosh va o'rta barmoqlari bilan ushlanadi. Agar pipetkadagi suyuqlik yetarli bo'lmasa, uning

paxtali tiqin tiqilgan uchidan og'iz bilan so'riladi. Suyuq to'plamni rezina nok yordamida so'rish ham mumkin. Ajratib olingan namuna preparatlar tayyorlash yoki yangi ozuqa muhitiga ekish uchun ishlatiladi. Iflos pipetkani shtativga o'rnatish yoki boshqa narsalarga tekkizish mumkin emas. U darhol dezinfeksiyalovchi suyuqlikka (xloraminning 0,5—3% li suvdagi aralashmasi yoki fenolning 3—5% li suvdagi aralashmasi) solib qo'yilishi kerak.

Tirik hujayralar preparatini tayyorlash. Tirik holatdagi mikroorganizmlar “ezilgan tomchi” “osilgan tomchi” va “tamg'a” ko'rinishidagi preparatlar yordamida kuzatiladi.

“Ezilgan tomchi” preparati. Buyum oynasining o'rtasiga suv, bulyon yoki fiziologik aralashma (NaCl ning 0,5% li aralashmasi) ning kichik bir tomchisi tomiziladi. Unga ilmoq yoki igna yordamida qattiq ozuqa muhitidan olingan to'plam yoki o'rganilayotgan boshqa material (xamir, achitqi, diffuzion sharbat va hokazo) qo'shiladi. Shundan keyin sal loyqalangan suspenziya hosil bo'lgunga qadar yaxshilab aralashtiriladi. Suyuq muhitlarda o'sgan mikroorganizmlarni kuzatayotganda buyum oynasiga suv tomchisini tomizish shart emas. Qoplagich oynaning cheti mikroorganizmlar tomchisi chekkasiga qo'yiladi va oynalar orasida mikroskopda ko'rish uchun halaqit beruvchi havo pufakchalari hosil bo'lmasligiga harakat qilib, sekin-asta tushiriladi. Ilmoqning shisha uchi bilan qoplagich oyna buyum oynasiga qisiladi. Qoplagich oyna chetidan chiqib qolgan ortiqcha suyuqlik filtr qog'oz parchasi bilan artib olinadi. Tayyorlangan preparat zudlik bilan o'rganilishi lozim. Chunki suyuqlik qurib qolishi va mikroskopda ko'rish qiyinlashishi mumkin.

“Ezilgan tomchi” preparati yordamida yorug' va qora maydonlarda hujayralarning shakli va o'lchamlari, fiziologik holatlari, ko'payish turlari, sporalarning joylashishi, zaxira ozuqa moddalarning mavjudligi, harakatchanligi aniqlanishi mumkin. Hujayralarning harakatchanligini aniqlashda ularning haqiqiy harakatini Braun harakatidan farqlash lozim.



16-rasm. Preparat "osilib turgan tomchi".

Braun harakatida hujayralar bitta joyda turgan holda tebranma harakatni amalga oshiradi yoki suyuqlik oqimi bo'yicha ko'chadi.

"Osilgan tomchi" preparati.

Bu preparatni tayyorlash uchun dumaloq shaklda ishlangan chuqurchali buyum oynasidan foydalaniladi. Chuqurcha chetlariga vazelin surtiladi. Yog'sizlantirilgan qoplagich oyna o'rtasiga mikroorganizmlar suspenziyasining kichik bir tomchisi tomiziladi. Tomchini pastga qaratib oyna to'nkariladi va ehtiyotkorlik bilan vazelinli halqaga bosiladi. Tomchi chuqurchaning o'rtasiga joylashishi, uning chetlari va tubiga tegmasligi lozim (16-rasm). Bunday preparatda tomchi qoplagich oynaning ichki sirtiga osilgan holda germetik berk kamera ichida qoladi. Bu esa uni bir necha kun mobaynida o'rganishga, mikroorganizmlarning o'sishi va ko'payishini, sporalarning hosil bo'lishi va o'sishini hamda hujayralarning harakatchanligini kuzatishga imkon beradi.

"Tang'a" preparati aktinomitsetlar va mitselial zamburug'larning hujayralarini koloniyadagi tabiiy joylashishini o'rganish uchun tayyorlanadi. Mikroorganizmlar koloniyasi o'sgan qattiq muhitdan skalpel yordamida uncha katta bo'lmagan kubik yoki alohida koloniya kesib olinadi va buyum oynasi ustiga qo'yiladi. Mikroorganizmlar o'sgan yuza tepaga qaratilgan bo'lishi kerak. So'ngra uning ustiga toza qoplagich oyna qo'yiladi, u ilmoq yoki igna bilan sal bosiladi va chetga surib yubormaslikka harakat qilgan holda tezlik bilan ko'tarib olinadi. Hosil bo'lgan tang'ani pastga qaratgan holda preparat buyum oynasiga tomizilgan suv yoki ko'k metilen (1:40) tomchisi ustiga joylashtiriladi va mikroskopda ko'riladi.

Tirik hujayralarni bo'yash. Hujayralarning ba'zi xususiyatlarini va ulardagi qo'shilmalarni aniqlash uchun mikroorganizmlarni tirik holda bo'yash usulidan foydalaniladi.

Bo'yoq moddalarning zaharlilikini hisobga olgan holda, tirik hujayralar neytral qizil, neytral binafsha, ko'k metilen, fuksin, eozin va eritrozinning juda kam miqdordagi (0,001—0,0001%) konsentratsiyalari bilan bo'yaladi. O'rganilayotgan mikroorganizmlar tomchisi buyum oynasida bo'yoq aralashmasi tomchisi bilan aralashtiriladi, qoplagich oyna bilan yopiladi va 2—3 minutdan so'ng mikroskopda qaraladi. Mikroorganizmlarning tabiiy shakli, kattaligi va tuzilishi, ularning ayrim tuzilmalari (hujayradan tashqaridagi shilimshiqlik) to'g'risidagi tushunchalarni negativ preparatlar beradi. Negativ bo'yash uchun suyuq tush, qizil kongoning 3% li suvli eritmasi, nigrozinning 10% li eritmasi va mikroob hujayralariga singmaydigan boshqa bo'yoqlar ishlatiladi. Tush yoki boshqa bo'yoq eritmasining tomchisi o'rganilayotgan to'plam tomchisi bilan aralashtiriladi, ustidan qoplagich oyna bilan yopiladi. Bo'yoqlar hujayrani o'rab turgan bo'shliqni to'ldiradi. Natijada bo'yalmagan mikroorganizmlar preparatning to'q fonida yaxshi yoritilgan rangsiz kapsulalar ko'rinishida aniq ajralib turadi.

Negativ bo'yash boshqacha tarzda amalga oshirilishi ham mumkin. Buyum oynasiga qizil kongoning 3% li suvli eritmasidan olib, tomchi tomiziladi. Bu tomchiga o'rganilayotgan material qo'shiladi va sal aralashtiriladi. Shundan keyin hosil bo'lgan aralashma ilmoq yordamida spiral ko'rinishida yoyiladi. Bunda ilmoq har gal yangi joydan olib o'tiladi. Material qon surtmasi tayyorlash jarayonidagi singari qoplagich oyna bilan ham yopilishi mumkin. Surtma havoda quritiladi, fiksirlanmaydi va immersion obyektiv bilan mikroskopda ko'riladi. Qizil-jigarrang fonda mikroorganizmlarning bo'yalmagan shakllari yaxshi ko'rinadi.

2.2.2. Fiksatsiya qilingan mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash

Yashash jarayoni to'xtatilgan, lekin nozik tuzilmalari to'liq saqlangan mikroorganizm hujayralari fiksatsiya qilingan hi-

soblanadi. Fiksatsiya qilingan bo'yalgan hujayralar va ularning tuzilish detallari preparatda yaqqol ajralib turadi. Bu hujayralarning shakli va ichki elementlarini o'rganishni yengillashtiradi. Fiksatsiya qilingan preparatlar odatda immersiya orqali ko'rinadi. Fiksatsiya qilingan bo'yalgan preparatlarni tayyorlash quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi: surtmani tayyorlash, quritish, fiksatsiya qilish va uni bo'yash.

Surtmani tayyorlash. Surtmalar yog'sizlantirilgan toza buyum oynalarda tayyorlanadi. Buyum oynasi pinset yordamida yoki ikki chetidan barmoqlar bilan ushlagan holda olinadi va gorelka alangasiga tutib sal kuydiriladi. Shundan keyin kuydirilgan tomonini tepaga qaratib vannacha ustidagi ko'prikchaga (rezina shlang parchalari bilan tutashtirilgan ikkita shisha tayoqcha) qo'yiladi. "Ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi, ilmoq yordamida yaxshilab aralashtiriladi va hosil bo'lgan suspenziya yupqa tekis qatlam ko'rinishida 1—2 sm² maydonga yoyiladi.

Surtmani quritish. Surtma xona haroratida quritiladi. Agar qurish jarayoni sekin kechsa, surtma tepaga qaratilgan preparat gorelka alangasi ustida balandroq ko'tariladi va oynani qizdirmasdan iliq havoda quritiladi. Aks holda hujayralar shakli buzilishi mumkin.

Fiksatsiya qilish. Fiksatsiya qilish jarayonida mikroorganizm hujayralari o'ldiriladi va xavfsizlantiriladi. Bu esa patogen to'plamlar bilan ishlashda muhim ahamiyatga ega. Fiksatsiya qilish natijasida hujayralar oynaga jips yopishib qoladi va keyingi operatsiyalarda tushib ketmaydi. O'lik hujayralar bo'yoqni o'ziga yaxshi singdiradi, ya'ni yaxshi bo'yaladi.

Fiksatsiya qilish uchun preparat pinset yordamida yoki bosh va ko'rsatkich barmoqlar bilan ushlanadi va gorelka alangasi ustidan 3—4 marta olib o'tiladi. Buyum oynasi barmoq tekkizilganda sal kuydiradigan darajagacha 2—3 sekund mobaynida qizdiriladi. Bundan ortiq termik fiksatsiya mikroorganizmlar hujayralarining tuzilishi va shaklini o'zgartirib yuborishi mumkin. Shuningdek, kimyoviy moddalar bilan

fiksatsiya qilish ham qo'llaniladi. Buning uchun surtmali buyum oynasi 96% li etanol solingan menzurkaga 15—20 min, suvsiz metanolga 3—5 min, atsetonga 5 min, Nikiforov aralashmasiga 15—20 min, 96% etanol va 40% li formalin-ning 95:5 nisbatdagi aralashmasiga 2 min solib qo'yiladi. Fiksatorni bevosita surtma ustiga qo'yish va ko'rsatilgan vaqtgacha tutib turish ham mumkin. Fiksatsiya tugagandan keyin surtma distillangan suv oqimi bilan yuviladi va shundan keyin bo'yaladi.

Bo'yash. Mikroorganizmlarni bo'yashning oddiy, murakab va differensial usullari mavjud. Oddiy bo'yash usulida bitta bo'yoq ishlatiladi va barcha hujayralar bo'yaladi. Murakab bo'yash usulida ikki yoki bir nechta bo'yoqlardan foydalanish ko'zda tutiladi. Masalan, bakteriyalarning Gram bo'yicha bo'yashga munosabatini diagnostik aniqlash uchun qo'llanadi. Differensial bo'yash usuli hujayra biologik tuzilmalarining turli bo'yoqlarga nisbatan individual munosabatiga asoslangan (sporalarni, qobiqni, xivchinlarni, yadroni, kapsulani va hokazolarni bo'yash).

Fiksatoridan yuvilgan surtma vannacha ustiga o'rnatilgan ko'prikchaga joylashtiriladi. Surtma ustiga bo'yoq eritmasi tomizg'ich bilan quyiladi. Bo'yash davomiyligi har xil bo'ladi: suvli fuksin uchun — 1—2 min, metilen ko'k uchun esa — 3—5 min. Bo'yash jarayoni tugagandan keyin preparat oynaning chetidan ushlagan holda olinadi, qiya holatda tutiladi va kuchsiz suv oqimi yordamida bo'yoq yuvib tashlanadi. Yuvish oqib tushayotgan suvda bo'yoq deyarli qolmagunga qadar davom ettiriladi. Shundan keyin preparat havoda yoki filtr qog'ozini oynaga ehtiyotlik bilan tegizib quritiladi. Bo'yalgan surtma immersion obyektiv orqali mikroskopda ko'riladi. Puxta tayyorlangan va to'g'ri bo'yalgan preparatda ko'rish maydoni toza bo'lib, faqat hujayralar bo'yalgan bo'ladi, xolos.

Toza fon hosil qilish uchun bo'yoq eritmasini surtma ustiga qo'yilgan filtr qog'ozga quyish yoki oldindan tegishli

bo'yoq singdirilgan filtr qog'ozdan foydalanish mumkin. Fiksatsiya qilingan surtma ustiga bir necha tomchi distil-langan suv tomiziladi, uning ustidan esa surtma o'lchamiga moslab qirqib olingan va tegishli bo'yoq bilan bo'yalgan filtr qog'ozni qo'yiladi. Filtr qog'ozni oyna sirtiga bosiladi va belgilangan muddat davomida shunday ushlab turiladi. Shundan keyin qog'oz olib tashlanadi, preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va immersiya orqali mikroskopda ko'riladi.

3. OZUQA MODDALI MUHITLARNI TAYYORLASH, ULARNI, ASBOB-USKUNALARNI STERILLASH VA PASTERLASH USULLARI

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Paxta tiqinlar ya-sashni o'rganish, idishlarni yuvib, sterillashga tayyorlash; har xil ozuqa muhitlarning turini, tarkibini o'rganib, go'sht-peptonli agarni tayyorlash va uning pH-ni aniqlash. Sterillash va pasterlash usullarini o'rganib, tayyorlangan ozuqa muhiti, idishlarni va boshqa narsalarni avtoklavda sterillash; sutni pasterlash. Avtoklav, Kox apparati, Paster javoni, Zeyts filtri-ning tuzilishi va ishlash prinsipini bilish.

3.1. Ozuqa muhitlarning turlari va ularning tarkibi

Ozuqa muhitlarning tarkibiga organogen elementlar (C, O, H, N), kulli makroelementlar (Mg, Ca, P, S, K, Fe), ba'zi mikroelementlar (Mn, Cu, Na, Cl, Zn, Mo va boshqalar) kiradi. Ular mikroorganizmlar oson o'zlashtiradigan shaklda bo'lishi kerak. Uglarodni ko'pincha glyukoza, saxaroza, spirtlar, organik kislotalar va boshqa birikmalar shaklida mikroor-ganizmlar yaxshi o'zlashtiradilar. Oqsil moddalar, peptonlar, aminokislotalar, ammoniy tuzlari, nitratlar azot manbasi vazifa-sini bajarishi mumkin. O'stiruvchi moddalar sifatida achitqi ekstraktlari yoki achitqi avtolizatlari, ba'zan vitaminlar, amino-kislotalar, purin va pirimidin asoslarining eritmalari qo'shiladi.

Ozuqa muhitlari tarkibi bo'yicha 2 turga bo'linadi: tabiiy (natural) va sun'iy (sintetik).

Tabiiy muhitlar o'simlik va hayvon mahsulotlaridan tashkil topib, murakkab va o'zgaruvchan tarkibli bo'ladi. Mikroorganizmlarni o'stirish, biomassasini oshirish, toza to'plamlarni saqlash va mikroorganizmlarni aniqlash maqsadida ulardan foydalaniladi. Tabiiy ozuqa muhitlaridan ko'pincha go'sht-peptonli bulyon (agar), xmel (qulmoq) qo'shilmagan pivo shirasi (suslo) yoki agari, achitqili suv, karamli muhit va boshqalar qo'llanadi.

Sintetik ozuqa muhitlar tarkibida ma'lum organik va anorganik birikmalar aniq konsentratsiyalarda bo'ladi. Sintetik ozuqa muhitlari mikroorganizmlarning modda almashinuvini, o'sish qonuniyatini aniqlash yoki biror metabolitning sintezini o'rganish uchun tayyorlanadi. Amaliy ishlarda ko'pincha Chapek sintetik muhiti — mog'or zamburug'ini o'stirish uchun, Ridder muhiti — achitqilar uchun va boshqa muhitlar ishlatiladi.

Belgilangan maqsadga ko'ra ozuqa muhitlari **universal, elektiv va differensial — aniqlovchilarga** bo'linadi. **Universal** (yoki asosiy, standart) ozuqalarga ko'p turdagi mikroorganizmlarning o'sishi uchun qulay bo'lgan ozuqa muhitlari kiradi (go'sht-peptonli bulyon, xmel qo'shilmagan pivo shirasi va boshqalar). **Elektiv yoki tanlab oluvchi** muhitlar faqatgina ma'lum mikroorganizmlarning yoki bir-biriga yaqin turlar guruhlarining o'sishini ta'minlaydi, boshqalari esa bu muhitda o'smaydi.

Differensial — aniqlovchi yoki indikator muhitlar mikroorganizmlarning bioximik xususiyatlarini o'rganib, ularning toza to'plamini identifikatsiyalash (aniqlash) da qo'llanadi.

Konsistensiyasi bo'yicha muhitlar suyuq, qattiq va sochiluvchan bo'ladi. **Suyuq** ozuqa muhitidan mikroorganizmlarning biomassasini va modda almashinuv mahsulotlarini to'plash, hujayralarni aktiv holda saqlab turish va ularning

fiziologik-biokimyo xususiyatlarini o'rganishda foydalaniladi. **Qattiq** ozuqa muhiti mikroorganizmlarning toza to'plamini ajratib olish, alohida joylashgan koloniyalarni olib ularni o'rganish, turli substratlarning mikroflorasini aniqlash, hujayralar sonini hisoblash, muzeylarda toza to'plamlarni saqlash va ularni zavodlarga yuborish va hokazolarda ishlatiladi.

Sochiluvchan muhitlar (kepak, eziltirib pishirilgan donlar, lavlagi turpi, kunjara, tuproq)dan turli mikroorganizmlarni va ularning sporalarni saqlash va ekiladigan materiallarni tayyorlashda foydalaniladi. Qattiq ozuqa muhitlarni olish uchun agar va jelatin qo'llanadi. Agar — murakkab polisaxarid. Uni dengiz suv o'tlaridan ajratib olinadi. Tayyor agar och sariq rangli kukun, plastinka yoki poyasimon shaklda bo'ladi. Suvda shishib, yumshab, 100°C da eriydigan gel hosil qiladi va 40°C da qotadi. Muhitni qotirish uchun 1,5—3% gacha agar qo'shiladi, yarim suyuq muhit tayyorlashda 0,15—0,7%. Jelatin hayvon suyaklari, kemirchaklari va paylarini qaynatib olinadigan oqsildir. Jelatin konsentratsiyasiga qarab (5—15%) 22—26,5°C da eriydi. Jelatinli muhitlarni, achitqilarni identifikatsiyalashda yirik koloniyalarni olish uchun qo'llanadi.

3.2. Ozuqa muhitlarni tayyorlash

Ozuqa muhitlarni toza shisha idishlarda (kolba, flakon, probirka va boshqalarda) tayyorlash kerak. Yangi shisha idishlarni yuvib 8—10 soatga 1—2% li HCl yoki H₂SO₄ eritmalariga solib qo'yiladi yoki o'sha eritmalarda qaynatib, yuvib, distillangan suvda yaxshilab chayib quritiladi. Ishlatilgan idishlarni sovun yoki sintetik yuvish vositalari bilan yuvib, vodoprovod suvida, so'ng distillangan suvda chayiladi. Juda ifloslangan, yog' izlari qolgan idishlarni xrom aralashmasi bilan ishlov berib, yaxshilab yuvib tashlanadi.

Suyuq ozuqa muhitlarni qog'oz yoki qalin gazlama filtr yordamida filtrlab, idishlarga quyiladi. Suyuq muhitlarni qotirish uchun agardan kerakli miqdorda qo'shib, suv ham-

momida, agar to'la eriguncha qizdiriladi. So'ng muhitni paxta-marlili filtrdan o'tkazib, erib turgan holatida idishlarga quyiladi. Probirka va kolbalarni sterillashdan oldin ularning og'zi paxtali tiqinlar bilan yopiladi. Qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkalarning yarmigacha agarli muhit quyiladi, keyin sterillanadi. Petri likobchalariga quyiladigan agarli muhit bilan katta probirkalarning 2/3 hajmiga to'ldiriladi. Muhitni yana kolbalarga quyib ham sterillash mumkin. Har bir ozuqa muhiti solingan kolbaga etiketka qilib, unga ozuqa muhiting nomi, tarkibi va sana yoziladi. Sterillab bo'lingandan so'ng qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkaning tiqin o'rnatilgan tomonini bir oz balandroq qilib sovitishga qoldiriladi. Bunda ozuqa muhiti paxta tiqingacha 5—6 sm yetmasligi kerak.

Sterillangan ozuqa muhitlarni salqin, quruq, nur tushmaydigan joylarda, yaxshi berkiladigan shkaflarda saqlanadi. Agar sterillangan ozuqa muhitlari nam joylarda saqlansa paxta tiqinlar o'ziga namni tortib oladi va u mog'or zamburug'lari rivojlanishiga olib keladi. Mog'or ko'payib, o'sib kolba va probirkalarning ichiga ham tushishi mumkin.

Go'sht-peptonli agarni tayyorlash. Odatda mikro-organizmlarning umumiy sonini aniqlash uchun standart ozuqa muhiti **go'sht-peptonli agar qo'llanadi (GPA)**. Uni tayyorlash uchun avvalo **go'sht-peptonli bulyon qilinadi (GPB)**. Uning uchun 1 kg mol go'shtini suyak, yog' va chandirlardan ajratib, go'sht qiymalagichdan o'tkaziladi. Olingan 0,5 kg qiymaga 1 l suv qo'shib 1 soat davomida qaynatiladi, ko'pigi olib tashlanadi. Go'sht suvini sovitib, ustidagi yog' olib tashlanadi va uni paxta-marlili filtrdan o'tkaziladi. So'ng dastlabki hajmigacha ichimlik suvi quyiladi.

1 l go'shtli suvga 1% quruq pepton va 0,5% natriy xloridni qo'shib 30 minut qaynatib, hajmini dastlabki darajasiga yetkaziladi. GPB ni filtrlab, pH-ni 7,2—7,4 ga 10% NaOH yordamida yetkaziladi va 20 min davomida 120°C da sterillanadi.

GPA tayyorlash uchun GPB ga ozuqa muhitni qo'llanishiga binoan 0,2—2% agar-agar qo'shiladi va past olovda aralastirib turib, agar eriguncha qaynatiladi. GPA ni probirka va kolbalarga quyib 120°C da 20 min sterilizatsiya qilinadi.

Ozuqa muhitlarning pH ni aniqlash. Ozuqa muhitlarning pH ni ko'pincha **Mixaelis bo'yicha kalorimetrik usul** bilan aniqlanadi.

Bu usul muhitdagi vodorod yoki gidroksil ionlar miqdoriga qarab indikator rangining o'zgarishiga asoslangan. Vodorod ionlari kislotali reaksiyani, gidroksil ionlar esa ishqorli reaksiyani yuzaga keltiradi. U yoki bu guruh ionlar miqdorining ko'payishi muhitning o'zgarishiga olib keladi. Teng miqdordagi ionlar muhitni neytral holatga keltiradi.

pH ni aniqlash muhit rangining (unga indikator qo'shilgandan keyin) Mixaelis bo'yicha standartlarga taqqoslash yo'li bilan amalga oshiriladi. Indikator sifatida metanitrofenol, paranitrofenol va gammadinitrofenol qo'llaniladi. Indikatorlar yorug'likni o'tkazmaydigan shishadan tayyorlangan flakonlarda saqlanadi. Mixaelis asbobida indikatorlardan och sariqdan to to'q sariqqacha bo'lgan turli ranglardagi eritmalar solingan standartlar tayyorlangan. Bo'yali darajasi pH ning etiketkada yozilgan muayyan kattaligiga to'g'ri keladi. Yonma-yon joylashgan probirkalar o'rtasida pH ning farqi 0,2 ga teng. Standartlardan 4 ta qator hosil qilingan: birinchi qatorda — metanitrofenol indikator standartlari (pH 6,8—8,4), ikkinchi qatorda paranitrofenol indikator standartlari (pH 5,4—7,0), uchinchi qatorda gammadinitrofenolniki (pH 4,0—5,4) va to'rtinchi qatorda alfadinitrofenol indikator standartlari (pH 2,8—4,4) joylashtirilgan.

Ko'rib chiqilgan usuldan tashqari, pH ni aniqlashda universal pH-indikator ham qo'llaniladi.

Elektrometriya usuli. pH ni aniqlash uchun turli markadagi potensiomترلardan (laboratoriya pH-metrlari) foydalaniladi. Bunday asboblarda yordamida pH ni aniqlash metodikasi fizik-kimyoviy tadqiqot usullarida va asboblarning tavsiflarida aytilgan.

3.3. Sterillash usullari

Sterillash — hamma mikroorganizmlarni va ularning sporalarini to'liq yo'qotishdir. Sterilis — naslsizlik. Sterillashning bir nechta usullari bo'lib, obyektning xususiyatiga va maqsadga qarab kerakli usul tanlanadi.

To'yingan par yordamida bosim ta'sirida sterillash avtoklavlarda olib boriladi (3-rasm). Avtoklav qopqog'i germetik yopiladigan ikki devorli metall qozondir. Uning suv par kamerasiga voronka orqali yuqori belgisigacha (3) suv quyib, kran yopiladi. Sterillanadigan ozuqa muhitlari, idishlar va boshqa materiallar avtoklav ichiga — kamerasiga (1) maxsus reshetkalar (2) ustiga qo'yiladi va qopqog'i (7) mahkam yopiladi.

Avtoklavga ikkita manometr o'rnatilgan (5), biri kamera-dagi bosimni, ikkinchisi devorlar orasidagi bosimni ko'rsatadi. Avtoklav gaz yoki elektr bilan qizdiriladi. Suv qaynaganda hosil bo'lgan par ichki devorning yuqori qismida joylashgan teshikdan (6) qozon ichiga kiradi va havoni suv tushiradigan klapanidan (11) chiqara boshlaydi. Havoni to'la siqilib sterillash kamerasidan chiqib ketgandan so'ng, kuchli par oqimi chiqib boshlaydi. Shunda suv tushiriladigan kran (11) yopiladi, avtoklavda sekin-asta bosim ko'tarila boshlaydi. Manometrlar 1 atm. bosimni ko'rsatganda parning temperaturasi 120—121°C ga ko'tariladi. Shu daqiqadan boshlab sterillash vaqti belgilanadi.

Ko'pincha sterillash vaqti 20 min dan iborat bo'ladi. Agar ozuqa muhitlarning hajmi 1 litrdan ortiq bo'lsa yoki tarkibida tuproq, qum bo'lsa, sterillash vaqti 40 minutga boradi. Manometr strelkasi kerakli bosimdan o'tib ketsa, hosil bo'lgan ortiqcha par, saqlovchi klapandan (4) chiqib turadi.

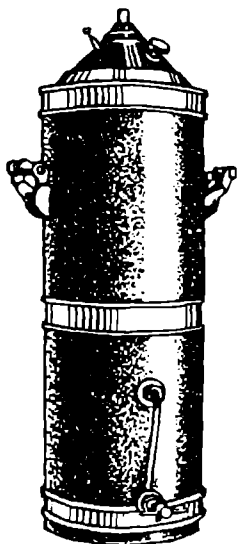
Agar saqlovchi klapandan par hushtak bilan chiqib boshlasa, avtoklavni darhol o'chirish lozim. Sterillash vaqti tugagach, qizdirish to'xtatiladi va manometrning strelkasi nolga tushgandagina suv tushiriladigan kran (11) ochiladi.

Agar kran oldinroq ochib yuborilsa, idishlardagi ozuqa muhitlari qattiq qaynab, ko'tarilib tiqinlarni ho'l qiladi yoki tiqinlar otilib chiqib ketib, idishlardagi suyuqlik to'kilishi mumkin.

Manometrning ko'rsatishi MPa	To'yingan parning temperaturasi °C	Manometrning ko'rsatishi MPa	To'yingan parning temperaturasi °C
0,00	100	0,15	128
0,05	112	0,20	134
0,10	121	0,30	144

Vaqtidan oldin qopqoqni ochishga ruxsat etilmaydi, chunki chiqa boshlagan par oqimi terini kuydirishi mumkin.

Kox apparatida oquvchan par yordamida steril-lash. Kox apparati metallardan yasalgan silindrdir. Uning tashqi tarafi issiqlikni izolyatsiya qiladigan material (asbest, linoleum) bilan qoplangan (17-rasm).



17-rasm.
Kox apparati
(oquvchan parli).

Silindrning tagligigacha (podstavkagacha) suv quyiladi. Sterillanadigan materiallar hamma devorlari teshikchali chelaklarga solib, Kox apparatining tagligi ustiga qo'yiladi. Silindrning qopqog'i konus shaklida bo'lib, undan par chiqib turishi uchun teshikchalar qilingan. Energiya manbai — gaz yoki elektr bo'lishi mumkin. Kox apparatidagi temperatura 100 °C dan oshmaydi.

Oquvchan par bilan 100°C dan oshganda tarkibi o'zgaradigan ozuqa muhitlar (masalan, qantli muhitlar) sterilanadi. Bu usulda sterilash 3 kun davomida ketma-ket 30 minutdan 100°C da qizdiriladi. Birinchi kun 30 min qaynatganda mikroblarning hamma vegetativ hujayralari o'lib, sporalari esa saqlanib qoladi. Ertasiga

ko'pchilik sporalar o'sib vegetativ hujayralarga aylanadi, yana 30 minut sterillanganda ular ham o'ladi. Tirik qolgan sporalar yana o'sib vegetativ hujayraga aylanadi. Uchinchi kuni qaynatganda ular ham o'ladi. Suyuqlik hajmiga qarab qizdirish vaqtini 45—60 minutgacha ko'paytirish mumkin.

Quruq issiqlik bilan Paster pechida sterillash. Paster pechi ikki devorli shkaf bo'lib, tashqi devori asbest yoki issiqqa chidamli, issiqlikni izolyatsiya qiladigan boshqa material bilan qoplangan (4-rasm).

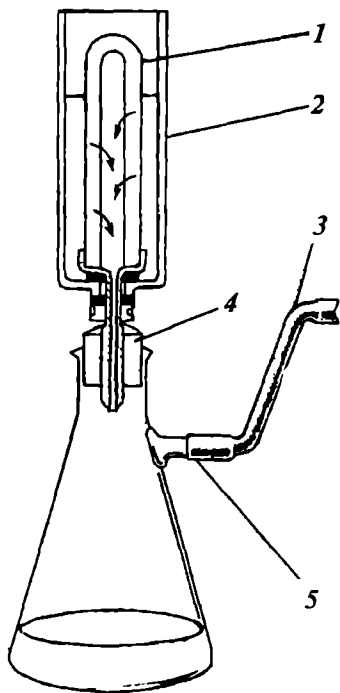
Elektroenergiya yordamida shkaf qizdiriladi. Sterillash 140 °C dan yuqori temperaturada olib boriladi. Bu usulda 160—170 °C da 1,5—2 soat davomida shisha idishlar, paxta, qog'oz, qum va boshqa materiallar sterillanadi. Sterillanadigan idishlarni tozalab yuvib, quritib, qog'ozga o'raladi. Probirka, kolba, pipetkalar paxta tiqinlar bilan berkitiladi.

Filtrlab sterillash (sovuq sterillash). Ozingina qizdirishga ham bardosh bermaydigan suyuq ozuqa muhitlarini maxsus mayda g'ovakli (porali) bakterial filtrlar yordamida sterillanadi. Bakterial filtrlar yuzasida mexanik aralashmalar bilan birga mikroorganizmlar ham ushlanib qoladi. Faqat viruslar va saglar undan o'tib ketadi. Tarkibida oqsillar, antibiotiklar, vitaminlar va uchuvchan moddalari bor ozuqa muhitlar filtrlash yo'li bilan sterillanadi. Bunda muhit tarkibi va xususiyatlari o'zgar olmay saqlanadi.

G'ovak filtrlardan Shamberlan, Berkefeld shamlari (18-rasm), Zeytsning asbest filtrlari (5-rasm) va nitroselyullozadan yasalgan membrana filtrlari qo'llanadi. Filtrlashni yuqori bosimda yoki filtr tagidagi bo'shliqqa vakuum yaratib olib boriladi.

Filtrlar ishlatilish oldidan sterillangan bo'ladi. Filtrlangan suyuqlikni sterillik qoidalariga rioya qilib, oddiy sterillangan kolbaga quyib, tiqinini berkitib, qog'oz bilan o'rab qo'yiladi.

Qaynatib sterillashni ichiga distillangan suv va 1% li natriy gidrokarbonat qo'shilgan maxsus sterilizatorlarda olib boriladi. Distillangan suv bo'lmasa, qaynatilgan suv



18-rasm. Keramika shamlari orqali filtrlash:

- 1—sham; 2—shisha idish;
3—qalin rezinkadan yasalgan trubka; 4—rezinka tiqin;
5—paxta tiqin.

quyish mumkin. Sterilizator tagiga tekislab paxta yoki marlini yoyib, ustiga shprits, nina, pinset, qaychi, skalpel va boshqa narsalar solinadi va 10 minutdan 40 minutgacha qaynatiladi (ifloslanganlik darajasiga qarab).

Bunday sterillashdan turmush sharoitida sanatoriya, dam olish kunlarida, kasalxonalarda, turli transport vositalarida ham foydalanish mumkin.

Olovda cho'g' qilib qizdirib sterillash yoki flanbirovaniye qilish. Mikrobiologik ignalarni, Paster pipetkalarini, pinsetlarni va olovda buzilmaydigan boshqa predmetlarni sterillashda bu usuldan foydalaniladi.

Shisha idishlarni sterillash. Idishlarni sterillashdan oldin tozalab yuvib, quritiladi.

Probirka va kolbalar paxta tiqinlar bilan berkitiladi. Probirkalarni 10, 20, 30, 40 donadan qog'ozga o'raladi. Kolbalarning tiqinlari ustidan yana qog'oz bilan o'rab, ip bilan bog'lab qo'yish kerak. Pipetkalarining og'izga soladigan tomoniga paxta tiqinlar tiqiladi. Pipetkalar eni 4—5 sm li uzun qog'ozlarga o'raladi va qopqoqli karton yoki metallardan yasalgan penallarga solinadi. Agar penallar bo'lmasa, qalin qog'ozdan penallar yasash mumkin. Sterillangan pipetkalarini faqat tamponli tomonidan ushlab olinishi mumkin. Petri likobchalarining har birini alohida yoki 2—3 donadan qog'ozga o'rash kerak.

Tayyorlangan idishlarni quritish shkafining reshetkalariga yoki avtoklavga qo'yganda juda zich joylamaslik kerak, chunki quruq havo va quruq to'yingan par idishlarni bir tekisda qizdirishi kerak. Quritish shkafi zich, mahkam yopilishi kerak. Agar quritish shkafida temperaturani birdek saqlaydigan moslamasi bo'lmasa, sterillashda doim haroratga qarab turish kerak. Temperaturani 175°C dan oshirmaslik lozim, chunki qog'oz va tiqinlar buziladi. Idishlar yorilib ketmasligi uchun sterillash tugagandan keyin shkaf 100—70°C gacha sovishi kerak, shundagina idishlarni chiqarib olish mumkin. Sterillangan idishlar o'ralgan qog'ozlarni bevosita ishlash oldidan ochish kerak, aks holda sterillik buzilishi mumkin.

Asbob va uskunalarni sterillash. Mayda metall asboblarni (ilmoq, igna, lanset, pinset, qaychilarni) sterillash uchun ishlatishdan oldin olovda qizdirib olinadi. Kolba va probirkalarning og'zini hamda to'plamlarni ekishda, ozuqa moddali muhitlarni quyishda paxta tiqinlar ham olovda qisqa muddatda qizdiriladi.

Mikroorganizmlar o'stiriladigan uskunalarni, ularning qismlarini, rezina tiqinlarni, ulaydigan shlangalarni dastlab qalin qog'ozga o'rab, avtoklavda sterillanadi.

Issiqqa bardosh bermaydigan plastmassadan yasalgan toza sentrifuga probirkalarini ultrabinafsha nurlar yordamida sterillanadi.

3.4. Pasterlash usullari

Pasterlashni yoki chala sterillashni Lui Paster taklif etgan bu usuli oziq-ovqat sanoatida keng qo'llanadi. Pasterlashda asosan kasal keltiruvchi — patogen mikroorganizmlar va vegetativ hujayralar halok bo'lib, ozuqa muhitlar, oziq-ovqatlar va boshqa mahsulotlarning sifati saqlanib qoladi. Pasterlashning 2 turi mavjud: uzoq muddatli va qisqa muddatli.

Uzoq muddatli pasterlashda mahsulot 60—70°C temperaturada 15—20 min. davomida qizdiriladi.

Qisqa muddatli yoki darhol — bir onda pasterlash oziq-ovqatlar ishlab chiqarishda keng joriy etilgan (masalan: sut, turli sharbatlar ishlab chiqarishda). Mahsulot 90—100 °C da bir necha sekunddan boshlab 1—3 minutgacha qizdiriladi. Pasterlashda issiqqa chidamli mikroorganizmlarning vegetativ shakllari va sporalar tirik qoladi. Shu sababli pasterlangan mahsulotlarni uzoq vaqt saqlab bo'lmaydi.

Ultrasterillashdan sutni zararsizlantirishda foydalaniladi. Mahsulot 150°C da 1 sekund qizdiriladi. Bunda vitamin C-ni parchalaydigan oksidlovchi jarayonlar to'xtaydi va sutning sifati uzoq vaqt saqlanadi.

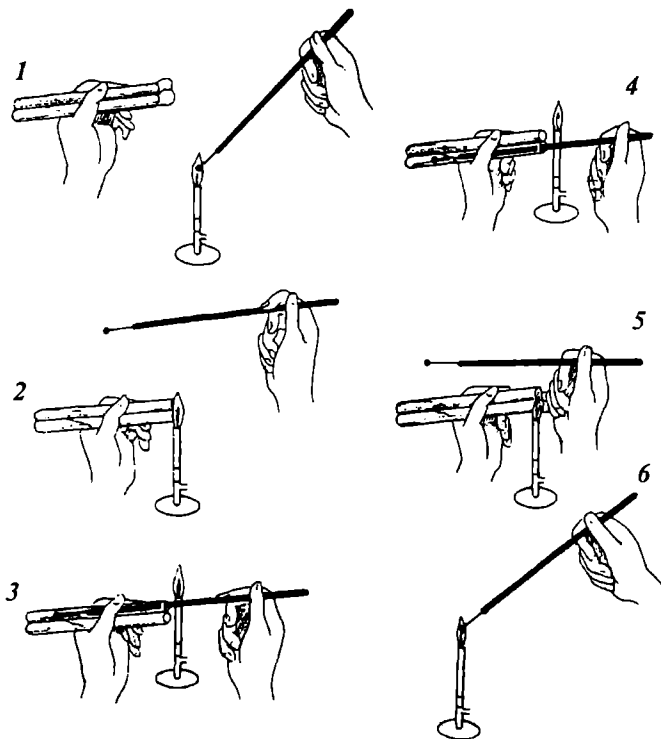
4. MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH VA TOZA TO'PLAM OLISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Mikroorganizmlarni suyuq va qattiq ozuqa muhitiga ekish va qayta ekish usullarini o'rganish, har xil mikroorganizmlarning yig'ma (elektiv) to'plamini, shuningdek, ularni qattiq ozuqa muhitli Petri likobchasiga ekish yo'li bilan toza to'plam olishni o'rganish.

4.1. Mikroorganizmlarni ekish va qayta ekish usullari

Har xil substratlardan mikroorganizmlarni ajratib olish, ularning toza to'plamlarini ko'paytirish va aktiv holatda saqlash uchun ular laboratoriya sharoitida ekiladi va qayta ekiladi. Tekshiriladigan materialdan ozgina olib, ozuqa muhitiga ekish **inokulyatsiya (ekish)** deb, boshqa yangi ozuqa muhitiga ekish **qayta ekish** deb ataladi. Ekishda va qayta ekishda quyidagi usullarga amal qilish zarur (19-rasm):

1. Chap qo'lga ikkita — biri sterillangan muhitli, ikkinchisi o'stirilgan to'plamli probirka olib, qiya holatda tutib turiladi.



19-rasm. Mikroorganizmlar to'plamini qayta ekish.

O'ng qo'lda esa bosh va ko'rsatkich barmoq bilan bakterial ilmoqni ushlab turib, gorelka alangasida sterillanadi.

2. Ikkala probirkaning paxta tiqinini olib, o'ng qo'lning jimjilog'i va nomsiz barmog'i bilan qo'l kaftiga bosib turiladida, probirkaning chetlari kuydiriladi. Paxta tiqinlar boshqa biror narsaga tegib ketmasligiga e'tibor berish kerak.

3. Ilmoq qayta ekiladigan mikroob to'plami bo'lgan probirkaga tushiriladi. Probirka devorlariga tegib ketmasdan ehtiyotlik bilan bir tomchi suyuq to'plam olinadi. Agar qiya agar yuzasidan olib qayta ekiladigan bo'lsa, ilmoqni sovitish uchun oldin u to'plami yo'q agarga botirib olinadi, shundan keyin qattiq qiya muhitdan ozgina mikroob massasi olinadi.

4. Keyin mikroorganizmlar bo'lgan ilmoq sterilizatsiya suyuq muhitli probirkaga tushiriladi. Bunda probirka devorlariga tegib ketmaslik kerak. Qiya ozuqa muhitiga ekishda mikroorganizmlar hujayrasi bo'lgan ilmoq probirkaning o'ziga kondensatsion suv to'plagan tubigacha tushiriladi. Keyin ehtiyotlik bilan, ozuqa muhitini titib yubormay, probirka tubidan ozuqa muhit yuzasigacha shtrix chiziq chizib chiqiladi.

5. Ilmoqni probirkadan olib, uning chetlari va tiqinining ichki tomoni kuydiriladi, shundan keyin probirkalarning og'zi berkitiladi.

6. Ilmoq garelka alangasida qayta qizdiriladi.

7 Probirkaga: to'plamning nomi va ekish muddati yozib qo'yiladi. Yozuv shishaga yozadigan siyohda yoki qalamda yoziladi yoki etiketka yopishtiriladi. To'plam o'sishi uchun ekilgan probirkalar termostatda doimiy temperaturada saqlanadi.

Yuqorida bayon etilgan ishlar garelka alangasi yonida (lekin alanga ustida emas), iloji boricha tez bajariladi, aks holda to'plam begona mikroorganizmlar bilan ifloslanadi. Toza to'plam bilan ishlovchi shaxs oldida keskin harakatlantirish, yurish, yo'talish, gapirish mumkin emas, chunki havoning harakati to'plam va muhitning tasodifiy ifloslanish xavfini ko'paytiradi. Shuning uchun mikroorganizmlarni yaxshisi bokslarda ekish va qayta ekish kerak.

Suyuq muhitga to'plamlar ilmoqda yoki pipetkada ekiladi. Bunda paxta tiqini ho'l bo'lmasligi uchun har ikkala probirka qiya holatda ushlanadi. Mikroorganizmlar bo'lgan ilmoq bevosita sterilizatsiya muhitga tushiriladi va chayiladi. Hujayralarni (qattiq muhitdan ilmoqda olingan) probirkaga o'tkazishda material uning devoriga yaxshilab ishqalanadi (suyuq muhit yuzasi sathida) va har doim muhit bilan yuvib turiladi.

Qattiq muhitga to'plamlar ignada, ilmoqda va Drigalskiy shpatelida ekiladi. Qiya agarga mikroorganizmlar turli usullarda ekiladi: zigzagsimon shtrix qilib ekishda ilmoq muhit

yuzasida probirkaning bir devori chekkasidan ikkinchisiga tomon erkin surkab sirpantirib boriladi; to'g'ri chiziq bo'ylab ekishda ozuqa muhiti yuzasining o'rtasidan pastdan yuqoriga tomon ilmoqda to'g'ri chiziq chiziladi; materialni muhitning butun yuzasi bo'ylab ehtiyotlik bilan aylantirib ishqalash yo'li bilan ham ekiladi.

Petri likopchasiga quyidagicha ekiladi: qattiq ozuqa muhiti probirkada yoki kolbada eritib (qaynayotgan suv hammomida), 48—50°C gacha sovitiladi va sterillik qoidalariga amal qilgan holda probirka yoki kolba ichidagi material gorelka alangasi ustida sterillangan likopchaga 3—5 mm qalinlikda quyiladi va sekin aylantirib harakatlantirib bir tekis yoyiladi. Sovigan muhitni termostatda ozgina quritish mumkin. Keyin ilmoqda parallel yoki zigzagsimon shtrixlar shaklida siyrak ekish usulida yoki Drigalskiy shpatelida ekiladi (19-rasm). Shpatel, odatda, bir uchi uchburchak shakldagi shisha tayoqcha bo'ladi. Petri likopchasidagi qattiq ozuqa muhiti yuzasiga ekiladigan materialdan kichik tomchi tomizib, shpatelda sekin-asta oziqa muhiti yuzasi bo'ylab yoyiladi. Ekish vaqtida likopchaning qopqog'i gorelka alangasi tomonga qarab ochiladi. Ekib bo'lingandan keyin shpatelni olovda qizdirib, shtativga qo'yiladi. Keyin likopcha qopqog'ining ustiga to'plamning nomi, ekilgan vaqti va talabning familiyasi yozib qo'yiladi. Likopchalar to'nkarib qo'yiladi. Bunda koloniyalar bir-biriga qo'shilib ketmaydi.

Probirkalardagi GPA yoki go'sht-peptonli jelatina ustuniga mikroorganizmlar igna yordamida ekib o'stiriladi.

Ekilgan va tegishli yozuvlar yozilgan probirka, kolba va Petri likopchalari to'plam o'sishi uchun termostatga qo'yiladi.

4.2. Mikroorganizmlarning yig'ma (elektiv) to'plamini olish usullari

Tarkibida mikroorganizmlar yaqin turlarining yoki hatto bir turining vakillari ko'pchilikni tashkil etgan to'plamlar

yig'ma yoki elektiv deb ataladi (lotincha *elestus* — tanlangan degani). Oziq-ovqat mahsuloti (yoki boshqa obyekt) ning mikroflorasi tarkibini o'rganishda yig'ma to'plamdan toza to'plam ajratib olinadi. Yig'ma to'plam olish uchun tekshiruvchini qiziqtiradigan mikroorganizmlarning ko'plab rivojlanishini ta'minlovchi sharoit yaratiladi. Buning uchun eng avvalo o'ziga xos tanlama muhitdan foydalaniladi; ular mikroorganizmlar muayyan guruhlarining ozuqa muhitiga bo'lgan fiziologik talabini eng to'liq ta'minlaydi. Bu muhitlar birga uchraydigan boshqa mikroorganizmlar uchun kam foydali yoki ular uchun umuman yaroqsiz bo'lishi kerak.

Muhit reaksiyasi (pH), temperatura, kislorod bor-yo'qligi, antibiotiklarga va boshqa birikmalarga chidamliligi yig'ma to'plam olishga ta'sir etadigan muhim omillardir. Masalan, muhitning kislotaliligi oshirilib, bakteriyalarning rivojlanish imkoniyati yo'qotiladi va achitqi hamda mitseliyli zamburug'larning o'sishi uchun qulay sharoit yaratiladi. Termofil organizmlarning yig'ma to'plami 45—65°C, ba'zan hatto 70—75°C temperaturada olinadi. Muhitga ma'lum konsentratsiyada penitsillin qo'shilsa, grammanfiy bakteriyalarning yoki achitqilarning rivojlanishiga ta'sir etadi. Neomitsin yoki penitsillin streptomitsin bilan birgalikda bakterial mikroflorani nobud qiladi va achitqilarning rivojlanishi uchun sharoit yaratadi. Nistatin esa aksincha, bakteriyalarga ta'sir etmay, achitqilarning hayot faoliyatiga to'sqinlik qiladi. Aeroblarning yig'ma to'plamini olish uchun ozuqa muhitni kolbalariga yupqa qilib (1,5—2 sm) quyib, tebratma uskunada (kachalkada) o'stiriladi. Anaerob mikroorganizmlar bilan boyitish uchun muhit uzun probirkalarga yoki flakonchalarga to'ldirib quyiladi.

Bitta elektiv muhitning o'ziga yana ikkinchi marta qayta ekilishi va ma'lum turlar uchun qulay bo'lgan sharoit yaratilishi natijasida to'plam asta-sekin kerakli xossaga ega bo'lgan mikroorganizmlar bilan boyib boradi, birga uchraydigan formalar kamayadi.

Quyida oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan, amalda muhim ahamiyatga ega bo'lgan ayrim mikroorganizmlarning, shuningdek, oziq-ovqat mahsulotlarini buzadigan, ko'p tarqalgan qo'zg'atuvchilarning elektiv to'plamini olish usullari bayon etiladi.

Har bir talaba biror elektiv to'plamni oladi, ya'ni mavzuning bitta topshirig'ini bajaradi. Har qaysi topshiriq ikkita laboratoriya mashg'ulotida bajariladi: birinchi mashg'ulotda ma'lum bakteriyalarni to'plash-yig'ish uchun tajriba o'tkaziladi; ikkinchi mashg'ulotda tajriba natijasi tahlil qilinadi.

Sut achituvchi bakteriyalarning yig'ma to'plamini olish. Bunda qatiq, tuzlangan sabzavot va mevalar, o'simliklar guli yoki bargi va boshqa obyektlar sut achituvchi bakteriyalarni ajratib olish uchun boshlang'ich material bo'lib xizmat qiladi. Sut achituvchi bakteriyalar o'stiriladigan elektiv muhit 3-ildovada berilgan. Ye. I. Kvasnikov sut achituvchi bakteriyalarning spirtga chidamliligini hisobga olib, sut achituvchi mezofil bakteriyalarning yig'ma to'plamini olishning quyidagi usulini taklif etdi: tekshiriladigan material optimal muhitga ekiladi va 18—24 soatdan keyin unga etil spirti qo'shiladi. Sut achituvchi kokklarni ajratib olish uchun muhitdagi spirt konsentratsiyasini 8—10 hajm %, sut achituvchi tayoqchalar uchun 12—14 hajm % darajada saqlash mumkin. Spirtli manbalar (vino, brajka, pivo) dan ajratib olingan ba'zi turlar (*Lactobacillus buchneri*, *L. brevis*, *L. fermenti*) uchun spirt konsentratsiyasi 16—18 hajm % gacha oshiriladi.

Sut achituvchi termofil bakteriyalarning yig'ma to'plamini olish uchun solod sharbati bo'lgan kolbaga ozgina yanchilgan arpa yoki arpa solodi qo'shib, termostatda 48—50°C da saqlash mumkin. 1—2 kundan keyin muhit qavatida tovlanadigan kuchsiz to'lqinsimon loyqa paydo bo'ladi; mikroskopda tekshirilganda ingichka, uzun, harakatlanmaydigan sporasiz tayoqchalar ko'rinadi.

Achitqilarning yig'ma to'plamini olish. Boshlang'ich material sifatida presslangan yoki ekiladigan ishlab chiqarish

achitqilaridan, pishgan uzum, rezavor mevalardan, pivo yoki vino cho'kmasidan, non achitqilari va hokazolardan foydalanish mumkin. Materialdan ozgina olib, solod sharbatiga (pH 4—4,5), uzum sharbatiga yoki sintetik elektiv muhitga qo'shilsa va termostatda 28—30°C da saqlansa, achitqilar avj olib rivojlanadi. Solod sharbatida avj olib, rivojlanadigan mitseliyli zamburug'lari o'sishining oldini olish uchun 4—6 hajm % etil spirti yoki 0,2 % natriy propionat qo'shish mumkin. Birga uchraydigan bakteriyalar muhitga levomitsetin (50 mg/l), neomitsin (20 birlik/mg) yoki penitsillin bilan streptomitsinning aralashmasini (50—100 birlik/ml) qo'shib yo'qotiladi. Takomillashmagan achitqilarni yo'qotish uchun ozuqa muhitiga 0,1—0,2 % miqdorda yod-sirka kislota yoki lizinli sintetik muhitga boshlang'ich materialdan qo'shiladi. Saxaromitsetlarni boshqa achitqilardan ajratib olish uchun muhitga 2,5 % etilatsetat qo'shib, sirka kislota bilan muhit pH 4,0 gacha yetkaziladi.

Spora hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma to'plamini olish. Bu to'plamlar dastlab pasterlangan substratlardan olinadi. *Bacillus subtilis* ning yig'ma to'plami uchun maydalab qirqilgan pichan ustiga 40°C gacha isitilgan suv quyib, keyin 10—15 minut qaynatiladi. 2—3 kundan keyin substrat yuzasida akatsiya hidi anqib turadigan kulrang-oq plyonka hosil bo'ladi. U *B. subtilis* tayyoqchalaridan tashkil topgan bo'ladi.

Moy kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma to'plamini olish. Buning uchun bo'r (mel) qo'shilgan sterillangan kartoshkali muhitdan foydalaniladi. Muhitni probirkalarga 10 ml dan yoki 100 ml li kolbachalarga 80 ml dan quyib oquvchan bug'da yoki avtoklavda 0,05 MPa da sterillanadi. Ekishdan oldin muhitni albatta 20—30 minut qaynatib, keyin tezda suv bilan sovutiladi. Boshlang'ich materialni sterillangan suvda ishqalab, probirkalarga 1—2 ml dan yoki kolbachalarga 8—10 ml dan ekiladi. Shuningdek, boshlang'ich materialni shakarining 10 % li eritmasi to'la-

tilgan va tubida bo'r cho'kmasi bo'lgan ingichka uzun bo'yinli kolbaga ham ekish mumkin. Muhitga kichik bo'lak aynigan pishloq qo'shiladi.

Moy kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma to'plamini olishning oddiy (sodda) usuli quyidagicha: uzun bo'yinli kolbaga po'chog'i archilmagan kartoshkadan bir necha bo'lak solib, ustiga suv quyiladi va 80°C da 10 minut pasterlanadi, shundan keyin termostatga 37°C issiqqa qo'yiladi. 1—2 kundan keyin mikroskopda qaralganda suyuqlikda spora hosil qiluvchi juda ko'p tayoqchalar borligini ko'rish mumkin.

Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma to'plamini olish. Buning uchun 50 ml hajmli konussimon kolbaga ozuqa muhiti — pasterlangan pivo dan yupqa qatlam qilib (1—1,5 sm) quyib, unga 1 ml 5% li sirka kislotasi qo'shiladi. Muhitga kislota qo'shish sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning rivojlanishiga to'sqinlik qilmaydi, lekin begona mikrofloraning o'sishini cheklab qo'yadi. Kolba termostatga 25—30°C issiqqa qo'yiladi. 2-3 kundan keyin pivo yuzasida sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar plyonkasi paydo bo'ladi. Spora hosil qilmaydigan bu bakteriyalar mayda tayoqchalardir, ular harakatchan yoki harakatlanmaydigan bo'ladi.

Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma to'plami solodli yoki karamli muhitda ularga 4 hajm % etil spirti va 20 birlik/ml monomitsin antibiotigi qo'shib, bu muhitlarga achigan vino, pivo yoki boshqa materiallarni ekish yo'li bilan olinadi.

Chirituvchi bakteriyalarning elektiv to'plamini olish. *Proteus (Proteus vulgaris)* va kartoshka tayoqchasi (*Bac. mesentericus*) chirituvchi bakteriyalarning tipik vakillari hisoblanadi. Bularning yig'ma to'plamini olish uchun ichida sterillangan GPB bo'lgan probirkaga ozgina tuproq solinadi. Probirkaning og'zi paxta tiqin bilan berkitiladi. Bunda keyinchalik oqsilning ayrim parchalanish mahsulotlari

(NH₃ va H₂S) hosil bo'lishini aniqlash maqsadida tiqin tagiga nam lakmus qog'oz va qo'rg'oshin atsetat shimdirilgan filtr qog'oz lentasi bir uchi bilan qistirib qo'yiladi. Qog'ozlar probirka devoriga tegmasdan erkin osilib turishi kerak. Tarkibidagi ammiak va vodorod sulfid uchib ketmasligi uchun probirkaning paxta tiqini ustiga sellofan o'rab yoki rezina qalpoqcha kiydirib qo'yiladi. Keyin probirka termostatda 30°C issiqda 2—3 kun saqlanadi. Vaqt o'tishi bilan lakmus qog'ozning ko'karishi ammiak ajralayotganidan dalolat beradi. Agar vodorod sulfid ajralsa, qo'rg'oshin atsetat bilan namlangan qog'oz qorayadi (yoki qo'ng'ir rangga kiradi), chunki bunda qo'rg'oshin atsetat qora rangli qo'rg'oshin sulfatga aylanadi. Mikroskopda ko'rish uchun "ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi va tayoqchalarning harakatlanishi o'rganiladi, shuningdek, fiksirlangan preparat tayyorlanadi, "oddiy" usulda bo'yaladi va hujayralarning shakli hamda sporalari bor-yo'qligi o'rganiladi.

Proteylarning yig'ma to'plamini olish. Protey nihoyatda harakatchanligi bilan xarakterlanadi. U mayda tayoqcha shaklida bo'lib, spora hosil qilmaydi, Gram usulida bo'yalmaydi. Ayrim xillari toksin ishlab chiqaradi. Bu bakteriyalar ko'paygan mahsulot iste'mol qilinsa, zaharlanish mumkin.

Yig'ma to'plam olish uchun qiya go'sht-pepton agarli probirkaga bug'doy donidek aynigan go'sht tashlab, og'zi paxta tiqin bilan berkitiladi va termostatda 30°C issiqda 1—2 kun saqlanadi. Protey aktiv harakatlanadigan bo'lgani uchun boshqalardan oldin qiya agar yuzasida chirmashib o'sib, uning yuqori qismida o'ziga xos och havorang-kulrang mayin g'ubor hosil qiladi. Ana shu g'ubor (nalyot) ning eng yuqori qismidan olib "ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi. Uni mikroskopda ko'risla hujayralarning shakli va harakatchanligini qayd etish mumkin.

Kartoshka tayoqchasining yig'ma to'plamini olish.
Bacillus mesentericus spora hosil qiluvchi harakatchan

tayoqcha. Uning yig'ma to'plamini olish sporalarning issiqqa chidamliligiga va ishlatiladigan ozuqa muhitining o'ziga xosligiga (spetsifikligiga) bog'liq. 1 sm qalinlikdagi 1—2 bo'lak kartoshkani olib, hujayra shirasining kislotalarini neytrallash uchun har tomoni bo'r bilan ishqalanadi. Keyin shu kartoshka bo'lakchalarini Petri likopchasiga qo'yiladi. So'ngra likopchani Kox apparatiga qo'yib, oquvchan bug'da 100°C da 10 minut qizdiriladi. Sovitilgandan keyin termostatga quyib, 100°C da 2—3 kun saqlanadi. Kartoshka bo'lakchalari ustida *V mesentericus* jigar rang mayda yoki yirik burmali g'ubor shaklida o'sadi. G'uborni mikroskopda ko'riladi, "ezilgan tomchi" va oddiy usulda bo'yalgan preparat tayyorlanadi.

4.3. Toza to'plam ajratib olish usullari

Tekshirilgan materialda, odatda, bitta emas, balki mikroorganizmlarning bir necha turi bo'ladi. Mikroorganizmlarning morfologik kultural va fiziologik-biokimyoviy xossalari o'rganishda, ulardan sanoatda foydalanishda albatta toza to'plam bo'lishi shart. **Toza to'plam** bitta hujayradan olingan nasldir. Toza to'plam olishning bir qancha usullari bor. Bu usullarning barchasi mikroorganizmlardan yagona-bitta hujayra ajratib olishga asoslangan. Toza to'plam alohida koloniya yoki bitta hujayra shaklida yig'ma to'plamdan ajratib olinadi.

Bitta koloniyadan toza to'plam ajratib olish. Bu usulni mikrobiologiya amaliyotiga Kox kiritgan. Bunga ko'ra, qattiq ozuqa muhiti qaynab turgan suv hammomida eritiladi, so'ngra 45—50°C gacha sovitiladi va Petri likopchasiga quyiladi. Buning uchun muhitli idishni o'ng qo'lda qiya ushlab, paxta tiqini olinadi. Keyin idishning og'zi gorelka alangasida qizdiriladi, chap qo'lning bosh va ko'rsatkich barmog'i bilan likopchani qopqog'ini ochib, tezda eritilgan muhit quyiladi (15—20 ml); bunda likopchani tubi to'liq qoplanishi kerak.

Keyin likopcha qopqog'ini tezda berkitib, muhit soviguncha tinch qoldiriladi.

Aerob mikroorganizmlar **yuza usulda** ajratib olinadigan bo'lsa, bir tomchi yig'ma to'plam yoki uning suyultirmasi ilmoqda yoki pipetkada sovigana muhit o'rtasiga tomiziladi (likopcha qopqog'ini qiya ochib turib). Keyin uni sterillangan shisha shpatelda likopchadagi muhit yuzasiga yoyiladi. Shundan so'ng material qoldig'i bo'lgan shu shpatel ikkinchi, uchinchi, kamdan-kam holda to'rtinchi Petri likopchasidagi muhit yuzasiga surkab chiqiladi. Bunda likopchalar qopqog'i faqat shpatel sig'adigan darajada ochiladi. Ekib bo'lingandan keyin shpatel dezinfeksiyalovchi eritmaga botirib qo'yiladi. Sanoatda ishlab chiqarilgan achitqilardan, brajka, sut, suv, pivo, vino, kvas, qimiz, xamir, tuproq, xom ashyo yuvindi suvlari, jihozlar va hokazolardan ham ana shu yo'l bilan toza to'plam olish mumkin. Buning uchun oldin sterillangan suvda yoki fiziologik eritmada suyultirma tayyorlab olinadi.

Yig'ma to'plamni qattiq ozuqa muhiti yuzasiga **shtrix usulida** ekish ham mumkin. Buning uchun ekish materialidan ilmoqda bir tomchi olib, 2—3 ta Petri likopchasidagi agar plastinkasi bo'ylab parallel yoki zigzagsimon shtrix bo'ylab ekiladi. Suyultirilgan yig'ma to'plam bitta likopchaga shtrix usulida ekiladi.

Ekib bo'lingandan keyin likopchalarga tegishli yozuvlarni yozib, to'ntarib qo'yiladi. Aks holda muhit soviganda likopcha qopqog'ida hosil bo'ladigan kondensatsiya suvi muhitga tomib, koloniyalarni yuvib yuboradi. Likopchalar termostatda 2—7 kungacha saqlanadi, chunki har xil mikroorganizmlarning o'sish tezligi turlicha bo'ladi. Ular har kuni kuzatib boriladi. Har bir hujayra ekish vaqtida muhitning qayeriga tushgan bo'lsa, o'sha joyda qoladi. Bu yerda hujayralarning rivojlanishi uchun sharoit qulay bo'ladi va ular koloniya, ya'ni bir turning juda ko'p hujayralarini hosil qiladi. O'sib chiqqan koloniyalar dastlab mikroskopsiz, keyin esa lupada yoki mikroskopning quruq obyektivlarida ko'riladi.

Fakultativ anaeroblarga mansub mikroorganizmlar ko'pincha **chuqur ekish usulida** ajratib olinadi. Buning uchun qattiq ozuqa muhiti 15—20 ml dan probirkalarga quyiladi va sterillanadi. Ajratishdan oldin probirkadagi muhit eritiladi, 45—50°C gacha sovitiladi va sterillangan ilmoqda bir tomchi yig'ma to'plam qo'shiladi. So'ngra probirkaning og'zini paxta tiqin bilan berkitib, aralashtiriladi. Shundan keyin 2-3 tomchi aralashma olib, ikkinchi probirkaga qo'shiladi. Ikkinchi probirkadan 5-6 tomchi olib, uchinchi probirkaga ekiladi. Ana shunday yo'l bilan ekiladigan materialdan bir necha suyultirma tayyorlanadi, keyin probirkalarni kaftlar orasida aylantirib, ichidagi material aralashtiriladi. Bu material steril sharoitda Petri likopchasiga quyiladi. Keyin mikroorganizmli muhit likopcha tubiga bir tekis yoyiladi va sovitish uchun tinch qoldiriladi. Agarli muhit 40°C da sovitilgan uchun u bilan ishlashda chaqqon harakat qilish kerak. Chuqur usulda ekilganda koloniyalarning bir qismi agar ichida o'sadi. Ular sterillangan skalpelda yoki ilmoqda olinib, ajratib olinadigan turlar uchun qulay bo'lgan suyuq muhitga o'tkaziladi.

Anaerob mikroorganizmlarni Kox usulida ajratib olish uchun to'plamga kislorod tegishini cheklash zarur. Buning uchun Petri likopchasidagi chuqur ekilgan to'plam yuzasiga parafin bilan vazelinning sterillangan aralashmasi (1:1 nisbatda) quyiladi. Uzunligi 20—30 sm, diametri 0,4—0,7 sm bo'lgan Paster pipetkasiga o'xshatib yasalgan sterillangan maxsus shisha naychadan foydalanish mumkin. Bu naychaga suyultirilgan yig'ma to'plam bilan sovitilgan ozuqa muhiti aralashmasi to'ldirilgandan keyin uning ikki tomoni — kapillyar tomoni va toraytirilgan joyidan kavsharlab qo'yiladi. Agarli ozuqa muhitiga yaxshilab aralashtirilgan ekish materialini oddiy probirkalarda qoldirish ham mumkin. Buning uchun paxta tiqini rezina tiqinga almashtiriladi yoki ustiga parafin bilan vazelin moyi aralashmasi quyib qo'yiladi.

Anaerob mikroorganizmlarning o'sib chiqqan koloniyasini ajratib olish uchun probirka yoki naychani gorelka alangasi tepasida bir-ikki aylantirib olinadi. Ana shunda devorlarga yopishgan agar erib, muhit "ustuni" tayyorlab qo'yilgan sterillangan Petri likopchasiga sirg'alib tushadi. Keyin agar ustunini sterillangan lanset bilan kesib, koloniyalar sterillangan ilmoqda yoki kapillyar naychada olinadi va suyuq muhitga solinadi.

Bitta hujayradan toza to'plam ajratib olish. Yirik mikroorganizmlar (achitqi hujayralari, mitseliyli zamburug'lar, ularning sporalari yoki konidiylari, suvo'tlar) ajratib olinadigan bo'lsa, Lindnerning tomchi usulidan foydalaniladi. Buning uchun sterillangan suyuq ozuqa muhitda mikroorganizmlarni shunchalik suyultirish kerakki, uning bir tomchisini mikroskopda qaralganda yakka-yakka hujayralar ko'rinsin. Tayyorlangan steril qoplovchi oyna yuzasiga sterillangan po'lat peroda tayyorlangan suspenziyadan oynaning diagonali bo'ylab bir necha qator tomiziladi. Bunda tomchilar yoyilib ketmasligi kerak. Buyum oynasi chuqurchasining chetlariga sterillangan vazelin surtib, "osma tomchi" preparati tayyorlanadi. So'ngra har bir tomchi alohida-alohida, oldin x8, keyin x40 obyektivda ko'riladi. Faqat bitta hujayra ko'ringan tomchilar qoplovchi oyna ustiga tush bilan belgilab qo'yiladi. Keyin preparat ichiga sterillangan suvda namlangan filtr qog'oz to'shalgan steril Petri likopchasiga qo'yiladi. Natijada tomchi qurib qolmaydigan nam kamera hosil bo'ladi. Likopcha termostatga qo'yiladi. 24 soatdan keyin preparat yana mikroskopda ko'riladi. Tush bilan belgilangan tomchilar sterillangan suyuq muhitga o'tkaziladi. Buning uchun qoplovchi oynani ehtiyotlik bilan olib, tomchilar kichik uchburchak shaklidagi filtr qog'ozga shimdirilib olinadi (sterillangan pinset halqalari orasiga qistirilgan filtr qog'ozga) va qog'oz shu zahoti muhitli probirkaga solinadi hamda termostatga qo'yiladi.

5. MIKROORGANIZMLARNING MORFOLOGIK, KULTURAL, FIZIOLOGIK, BIOKIMYOVIY XOSSALARINI O'RGANISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Bakteriyalar, aktinomitetlar, achitqi va mog'or zamburug'larining asosiy morfologik-to'plam va fiziologik-biokimyoviy xossalarini o'rganish. Mikroskopda ko'rilgan barcha preparatlar rasmini chizib olish. **Bakteriyalarning** har xil shakllaridan "ezilgan tomchi" shaklida, "oddiy" usulda bo'yalgan preparatlar tayyorlash, ularni mikroskopda ko'rish va harakatchanligini kuzatish. Bakteriylarning sporasi, kapsulasi va xivchinlarini bo'yash.

Aktinomitetlarning antibiotik aktivligini aniqlash.

Har xil shakldagi: yumaloq, oval, silindrsimon, limon shaklidagi va boshqa **achitqilarni** mikroskopda ko'rish. Achitqilar sporasi, yadrosini va hujayrasi tarkibidagi boshqa qismlarni bo'yash.

Oziq-ovqat mahsulotlarida ko'p uchraydigan **mog'or zamburug'larini** mikroskopda ko'rib o'rganish ("ezilgan tomchi" usulida).

Har xil mikroorganizmlar hujayrasining o'lchamini (yirik-maydaligini) aniqlash.

5.1. Mikroorganizmlarni tasniflashda qo'llanadigan belgilar

Har qanday mikroorganizm faqat sof to'plamida o'rganiladi. Sof to'plamlarning morfologik-sitologik, kultural va fiziologik-biokimyoviy xossalari o'rganiladi. Ana shu xossalari asoslanib, mikroorganizmlarni tasniflash va taksonomik joylashuvini (taksonomik holatini) aniqlash mumkin.

Mikroorganizmlarning shakli va o'lchami, ularning bir-biriga nisbatan joylashuvi, Gram usulida bo'yalishi, spora va kapsulalar hosil qilishi, harakatchanligi, xivchinlarining joylashishi, hujayralarida ayrim qo'shilmalar hosil bo'lishi ularning **morfologik-sitologik belgilaridir. Kultural**

belgilari — mikroorganizmlarning qattiq va suyuq ozuqa muhitida o'sish xossalari. **Fiziologik-biokimyoviy belgilarini** o'rganishda ularning uglerod va azotning turli manbalariga munosabati, kislorodga talabi, o'sish temperatura chegaralari, sho'rga chidamliligi, safroga chidamliligi, antibiotiklarga sezgirligi, fermentativ testi aniqlanadi. Shuningdek, qo'shimcha belgilaridan serologik, fagochidamlilikni, hujayralar devorining kimyoviy tarkibini, DNK dagi alohida nukleotidlarning miqdorini ham hisobga olish tavsiya etiladi.

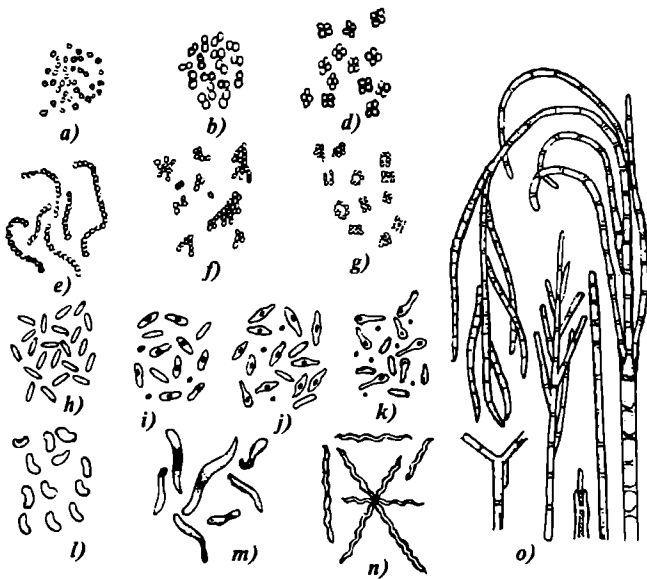
Binobarin, mikroorganizmlarning sistematik holatini aniqlash uzoq vaqt kuzatiladigan, o'ziga xos juda ko'p tadqiqot ishlari olib boriladigan va biokimyoviy analizlar o'tkaziladigan murakkab vazifadir.

Mazkur qo'llanmada mikroorganizmlarni tasniflashda ko'p foydalaniladigan belgilari bayon etilgan. Ularni o'quv laboratoriyalarida va sanoatdagi mikrobiologik laboratoriyalarda bema'lol bajarish mumkin.

5.2. Bakteriyalarning asosiy xossalari va belgilari

5.2.1. Bakteriyalarning morfologik belgilari

Bir hujayrali mikroorganizmlarning ko'pchiligi bakteriyalar guruhiga kiradi. Ularning shakli, yirik-maydaligi va ulardagi moddalar almashinuvi turlichadir. Bakteriyalar — prokariotlardir, ularning ajralib turadigan yadrosi bo'lmaydi. Yadro moddasida va hujayradagi boshqa organellalarda sitoplazmadan ajratib turadigan maxsus membranalar yo'q. **Tashqi ko'rinishiga qarab bakteriyalar** uchta asosiy guruhga bo'linadi: sharsimon, tayoqchasimon yoki silindsimon va buralgan (20-rasm). O'z navbatida ular ham shakli bo'yicha har xil turlarga bo'linadi. Yana bakteriyalarning bir hujayrali va ko'p hujayrali i psimon, shoxlangan hamda yon o'simtali turlari ham mavjud. So'nggi yillarda turli substratlardan yana halqasimon, yulduzsimon, chugalchangsimon va boshqa shakllari ham ajratib olingan.



20-rasm. Bakteriyalarning shakli:

a—mikrokokklar; *b*—diplokokklar; *d*—tetrakokklar;
e—streptokokklar; *f*—stafilokokklar; *g*—sarsinalar; *h*—spora hosil
 qilmaydigan tayoqchasimon bakteriyalar; *i-j*—tayoqchasimon spora
 hosil qiluvchi bakteriyalar batsillyar (*i*), klostridial (*j*) va plektridial
 (*k*) turda spora hosil qilishi; *l*—vibriionlar; *m*—spirillalar;
n—spiroxetalar; *o*—ipsimon shakllilar.

Bakteriyalarning o'lchami. Kokk shaklli bakteriyalar-
 ning o'rtacha diametri 0,5—2,5 mkm ga teng, tayoqchasimon
 bakteriyalarning eni o'rtacha 0,5—1 mkm, uzunligi 1—5 mkm,
 ba'zan 8—12 mkm dir. Ammo juda maydalari — pigmeylar
 (0,12—0,25 mkm) va juda yirik bakteriyalar (500 mkm)
 ham bor. Vibriionlarning o'lchami 1,5—3 x 0,5; spirillalar-
 niki — 2—60 x 0,2—1,7; spiroxetalarniki — 5—500 x 0,2—0,75
 mkm ni tashkil qiladi.

5.2.2. Bakteriyalar sporasi va ularni bo'yash usullari

Ba'zi tayoqchasimon bakteriyalarda — batsillalarda spora
 hosil bo'ladi. Spora — tinch holatdagi hujayradir. Uning

qobig'i vegetativ hujayraning qobig'iga nisbatan ancha qalin va pishiq bo'ladi, tarkibida suv kam bo'lib, kalsiy va dipikolin kislota mavjudligi sababli tashqi muhit ta'siriga ancha chidamliroqdir. Bakteriyalar hujayrasida faqat bitta spora hosil bo'ladi. Spora hosil qilish bakteriyalarning tashqi muhitga moslashish uchun kurashish qobiliyatidir.

Sporalar bir qator morfologik, sitologik va fiziologik xossalari bilan vegetativ hujayralardan farq qiladi.

"Ezilgan" yoki "osilgan tomchi" preparatlaridagi tirik hujayralardagi sporalar yorug'likni sindirish ko'rsatkichi eng yuqori ekanligi bilan farq qiladi. Shuning uchun ular mikroskopda (hujayralar ichida) yumaloq yoki oval shakldagi qoramtir yoki yaltiroq hosila shaklida ko'rinadi. Eski to'plamlarda sporalar hujayradan tashqarida yumaloq yoki bir oz cho'ziq mayda yaltiroq tanachalarni eslatadi.

Bakteriyalarni tasniflash uchun ularning spora hosil qilish turini (batsilla, klostridiy yoki plektridiy, 20-rasm, i-k), hujayrada sporaning joylashuvini (markazda terminal, qutblarda subterminal yoki eksentral), erkin sporalar shaklini (yumaloq, oval, silindrsimon) va o'lchamini aniqlash zarur. Bular ikki yoki uch kunlik to'plamlar hujayrasidan aniqlanadi.

Sporalar maxsus murakkab usullarda bo'yaladi, chunki asosiy bo'yoqlar ularning ko'p qavatli qobig'idan qiyin o'tadi. Sporalar qobig'ini yumshatish uchun mazoklar kuchli bo'yoqlarda va isitib turib bo'yaladi, keyin sitoplazmasi rangsizlantiriladi va qo'shimcha ravishda kontrast rangga bo'yaladi.

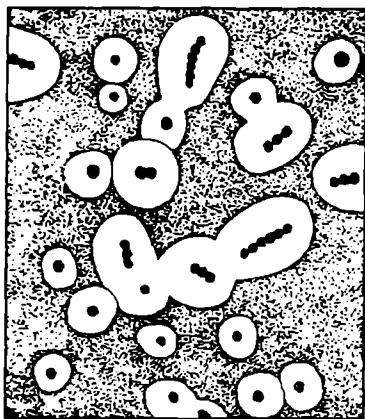
Peshkov usulida bo'yash. Bakteriyalarning 2—3 kunlik to'plamidan tayyorlangan yupqa mazok gorelka alangasida yoki 5 qism 40% li formalin bilan 95 qism 96% li etanolning aralashmasida 15 minut davomida fiksatsiyalanadi. Keyin ustiga Lyoffler bo'yicha metilen ko'ki quyib, buyum oynasini gorelka alangasi ustida tutib turiladi. Bo'yash 10—20 sekund davom etadi. Bo'yovchi suyuqlik bug'langan sari yangisi oz-ozdan qo'shib turiladi. Keyin preparatni

yaxshilab yuvib, 30 sekund davomida neytral qizilning 0,5% li suvli eritmasida qo'shimcha bo'yaladi. Preparatni yana suv bilan yaxshilab yuvib, quritiladi va immersion obyektivida kuzatiladi. Bunda sporalar havorang yoki ko'k rangda, yosh sporalar to'q ko'k-qoramtir, vegetativ hujayralar sitoplazmasi pushti yoki qizil rangda bo'lib ko'rinadi.

Zlatogorov usulida bo'yash. Bunda spora hosil qiluvchi bakteriyalardan tayyorlangan mazok ochiq havoda quritiladi. Sporalarni fiksatsiyalash va qobig'ini yumshatish uchun mazok 10 marta gorelka alangasidan o'tkaziladi. So'ng preparat ustiga filtr qog'oz lentachasini yopib, ustiga Silning karbolli fuksini quyiladi, keyin bug' hosil bo'lguncha (lekin qaynamasligi kerak) 8—10 minut davomida isitiladi. Bunda bo'yovchi modda bug'lanib ketishi, lekin qog'oz qurib qolmasligi muhim ahamiyatga ega. Shuning uchun davriy ravishda bo'yovchi moddadan qo'shib turish kerak. So'ngra qog'ozni olib tashlab, preparat sulfat kislotaning 5% li eritmasi bilan 6—10 sekund davomida rangsizlantiriladi va suv bilan yuviladi. Natijada vegetativ hujayralar rangsizlanadi, keyin ular Lyofflarning metilen ko'ki bilan 2 minut davomida qo'shimcha bo'yaladi. Mazokni yana qaytadan yuvib, filtr qog'oz bilan quritiladi va mikroskopning immersion obyektivida kuzatiladi. Preparat tayyorlashda bo'yash ishlari to'g'ri bajarilsa, sporalar och qizil rangga kiradi va sitoplazmaning havorang fonida aniq ko'rinib turadi.

5.2.3. Kapsulalarni bo'yash

Uglevodlarga boy bo'lgan va azot kam bo'lgan muhitda ayrim bakteriyalar o'sayotganda shilimshiq kapsula hosil qiladi (21-rasm). Bunday bakteriyalarda kapsula mavjudligi ularning tur belgisi bo'lib, tashxis ahamiyatga ega. Har xil turdagi bakteriyalarning kapsulasi o'lchami (yirik-maydaligi) va kimyoviy tarkibiga ko'ra bir-biridan farq qiladi, sust (kuchsiz) bo'yaladi va bo'yashda shakli oson o'zgaradi. Kapsula-



21-rasm. Bakteriyalarning kapsulalari.

larni aniqlash uchun negativ kontrastlash usuli (2.2. bo'lim), Olt va Mixin usullari qo'llanadi.

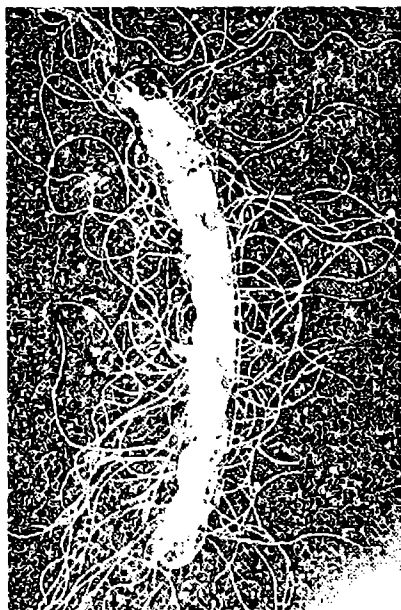
Olt usuli. Bunda mazok safraninning 2-3% li eritmasi bilan bo'yaladi. Bo'yovchi eritma bevosita ishlatishdan oldin tayyorlanadi. Buning uchun bo'yoq moddani issiq suvda eritib, keyin filtrlanadi. Mazok bir oz isitib turib, 1—3 minut davomida bo'yaladi va tezda suv bilan yuviladi. Pre-

parat quritilmaydi, unda suv bo'lishi kerak. Keyin ustiga qoplagich oyna yopib, mikroskopning immersion obyektivida ko'riladi. Bunda yorug'lik nuri suv qatlamidan o'tib, kapsula va mikroob hujayrasining tanasida nur sinishining farqini kuchaytiradi. Mikroskopda qaralganda, mikroob hujayralari tanasi qizil rangga, kapsulalar sariq rangga bo'yalgani yaqqol ko'rinadi.

Mixin usuli. Fiksatsiyalangan mazok isitib turib, 2—3 minut davomida Lyofflarning metilen ko'ki (yaxshisi eski eritma) bilan bo'yaladi. Keyin tezda suv bilan yuvib quritiladi. Mikroskopda qaralganda mikroob hujayralarning tanasi qoramtir, kapsulalar och-pushti rangda ko'rinadi.

5.2.4. Bakteriyalarning harakatchanligini o'rganish va xivchinlarini bo'yash

Bakteriyalar orasida harakatlanadigan va harakatlanmaydigan turlari mavjud. Ko'pincha bakteriyalar xivchinlari yordamida harakatlanadi (22-rasm). Faqat spiroxetalar tanasini bukib harakatlanadi. Xivchinlar sitoplazmadan ip shaklida o'sib chiqqan o'simta bo'lib, yo'g'onligi 0,02—0,05 mkm



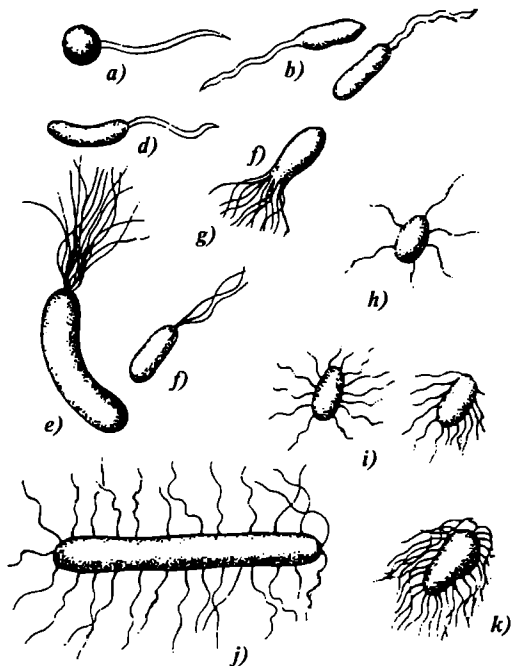
22-rasm . Mikrob hujayrasi xivchidlari bilan.

Proteus vulgarisning elektron mikrofotografiyasi (x 30 000); o'ngda Proteus vulgaris ko'ndalang kesimining kattalashtirilgan detali. Sitoplazmatik membranaga birikkan sferik tanachalardan xivchidlarning boshlanishi ko'rsatilgan.

ga teng, ammo hujayraga nisbatan ancha uzun, ba'zan 10 va undan ham ko'proq marta uzun bo'ladi. Xivchidlarning joylashuvi va soni turli bakteriyalarda har xildir (23-rasm).

Bakteriyalarning harakatlanishini "muallaq yoki osilgan tomchi" preparatida kuzatish qulay. Buning uchun bulyon yoki agarda 6—12—18 soat davomida o'stirilgan yosh to'plamlardan foydalaniladi. Mikroskopda qaralganda hujayralar har xil yo'nalishda va turlicha tezlikda harakatlanayotgani yaxshi ko'rinadi. Hujayralarning mustaqil harakatidan farq qilib, muallaq zarrachalar va harakatlanmaydigan hujayralarning Brown harakati mavjud bo'lib, u bir joyda tartibsiz tebranishdan iborat.

Peshkov modifikatsiyasi bo'yicha Lyoffler usulida bo'yash. Bunda bakteriyalar to'plami 2—3 kun davomida



23-rasm . Xivchinlarning joylashishi:
a-d—monotrixlar; *e-g*—lofotrixlar; *h-k*—peritrixlar.

har kuni tarkibida 1,5% gacha agar bo'lgan qattiq yoki suyuq muhitga ekiladi. Hujayralar ehtiyotlik bilan ilmoqda olinib, ichiga sterillangan suv quyilgan, harorati to'plam o'stirilgan muhitniki bilan bir xil bo'lgan probirkaga solinadi. Hosil bo'lgan suspenziya tomchisi mikroskopda qaralganda, hujayralarning serharakatligiga va suspenziyaning zichligi ko'rish maydonida 5—10 ta hujayrani tashkil etishiga ishonch hosil qilish mumkin. Mazok tayyorlashdan oldin buyum oyna 3—4 marta gorelka alangasi ustidan o'tkaziladi, keyin sovutilib ustiga bakteriya hujayralari suspenziyasidan paster pipetkasida yoki ilmoqda 3—4 tomchi tomiziladi. Tomchilar buyum shishasi ustida yoyilib ketib, tezda qurishi kerak. Agar uzoq vaqtda qurisa, ko'pincha bakteriyalarining xivchinlari

tushib ketadi. Quritilgan mazok ustiga yumshatgich (protrava) quyiladi, isitmasdan 15 minut davomida saqlanadi, keyin distillangan suv bilan yuviladi. So'ng preparat 5 minut davomida Silning suvga aralashirilgan (1:1) fuksini bilan bo'yaladi. Bunda mazok bo'yoqqa botirib qo'yiladi. Keyin suv bilan yaxshilab yuvib, quritiladi va mikroskopning immersion obyektivida qaraladi. Bunda bakteriyalar xivchini-ning joylashuviga, ularning soniga va uzunligiga e'tibor berish lozim.

5.2.5. Bakteriyalarni Gram usulida bo'yash

Mikroblarni bo'yashning bu usulini birinchi bo'lib 1884 yilda daniyalik olim Xristian Ioaxim Gram ta'riflagan va bu usul hozirgacha saqlanib kelgan. Gram usulida yosh hujayralar yaxshi bo'yaladi, qarilari bunday xossaga ega emas. Bakteriyalarning Gram usulida bo'yalishi hujayralar devorining, sitoplazmaning kimyoviy tarkibiga va muhit pH ga bog'liq bo'ladi. Bakteriyalarning Gram usulida bo'yalishi yoki bo'yalmasligi ularning muhim taksonomik belgisi bo'lib, ana shunga ko'ra bakteriyalarning hammasi grammusbat va grammanfiy turlarga bo'linadi. Grammusbat mikroblar tarkibida DNK ga nisbatan taxminan 8 marta ko'p RNK, 50% gacha (massasi bo'yicha) teyxoy kislotalar bo'ladi, sitoplazmasi kislotali reaksiyaga kirishadi (pH 2—3). Grammanfiy mikroblarning ko'p qavatli hujayrasi devori tarkibiga aromatik, oltingugurt tutuvchi va boshqa aminokislotalar kiradi, sitoplazmasi kuchsiz kislotali reaksiyaga ega (pH 5) va DNK bilan RNK taxminan bir xil miqdorda bo'ladi. Grammusbat mikroblar hujayrasi devorida peptidglikan (murein) ko'p (hujayra quruq massasining 80% gacha) bo'lib, etil spirt bilan ishlov berilganda uning teshiklari torayib, gensianfiolet bo'yog'ining yod ishtirokida hujayra komponentlari bilan o'zaro ta'siri natijasida hosil bo'lgan kompleksning tashqariga chiqishiga to'sqinlik qiladi. Bundan tashqari, grammusbat

bakteriyalarning yuqori (yuza, tashqi) qavatida ribonuklein kislotaning magniy tuzi bo'lib, u ishqoriy muhitda yod ishtirokida asosiy bo'yovchi moddalar (gensianfiolet, metilfiolet) bilan mustahkam birikma hosil qiladi. Shuning uchun grammusbat mikroblar bo'yoqni mustahkam tutib qoladi va binafsha rangga bo'yaladi.

Grammanfiy bakteriyalarda esa bunday birikma hosil bo'lmaydi, shuning uchun etil spirti ta'sirida ular tezda rangsizlanadi va bo'yovchi modda yuvilib ketadi.

Bo'yash usuli. Yog'sizlantirilgan buyum oynasida har xil mikroorganizmlardan 3 ta mazok tayyorlanadi: o'rtada — tekshiriladigan to'plamning mazogi, chapda va o'ngda kontrol mazoklar (masalan, *Bacillus subtilis* ning musbat bo'yaluvchi hujayralari va *Escherichia coli* ning bo'yalmaydigan hujayralari). Aniqlash uchun faqat yosh, asosan bir kunlik to'plamlardan foydalaniladi. Mazok yupqa qilib tayyorlanadi, hujayralar oyna yuzasiga bir tekis yoyiladi, keyin quritilib, gorelka alangasiga tutib fiksirlanadi.

I usul. Fiksirlangan mazok ustiga filtr qog'oz orqali karbolli gensian violet bo'yog'i quyiladi va 1—2 minut davomida bo'yaladi. Keyin filtr qog'oz olib tashlanadi va bo'yoq moddani to'kib olib, preparatni suv bilan yuvmasdan, to qorayguncha 1—2 minut davomida Lyugol eritmasi bilan ishlov beriladi. Shundan so'ng uni rangsizlantirish uchun 0,5—1,0 minut davomida 96% li etil spirti bilan yana ishlov beriladi. Bunda oynani sekin qimirlatib turib spirt quyiladi va u bir necha marta almashtiriladi. Hujayralar juda ham rangsizlanib ketmasligi uchun spirtga yod qo'shiladi (100 ml etanolga yodning 10% li spirtli eritmasidan 2 ml qo'shiladi). Keyin preparatni suv bilan yuvib, yana 1—2 minut davomida suvli fuksinda qo'shimcha bo'yaladi. So'ngra bo'yovchi eritmani to'kib olib, preparat suv bilan yana yuviladi, quritiladi va mikroskopning immersion tizimida ko'riladi. Agar to'g'ri bo'yalgan bo'lsa, grammusbat bakteriyalar ko'k-binafsha rangga, grammanfiy bakteriyalar qizil rangga kiradi.

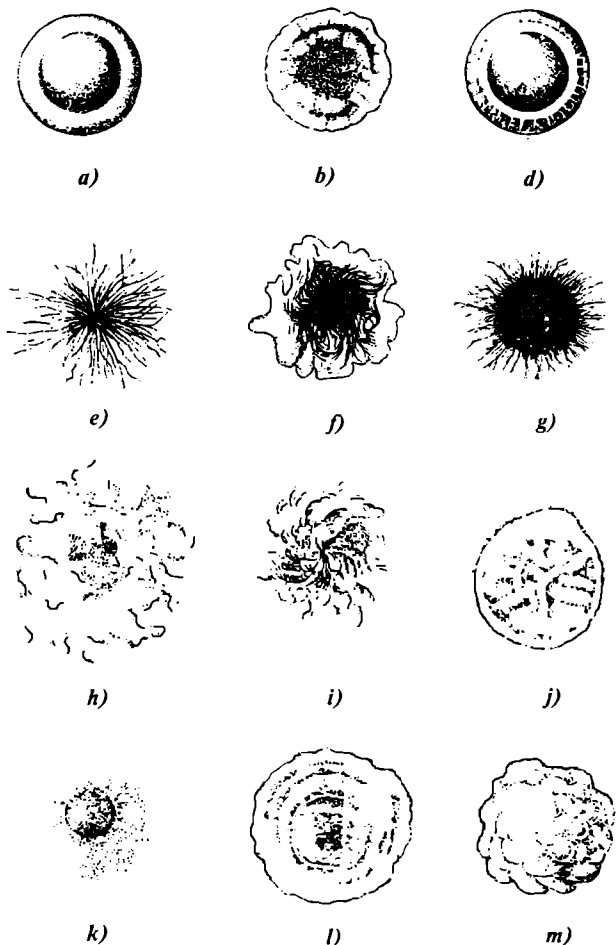
II usul (Xuker modifikatsiyasi). Bunda mazoklar 1 minut davomida kristall holdagi fiolet bo'yog'i bilan (1-ilova) tez, 3-4 sekund davomida bo'yaladi. Keyin bo'yovchi eritmani to'kib, preparat yuviladi, suvning ortiqchasi chiqarib yuboriladi, so'ngra 1 minut davomida Lyugol eritmasi bilan ishlov beriladi. Shundan keyin Lyugol eritmasini yuvib tashlab, preparat suv bilan yaxshilab yuviladi va xuddi I usuldagi kabi, taxminan 30 sekund davomida 96% li spirt bilan rangsizlantiriladi. Bunda to'rangi yo'qolguncha asta-sekin spirt tomizib turiladi. Keyin spirtni suv bilan yuvib, 30 sekund davomida preparatga safranin bilan ishlov beriladi. So'ngra bo'yovchi eritma to'kilib, preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va mikroskopning immersion sistemasida ko'riladi. To'g'ri bo'yalgan bo'lsa, grammusbat bakteriyalar ko'k, grammanfiy bakteriyalar qizil rangga kiradi.

5.2.6. Hujayradagi kiritmalarni bo'yash

Glikogeni bo'yash. Mikroblar hujayrasi sitoplazmasida ko'pincha hayvon kraxmali — glikogen uchraydi. U polisaxarid hisoblanadi. Bir tomchi to'plamga bir tomchi Lyugol eritmasi tomizib, uning borligini bilish mumkin. Bunda glikogen Lyugol eritmasi bilan birikib, qizil-qo'ng'ir rangga kiradi. Agar muhitda yetarli miqdorda uglevodlar bo'lsa, glikogen to'planadi.

Granulyozani bo'yash. Granulyoza — kraxmalga o'xshagan polisaxarid. Hujayralar spora hosil qilishi oldidan granulyoza miqdori ko'p bo'ladi. Glikogen singari, granulyoza ham Lyugol eritmasidan ta'sirchan bo'ladi, uning ta'sirida qoramtir rangga kiradi. Yog'larni bijg'ituvchi bakteriyalar tarkibida ko'p miqdorda granulyoza bo'ladi. Kartoshkali muhitda o'stirilgan yog'larni bijg'ituvchi batsillalar to'plamidan bir tomchi olib, tarkibidagi granulyozani aniqlash uchun ustiga bir tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi va qoplovchi oyna bilan yopiladi. Mikroskopning immersion sistemasida

qaralganda, ko'k rangga bo'yalgan urchuqsimon hujayralari ko'rinadi. Bunday hujayralarning bir uchida bo'yalmagan sporalar joylashgan bo'ladi.



24-rasm. Koloniyalarning shakli:

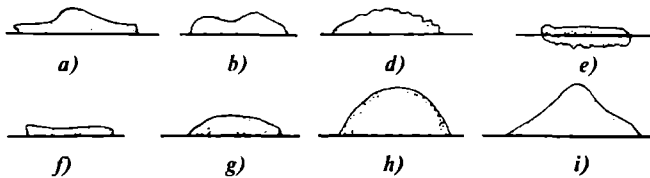
a—yumaloq; *b*—yumaloq, qirg'oqlari festonli; *d*—yumaloq, qirg'oqlari dolg'achali; *e* va *f*—rizoidli; *g*—yumaloq, qirg'oqlari rizoidli;

h—amyobasimon; *i*—ipsimon; *j*—burmali; *k*—noto'g'ri;

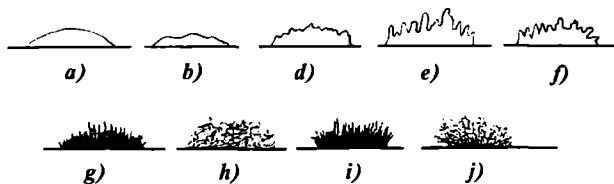
l—konsentrik; *m*—murakkab.

5.2.7. Kultural belgilar

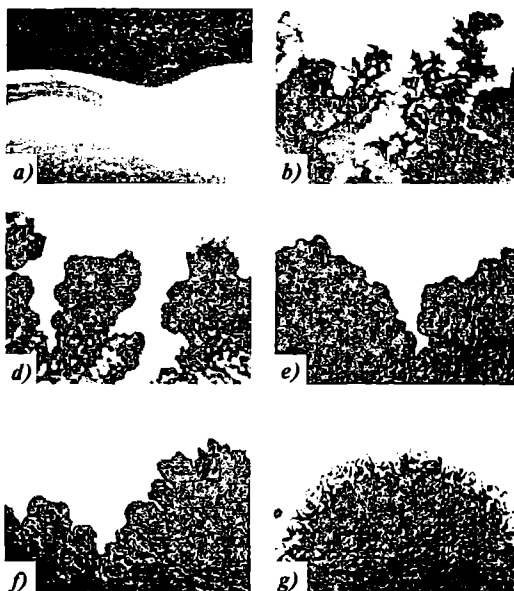
Bakteriyalarning qattiq muhitda o'sishi. Mikroorganizmlarni tasniflash maqsadida Petri likopchasidagi quyuq muhitga va probirkadagi qiya agarga toza to'plam ekiladi. Petri likopchasida bakteriyalar yuzada, chuqurda va tubida o'sayotgani farq qilinadi. Yuzada bir-biridan nari o'sayotgan koloniyalar o'rganiladi va ta'riflanadi hamda quyidagi belgilari aniqlanadi: koloniyasining shakli (24-rasm); o'lchami — diametrini chizg'ichda o'lchab, millimetrda ifodalanadi: maydalari 1—2, o'rtachalari 2—4, yiriklari 4 mm, nihoyatda maydalari, nuqtasimonlari, yirik nuqtasimonlari 1 mm dan mayda bo'ladi; yuzasi silliq, g'adir-budur, burmali, bo'rtikchali, shaffof, yarim shaffof, shaffof emas, yaltiroq, xira, unsimon, fluoressirlovchi, nam, quruq; rangi — koloniyalar ular ostidagi substratning pigmentatsiyasi — oq, kulrang — oq, sariq, limon rang, to'q sariq, qizil va hokazo; profili (25-rasm);



25-rasm. Koloniyalarning yon tomonidan ko'rinishi:
a—bukiq, qayrilgan; *b*—kratersimon; *d*—g'adir-budur; *e*—agarga o'sib kirgan; *f*—tekis; *g*—bo'rtma; *h*—tomchisimon; *i*—konussimon.



26-rasm. Koloniyalarning chekkasi:
a—silliq; *b*—to'lqinsimon; *d*—kungurador; *e*—parraknamo;
f—noto'g'ri; *g*—mayda tukli; *h*—ipsimon; *i*—qilsimon;
j—shoxlangan.



27-rasm. Mikroblar koloniyalari chekkasining mikroskopda ko'rinishi.

a—to'liqsimon; *b*—shoxlangan; *d*—uzuq-yuluq; *e*—egri-bugri;
f—parraknamo; *g*—gajaksimon.

tuzilishi (mikroskopning kichik obyektivida aniqlanadi) — bir xil, mayda donador, yirik donador, tolali va hokazo; chekkasi (mikroskopning kichik obyektivida aniqlanadi, (26, 27-rasmlar); konsistensiyasi — zich, yumshoq, shilimshiq, cho'ziluvchan, xamirsimon, mo'rt; emulsiyalanishga moyilligi — suvda bir tekis yoki donador suspenziya hosil qiladi, plyonkalar bo'lakchasi shaklida qalqib yuradi.

Probirkadagi qiya agarda uzuq-uzuq chiziq (shtrix) shaklida rivojlanayotgan mikroorganizmlarning o'sishini ta'riflashda quyidagilar aniqlanadi: o'sish tezligi — tez, o'rtacha, kuchsiz; uzuq chiziqlar xossasi — chetlari tekis yaxlit, chetlari to'liqsimon yaxlit, aniq ko'rinadigan, diffuz, patsimon, rizoidsimon; rangli, optik xossalari, yuzasi, konsistensiyasi.

Koloniyalarni va shtrixlar (uzuq chiziqlar) ni tekshirishda muhitning tarkibi va to'plamning yoshi hisobga olinadi,

chunki aniqlagichlarda GPAda va go'sht-peptonli jelatinda o'sgan to'plamlar ta'riflangan bo'ladi.

Bakteriyalarning kartoshkada o'sishi. Ko'pgina bakteriyalar kartoshka bo'lakchalarida o'ziga xos g'ubor ko'rinishida o'sadi. Shuning uchun kartoshkada o'sish xossalari ham tasniflashda foydalaniladigan tashxis (diagnostik) belgilar qatoriga kiritiladi. Bakteriya kartoshkali qiya yuzaga ilmoqda surib ekiladi. Keyin ular o'sgan yoki o'smaganligi aniqlanadi. Agar o'sayotgan bo'lsa, uning tezligiga, pigment hosil bo'lishiga va boshqa belgilariga e'tibor beriladi; chunki mikroorganizmlarning qattiq muhitda o'sishini ta'riflashda ana shu belgilardan foydalaniladi.

Bakteriyalarning suyuq muhitda o'sishi. Bakteriylarning suyuq muhitda o'sishini ta'riflash uchun to'plam GPBga yoki boshqa suyuq muhitga ekiladi. Mazkur muhit tekshirilayotgan shtammlarning o'sishi uchun normal (me'yorida) bo'lishi kerak. Ta'riflash uchun statsionar sharoitda o'stirilgan 4—7 kunlik to'plamlardan foydalaniladi. Bunda o'sish tezligiga (sekin, o'rtacha, avj olib), muhitning loyqalanishiga (bir xil, palaxsa-palaxsa, ipaksimon to'lqinli), plyonkasi bor-yo'qligiga (halqasimon yoki yalpi, yupqa yoki qalin, zich yoki g'ovak, silliq yoki burmali, quruq yoki shilimshiq, devori bo'ylab sirg'aluvchi yoki sochilib ketadigan) e'tibor beriladi.

5.2.8. Fiziologik-biokimyoviy belgilar

Kislorodga talabi. Mikroorganizmlar kislorodga munosabatiga ko'ra, obligat aeroblar, mikroaerofillar, fakultativ anaeroblar va obligat anaeroblarga bo'linadi. 4 ta probirkaga ularning yarmigacha GPA (yoki mikroorganizmlar uchun qulay bo'lgan boshqa muhit) quyiladi va 0,1 MPa da sterillanadi. Ikkita probirkaga ukol qilib to'plam ekiladi. Keyingi ikkitasiga esa suv hammomida eritib, keyin solinadi; so'ngra 46—48°C gacha sovitiladi, tekshirilayotgan to'plam yuqtirilgan ilmoqni agarga tekizib, aralastiriladi va sovishi uchun

tinch qoldiriladi. So'ngra o'sishi uchun probirkalar termostatga qo'yiladi. Ma'lum vaqtdan keyin termostatdan olib, har bir ukoldagi va muhit qaridagi mikroorganizmlarning o'sishi va o'sish tezligi aniqlanadi.

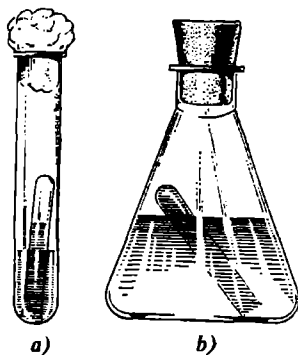
Uglevodlar, shakarlar va spirtlardan foydalanish.

Geterotrof mikroorganizmlarni tasniflash uchun tekshirilayotgan hujjajralarning 0,1—0,2 ml suspenziyasi Gissning kalta yoki uzun "rangli" qatoriga ekiladi. Indikator bo'lgan peptonli suvni (asosiy fon) ichida naycha bor probirkalarga 9 ml dan quyib, so'ngra sterillanadi. Muhitning asosiy foni oddiy vodoprovod suvida tayyorlanadi; tarkibida 0,5% pepton va 0,1% K_2HPO_4 bo'ladi. pH o'zgarishini aniqlash uchun muhitga (1 l muhitga 1,6% li spirtli eritmadan 2 ml hisobidan) indikator-bromkrezolpurpur qo'shiladi. pH 6,8 bo'lganda indikator qip-qizil, pH 5,2 bo'lganda sariq rangga kiradi. Brom krezolpurpur o'rniga xuddi shu konsentratsiyada bromtimolblaudan foydalanish mumkin; bunda pH 6,0 da sariq rang, pH 7,6 da ko'k rang namoyon bo'ladi. Gaz hosil bo'lganini aniqlash uchun muhitga naycha tushiriladi (diametri 5—7 mm, uzunligi 35—45 mm bo'lgan, bir uchi kavsharlangan naycha). Naychani to'la uchi yuqoriga qaragan bo'ladi. Uglevodlar va spirtlar 10% li suvli eritma holda tayyorlanadi va sterillanadi; so'ngra muhitning sterillangan asosiy foniga 1 ml dan qo'shiladi. Disaxaridlar eritmasi yuqori haroratda gidrolizga uchramasligi uchun filtrlash yo'li bilan sterillanadi.

Gissning kalta qatoriga glyukozali, laktozali, saxarozali, maltozali va olti atomli spirt mannitli muhitlar kiradi.

Gissning uzun qatoriga yana qo'shimcha ravishda organik kislotalar (chumoli, sirka, moy, qahrabo, shovul, olma, vino, limon va boshqa kislotalar) tuzi, yog'lar va boshqalar bilan birga tarkibida arabinoza, ksiloza, ramnoza, galaktoza va boshqalar, polisaxaridlar (inulin, kraxmal, glikogen, dekstrin, kletchatka), spirtlar (glitserin, dulsit, inozit, etanol, eritrit) bo'lgan muhitlar qo'shiladi.

Bakteriya ekilgan probirkalar termostatga qo'yiladi. Ish natijasi tez o'sadigan mikroorganizmlarda 2—4, sekin o'sadiganlarda 7—10 kunda hisoblanadi. Barcha substratlarda bakteriyalarning o'sgan-o'smaganligi muhitning loyqalanishiga, plyonka (parda), cho'kma hosil bo'lish-bo'lmasligiga qarab, ko'z bilan chamalab aniqlanadi. Indikator rangining o'zgarishiga qarab, muhit kislotali yoki ishqoriy bo'lib qolganligi to'g'risida xulosa chiqariladi yoki muhitning pH o'zgarishini aniqlanadi. Bunda hosil bo'lgan gaz probirka ichiga tushirilgan naychaga (poplavokka) yig'iladi (28-rasm). Bakteriya ekilgan probirkalar kontrol probirkalar bilan taqqoslanadi. Olingan natijaga qarab, qaysi shakar, spirtlar yoki boshqa uglerod manbalari o'rganilayotgan mikroorganizmni assimilyatsiyalashi haqida xulosa chiqariladi. Shuningdek, kislotalar, ishqorlar va gazlar hosil bo'lishi ham qayd etiladi.



28-rasm. Probirka (a) va kolba (b) naychalar bilan.

Kraxmalning gidrolizi. Amilaza hosil qiluvchi va kraxmalning gidrolizlanishida hosil bo'ladigan mahsulotlardan uglerod va energiya manbai sifatida foydalanadigan mikroorganizmlar **kraxmalni gidrolizlaydi**. Ularning bu xossasini aniqlash uchun kraxmalli muhitdan foydalaniladi (2-ildovaga qarang). Ozuqa muhitini eritib, uni sterillangan ikkita Petri likopchasiga quyiladi. Sovigandan so'ng o'rganilayotgan organizmning hujayralari likopchani diametri bo'yicha shtrix chiziq shaklida ekiladi. Ular 7—10 kunda o'sib chiqadi. Muhitning shtrix chiziq bo'ylab oqarib borishiga qarab, kraxmal gidrolizlanayotganini bilish mumkin. Agarli plastinkaga Lyugol eritmasi bilan ishlov berilsa, bu jarayon ayniqsa yaqqol ko'rinadi. Chunki yod indikator bo'lib, u kraxmalga ta'sir etganda, gidrolizlanish zonasidan tashqari, muhit

butunlay ko'karib ketadi. Gidrolizlanish zonasi esa rangsiz bo'lib qoladi yoki kraxmal asosan dekstringacha gidrolizlansa, qizil-qo'ng'ir rangga kiradi.

Jelatinaning suyuqlanishi. Muhitga proteolitik fermentlar (kolla-genazalar) ajratib chiqaradigan mikroorganizmlar jelatinani suyultirish xossasiga ega. O'rganilayotgan mikroorganizm hujayrasining bu xossasini aniqlash uchun go'sht-pepton-jelatinali probirkaga ukol yo'li bilan mikroorganizm ekilib, xona haroratida 7—10 kun o'stiriladi.

Jelatinaning suyuqlanganligi yoki bu jarayon sodir bo'lmaganligi ko'z bilan chamalab aniqlanadi. Agar jelatina suyuqlansa, suyuqlanish tezligi va shakli belgilanadi. Jelatina qatlam-qatlam bo'lib, voronkasimon, xaltachasimon, pufak shakllarda suyuqlanadi.

Ammiak hosil bo'lishi. Mikroorganizmlarning aminokislotalarni dezaminlash xossasi ularni probirkalarga 8-10 ml dan quyilgan sterillangan GPBga yoki peptonli suvga ekib, termostatda 37°C da 2—3 kun davomida o'stirilgandan keyin aniqlanadi. Probirka ichiga osiltirib qo'yilgan, lekin ozuqa muhitiga tegib turmaydigan lakmus qog'oz lentasi rangining o'zgarishiga qarab, ammiak hosil bo'lganini bilish mumkin. Ammiak uchib ketmasligi uchun probirkaning qopqog'i (po'kak qopqoq) sellofan bilan o'rab qo'yiladi. Lakmus qog'ozlarini oldin Petri likopchasiga solib, avtoklavda 0,05 MPa da sterillanadi. Qizil lakmus qog'ozning ko'karishiga qarab, ammiak ajralayotganini bilish mumkin.

Indol hosil bo'lishi. Ayrim mikroorganizmlar triptofanazali aktivlikka ega bo'lib, triptofandan indol hosil qiladi; indol ham tashxis belgi hisoblanadi. Ichiga 8—10 ml dan sterillangan GPB va 0,01% triptofan (yoki busiz) quyilgan probirkalarga o'rganilayotgan hujayralar ekiladi. 5—7 kundan keyin ana shu probirkalarga 2—3 ml dan efir qo'shib, aralashtiriladi va probirkalar devori bo'ylab ehtiyotkorlik bilan Erlix reaktivi qo'shiladi. Indol ishtirokida efir qavati pushti yoki qizil rangga kiradi. Shu bilan bir vaqtda steril-

langan muhitda indolga xos sifat reaksiyasi o'tkaziladi. Indolni aniqlash uchun Morel usulidan foydalaniladi: ya'ni oksalat kislotasi bilan namlangan filtr qog'oz lentasi probirka qopqog'i tagiga qistirib qo'yiladi. Indol hosil bo'lganda filtr qog'ozning pastki qismi pushti rangga kiradi.

Vodorod sulfid hosil bo'lishi. Mikroorganizmlar oltin-gugurt tutuvchi aminokislotalardan foydalanishini ajralib chiqqan vodorod sulfidni aniqlashga doir reaksiya yordamida o'rganiladi. GPB quyilgan probirkalarga o'rganilayotgan to'plam ekilgandan keyin, tiqini tagiga qo'rg'oshin atsetat eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz qistirib qo'yiladi. Keyin probirkalarni termostatga qo'yib, 7—10 kun saqlanadi. Qo'rg'oshin sulfid hosil bo'lishi natijasida filtr qog'ozning pastki qismi qorayishiga qarab, vodorod sulfid ajralib chiqqanini bilish mumkin.

Katalaza aktivligi. Ko'pgina aerob mikroorganizmlar katalaza ajratadi. Katalaza vodorod peroksidni parchalab, suv va kislorod hosil qiladi. Katalaza aktivligi quyidagicha aniqlanadi. O'rganilayotgan mikroorganizm quyuuq ozuqa muhiti yuzasida o'stiriladi. Keyin ular koloniyasi ustiga vodorod peroksidning 10% li eritmasi tomiziladi yoki o'rganilayotgan mikroorganizmlar hujayrasining suspenziyasi hosil qilinadi. Buning uchun yuqorida aytilgan eritmadan ozgina ishlatiladi. Gaz pufakchalari hosil bo'lishiga qarab, kislorod ajralayotganini ko'rish mumkin. Bu esa hujayralarda katalaza borligidan dalolat beradi. Bakteriyalarni suyuq muhitda ham o'stirish mumkin. Bunda 1 ml suyuq to'plamga 1 ml vodorod peroksid eritmasi qo'shiladi.

Nitratlarning qaytarilishi. Nitratreduktaza fermenti hosil qiluvchi va nitratlardan azot manbai sifatida foydalanuvchi mikroorganizmlar nitratlarni nitritlargacha qaytarish xossasiga ega. Ularning bu xossasi GPBga 0,2% KNO_3 qo'shilgan muhitda aniqlanadi. Buning uchun muhitni ichida naycha (poplavok) bo'lgan probirkalarga quyib, 0,1 MPa da sterillanadi. Keyin, tekshirilayotgan mikroorganizm hujay-

ralari ekilgan muhit 7—10 kun davomida termostatda saqlanadi. So'ngra kraxmal-yod probasi bo'yicha yoki Giss reaktivi yordamida nitritlarga xos sifat reaksiyasi qilib ko'riladi.

Nitritlarni aniqlashga doir kraxmal-yod reaksiyasi shunga asoslanganki, kislotali muhitda nitritlar rux yodini oksidlaydi va yod ajralib chiqadi. Yod ajralganligini kraxmal yordamida aniqlanadi.

Nitritlarni aniqlash uchun tarkibida $ZnCl_2$, KI va kraxmal bo'lgan eritmadan bir tomchi olib, unga bir tomchi HCl va bir tomchi to'plam tomiziladi. Agar muhitda nitritlar bo'lsa, u ko'karadi. Shu bilan bir vaqtda (parallel ravishda) sterilizatsiya muhitda ham muayyan reaksiyalar amalga oshiriladi.

Giss reaktivi yordamida bajariladigan reaksiya shunga asoslanganki, kislotali muhitda nitritlar va aromatik aminlar (sulfanil kislota va α -naftilamin) ishtirokida azot birikmalari hosil bo'ladi va ular qizil-pushti rangga kiradi. Reaksiyani amalga oshirish uchun bir tomchi Giss reaktiviga bir tomchi to'plam qo'shiladi. Aralashmada qizil rang hosil bo'lishi nitritlar mavjudligidan dalolat beradi. Probirka ichidagi naychada (poplavokda) gaz to'planishiga qarab nitritlar N_2 gacha qaytarilganini bilish mumkin.

Sutga ta'siri. Yog'i olingan sutni 4:1 nisbatda suvga aralashtirib, issiqligida unga bromkrezolpurpur indikator (1 l sutga 2 ml 1,6% li spirtli eritma hisobidan) yoki lakmus (1 l sutga 10 ml 4% li eritma) qo'shiladi, keyin aralashmani 8—10 ml dan probirkalarga quyib, 20 minut davomida 0,05 MPa da sterilizatsiya qilinadi. So'ngra probirkalardagi muhitga mikroorganizm hujayrasi ekilib, 6—14 kun davomida o'stiriladi. Indikatorning rangi o'zgarishiga qarab, mikroorganizmlar o'sib, kislota hosil qilayotganini (sut laktozasining biyog'lashini) qayd qilish mumkin. Agar kislotalilik darajasi ortib ketsa, kazein koagulyatsiyaga uchrab, quyqa hosil bo'ladi va ko'pincha zardob ajralib chiqadi.

Harorat (temperatura)ga munosabati. 10 ta probirkadagi qiya agarga shtrix usulida to'plam ekilib, optimal

o'sish harorati aniqlanadi. Ular har xil haroratga moslangan termostatda (yaxshisi politermostatda) o'stiriladi. Mezofil mikroorganizmlar 20, 30, 37, 42 va 48°C haroratda (har qaysisiga 2 tadan probirka joylanadi) o'stiriladi. 2-3 kundan keyin 4 balli shkala bo'yicha to'plamning o'sish tezligi ko'z bilan chamalab aniqlanadi: — O — o'smagan; + sekin o'sgan; ++ yaxshi o'sgan; +++ juda yaxshi o'sgan. Odatda, uch marta ekiladi va har gal bundan oldin ekilgan to'plamdan foydalaniladi. Psixrofil va termofil mikroorganizmlarning o'sishi uchun qulay (optimal) haroratni aniqlashda boshqa harorat diapazonidan: -5° dan 20°C gacha va 50°C dan 80°C gacha bo'lganlardan foydalaniladi.

Temperaturaning ancha keng intervalini aniqlash yo'li bilan o'sishning temperatura chegarasi qayd etiladi. U mezofillar uchun 0 dan 50°C gacha, psixrofillar uchun -10 dan 20°C gacha va termofillar uchun 20 dan 80°C gachaga teng.

Natriy xloridga munosabati. Mikroorganizmlar hujayrasining tarkibida 2,5 va 6,5% NaCl bo'lgan GPBda o'sishiga qarab, ularning tuzlar konsentratsiyasiga sezgirligi aniqlanadi. Buning uchun optimal o'sishni ta'minlaydigan boshqa muhitdan foydalanish ham mumkin. Ekilgandan so'ng 6—10 kundan keyin mikroorganizmning o'sishi va o'sish tezligi yoki o'smaganligi aniqlanadi.

Antibiotiklarga munosabati. Buni aniqlash uchun o'rganilayotgan mikroorganizm Petri likopchasidagi ozuqa muhitiga — agarga ekiladi va ustiga antibiotiklar shimdirilgan qog'oz bloklari qo'yiladi. Likopchalar termostatga qo'yiladi. Inkubatsiya jarayoni tugagandan keyin (inkubatsiya davri to'plamning o'sish tezligiga bog'liq) antibiotiklar shimdirilgan qog'oz bloklar atrofida mikroorganizmlar o'smagan zonalar hosil bo'ladi. Ana shu zonalarning diametriga qarab, to'plamning u yoki bu antibiotiklarga sezgirligi (munosabati) aniqlanadi.

Aniqlangan belgilari yig'indisiga qarab, o'rganilayotgan bakteriyalar tasniflanadi. Bunda "Bergi bakteriyalarini qis-

qacha aniqlagich” dan (M., Mir, 1980) yoki boshqa aniqlagichlardan foydalaniladi.

5.3. Aktinomitsetlarning asosiy xossalari va belgilari

Aktinomitsetlarga (*Actinomycetales* tartibiga) bir hujayrali mikroorganizmlarning shoxlanuvchi gifalar yoki rivojlangan miseliy hosil qiluvchi prokariot guruhi kiradi. Aktinomitsetlar morfologik jihatdan farq qilishiga qaramay, bakteriyalarga kiritilgan, chunki yadrosining membranasi bo'lmashligi, hujayralari diametrining kichikligi, hujayralari devorining identik kimyoviy tabiati, harakatchan shakllari xivchinining bakteriyalarnikiga o'xshashligi ularga xos belgilardir.

Morfologik belgilari. Aktinomitsetlar shoxlangan gifalar hosil qiladi. Ayrim turlarining gifalari oson, boshqalariniki qiyinlik bilan uzilib, cho'ziq yoki shoxlangan tayoqcha va kokksimon shakllar hosil qiladi.

Gifalarning diametri 0,5—1,5 mkm (ko'pincha 1,0 mkm) atrofida bo'ladi. Iplarining uzunligi bir necha millimetrga yetadi.

Aktinomitsetlar sporadan yoki vegetativ mitseliysi bo'lakchalarining o'sishi yo'li bilan ko'payadi. Sporalari bittadan, juft-juft bo'lib yoki ochiq va substrat ichidagi gifalarda (spora-bandlarda), ba'zan sporangiyalarda ko'p hujayralardan tuzilgan zanjir shaklida hosil bo'ladi. Sporabandlari kalta, uzun; shakli to'g'ri, egilgan, ilmoq yoki spiral holda, o'ralganligi, o'ramlari soni, spirallari diametri, joylashuvi bilan farq qiladi.

Aktinomitsetlarni Petri likopchasidagi quyuq ozuqa muhitida bevosita mikroskopning kichik obyektivida ko'rib, o'ziga xos (xarakterli) morfologik belgilarini aniqlash mumkin. Bunda agarli muhitda rivojlanayotgan mitseliysini va muhit yuzasida o'sayotgan ochiq mitseliysini ko'rish mumkin.

Mitseliyni fiksatsiyalash va bo'yash uchun asosan bakteriyalardagi usullardan foydalaniladi.

Kultural belgilari. *Streptomyces* avlodiga mansub aktinomitetlar agarli muhitda strukturasi va tashqi tuzilishi har xil — silliq, baxmalsimon, bo'rtikli, burmali, so'galli, unsimon, yassi, pardasimon-burishgan zich, g'uj, charmsimon koloniyalar hosil qiladi. Koloniyalari substrat mitseliysi yordamida muhitga zich yopishib o'sadi. Koloniyasi va ayniqsa yetilgan mitseliysi rangsiz yoki pigmentli (ko'k, binafsha rang, pushti, qizil-to'q sariq, to'q sariq, sariq, yashil, qo'ng'ir, kulrang, qora), ba'zan o'ziga xos yer hidli bo'ladi. Substratdagi aktinomitetlarning soni (miqdori) Kox usulida aniqlanadi.

Fiziologik-biokimyoviy belgilari. Aktinomitetlarning yuqoridagi belgilarini o'rganishda: fermentativ aktivligi (jelatinani, kazeinni suyultirishi, selluloza, katalaza, invertaza, tirozinaza mavjudligi, qo'ng'ir rangga kirishi, nitratlarni qaytarish reaksiyasi), ozuqa manbalari (shakarlar, spirtlar, organik kislotalar) assimilyatsiyalashi, nitratli sintetik muhitda o'sishi, ammoniyli azot iste'mol qilishi, metabolizm mahsulotlarining xarakteri va birinchi navbatda antibiotik moddalar hosil bo'lishi o'rganiladi.

Antibiotik moddalar hosil bo'lishini aniqlash. O'rganilayotgan aktinomitetlarning antimikrob spektri agarli plastinkalarda aniqlanadi. Bunda antibiotiklarning agar qa'riga diffuziyalanishi va test-to'plamlarning o'sishini to'xtatish yoki ularni nobud qilish xossasidan foydalaniladi.

Perpendikular shtrix (uzuq chiziq) lar usuli. Buning uchun ikkita Petri likopchasiga taxminan 20 ml dan aktinomitetlarning o'sishi uchun optimal bo'lgan eritilgan agarli muhit quyiladi. Agar sovigandan keyin ilmoqda likopchanning diametri bo'ylab yo'l-yo'l qilib aktinomitetlar sporasi hosil qiladi. Termostatda 6-7 kun o'stirilgandan keyin o'sgan aktinomitetga qo'shimcha qilib, perpendikular shtrix shaklida test-to'plam ekiladi. Buning uchun sterillangan suvda test-to'plamning quyuq suspenziyasi tayyorlanadi va ilmoq bilan likopchadagi muhitga ekiladi. Keyin likopchalar 28—30°C issiq termostatda bir necha kun saqlanadi. Antibiotikdan

ta'sirlanmaydigan test-to'plamlar aktinomitset shtrixiga zich holda rivojlanadi va aksincha, ajralayotgan antibiotikdan ancha ta'sirlanadigan test-to'plamlar shtrixdan uzoqroqda rivojlanadi.

Agar bloklar usuli. Petri likopchasidagi agar plastinkalarga yoppasiga aktinomitsetlar ekiladi. So'ngra likopchalar 6-7 kun davomida termostatda saqlanadi. Shu davr ichida aktinomitset yaxshi rivojlanadi, ajratayotgan antibiotigi substratga o'tadi. Keyin sterillangan parrachada aktinomitset bilan birga bir nechta agar blokchalar qirqib olinadi. Ular ichi bo'sh Petri likopchalari o'rtasiga qo'yiladi; bunda aktinomitsetlar mitseliysi yuqoriga qaragan bo'ladi. Keyin likopchani bo'sh joyiga eritib, 42—43°C gacha sovutilgan muhit quyiladi, 3—4 soatdan keyin likopchalar 26—28°C li termostatga qo'yiladi. Bunda antibiotiklar agar bloklardan chiqib, atrofidagi ozuqa muhitiga tarqaladi. Muhit yuzasiga likopchani chetidan boshlab radiusi bo'ylab, blokchaga tomon ilmoqda test-to'plam suspenziyasi ekiladi. Likopchalar 28—30°C li termostatga 24 soat qo'yiladi. Test-to'plam o'sa boshlashi bilan blokcha orasidagi masofa o'lchanadi.

Aktinomitsetlar N.A. Krasilnikovning "Luchistie griбки" (M., Nauka, 1970) nomli aniqlagichi bo'yicha tasniflanadi.

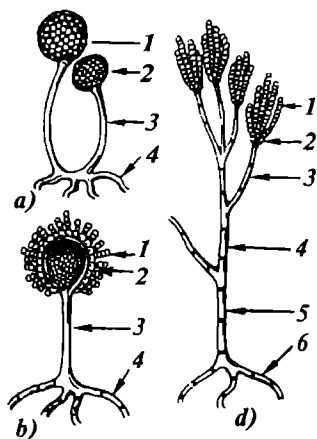
5.4. Mog'or zamburug'larining asosiy xossalari va belgilari

Zamburug'lar (mikromitsetlar) eukariot organizmlarning katta guruhini o'z ichiga oladi. Eng sodda zamburug'larning vegetativ tanasi qobiqsiz bitta hujayradan iborat bo'ladi. Mitseliyli turlarining ko'pchiligida bu hujayra shoxlanuvchi ingichka ipchalar — gifalar chigalidan iborat bo'lib, mitseliy hosil qiladi.

Mog'or zamburug'lari xlorofilsiz mikroorganizmlardir. Shuning uchun ular faqat organik birikmalar uglerodidan foydalanib oziqlanadi, ya'ni ular geterotroflardir. Aerob zam-

burug'lar turli substratlar yuzasida, faqat kislorod mavjudligida yashaydi. Hujayralarida differensiyalangan yadrosi bor. Mog'or zamburug'lari ozuqa muhitiga talabchan emas, ya'ni muhit tanlamaydi, past temperaturaga yaxshi chidaydi, muzlatgich kameralarda ham yashab, ko'paya oladi. Ular orasida saprofitlar ham, parazitlar ham uchraydi. Zamburug'lar olti sinfga bo'linadi: xitridiomitsetlar (*Chytridiomycetes*), oomitsetlar (*Oomycetes*), zigomitsetlar (*Zygomycetes*) — bular tuban zamburug'lardir; askomitsetlar (*Ascomycetes*), bazidiomitsetlar (*Bazidiomycetes*) va deytromitsetlar — takomillashmagan zamburug'lar (*Deuteromycetes*, *Fungi imperfecti*) dir; bular — yuksak zamburug'lardir.

Morfologik belgilari. Mitseliy gifalarning haddan tashqari shoxlangan yopiq tizimi bo'lib, ichida ko'p yadroli sitoplazmasi bor. Mog'or hujayrasi septalar (to'siqlar) bilan bo'lishi mumkin va hujayra septalanmagan bo'lishi mumkin. Biroq septalar gifalarni alohida hujayralarga bo'lib yubormaydi, chunki ularning markaziy teshigi bo'lib, sitoplazma bilan yadro shu teshik orqali erkin o'tib turadi. Shuning uchun zamburug'larning barchasi senotsit (bir hujayrali) organizmlar hisoblanadi. Mitseliysida septalar bo'lmagan zamburug'lar tuban, septalar borlari yuksak zamburug'larga kiradi (29-rasm).



29-rasm. Tuzilish sxemasi:

- a—mukorniki (zigomitsetlar sinfi):
1—endosporalar; 2—sporangiy (mevali tana); 3—sporangiy tashuvchi; 4—mitseliy;
- b—aspergillikni (deytromitsetlar sinfi): 1—konidiyalar (ekzosporalar); 2—sterigmalar; 3—konidiya tashuvchi; 4—mitseliy;
- d—penitsillnikni (deytromitsetlar sinfi): 1—konidiyalar; 2—lialidlar; 3—metula; 4—shox; 5—konidiya tashuvchi; 6—mitseliy.

Vegetativ mitseliy hosil qiluvchi gifalarning diametri 5 dan 50 mkm gacha va undan katta bo'ladi. Gifalari juda uzun bo'lib, ko'pincha ular mikroskopsiz ham ko'zga ko'rinadi. Mitseliy ozuqa muhitida o'sganda yuzadagi qismi havo mitseliysi va ozuqaga botib, uning ichida o'sadigan qismi substrat mitseliysidir. Ba'zan mitseliy ildizga o'xshash o'simtalar — rizoidlar hosil qiladi. U ana shu o'simtalar yordamida substratga yopishib olib, undan oziq moddalarni so'rib oladi. Mitseliy gifalari uchi hisobiga o'sadi. Ular uzunlashgan sari eski (qarigan) qismlarida vakuolalar hosil bo'ladi, aktiv ravishda oziq moddalar shimmaydi va asta-sekin o'zidan-o'zi erib ketadi.

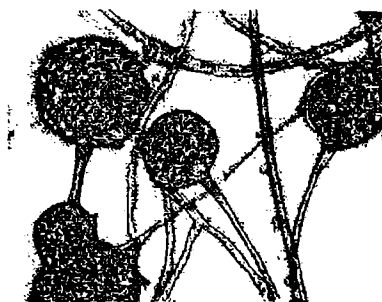
Kultural belgilari. Petri likopchasidagi quyuq ozuqa muhitiga zamburug' mitseliysi yoki sporasi (konidiyasi) shtrix usulda yoki sanchib ekiladi. 15—25 kun davomida har 2—3 kunda ko'z bilan chamalab kuzatib boriladi. Har gal kuzatilganda: koloniyaning o'lchami (yirik-maydaligi), shakli, zich yoki siyrakligi, tashqi chetining va o'rtasining tuzilishi, yuzasi, koloniyalarning, mitseliyning va ko'payish organlarining rangi, substratning va koloniya tubining rangi, tomchi suyuqlik ajralishi aniqlanadi. Mitseliy hosil qiluvchi zamburug'lar quyuq muhitda yumaloq yoki yuzada keng tarqalgan, substrat ichiga o'sib kirmaydigan, pahmoq, ipsimon, o'rgimchak to'risimon, paxtaga o'xshagan yoki unli koloniyalar hosil qiladi. Ko'pchilik turlarining vegetativ mitseliysi bo'yal-magan. Faqat meva hosil qiluvchi mitseliysi pigmentli bo'ladi. Shuning uchun yosh koloniyalari oq yoki och kulrang bo'ladi. Meva hosil qiluvchi organlari rivojlana borgan sari koloniyalar sariq, pushti, qizil, yashil, qora va hokazo rangga kiradi.

Shundan keyin bakteriyaning mitseliysi va ko'payish organlari mikroskopda o'rganiladi. Bunda stereoskopik yoki oddiy mikroskopda o'rganish va koloniyalarni bevosita Petri likopchasining o'zidan ko'rish mumkin. Mikroskopda 80—200 marta kattalashtirib qarab, havo mitseliysi borligi, uning xarakteri, xlamidosporalar va sklerotsiyalar hosil bo'lishi, spo-

rangiyaband va konidiyabandlarning, boshchalar, sporalar va konidiyalarning joylashuvi aniqlanadi. Koloniyaning cheti, pigmentlangan va bo'yalmagan qismlari chegarasi va o'rtasi kuzatiladi.

Mikroskopda ko'riladigan preparatlar qizdirib, so'ngra sovutilgan ikkita preparoval igna yordamida tayyorlanadi. Mitseliyni meva hosil qiluvchi gifalari va yupqa ozuqa muhitining kichik bo'lakchasi ignalarda olinib, yaxshilab yog'sizlantirilgan buyum oynasidagi 1:1 nisbatda olingan bir tomchi glitserin va etanol aralashmasiga qo'yiladi. Ehtiyotlik bilan, mitseliyning strukturasi buzib yubormasdan, gifalarni ninada to'g'rilab (tekislab), ustiga qoplagich oyna yopiladi va sekin bosiladi. Preparat dastlab 8x yoki 10x, keyin 40x obyektivda qaraladi. Meva hosil qiluvchi gifalarning tuzilishi, sporalar (konidiyalar) ning o'lchami, shakli va tuzilishi 600—800 marta kattalashtirib o'rganiladi. Zamburug'lar tirikligida har xil bo'yoqlar bilan bo'yaladi, biroq ularning konsentrat-siyasi 0,5—1% dan oshmasligi kerak. Zamburug'lar hujayrasini sitokimyoviy o'rganish, hujayralari tuzilishini, turli qo'shilmalarni, yosh xususiyatlarini aniqlash, yadrolarni topishda achiq qilarni o'rganishdagi usullar qo'llanadi (6.5-bo'lim).

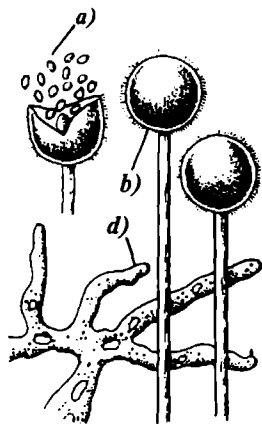
Tuban zamburug'lar. *Mucor* turkumi (30, 31, 32-rasm-lar) ning sporangiyalari yirik, sharsimon bo'lib, yakka, oddiy yoki shoxlanuvchi sporangiyabandlarda joylashadi. Sporangiyabandlarining uchi qubba shaklida shishib, sporangiy hosil qiladi, u to'siq bilan ajralib turadi. Sporangiyalar tashqi tomondan kalg'iy oksalat kristallaridan iborat mayda tikan-chalar bilan qoplangan (o'ralgan) bo'ladi. Sporangiyalarda jinssiz yo'l bilan juda



30-rasm. *Mucor* (zigomitsetlar sinfi). Sporangiyalar va sporangiy tashuvchilar.



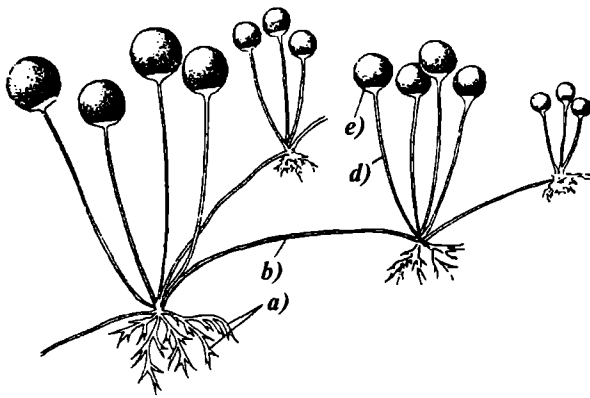
31-rasm. Mucor
(zigomitsetlar sinfi). Ezilgan
sporangiy endosporalar.



32-rasm. Mucor:
a—sporalar; b—sporangiy;
d—mitseliy.

ko'p sporalar: yumaloq yoki ellipssimon, silliq, rangsiz, ba'zan och kulrang sporalar hosil bo'ladi. *Mucor* zamburug'lari mitseliysining rangi dastlab oq, keyin och kulrang, ko'rinishi paxmoqsimon bo'ladi. Alohida gifalarda juda ko'p silliq, rangsiz, yumaloq yoki ellipssimon xlamidosporalar hosil bo'ladi. *Mucor* zamburug'lari nam don yuzasida, ildizmevalarda, zax binolar devorida va hokazo joylarda o'sadi. Ba'zi turlari spirtli bijg'ishga moyil; organik kislotalar, ferment preparatlari, karotoidlar, steroidlar ishlab chiqarishda ana shu turlaridan foydalaniladi.

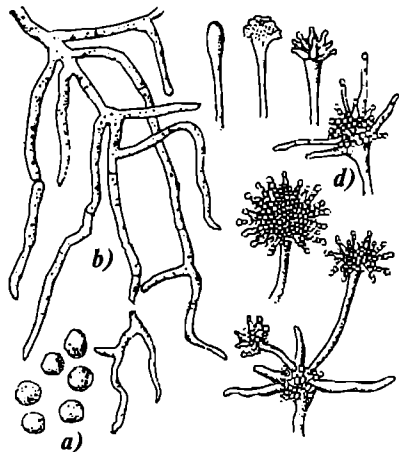
Rhizopus turkumi (32-rasm) shoxchalari — stolonlari yoysimon egilganligi bilan farq qiladi. Stolonlari substratga gifalarining ingichka o'simtasi — rizoidlari bilan birikkan (yopishgan) bo'lib, ular ustida sporangiyabandlar tutami joylashgan. Sporangiyalari yumaloq yoki yassi, dastlab rangsiz, yetilganda qorayadi. Sporalar burchakli yoki ellipssimon, silliq, ba'zan tikanli yoki egatchali. Bu zamburug'lar rezavor mevalarni, ildizmevalarni, tugunaklarni zararlaydi, chiritadi. Ba'zi turlaridan ferment preparatlari tayyorlashda foydalaniladi.



33-rasm. Rhizopus:

a—rizoidlar; *b*—stolon; *d*—sporangiy tashuvchi; *e*—sporangiy.

Yuksak zamburug'lar. *Aspergillus turkumi* (34-rasm) ning mitseliysi juda ko'p septali, yaxshi rivojlangan shoxlanuvchi bo'ladi. Konidiyabandlari bo'linmagan, yuqorigi uchi noksimon yoki yumaloq (sharsimon) kengaygan bo'lib, boshchaga o'xshaydi. Boshchasida bir-biriga parallel joylashgan o'siqlar — erkin uchida konidiyalar zanjiri ajralib chiqadigan kegelsimon sterigmalar joylashadi. Sterigmalar bir yoki ikki yarus (qavat) bo'lib joylashadi. Konidiylari yumaloq yoki ellipsimon, silliq, so'galli yoki tikanli bo'ladi. Konidiyabandlar boshchasi va konidiylarning radial tarqaladigan zanjirlari xuddi leykadan quyilayotgan suv oqimiga o'xshaydi. Shuning uchun

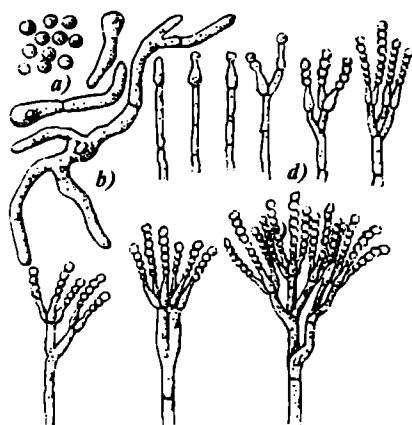


34-rasm. Aspergillus:

a—konidiyalar; *b*—mitseliy;
d—konidiya tashuvchini konidiylari bilan shakllanishi.

“leyka zamburug’” degan nom kelib chiqqan (*aspergere* — lotincha — sug’orish, purkash demakdir). Aspergillar konidiysi yetilganda har xil: to‘q sariq, to‘q jigarrang, sarg’ish-yashil, yashil, to‘q kulrang, qora rangga kiradi, bular boshqa belgilari bilan bir qatorda ularning turini aniqlashda muhim rol o‘ynaydi. Konidialari juda ko‘pligidan zamburug’ning butun koloniyasi tegishli rangga bo‘yalgandek tuyuladi. Qora (*Aspergillus niger*, *Asp. usamii*, *Asp. batatae*, *Asp. awamori*, *Asp. foetidus*), jigarrang (*Asp. terreus*, *Asp. terricola*, *Asp. itaconicus*, *Asp. nidulans*) va sariq-yashil zamburug’lar (*Asp. oryzae*, *Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*) orasida amilolitik, proteolitik, pektolitik ferment preparatlari, organik kislotalar, antibiotiklar hosil qiluvchi aktiv produtsentlar borligi aniqlangan. Ularning ko‘pchiligi oziq-ovqat mahsulotlarini buzuvchi zamburug’lardir.

Penicillium turkumi (35-rasm) mitseliysi bo‘lingan va shoxlangan zamburug’lardir. Konidiylari ko‘tarilgan konidiyabandlar uchida hosil bo‘ladi, konidiyabandlari ko‘ndalang to‘siqlar bilan bo‘lingan. Konidiyabandlarning yuqori qismi

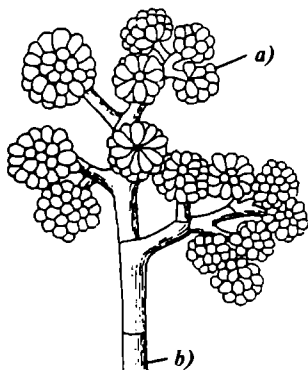


35-rasm. Penicillium:
a—konidiyalar; *b*—mitseliy;
d—konidiya tashuvchini konidiyalari bilan shakllanishi.

shoxlanib, o‘ziga xos kichkina cho‘tkaga hosil qiladi; bu cho‘tkaga qo‘l panjalariga yoki rassomning mo‘yqalamiga o‘xshaydi (*penicillium* lotincha — panja, barmoq degani). Ular uchidagi ingichka uchli urchuqsimon yoki silindrsimon hujayralarda — sterigmalarda konidiylar zanjiri hosil bo‘ladi. Konidiylari ko‘pincha elliptik yoki yumaloq, silliq, tikanli yoki bir oz



36-rasm. Fusarium:
a—konidiyalar; b—mitseliy.



37-rasm. Botrytis: a—konidiyalar;
b—konidiya tashuvchi.

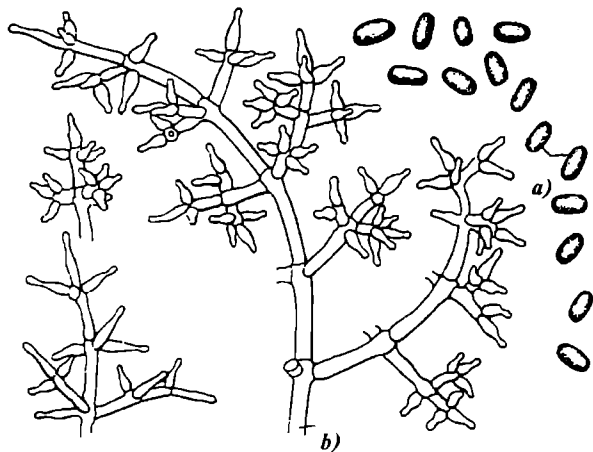
burishgan bo'ladi. Ayrim konidiylari rangsiz, massada yashil, och kulrang-yashil, ko'k-yashil rangda. *Penicillium* avlodiga penitsillin (*P. chrysogenum*), ferment preparatlar (*P. vitale*) olishda foydalaniladigan juda ko'p turlar kiradi; ayrimlari pishloqning yetilishida ishtirok etadi, meva, rezavor mevalarni va ko'pgina oziq-ovqat mahsulotlarini buzadi.

Fusarium turkumi (36-rasm) ning gifalari shoxlangan, to'siqli bo'ladi. Ozuqa muhitida yuzada yoki muhitga botib kirgan oq yoki pushti, sariq, qizil-binafsha, jigarrang koloniyalar hosil qiladi. Pigmenti ko'pincha substratga o'tib, uni har xil — pushtidan to jigarranggacha bo'laydi. Ikki xil konidiy hosil qiladi. Makrokonidiylari o'ziga xos duksimon-o'roqsimon shaklda, bitta yoki bir nechta ko'ndalang to'siqli bo'ladi. Mikrokonidiylari mayda, oval shaklda, rangsiz, bir hujayrali, ba'zan bir yoki ikkita to'siqli bo'ladi. Konidiyabandlari ipsimon, oddiy yoki shoxlangan, mitseliy bo'ylab tarqalgan. Fuzariumlarning 800 dan ziyod turi ma'lum. Ular tabiatda keng tarqalgan. Ular orasida g'allani, ildizmeva va tugunakmevalarni kasallantiruvchi parazit formalar ko'p. Ba'zi turlari zaharli moddalar ajratadi. *F. moniliforme* dan gibberillin sintezlashda foydalaniladi.

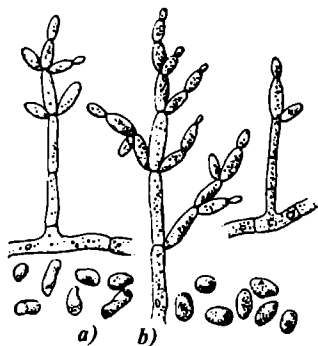
Botrytis turkumi (37-rasm) ning vakillari substratga botib yoyilib o'sadigan, kulrang-ko'kish sariq ko'p hujayrali mitseliy

ko'rinishida rivojlanadi. Konidiyabandlari to'siqlar bilan bo'lingan, rangsiz, qo'ng'ir, daraxtga o'xshash shoxlangan, kamdan-kam holda oddiy, uchi bir oz shishgan bo'ladi. Konidiyabandlarda kalta, tishsimon bandsiz sterigmalar hosil bo'ladi, ularda konidiyalar shingili va boshchasi bor. Konidiyalar tuxumsimon, ellipsimon, ba'zan yumaloq yoki cho'ziq, rangsiz yoki ko'kish-sariq rangda bo'ladi. *Botrytis cinerea* (*botrytis* — grekcha shingil, *cinerea* — kulrang degan ma'noni bildiradi) qand lavlagini, uzumni, meva va rezavor mevalarni, boshqa madaniy o'simliklarni chiritadi, sellulolitik, pektolitik va boshqa fermentlar ajratadi.

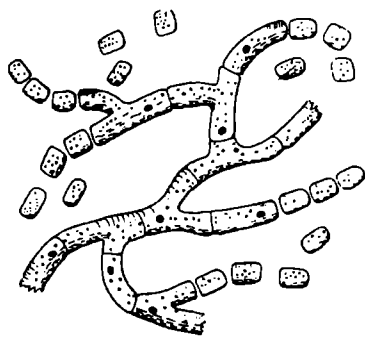
Trichoderma turkumi (38-rasm) g'ovak koloniya shaklida, yuzasi taram-taram, po'panaksimon bo'ladi. Mitseliysi o'rma-lab, tez o'sadi, rangsiz, eskirgan sari to'q yashil rangga kiradi. Mikroskopda qaralganda, mitseliydan yuqori ko'tarilib turadigan shoxlanuvchi konidiyabandi ko'rinadi. Ularning uchida butilkasimon shakldagi sterigmalar rivojlanadi; bir-biriga shilimshiq bilan yopishgan bir hujayrali rangsiz, to'p-to'p holda och yashil yumaloq boshchalar yoki yumaloq, tuxumsimon konidiylar hosil bo'ladi. *Trichoderma koningi*, *Trichoderma viride* sellulozalitik fermentlar ishlab chiqaradi.



38-rasm. *Trichoderma*: a—konidiyalar; b—mitseliy



39-rasm. Cladosporium:
 a—konidiyalar; b—konidiya
 tashuvchilar.

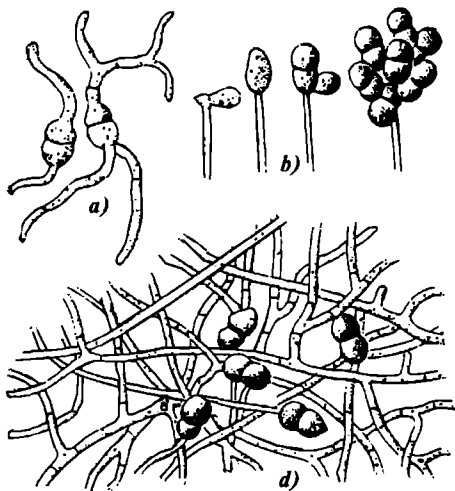


40-rasm. Endomyces.

Cladosporium turkumi (39-rasm) ning mitseliysi va konidiyalari to'q yashil rangda, zamburug' substratga botgan yoki uning yuzasiga yoyilgan bo'ladi. Konidiyabandlari tik o'sgan, sust rivojlangan bo'lib, ularda har xil shakldagi: yumaloq, oval, silindsimon, bitta yoki bir nechta to'siqli yoki to'siqsiz, dastlab rangsiz, keyin to'q yashil yoki och qo'ng'ir rangga kiradigan, silliq yoki tikanli va har xil o'lchamdagi (yirik-mayda), tez to'kilib ketadigan konidiyalar zanjiri hosil bo'ladi. Muhitga qoramtir pigment ajratadi. Oziq-ovqat mahsulotlarida to'q yashil rangli (deyarli qora) baxmalsimon dog'lar hosil qiladi.

Endomyces turkumi (40-rasm) sershox, septalangan, oq, unsimon mitseliy hosil qiladi. Gifalari osongina to'g'ribur-chakli yoki oval oidiyalarga ajraladi; ular achitqilarga o'xshaydi. *Endomyces lactis* saqlanayotgan sut mahsulotlari, sariyog', pishloq, tuzlangan sabzavotlar, presslangan achitqilar yuzasida, jihozlar, zax binolar devorida baxmalsimon oq g'ubor (dog') shaklida rivojlanadi.

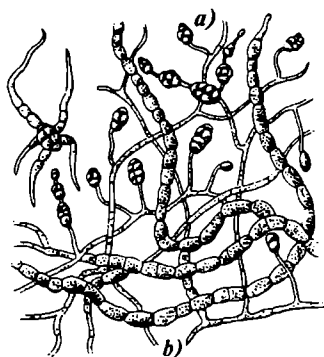
Trichothecium turkumi (41-rasm) ning mitseliysi substratga yoyilib o'sadi, konidiyabandlar va konidiyalardan iborat unsimon g'ubor hosil qiladi. Konidiyabandlari to'g'ri (tik), oddiy tayoqchasimon, siyrak to'siqli, ba'zan uchi bir oz shishgan



41-rasm. Trichothecium:

a—konidialarning rivojlanishi; *b*—konidiya tashuvchilar; *d*—mitseliy konidialari.

(bo'rtgan) bo'ladi. Konidialari cho'zinchoq yoki noksimon, pastki tomoni ingichka, ko'ndalang to'siqli bo'lib, konidiyabandlar uchida bittadan hosil bo'ladi yoki tez sochilib (yoyilib) ketadigan boshchani tashkil qiladi. *Trichothecium roseum* trixotetsin antibiotigi, sellulozalitik fermentlar hosil qiladi.



42-rasm. Alternaria:

a—konidiyalar; *b*—mitseliy.

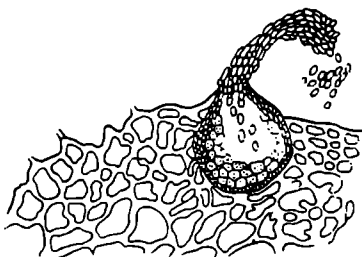
Alternaria turkumi (42-rasm) ko'ndalang va bo'ylama to'siqli, to'q rangli noksimon yoki uchli cho'zinchoq, o'ziga xos ko'p hujayrali konidialari bilan xarakterlanadi; bu konidialari yakka-yakka yoki zanjir shaklida kuchsiz rivojlangan konidiyabandlarga birikkan bo'ladi. Koloniyalari dastlab och, tukli, so'ngra och yashil-kulrang yoki to'q yashilqora, baxmalsimon, tukli.

Ajratgan fermenti muhitga o'tganidan muhit qora rangga kiradi. *Alternaria* ning har xil turlari tuproqda keng tarqalgan, qishloq xo'jalik ekinlarida alternarioz (qora chirish) kasalligini qo'zg'atadi.

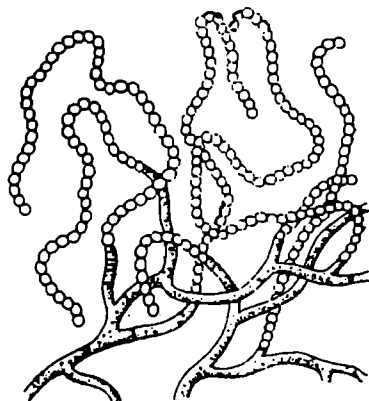
Phoma turkumi (43-rasm) ko'kish kulrang mitseliy shaklida o'sadi. Piknidalari tarqoq, substratga botgan, yumaloq, kichkina yumaloq teshikka o'xshagan ustitsasi bor. Piknidalar qobig'i to'q jigarrang, deyarli qora rangda. Konidiyabandlari oddiy, shoxlanmagan va kam seziladigan. Konidiylari bir hujayrali, oval yoki tuxumsimon. *Phoma betae* qand lavlagida chirish kasalligini qo'zg'atadi.

Catenularia turkumi (44-rasm) ning mitseliysi bo'lingan, ochiq gifalarida jigarrang konidiyalardan iborat uzun zanjir hosil bo'ladi. *Catenularia fuliginea* shakarli quyultirilgan sutni buzadi.

O'rganilayotgan zamburug'ning turkumi va turini aniqlash uchun N. M. Pidoplichkoning "Gribi-paraziti kulturnix rasteniy" (1—2 t., Kiyev: Naukova dumka, 1977) aniqlagichidan, "Opredelitel gribov Ukraini" (1—5 t., Kiyev: Naukova dumka, 1972), "Opredeliteli nizshix rasteniy" L.I. Kursanov tahriri ostida (M., Nauka, 1954, 1956) dan foydalaniladi.



43-rasm. *Phoma*.



44-rasm. *Catenularia*.

5.5. Achitqilarning asosiy xossalari va belgilari

Achitqilar xaltachali zamburug'lar (*Ascomycetes*) sinfiga mansub bo'lib, harakatsiz, bir hujayrali organizmlardir. Ular tabiatda keng tarqalgan.

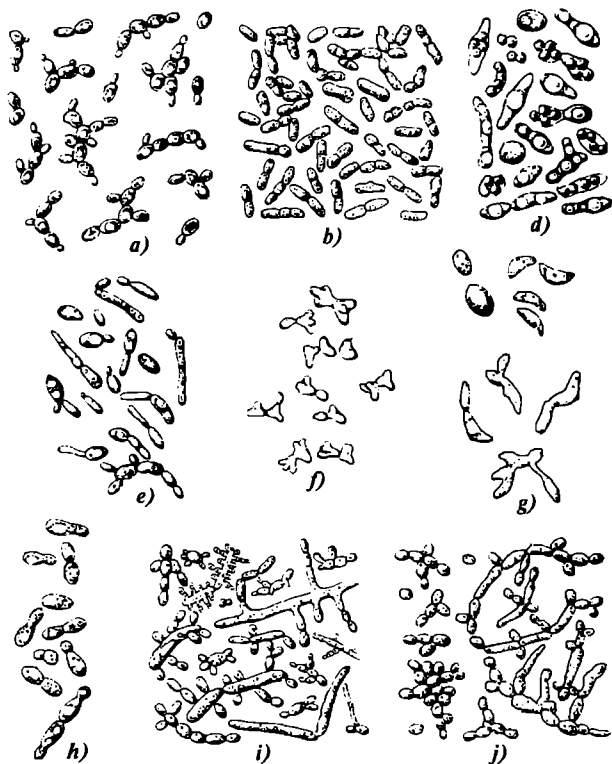
Achitqilar spirtli bijg'ish jarayonini hosil qiladi, ya'ni shakarni parchalab, etil spirti va karbonat angidrid hosil qiladi. Ularning ana shu xossasidan sanoatda keng foydalaniladi.

Bundan tashqari, achitqilar oziq-ovqat mahsulotlarida rivojlanib, ularni buzadi.

Achitqilar hujayrasi sitoplazmasining turli kiritmalari bilan qobig'i mavjudligi prokariotlarga o'xshaydi, faqat, haqiqiy yadrosi borligi bilan farq qiladi. U bo'yalmagan preparatda yaxshi ko'rinadi. Yosh hujayralar sitoplazmasi ancha bir xil, yoshi ortgan sari vakuola paydo bo'ladi. O'sish fazasida ular kurtaklanib yoki bo'linib vegetativ ko'payadigan bir hujayrali eukariot organizmlardir. Shu bilan birga muayyan sharoitda mitseliyga o'xshash strukturalar hosil qiladigan achitqilar ham bor.

Achitqilarning morfologik belgilari. Achitqilarning vegetativ hujayralari (45-rasm) har xil: yumaloq, oval, tuxumsimon (*Saccharomyces*), silindrsimon (*Schizosaccharomyces*), limon shaklda (*Saccharomyces*) bo'ladi. Takomillashmagan achitqilar boshqalardan farq qiladigan o'ziga xos shaklda: nayzasimon (*Brettanomyces*), uchburchak shaklda (*Trigonopsis*), o'roqsimon (*Selenotila*), kolbasimon (*Schizoblastosporion*). *Candida* va *Trichosporon* turkumlariga mansub achitqilar yumaloq va oval shakldagi hujayralar bilan bir qatorda uzun soxta mitseliy hujayralarini hosil qiladi.

Achitqilar bakteriyalar hujayrasidan yirikroq bo'lib, o'lchami 10—15 mkm dan oshmaydi. Oziq-ovqat sanoatida foydalaniladigan achitqilar hujayrasining diametri o'rtacha 3—5 mkm dan 6—10 mkm gacha yetadi. Achitqilar hujayrasining shakli va o'lchami ularning turiga, yoshiga, ozuqa muhitiga, o'stirish usuliga bog'liq. Ularning morfologiyasini

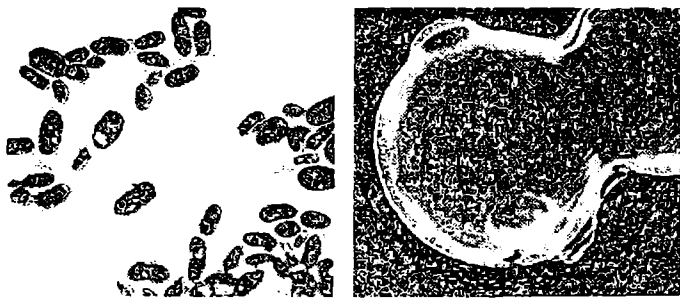


45-rasm. Achitqilar xujyalarining shakllari:

- a*—oval, tuxumsimon; *b*—silindrik; *d*—apikulyat, limonsimon;
e—nayzasimon; *f*—uchburchak; *g*—o'roqsimon;
h—kolbasimon; *i-j* — cho'zinchoq, mitseleysimon.

o'rganish uchun konsentratsiyasi 8-10% QM (quruq modda) bo'lgan sterillangan solod (undirib yanchilgan arpa) suslosida yoki agarida, glukoza-peptonli muhitda yoki GPAda 25—28°C da 2—3 kun o'stiriladi. Sekin o'sadigan achitqilar 1—2 haftadan keyin mikroskopda ko'riladi. So'ngra to'plamlar xona haroratida saqlanib, 4 haftadan keyin yana ta'riflanadi.

Vegetativ ko'payish usullari. Achitqilar kurtaklanishi-da hujayralari yuzasida mayda bo'rtiq-kurtak hosil bo'lib, sekin-asta o'sib, deyarli ona hujayra o'lchamiga yetadi (45-rasm, *a*).



46-rasm. Aчитqı hujayralari (askomitsetlar sinfi) kurtaklanish davrida.

O'ngda — aчитqı hujayrasining bo'linish daqiqasi
Ona hujayraning yuzasida bo'rtib chiqqan doira shaklidagi
chandiqlar — kurtaklarning uzilgan joylari ko'rinib turibdi.

Bir vaqtda yoki ketma-ket hosil bo'ladigan kurtaklar ona hujayraning har tomonidan ko'plab chiqadi (46-rasm). Ba'zi aчитqilar ko'ndalang to'siqlar — septalar hosil bo'lishi hisobiga bo'linish yo'li bilan ko'payadi (45-rasm, b). Kurtaklar hujayralarning qutblarida hosil bo'lib, tortilishi qismida aniq ko'rinib turadigan septalar paydo bo'lishi kurtaklanib bo'linib ko'payish deb ataladi (45-rasm, d).

Aчитqilarning spora hosil qilishi. Diploid aчитqilar spora hosil qilishi uchun ma'lum sharoit mavjud bo'lishi: to'plam yosh bo'lishi, aчитqilar 1—2 kun oldin ozuqqa boy muhitda o'stirilishi, aktiv o'sayotgan aчитqilarni och muhitga yoki gips bloklarga ekish kerak. Bunda aeratsiya yaxshi va namlik yuqori bo'lishi kerak. Muhitda spora hosil qilishi uchun aчитqilar optimal (20—25°C) dan birmuncha past haroratda 4—6 kun o'stiriladi va har kuni mikroskopda ko'rib turiladi. Aчитqı hujayrasida yoki askda 1—8 ta askospora hosil bo'ladi.

Aчитqilar sporasini bo'yash. Buning uchun preparat tayyorlab, alangada fiksirlanadi, keyin ustidan Silning karbolli fuksi quyiladi va bug' hosil bo'lguncha 2—3 minut davomida isitiladi. So'ngra preparatni sut kislotaning 2% li eritmasiga yoki 95% li etanolga (tarkibida 100 ml etil spirti, 1 ml konsentrlangan sulfat kislota bo'lgan) botirib rangsizlan-

tiriladi. Keyin preparat suv bilan yuvilib, 3—5 minut davomida metilen ko'ki yoki nil ko'ki bilan qo'shimcha bo'yaladi, so'ng yana suv bilan yuvib tashlanadi. Bunda yetilgan askosporalar qizil rangga, vegetativ hujayralar ko'k rangga bo'yaladi. *Schizosaccharomyces* avlodiga mansub achitqilarning askosporasi kislotalarga chidamli emas, shuning uchun ko'k rangga bo'yaladi.

Hujayradagi kiritmalarni aniqlash. Uning tarkibidagi glikogen (zaxira polisaxarid) tirik achitqilar hujayrasini yod eritmasi bilan bo'yab aniqlanadi. Bunda glikogen qizil-qo'ng'ir rangga kiradi va achitqilarning yetilganligini bildiruvchi belgi bo'lib hisoblanadi.

Metaxromatin yoki volutin (oddiy oqsillar va ribonuklein kislota bilan birikkan zaxira polifosfat modda) Omelyanskiy usulida aniqlanadi. Buning uchun yog'sizlantirilgan buyum oynasida yupqa mazok tayyorlanadi, havoda quritilib, gorelka alangasida fiksirlanadi. So'ngra uning ustiga Silning karbolli fuksinidan quyib, 0,5—1 minut davomida bo'yaladi. Keyin bo'yovchi suyuqlik to'kilib, preparat suv bilan yuviladi va 20—30 sekund davomida sulfat kislota 1% li eritmasi bilan rangsizlantiriladi. Mazok suv bilan yuvilib, namini filtr qog'ozga shimdirib quritiladi va mikroskopda ko'riladi. Bunda metaxromatin donachalari qizil rangga, sitoplazma ko'k rangga bo'yaladi.

Yog' sudan III bo'yog'i bilan yoki osmiy kislota 1% li eritmasi bilan bo'yaladi. Buning uchun buyum oynasiga formalinning 40% li eritmasidan tomiziladi. Ilmoqda unga achitqilar to'plami yuqtiriladi. Formalin ta'sirida hujayralar nobud bo'lib, ularning qobig'i yaxshi o'tkazadigan bo'ladi. 5 minutdan keyin preparat ustiga metilen ko'ki, yana 10 minutdan keyin sudan III tomiziladi. Ustiga qoplagich oyna yopib, suyuqlikning ortiqchasi filtr qog'ozga shimdirib olinadi va immersion obyektiv yordamida ko'riladi. Bundan sitoplazma ko'k rangga, granulalar va yog' tomchilari pushti-to'q sariq rangga bo'yaladi.

O'lik hujayralarni topish. Achitqilarning o'lik hujayralari metilen ko'ki bilan bo'yaladi.

Achitqilar hujayrasining yoshga xos xususiyatlari. Achitqilar hujayrasining ichki moddalari ularning yoshiga bog'liq. Yosh (12—16 soatlik to'plamlar) achitqilarning qobig'i yupqa, sitoplazmasi bir xilda gomogen, vakuolasi va zaxira moddalari yo'q yoki endi shakllanayotgan bo'ladi. Achitqilar tez ko'payadi, kurtaklanayotgan hujayralar miqdori 70—80% ga yetadi. Yetilgan (24—48 soatlik) achitqilarning sitoplazmasida donador moddalar paydo bo'ladi, vakuolalari yiriklashib, ko'payish jarayoni sekinlashadi, nobud bo'lgan hujayralar aniqlanadi. Zaxira modda sifatida glikogen va metaxromatin bo'lishi va hujayralar qarigan sari ularning sarflanishi achitqilarning yetilganligini bildiradi. Qari achitqilarning qobig'i qalin, mikroskopda yaxshi ko'rinadigan bo'ladi. Sitoplazmasi geterogen, vakuolalari yirik, ba'zan hujayrada bir nechtdan bo'ladi. Glikogen bilan metaxromatin bo'lmaydi. To'plam tarkibida yog' aralashmali juda ko'p hujayralar bor. Shuningdek, ma'lum miqdorda o'lik hujayralar bo'lishi xarakterli belgisidir.

Yadroni bo'yash. Romanovski-Gimza usuli. Bu usulga ko'ra, achitqilar preparati 5 minut davomida metan yoki Karnua suyuqligi bilan fiksirlanadi. Keyingi holda sirka kislotasi qoldig'ini yo'qotish uchun preparatni spirt bilan yuvib, ochiq havoda quritiladi. Preparat Romanovski-Gimza bo'yog'i bilan bo'yaladi, keyin kuchsiz ishqorli (pH 7,2) suv bilan yuvib, quritiladi va mikroskopda ko'riladi. Bunda yadro qizil-binafsha rangga, sitoplazma och pushti rangga bo'yaladi.

Fyolgen usuli. Bir kunlik to'plamdan mazok tayyorlab, havoda quritiladi va osmiy kislotaning 2% li eritmasida 2—3 minut fiksirlanadi. Fiksirlash uchun Petri likopchasiga 2—3 tomchi fiksator tomizib, buyum oynasi mazogini pastga qilib mayda shisha tayoqchalar ustiga qo'yiladi. Keyin mazok xlorid kislotaning 1n. eritmasida 60°C da 2—3 minut gidrolizlanadi, buning uchun buyum oynasini suv hammomiga botirib

qo'yilgan va ichida xlorid kislota bo'lgan kichkina kimyoviy stakanchaga tushiriladi. Hidroliz tugagandan keyin mazokni tezda suv bilan yuvib, ustiga formalinning 1% li eritmasidan quyib, 1,5 minut saqlanadi va yana suv bilan yuvib tashlanadi. Mazok asosiy fuksinning 0,1—1% li suvli eritmasi bilan 1—2 minut davomida bo'yaladi, keyin yuvib, havoda quritiladi va mikroskopning 90x obyektivida ko'riladi. Sitoplazmaning pushti rangli fonida yadro och malina rangga bo'yalgan bo'lib ko'rinadi.

Achitqilarning kultural belgilari. Bularning belgilari quyuq va suyuq muhitda aniqlanadi. **Quyuq muhitda** o'sganda gigant (yirik) koloniyasi ta'riflanadi. Gigant koloniya hosil qilish uchun jelatinali suslo yoki suslo-agar kichkina konussimon kolbachalarga 2—3 sm qalinlikda quyib sterillanadi. Sovigan muhit yuzasining o'rtasiga igna yordamida yosh to'plamdan kichkina tomchi ekiladi. Koloniyalar xona haroratida 30 kun o'stiriladi. Muhit qurib qolmasligi uchun kolbachalarga polietilen qalpoqcha kiydirib, bog'lab qo'yiladi. Har xil turdagi achitqilar o'lchami, shakli, rangi, yuzasining tuzilishi, chetlarining ko'rinishiga qarab bir-biridan farq qiladigan gigant koloniyalar hosil qiladi. Jelatinani suyultirishiga ham ahamiyat beriladi.

Achitqilarning **suyuq muhitda** o'sishi 15% QM konsentratsiyali suslo yoki achitqi ekstrakti qo'shilgan gluukoza-peptonli muhit quyilgan kolbacha yoki probirkalarda aniqlanadi. Inkubatsiya davri xona haroratida 4 hafta. Achitqilar muhitni xiralashtiradi, cho'kma, halqa yoki parda hosil qiladi. Askomitset zamburug'lar cho'kma hosil qiladi. Mitseliy hosil qiladigan achitqilar (*Candida*, *Trichosporon* va boshqalar) parda (plyonka) shaklida o'sadi.

Energetik metabolizmi oksidlovchi turda bo'lgan achitqilarda erta, 1—2 kunda yupqa parda hosil bo'ladi; bu parda probirka devori bo'ylab o'sib boradi.

Fiziologik-biokimyoviy belgilari. Shakarlarni bijg'itishi. Shakarlar (glukoza, galaktoza, saxaroza,

maltoza, tregaloza, melibioza, laktoza, sellobioza, meletsitoza), inulin, eruvchan kraxmal va 2% konsentratsiyali α -metil-D-glukozid, 4—6% raffinoza 1:10 nisbatda aralashtirilgan achitqi avtolizatida, achitqi ekstraktining 0,5% li eritmasida yoki Riderning to'liq sintetik muhitida tayyorlanadi. Shakrlarni eritmasi ichiga naycha tushirilgan probirkalarga quyib, 0,05 MPa da 15 minut yoki bo'lib-bo'lib 3 kun sterilanadi. Keyin suslo-agardagi to'plamdan ekib, termostatga qo'yiladi. Inkubatsiya 24 sutka davom etadi. Probirka ichidagi naychada gaz yig'iladi.

Uglerod manbalari assimilyatsiyasi. Yuqorida aytilganlardan tashqari, uglerod manbalari sifatida boshqa geksozalar (ramnoza, sorboza), pentozalar (ksiloza, arabinoza, riboza), glikozidlar (arbutin, salitsin) ning, spirtlar (etanol, glitserin, i-eritrin, ribit, dulsit, D-mannit, D-sorbit, i-inozit) ning, organik kislotalar (sut, qahrabo, limon kislotalar) ning assimilyatsiyalash xossasi tekshiriladi. Ayrim hollarda metanol, uglevodorodlar (dekan, geksadekan) ning assimilyatsiyalashi tekshiriladi va vino, olma, sirka, pirouzum, glukuron kislotalar hisobiga organik kislotalar soni ko'paytiriladi. Suyuq muhitda ham, agarli muhitda ham tekshirish olib borish mumkin. Uglerod manbali azotli sintetik asos 10 marta va undan yuqori konsentrlangan holda tayyorlanib, Zeyts filtridan o'tkazib sterillanadi. Bu steril muhitdan 0,5 ml dan olib, ichida 4,5 ml dan distillangan suv bo'lgan yoki avtoklavda 0,1 MPa da 15 minut sterillangan agarning 2% li suvli eritmasi bo'lgan probirkaga qo'shiladi. Muhitdagi uglerod manbaining oxirgi konsentratsiyasi 0,5% ni tashkil etadi, raffinoza bo'lganda — 1%, uglevodorodlar bo'lganda — 2% bo'ladi. Organik kislotalardan foydalanilganda pH o'zgartiriladi (5,6—6,0 bo'ladi). Eruvchan kraxmal, inulin va uglevodorodlar avtoklavda 0,05 MPa da 15 minut davomida sterillanadi. Etanol bilan metanol sterillanmasdan hajmiga qarab qo'shiladi.

Suyuq muhitga yoki qiya agarga uch kunlik to'plamning 0,1 ml suspenziyasi ekiladi; bu to'plam suslo-agarda o'sti-

rilgan va sterillangan suvda tayyorlangan bo'lib, hujayralar konsentratsiyasi 1ml da taxminan 10^6 — 10^7 bo'ladi. Petri likopchasiga quyib sovutilgan quyuq muhitdan foydalanishda tekshirilayotgan 6—8 ta achitqi to'plam to'g'ri radial shtrix (uzuq-uzuq chiziq) shaklida ekiladi. Maxsus ko'p nuqtali inokulyatorda likopchaga bir yo'la 12—36 ta to'plam ekish mumkin. Keyin likopchalar (probirkalar) termostatga qo'yiladi, suyuq muhitli probirkalar qiyalatilgan holda tebratgichga qo'yiladi va optimal haroratda 3—4 hafta o'stiriladi. Suyuq muhitda o'sayotgan hujayralar nefelometr yordamida miqdoriy jihatdan, quyuq muhitdagilari ko'z bilan chamalab hisobga olinadi. Suyuq muhitdagi dastlabki ko'rsatkichlar 7 kundan keyin ijobiy (glukozali muhitda o'sishi) va salbiy deb (hech qanday uglerod manbaisiz) kontrol bilan taqqoslab olinadi.

Azot manbalari assimilyatsiyasi. Uglerod manbalarini o'rganishdagi kabi, ammo ammoniy sulfat bo'lmagan sintetik muhitga 0,78 g/l konsentratsiyali kaliy nitrat qo'shiladi va tekshirilayotgan achitqilar ekiladi. Kontrol sifatida xuddi shu muhit azot manbaisiz (salbiy) va ammoniy sulfatli (ijobiy kontrol) bo'ladi. Achitqilarning o'sishi va natijasi xuddi oldingi analizdagi kabi hisobga olinadi.

Osmotik bosimi yuqori bo'lgan muhitda o'sishi. Achitqilarning konsentratsiyasi 50 dan 60% gacha bo'lgan (massasi bo'yicha) glukozali muhitda o'sish xos-salaridan saxaromitsetlarning har xil turlarini tasniflashda foydalaniladi. Probirkadagi qiya agarga shtrix usulda achitqi ekilib, 4 haftagacha o'stiriladi. Ularning sho'rga chidamliligini aniqlash uchun natriy xloridli muhitdan foydalaniladi; bunda tuzning konsentratsiyasi 1% dan oralatib, 0 dan 27% gacha bo'ladi. Sterillangan suyuq muhitga achitqilarning o'rganilayotgan to'plamini ekib, 8 kun tebratgichda saqlanadi.

Yuqori temperaturada o'sishi. Achitqilarning o'sishi uchun eng qulay (optimal) harorat 20—28°C atrofida bo'ladi, lekin bundan past yoki yuqori haroratda yaxshi

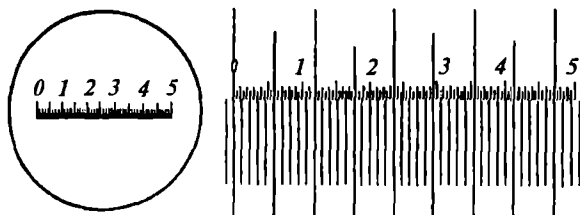
rivojlanadigan turlar ham bor. Shuning uchun 20—25, 28—34, 37—39, 40—45°C haroratda o'sish xususiyati aniqlanadi. Achitqilar suslo-agarda, 5% glukozali azotli asosda yoki achitqi ekstraktli glukoz-peptonli muhitda o'stiriladi.

Aktidionga chidamliligi. Test *Saccharomyces* va *Candida* turkumlarini farq qilishda (ajratishda) foydalaniladi. 0,5% glukozali sintetik muhitga 100 mkg/ml aktidion qo'shib, tebratkichda 4 hafta o'stiriladi. Takomillashmagan achitqilar antibiotikka ancha chidamli bo'ladi.

Morfologik-kultural va fiziologik-biokimyoviy xossalarini o'rganishga asoslanib, achitqilarning turkumi va turini V.I. Kudryavsev va J. Lodder sistematikalari bo'yicha aniqlanadi.

5.6. Mikroorganizmlar hujayrasining o'lchamini aniqlash

Mikroorganizmlar o'lchami suyuq muhitda o'stirilgan 18—24 soatli tirik hujayralarda aniqlanadi. Bunday yoshdagi to'plamlarning hujayrasi deyarli bir xil, o'rganilayotgan turga xos bo'ladi. O'lchov birligi mikrometr ($1 \text{ mkm} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mm}$). Mikroorganizmlar okulyar mikrometrdan o'lchanadi. Okulyar mikrometr yumaloq shisha plastinka bo'lib, markazida 5 mm uzunlikda chizg'ichi bor. Chizg'ich 50 qismga



47-rasm. Okulyar mikrometr (kattalashtirilgan).

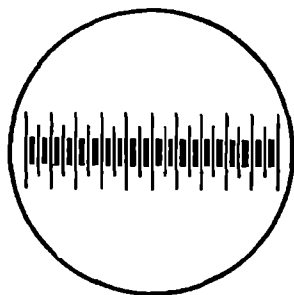
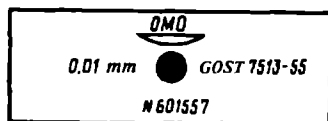
O'ngda — obyekt va okulyar mikrometrlarning chiziqlari birlashtirilgan.

bo'lingan (47-rasm). Okulyar mikrometr istalgan okulyarga yig'uvchi va ko'z linzalari orasidagi diafragma o'rnatiladi. Uning chizg'ichidagi bo'linmalarining kattaligi (qancha mkm ga tengligini) obyektiv mikrometr yordamida aniqlanadi.

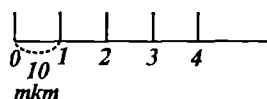
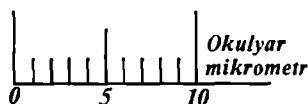
Obyektiv mikrometr o'rtasida teshigi bor metall plastinkadir (48-rasm). Bu teshikka uzunligi 1 mm bo'lgan va aniq 100 qismga bo'lingan shkalali shisha qo'yilgan. Binobarin, obyektiv mikrometr shkalasining bitta bo'laki 0,01 mm, ya'ni 10 mkm ga teng. Obyektiv mikrometr mikroskopning stolchasiga o'rnatiladi va 8x kattalashtiradigan qilib rostlanadi. Chizg'ichning tasviri ko'rish maydonining markaziga keltiriladi va obyektiv mikroorganizmning o'lchami aniqlanadigan obyektivga almashtiriladi.

Har ikkala mikrometrning chizg'ichini parallel qilib to'g'rilab, ularning birinchi chiziqlari birlashtiriladi (49-rasm).

Nonius prinsipi bo'yicha chiziqlarning keyingi birlashtirilishi va okulyar mikrometrning bitta bo'linmasi obyektiv mikrometrning necha bo'lagiga to'g'ri kelishi aniqlanadi. Masalan, obyektiv mikrometrning 4 ta bo'laki (40 mkm) okulyar mikrometrning 20 ta chizig'iga mos keladi, demak, okulyar mikrometrning bitta bo'laki $40 : 20 = 2$ mkm ga teng bo'ladi. Obyektiv mikrometr o'rniga preparatni qo'yib, muayyan okulyarda tekshirilayotgan obyekt o'lchanadi. Agar o'lchanayotgan hujayraning bo'yi



48-rasm. Ob'ekt mikrometr (asl ko'rinishi). Pastda ob'ekt mikrometrning lineykasi.



49-rasm. Okulyar mikrometrning bo'linmasini qiymatini aniqlash.

okulyar mikrometr bo'lagining 2,5 ga, eni 0,75 ga teng bo'lsa, uning o'lchami: bo'yiga $2,5 \cdot 2 = 5$ mkm, eniga $0,75 \cdot 2 = 1,5$ mkm ga teng bo'ladi. Natija aniq bo'lishiga ishonch hosil qilish uchun 20—30 ta hujayra o'lchanadi va o'rtacha o'lchami hamda o'zgarish chegarasi, ya'ni minimal va maksimal o'lchami qayd etiladi. Mikroorganizmlarni vintli okulyar mikrometr MOV-1-1,5x da ham o'lchash mumkin.

L.YE. Proxorovich matematik hisoblash usuli bilan hozirgi biologik mikroskoplar okulyarlari va obyektivlarining kattalashtirishi mumkin bo'lgan barcha kombinatsiyalari uchun okulyar mikrometrning chizg'ichidagi bo'laklarning necha mkmgga teng kelishini aniqlab bergan (1-jadval).

1-jadval

Okulyar va obyektivning kattalashtirishiga bog'liq holda okulyar mikrometrda o'lchamni aniqlash

Okulyar	Obyektiv	Umumiy kattalashtirish	Okulyar mikrometr chizg'ichi bo'laklarining o'lchami, mkm	Okulyar	Obyektiv	Umumiy kattalashtirish	Okulyar mikrometr chizg'ichi bo'laklarining o'lchami, mkm
7	8	56x	21,3	10	40	400x	3,4
7	20	140x	8,5	10	90	90x	1,5
7	40	280x	4,2	15	8	120x	15,0
7	90	630x	1,9	15	20	300x	6,0
10	8	80x	17,2	15	40	600x	3,0
10	20	200x	6,9	15	90	1350x	1,3

6. MIKROORGANIZMLAR MIQDORINI (SONINI) HISOBGA OLISH VA ULARNI O'STIRISH USULLARI

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Hisoblash kameralarida fiksirlab bo'yalgan mazoklarda mikroorganizmlar hujayrasini sanash usullarini o'zlashtirish. Quyuq muhitda o'stirish yo'li bilan hujayralar sonini hisoblash. Mikrob bio-

massasini aniqlash, aerob va anaerob mikroorganizmlarni o'stirish yo'llarini o'rganish. Tashqi muhit omillarining mikroorganizmlarga ta'sirini bilib olish.

6.1. Mikroorganizmlar hujayrasini bevosita sanash

Hujayralarni hisoblash kamerasida sanash. Goryayev, Tom-Seys, Byuker va boshqalar kamerasida yirik mikroorganizmlarini — achitqilar, bir hujayrali suv o'tlari, sporalar, zamburug'lar, ayrim bakteriyalarni sanash mumkin. Goryayevning hisoblash kamerasi qalin buyum oynasi bo'lib, to'rtta chuqur chiziq bilan ko'ndalang joylashgan uchta maydonchaga bo'lingan. O'rtadagi maydoncha ko'ndalang chiziq bilan ikkiga bo'lingan. Har qaysi yarmi to'rsimon bo'lingan. Yon tomondagi maydonchalar o'rtadagidan 0,1 mm balandroq (kamera chuqurligi) bo'lib, uning ustiga qoplagich oyna zich yopiladi.

Goryayev kamerasining to'ri 225 ta yirik kvadratga bo'lingan (15 ta qatorning har qatorida 15 tadan kvadrat bor). Yirik kvadratning maydoni $1/25 \text{ mm}^2$ ga teng bo'lib, har qaysisining maydoni $1/400 \text{ mm}^2$ bo'lgan 16 ta mayda kvadratga bo'lingan. Kameraning chuqurligi 0,1 mm ga teng. Kichik (mayda) kvadratning hajmi $1/4000 \text{ mm}^3$ yoki $1/4000000 \text{ ml}$, katta kvadratniki $16/4000 = 1/250 \text{ mm}^3$ yoki $1/250000 \text{ ml}$ ga teng. Katta kvadratlarning bir qismi vertikal, gorizontaal bo'lingan yoki bo'linmagan bo'ladi.

Quyuc substatrlardagi achitqilarni sanash uchun oldin ular suvga aralastiriladi. Buning uchun o'lchov kolbasidagi 100 ml suvga hujayralar konsentratsiyasiga qarab, 2, 4 yoki 10 ml achitqi suspenziyasi qo'shiladi. Nobud bo'lgan achitqi hujayralarini bo'yash uchun Fink bo'yicha 20—30 ml metilen ko'ki (1:5000 nisbatda olingan) yoki 1:40 konsentratsiyaligidan 1—2 ml qo'shiladi.

Non pishirish sanoati yarim fabrikatlar namunasini tayyorlashda G. M. Smirnova ishlab chiqqan usulga asoslanishi

mumkin: bunda 1 g namunani hovonchada 3—5 ml spirt bilan ezib (spirt oz-ozdan qo'shiladi), keyin 100 ml hajmli kolbachaga solinadi va 40—50 ml ga yetguncha suv qo'shiladi; to'xtovsiz chayqatib turib 1 ml 30% li natriy gidroksid (yoki kaliy gidroksid) eritmasi qo'shiladi. Keyin kolbacha 10 minut 70°C issiq bo'lgan suv hammomiga botirib qo'yiladi. Gidroliz tugagandan keyin belgigacha suv qo'shib, yaxshilab aralastiriladi. Suspenziyadan 10 ml olib, probirkaga solinadi va 5 tomchi metilen ko'ki hamda 3—4 tomchi karbolli fuksin qo'shiladi. Achitqilar hujayrasi to'q binafsha rangga, bakteriyalar hujayrasi havo rangga bo'yaladi.

Kamera va maxsus silliqlangan qoplagich oynani yaxshilab yuvib quritiladi. Setkalar yuzasiga tayyorlangan to'plam aralashmasidan kichik tomchi tomizib, qoplagich oyna bilan yopiladi. Oyna tagidagi suyuqlik kataklar bo'ylab bir tekis tarqalishi, pufakchalar hosil bo'lmasligi kerak. Suyuqlikning hajmi kameraning hisoblanadigan hajmiga mos kelishi uchun to Nyuton halqalari deb ataladigan halqalar paydo bo'lguncha qoplagich oyna kameraning yon maydonchasiga ishqalana-veradi. Qoplagich oynani oldin ishqalab, keyin pipetkada kamerani mikroorganizmlar suspenziyasi bilan to'ldirish ham mumkin. Hujayralar cho'kishi va bir tekisda (bir sathda) ko'rinishi uchun kamera to'ldirilgandan 3—5 minutdan keyin hisoblash boshlanadi. Mikroorganizmlarning harakatchan shakllarini kataklarga tushirishdan oldin ularni isitib yoki suspenziyaga 0,5% formalin qo'shib nobud qilinadi.

Kamerani mikroskopning buyum stolchasiga joylashtirib qo'yib, oldin 8x, keyin 40x obyektivda ko'riladi. Katta kvadratning ichidagi hujayralar ham, chekka chizig'idagi, ammo ko'proq qismi muayyan kvadrat ichida bo'lgan hujayralar ham — hammasi hisobga olinadi. Yarmidan ko'pi boshqa kvadratda bo'lgan hujayralar hisobga olinmaydi. Agar hujayralar chegara chiziq bilan teng ikkiga kesilib turgan bo'lsa, kvadratning ikkita yonma-yon (bir-biriga yaqin) tomonidagi, masalan, pastki va chap tomonidagi hujayralar hisobga olinadi.

Har bir tomchida 10 ta katta kvadratdagi hujayralarni sanash tavsiya etiladi. 1 ml dagi hujayralar soni $x = a \cdot 25 \cdot 10^4$ ga teng.

Juda quyuq suspenziyalarda hujayralarni sanash qiyin, shuning uchun ularni suv qo'shib suyultirish kerak; yaxshisi shunday suyultirish kerakki, bitta yirik kvadratdagi hujayralar soni 16 tadan oshmasin. 1 ml dagi hujayralarning sonini aniqlashda suyultirishni hisobga olish kerak.

Fiksirlab, keyin bo'yalgan mazoklardagi hujayralarni sanash (Vinogradskiy-Shulgina-Brid usuli). Bu usulning mohiyati shundan iboratki, ma'lum miqdordagi tekshirilayotgan suspenziyani bevosita mikroskopda ko'rib, mikroorganizmlar hujayrasining miqdori (soni) hisoblanadi (sanaladi).

Preparat tayyorlash. Tekshiriladigan suspenziyadan aniq hajmda (odatda, 0,02 dan 0,05 ml gacha) olib, mikropipetkada yaxshilab yog'sizlantirilgan va quritilgan buyum oynasiga tomiziladi; bu buyum oynasi maydoni 6 yoki 4 sm² qilib chizilgan millimetr qog'ozga joylashtirilgan bo'ladi. Keyin suspenziya tomchisiga agar-agarining sterilangan 0,03% li suvli eritmasidan bir tomchi qo'shib, sterillangan biologik ilmoq bilan tez aralashtiriladi va qog'ozda belgilangan maydonga bir tekis taqsimlanadi. Mazokni havoda quritib, 96% li spirt bilan 20—30 minut fiksirlanadi va ma'lum vaqt davomida u yoki bu bo'yoq bilan bo'yaladi. Keyin preparat ehtiyotlik bilan kristallizatorda suvda yuviladi. Preparat suv tiniq bo'lguncha bir necha marta yuviladi. Tayyor bo'lgan preparat havoda quritiladi.

Mikroorganizmlar hujayrasi immersion obyektivda okulyarga o'rnatilgan okulyar to'ridagi kvadratlardan sanaladi. Preparatni diagonal bo'yicha u yoq-bu yoqqa surib, to'rdagi 50—100 ta kvadratdagi (kamida 10 ko'rish maydonidagi) mikroorganizmlar hisobga olinadi. Okulyar setkasi bo'lmasa, mikroskopning butun ko'rish maydonidagi hujayralarni sanash mumkin. Amaliy maqsadga muvofiqlik nuqtai nazaridan

qaralganda hisoblangan hujayralarning umumiy soni (S_x) 600—1000 birlikka teng bo'lganda maksimal aniqlikka erishiladi.

Olingan ma'lumotlarga asoslanib, setkaning kvadratidagi hujayralarning o'rtacha soni aniqlanadi $x = \frac{\sum x}{n}$; bu yerda n — setkadagi hujayralar soni sanalgan kvadratlar (ko'rish maydoni). Ishonchli intervalni aniqlashda variant uchun o'rta kvadratli o'zgarish ushbu formula bo'yicha hisoblanadi:

$$\sigma x = \pm \frac{\sqrt{\sum x}}{n}$$

95% ga teng darajali ko'rsatkichda ($P_{0,95}$) to'rning kvadratidagi (ko'rish maydonidagi) ehtimolga yaqin bo'lgan hujayralar soni ushbu formuladan foydalanib hisoblanadi: $x + 2\sigma_x$.

$P_{0,99}$ da ishonchli interval $+ 2,7\sigma_x$ ga muvofiqdir.

O'rganilayotgan substratning 1 g (1 ml) dagi hujayralarning ehtimolga eng yaqin sonini aniqlash uchun suyultirilganligini, suspenziyaning hajmini, mazokdagi okulyar setkasi kvadrati maydonini (ko'rish maydonini) hisobga olish zarur.

Okulyar to'ri kvadratining maydoni (ko'rish maydoni) obyektiv mikrometr yordamida aniqlanadi (47-rasm). Obyekt-mikrometrni mikroskop stolchasiga preparat o'rniga qo'yib, hujayralar sanalgan kattalashtirishda to'r kvadratining tomoni (yoki ko'rish maydonining diametri) o'lchanadi. Kvadratning tomonini bilgandan keyin, uning maydoni — S aniqlanadi. Ko'rish maydoni $S = \pi R^2$ formula bo'yicha hisoblab topiladi.

To'r kvadratidagi hujayralar sonini 1 g (1 ml) substratdagi mikroorganizmlar miqdoriga aylantirish uchun quyidagi formuladan foydalaniladi:

$$\frac{(x \pm 2\sigma_x) \cdot 6 \cdot 10^8 \cdot K}{S \cdot 0,05}$$

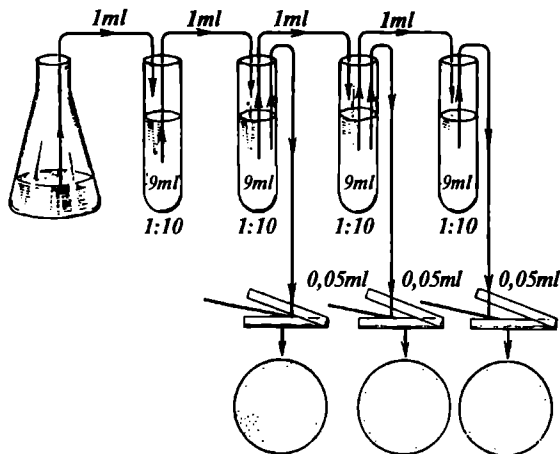
Bu yerda: S — to'rt kvadrating maydoni (mkm^2), $0,05$ — olingan suspenziyaning miqdori, $6 \cdot 10^8$ — mazokning maydoni, K — suspenziyaning suyultirilganligi.

6.2. Qattiq ozuqa moddali muhitga ekish usuli bilan mikroorganizmlar miqdorini aniqlash (Kox usuli)

Tabiiy va ishlab chiqarishdagi substratlardagi (suv, tuproq, xom ashyo, yarim tayyorlangan mahsulotlar va tayyor mahsulotlardagi) mikroorganizmlar miqdorini aniqlashda mazkur usul keng qo'llaniladi. Har qanday tirik hujayra qattiq muhitga ekilganda koloniya hosil qiladi, deb hisoblaymiz. Buni uch bosqichda tahlil qilish mumkin: namunali suyultirish, Petri likopchasidagi qattiq muhitga ekish va o'sib chiqqan koloniyalarni hisobga olish (sanash).

Namunali suyultirish. Alohida-alohida koloniyalar hosil qilish uchun o'rganilayotgan materialning namunasi oldin o'n karra suyultiriladi. Buning uchun sterillangan vodoprovod suvidan yoki fiziologik eritmadan (natriy xloridning $0,5\%$ li eritmasidan) 9 ml dan olib sterillangan quruq probirkalarga quyiladi. Keyin dastlabki namunadan 1 ml (yoki 1 g) olib, aseptik ravishda birinchi probirkaga qo'shiladi va probirka og'zini paxta tiqin bilan berkitib, yaxshilab aralashtiriladi. Natijada birinchi aralashma — $1:10$ olinadi (50-rasm).

1-suyultirishda hosil qilingan suspenziyani sterillangan pipetka bilan yaxshilab aralashtiriladi. Buning uchun suspenziya bir necha marta pipetkaga tortib, yana chiqarilaveradi. So'ngra shu pipetkada 1 ml suspenziya olib, ichiga 9 ml suv quyilgan ikkinchi probirkaga qo'shiladi — bu ikkinchi suyultirish — $1:10^2$. Yana boshqa pipetka olib, xuddi yuqoridagi usulda uchinchi marta suyultiriladi — $1:10^3$ so'ngra dastlabki (boshlang'ich) materialdagi mikroorganizmlar miqdoriga qarab, 10 martagacha suyultirilaveriladi.



50-rasm. Aralastirib suyultirishlarni tayyorlash sxemasi va ularni Petri likopchalariga ekish.

Qattiq muhitga ekish. Suyultirilgan har qaysi suspenziyadan kamida ikki-to'rtta parallel Petri likopchasiga yuza yoki chuqur qilib ekiladi. Yuza ekishda dastlab sterillangan Petri likopchasiga 15—20 ml dan eritilgan agarli muhit quyiladi. Keyin muhit sovishi uchun likopchalar gorizontal yuzada saqlanadi, so'ngra muhitning quriganligini va sterillanganligini tekshirish uchun qopqog'ini pastga qilib, 2—3 kun 30°C issiq termostatda saqlash tavsiya etiladi. Muhit bilan qopqoqlar yuzasidagi kondensatsion suv tomchilari yo'qolguncha quritish davom etadi. Agar o'ta nam sharoitda o'sadigan mikroorganizmlar hisobga olinadigan bo'lsa, agar sovishi bilanoq to'plam ekiladi.

Ekish uchun sterillangan o'lchov pipetkasidan foydalaniladi. Unda suyultirilgan tegishli suspenziyadan ma'lum hajmda: 0,05; 0,1 yoki 0,2 ml (0,5 ml dan oshmasligi kerak) olib, likopchalardagi muhitga qo'shiladi. Keyin sterillangan shpatel bilan qattiq muhit yuzasiga bir tekis yoyiladi. Agar suyultirilgan suspenziyada mikroorganizmlar konsentratsiyasi yuqori bo'lsa, shu shpatel bilan ikkinchi, ba'zan uchinchi

likopchadagi ozuqa muhitning yuzasiga ham surkaladi. Agar konsentratsiyasi past bo'lsa (ya'ni hujayralar kam bo'lsa), faqat bitta likopchaga shpatelda suyultirilgan suyuqlik yuqtiriladi. Ketma-ket suyultirilgan kamida uchta suspenziyadan olib ekiladi. Parallel ekishda bitta pipetkadan foydalanilaveradi. Suyultirilgan boshqa suspenziyadan foydalanishda sterillangan yangi pipetka ishlatiladi. Har xil darajada suyultirilgan suspenziyalardan olib ekishda bitta pipetkadan foydalanish mumkin, lekin ekishni eng ko'p suyultirilgan suspenziyadan boshlash kerak. Suyultirilgan har qaysi suspenziya uchun albatta sterillangan yangi shpatel olinadi.

Chuqur qilib ekishda sterillangan pipetkada tegishli suspenziyadan 1 ml dan olib, sterillangan 2—4 ta parallel Petri likopchasidagi muhitga quyiladi. So'ngra eritib, 46—48°C gacha sovutilgan agarli muhitdan 15—20 ml olib, ehtiyotlik bilan likopchaga qo'shiladi. Keyin qopqog'ini yopib, tezda likopchani sekin-sekin aylantirib, ichidagi ozuqa muhiti bilan ekilgan material yaxshilab aralashtiriladi. Shundan so'ng muhit sovishi uchun gorizontol holatda saqlanadi. Ekilgan va tegishli yozuvlar yozilgan likopchanning tubini yuqoriga qaratib termostatga qo'yiladi. Bunda temperatura mikroorganizmlarning o'sishi uchun qulay bo'lishi kerak. Anaeroblar hujayrasini hisoblash uchun ichida tekshiriladigan material bo'lgan likopchalar anaerostatga joylashtiriladi.

Koloniyalarni sanash. Mikroorganizmlarning turli guruhlari bir xil tezlikda o'smaydi. Ba'zilar tez, boshqalari sekin o'sadi. Shuning uchun bakteriyalar koloniyasi 2—3, zamburug'lar bilan achitqilar koloniyasi 5—7, aktinomitsetlarniki 7—15 kun keyin sanaladi. Koloniyalarni sanash uchun bir-biridan narida o'sgan va kamida 50—300 ta koloniya bo'lgan likopchalar tanlab olinadi. Likopchalarni qora fonga to'ng'rik qo'yib, 8—10 marta kattalashtirib ko'rsatadigan lupada koloniyalar sanaladi. Har gal koloniyani sanab bo'lib, likopchanning ustiga siyohda yoki qalam bilan belgi qo'yiladi. O'sib chiqqan koloniyalar nihoyatda ko'p

bo'lsa, Petri likopchasining tubi 4, 8 yoki 16 ta bir xil (teng) qismga bo'linib, har bir qismdagi koloniyalar sanaladi va natijasi umumlashtiriladi. Bir nechta qismdagi (lekin likopchadagi muhit maydonining kamida $1/3$ qismidagi) koloniyalarni sanab, o'rtacha arifmetik qiymatini topish va butun likopchadagi qismlarning umumiy soniga ko'paytirish mumkin.

6.3. Mikrob biomassasini aniqlash

Biomassani tortib ko'rish yo'li bilan aniqlash.

Ishlab chiqarish va tadqiqot laboratoriyalarida quruq yoki nam biomassa holdagi mikroorganizmlar sonini bilvosita aniqlash maqsadida bu usuldan foydalaniladi. Odatda, biomassa miqdori 11 muhitga nisbatan gramm yoki milligrammlarda ifodalanadi.

Sentrifugalash probirkalarini (byukslarni) va filtrlarni doimiy vazgacha quritish. Qopqog'i ochiq Petri likopchalariga joylangan filtrlar, sentrifugalash probirkalari va byukslarni quritish shkafiga qo'yib, 100—105°C temperaturada 1 soat saqlanadi. So'ngra ular suvsiz kalsiy xloridli yoki konsentrlangan sulfat kislotali eksikatorlarga qo'yiladi. Bunda filtrli likopchalar qopqog'i berk bo'ladi. Sentrifugalash probirkalari (byukslar, filtrlar) eksikatorlarda 30 minut davomida sovitilgandan keyin analitik tarozida 0,0001g aniqlikkacha tortiladi. Probirka (byuks) ning yoki filtrning massasi (vazni) doimiy bo'lguncha va qayta tortib ko'rishdagi farqi $\pm 0,0001$ g dan oshmaydigan vaznga kelguncha quritish shkalida bir necha marta quritib, eksikatorlarda sovitiladi.

Mikroorganizmlar hujayrasini sentrifugalash. Kultural suyuqlikdagi bakteriyalar va achitqilar hujayrasi sentrifugalash yo'li bilan ajratib olinadi. Buning uchun pipetkada yaxshilab aralashtirilgan to'plamdan aniq miqdorda olib, quritilgan sentrifugalash probirkalariga solinadi. Sentrifugalash vaqti (qancha davom etishi) va aylanish soni hujay-

ralarning yirik-maydaligiga bog'liq. Bakteriyalar minutiga 5—7 ming oborotda (aylanishda) 15—20 minut, achitqilar 3,5—4,0 ming oborotda 5—10 minut sentrifugalanadi. Cho'kma yuzasidagi suyuqlikni ehtiyotlik bilan quyib olib, cho'kma fiziologik eritma yoki kuchsiz kislotali distillangan suv (1 l suvga 1 ml konsentrlangan HCl hisobidan) bilan yuviladi va yuqorida aytilgan oborotda yana sentrifugalanadi. Yuviq bo'lingandan keyin suvni to'kib, cho'kma probirkada qoldiriladi (agar u shishadan yasalgan bo'lsa). Agar probirkalar polietilendan yasalgan bo'lsa, cho'kma miqdoriy ravishda distillangan suv bilan oldindan quritilgan shisha byukslarga quyib olinadi.

Mitseliyli zamburug'lar va aktinomitsetlarning, shuningdek, achitqilar va bakteriyalarning hujayralarini kultural suyuqlikdan ajratib olishda kulsizlantirilgan qog'oz filtrlardan va membrana filtrlardan foydalanish mumkin. Buning uchun shisha voronkaga yoki Byuxner voronkasiga ikki qavat qog'oz filtr qo'yib, aniq miqdorda olingan to'plam filtrlanadi. Jarayonni tezlashtirish maqsadida vakuum ostida filtrlash mumkin. Filtrda qolgan cho'kma bir oz kislotalangan distillangan suv bilan yuviladi. Bakteriyalar hujayrasini ajratib olishda membrana filtrlardan foydalaniladi; filtrlarni shunday tanlash kerakki, ularning teshiklari bakteriya hujayrasidan mayda bo'lishi kerak.

Hujayralar massasini aniqlash. Ichida mikroorganizmlar hujayrasining cho'kmasi bo'lgan sentrifugalash probirkalari (byukslar) yoki filtrlar quritish shkafiga qo'yib, 30°C da, so'ngra 100—105°C da 2 soat quritiladi. 4 soatdan keyin birinchi marta, so'ngra har 1 soatda tortib ko'riladi. Har gal tortishdan oldin probirkalar, byukslar va filtrlar eksikatorida sovutiladi. Qurish jarayonini tezlashtirish maqsadida majburiy ventilyatsiyali vakuum-quritish shkaflaridan, infraqizil nurli lampalardan foydalaniladi. Filtrlardagi biomassani K.N. Chijova asbobida tez quritish mumkin. U tekshirilayotgan namunani isitilgan qoramtir jismdan tarqala-

gotgan infraqizil nurlar bilan 5—7 minut davomida 160°C gacha isitib, suvsizlantirish prinsipiga asoslangan.

Quruq biomassa miqdori (g/l hisobida).

$$x = (A - B) \quad 1000/V,$$

bu yerda **A** va **B**-sentrifugalash probirkalari (byuks, filtrlar) ning cho'kmali va cho'kmasiz massasi (g); **V**-sentrifugalash yoki filtrlash uchun olingan kultural suyuqlikning hajmi (ml).

Biomassani tortish usuli bilan aniqlashda ikkita parallel namuna olinadi.

Biomassani nefelometrik usulda aniqlash. Nefelometriya loyqa eritma orqali o'tgan yorug'lik intensivligi o'lchamiga asoslangan. Mikroorganizmlar suspenziyasi tarqatadigan yorug'lik miqdori yo ularning massa birligiga yoki hujayralar soni bilan ifodalangan konsentratsiyasiga yo bo'lmasa, ularning o'rtacha o'lchamiga proporsionaldir. Bir tekis loyqalantiruvchi o'sayotgan to'plamlarga tarqatayotgan yorug'lik nuri bilan 1 ml kultural muhitdagi ($\pm 7\%$ aniqlikda) hujayralar sonini aniq bog'liqligi xosdir. Mikroorganizmlar parda, mitseliy, to'p-to'p yoki donador cho'kma hosil qilganda bu usulga rioya etilmaydi.

Yorug'likning tarqalishi miqdori fotoelektrokolorimetrlarda — nefelometrlarda (FEKN-57, FEKN-56 M va boshqalarda) o'lchanadi. Ularning ishlash prinsipi va yorug'likning tarqalishini o'lchash tartibi fizik-kimyoviy usullarga doir qo'llanmalarda va instruksiyalarda (priborlarga ilova etilgan) ta'riflangan bo'lib, eritmalarning optik zichligini o'lchashdan farq qilmaydi. GPBda yoki solod sharbatida suspenziya hosil qilgan bakteriya va achitqilar hujayrasini tekshirishda qizil filtrda o'lchash, ko'k-yashil suvo'tlarni yashil filtrda o'lchash eng qulaydir. Kultural muhitda hujayralar konsentratsiyasi yuqori (hujayralar nihoyatda ko'p) bo'lsa, yorug'lik tarqalishi kuchayadi, bu esa past natija olinishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun hujayralar nihoyatda ko'p bo'lgan bunday suspenziyani ozuqa muhiti yoki suv bilan suyultirish kerak. Bitta

to'plamning namunasini har xil suyuqliklar bilan suyultirish mumkin emas, chunki hujayralarning bo'rtib qolishi va qisilishi yorug'lik tarqalishi darajasiga ta'sir etadi.

Hujayralar soni (biomassa) yo bevosita nefelometring ko'rsatishi bo'yicha yoki yorug'lik tarqalishi miqdori bilan, yoki hajm birligidagi quruq biomassa orasidagi o'zaro bog'liqlik egri chizig'i yordamida ifodalanadi. O'lchov egri chizig'i quyidagicha tuziladi: har xil quyuqlikdagi bir nechta mikroorganizmlar suspenziyasi tayyorlanadi. Sanash kamerasi yordamida yoki quruq biomasasini tortish yo'li bilan 1 ml suspenziyadagi hujayralar soni aniqlanadi. Keyin fotoelektrokolorimetr yordamida yorug'lik tarqalishi o'lchanadi. Olingan kattaliklarning bog'liqligi grafik tarzda ifodalanadi. Bunda ordinatalar o'qiga fotoelektrokolorimetr ko'rsatkichi, absissalar o'qiga 1 ml muhitdagi hujayralar soni (yoki g/l hisobidagi quruq biomassa hajmi) yoziladi. Har qaysi o'lchov chizig'iga yorug'lik filtringning raqami (nomeri), kyuvetaning ish masofasi, grafik tuzilgan muddat va mikroorganizmning nomi yozib qo'yiladi.

O'lchov egri chizig'i bo'yicha hujayralar soni quyidagicha aniqlanadi. Analiz qilinayotgan namunaning yorug'lik tarqatishi o'lchanadi, ordinatalar o'qidan olingan songa mos nuqta topiladi. Ana shu nuqta orqali o'lchash egri chizig'i bilan kesishguncha absissalar o'qiga parallel chiziq o'tkaziladi. Perpendikularning absissalar o'qi bilan kesishish nuqtasi tekshirilayotgan namunadagi hujayralar soniga (biomassasiga) mos keladi.

6.4. Mikroorganizmlarni aerob va anaerob sharoitda o'stirish

Mikroorganizmlarni ozuqa muhitida o'stirish ~~kultivirlash~~ deb ataladi (lotincha *cultus*-o'stirish degani). Ularni yuza, chuqur ekib, davriy yoki to'xtovsiz usullarda, aerob yoki anaerob sharoitda o'stirish mumkin. O'stirish usuli qo'llanadigan laboratoriya modellari va usullariga tubdan ta'sir qiladi. O'stirishdagi oxirgi natija: biomassa to'planishi yoki ma'lum

metabolit (spirt, kislotalar, antibiotik, ferment, aminokislotalar va hokazolar) olinishi katta ahamiyatga ega.

Aerob mikroorganizmlarni o'stirish. Yuza to'plam usuli. Aeroblar quyuq yoki sochiluvchan muhitda, shuningdek, tubi keng shisha idishdagi yupqa suyuqlik qavatida: Petri likopchalarida, kolbalarda, matras, kyuvetalarda o'stiriladi. Mikroorganizmlar ekilgan idishlar termostatda yoki termokamerada doimiy temperaturada saqlanadi. Ular muhit yuzasida rivojlanib, bevosita havodan kislorod o'zlashtiradi. Suyuq muhitda qat'iy aeroblar juda qalin parda shaklida o'sadi. Fakultativ anaeroblar suspenziya, pag'a-pag'a, cho'kma hosil qilib suyuq muhit ichida va yupqa parda shaklida suyuq muhit yuzasida o'sadi. Qattiq muhitda ular ayrim-ayrim koloniyalar shaklida yoki yoppasiga chim hosil qilib o'sadi.

Sanoatda limon kislota olish uchun mikroorganizmlar suyuq muhit yuzasida, ferment preparatlari olish uchun sochiluvchan muhitda o'stiriladi.

Chuqurda o'stirish. Bu usul davriy va uzluksiz bo'lishi mumkin. Davriy jarayonda ozuqa muhitining hammasiga to'plam ekiladi va zarur miqdordagi biomassa yoki mahsulot to'planguncha optimal sharoitda ma'lum vaqt oralig'ida o'stiriladi. Suyuqlikning chuqur qatlamida aeroblar o'sishini ta'minlash uchun kislorod bo'lishi zarur. Mikroblar hujayrasi faqat erigan kisloroddan foydalanadi, uning eruvchanligi esa past (4—7mg/l). Suyuq to'plamlar aeratsiyasida sterillangan oddiy havodan yoki kislorod, azot va uglerod dioksid aralashmasidan foydalaniladi. Aeratsiya bilan ko'pincha mexanik aralashtirish usuli birga qo'llanadi.

Aerob to'plamlarni suspenziya holatidagi suyuq muhitni ozginadan probirkalarga yoki har xil hajmdagi kolbalarga quyib ekib, keyin termokameraga qo'yiladi. Muhitning kislorod bilan qanchalik to'yinganligini ma'lum xatolik bilan sulfit usulida aniqlash mumkin. Buning uchun sulfitning ozuqa muhitiga teng bo'lgan hajmdagi suvli eritmasini

kolbalarga quyib, tebratma uskunaga qo'yiladi va ma'lum vaqtdan keyin oksidlangan sulfit miqdori aniqlanadi.

To'xtovsiz chuqurda o'stirish ishlari laboratoriya fermentyorlarida olib boriladi. Bular hajmi 1 dan 10 litrgacha bo'lgan shisha apparatlardir. Ularga to'xtovsiz ravishda ozuqa muhiti berib turiladi, sterillangan havo yuboriladi, ularda temperatura, pH tartibga solinadi, ko'pik yo'qotiladi va hokazo. Apparatdan to'xtovsiz ravishda tayyor kultural suyuqlik oqib turadi. Bu jarayon xemostat yoki turbidostat tipda amalga oshadi. Bular to'plamni dinamik muvozanat holatida saqlash usullari bilan farq qiladi.

Xemostat rejimida to'plamning o'sishi limitlovchi (cheklovchi) omil konsentratsiyasi bilan tartibga solinadi. Muayyan omil sifatida uglerod, azot, fosfor, o'stiruvchi moddalar manbaidan, kislorod, pH dan va temperaturadan foydalanish mumkin. Limitlovchi omil ta'siridagi mumkin bo'lgan o'zgarishlarni aniqlash ishlab chiqarish sharoitida mikroorganizmlarni to'xtovsiz o'stirish jarayonini boshqarishda katta ahamiyatga ega. U materiallarni tejab sarflash, produtsentlarning genetik imkoniyatlaridan samarali foydalanish, eng ko'p mahsulot olish imkonini beradi. Turbidostat rejimida biomassaning konsentratsiyasi doimo saqlanadi. Shu maqsadda boyitilgan ozuqa muhitlaridan foydalanish mikroorganizmlarning deyarli eng yuqori tezlikda ko'payishiga imkon beradi. Biroq bunda hujayralar konsentratsiyasi uncha yuqori bo'lmaydi. Bundan tashqari, hujayralar zichligini fotometrik nazorat qilish uchun ozuqa muhiti tiniq (shaffof) bo'lishi kerak. Bu ishni faqat laboratoriya sharoitida bajarish mumkin.

Chuqurda o'stirish jarayoni gomogen yoki geterogen-to'xtovsiz bo'lishi mumkin. Gomogen-to'xtovsiz jarayonda jadal aralashtirayotgan fermentyorda barcha parametrlar (ozuqa moddalar konsentratsiyasi, hujayra titri va boshqalar) vaqt mobaynida doimiy bo'ladi. Geterogen-to'xtovsiz jarayonda esa o'zaro ketma-ket birikkan bir nechta fermentyordan foydalaniladi. Bunda ozuqa muhiti birinchi ferment-

yorga solinadi, tayyor kultural suyuqlik oxirgi fermentyordan oqib tushadi. Bu holda to'xtovsiz ravishda ozuqa muhiti kelib turadi, lekin hujayralar doimiy o'sish sharoiti bilan ta'minlanmaydi (nechta apparat bo'lsa, shuncha o'stirish sharoiti mavjud). To'plamni bunday sharoitda o'stirish jarayoni fiziologik jihatdan emas, balki texnologik jihatdan to'xtovsiz hisoblanadi. Bu usul spirt va achitqilar olishda keng qo'llaniladi.

Anaerob mikroorganizmlarni o'stirish usullari.

Anaeroblar oddiy yoki maxsus probirkalarda, naychalarda, Petri likopchalaridagi ozuqa muhitida kislorodsiz o'stiriladi. Muhitga ko'p miqdorda to'plam qo'shilsa va atrof-muhit atmosferasida birmuncha uglerod dioksid bo'lsa, anaeroblar aktiv o'sadi.

Fizik, kimyoviy, biologik va aralash (kombinirlangan) usullarda anaerob sharoit yaratish mumkin.

Fizik usullar. To'plamni bevosita ekishdan oldin probirkalarni qaynatish yoki isitish yo'li bilan (qaynayotgan suv hammomida 15—20 minut qaynatib, sovuq suv oqimida tezda sovitish yo'li bilan) quyuq yoki suyuq ozuqa muhitidagi kislorod yo'qotiladi. To'plamni ekib bo'lgandan keyin qalin ozuqa muhiti qatlami ustiga vazelin moyi bilan parafinning sterillangan aralashmasi quyiladi.

Anaeroblar Petri likopchasidagi yoki probirkalardagi ozuqali agarda o'stirilganda idishlar anaerostatlarga qo'yiladi. Anaerostatlar metall yoki shishadan yasalgan vakuum eksikatorlar bo'lib, ularda anaeroblar normal o'sadi.

Kimyoviy usullar. Anaeroblar o'stiriladigan muhit yoki idishdagi erkin kislorodning bog'lanishi uchun kimyoviy moddalardan foydalaniladi. Ularning ayrimlari muhitdan tashqarida bo'ladi, boshqalari esa qaytaruvchi sifatida bevosita muhitga qo'shiladi. Pirogallolning Na_2CO_3 li eritmasi, natriy gidrosulfat (ditiolit) ning ishqoriy eritmasi, metall, temir va boshqa reaktivlar kislorodni kimyoviy yutuvchilar (o'zlashtiruvchilar)dir. Kislorodni bog'lab oluvchi moddalarning

o'zlashtirish xossasi yuqori bo'lishi kerak. Masalan, 1ml 20% li pirogallol Na_2CO_3 ning 1ml to'yingan eritmasi bilan aralashgan holda 220 sm^3 havoni kisloroddan tozalaydi.

Biologik usullar. Ba'zi anaeroblarni kislorod mavjud sharoitda aeroblar bilan birga o'stirish mumkin. Buning uchun zich berk idishga aerob to'plam ekilgan 10—15 ta va anaerob to'plam ekilgan bitta probirka joylanadi. Aerob mikroorganizmlar kislorodni jadal o'zlashtirib, CO_2 ajratadi va shu bilan anaeroblarning o'sishi uchun sharoit yaratadi. Aeroblarning o'sayotgan hujayralari kislorodni batamom o'zlashtirib bo'lgandan keyingina anaeroblar o'sa boshlaydi.

6.5. Tashqi muhit omillarining mikroorganizmlar hayot faoliyatiga ta'siri

Ozuqa muhitning tarkibi. Mikroorganizmlar xilma-xil ozuqa muhitda o'stiriladi. Mikrob hujayralarining o'sishi va metabolizmi qat'iy o'ziga xos sharoitda kechadi va ozuqa muhiti komponentlarining tarkibi hamda nisbatiga ma'lum darajada talabchan bo'ladi. Muhitning optimal tarkibini ishlab chiqish ozuqa moddalar konsentratsiyasini tanlash, zarur pH ni aniqlash, har xil ingibitorlar va o'stiruvchi moddalar tanlash va hokazolardan iborat. Mikrobiologik jarayonlarga o'sish parametrlarini, temperaturani, aeratsiya (aeroblar uchun), oksidlanish-qaytarilish potensialini (anaeroblar uchun), ekiladigan materialning miqdorini, oxirgi mahsulotning konsentratsiyasini aniqlash ham katta ahamiyatga ega.

Aktiv kislotalilik (pH) ning ta'siri. pH ni (muhitdagi vodorod ionlari konsentratsiyasini) optimal saqlash mikrob hujayralarining normal o'sishi va ko'payishiga hamda ular ma'lum metabolitlar (spirt, kislotalar, fermentlar va hokazolar) to'plashiga yordam beradigan muhim faktor hisoblanadi. Mikroorganizmlar muhitning kislotaliligi yoki ishqoriyligi darajasiga turlicha munosabatda bo'ladi. Ko'pchilik bakteriyalar va aktinomitsetlar neytral yoki kuchsiz ishqoriy muhitni

yoqtiradi. Zamburug'lar bilan achitqilar, aksincha, kuchsiz kislotali sharoitda yaxshi rivojlanadi. Mikroblarning har bir turi faqat ma'lum bir pH chegarasida rivojlanadi. Aktiv kislotalilikning kichik o'zgarishi ham mikroblar hujayrasining hayot faoliyatiga ta'sir etadi. Vodород ionlari konsentratsiyasining keskin o'zgarishi moddalar almashinuvidagi qaytmas o'zgarishlarga olib keladi va natijada hujayralar nobud bo'ladi. Kislotaning kimyoviy tabiati ham ma'lum darajada ta'sir ko'rsatadi. Sirka, moy, chumoli kislotalariga o'xshagan uchuvchan kislotalar arzimagan miqdorda bo'lsa ham mikroorganizmlarni nobud qiladi. Mikroorganizmlarning hayot faoliyatiga asoslangan ishlab chiqarish sharoitida muhit pH ning o'zgarishi texnologik jarayonni boshqarish vositalaridan biri bo'lib hisoblanadi. Uni o'zgartirish yo'li bilan foydali mikroblar uchun sharoit yaratish va shu bilan bir vaqtda zararli turlarning rivojlanishini susaytirish mumkin.

Mikroorganizmlar o'sishi uchun ozuqa muhiti tayyorlashda pH ning darajasini kuzatib turish zarur.

Mikroorganizmlar hayot faoliyati jarayonida o'zi rivojlanayotgan muhitdagi kislota-ishqoriylik nisbatini o'zgartiradi. Bu hol hujayralar muhitning ma'lum komponentlarini assimilyatsiyalashi va ba'zi hayot faoliyati mahsulotlari hosil bo'lishi bilan bog'liq.

Temperaturaning ta'siri. O'sish temperaturasi mikroorganizmlarning hayot faoliyatiga ta'sir etuvchi muhim fizik omil bo'lib hisoblanadi. Temperaturaning ahamiyati shundaki, u hujayra fermentlarining aktivligiga ta'sir etadi. Temperaturaning ko'tarilishi fermentlar inaktivatsiyasiga va hujayradagi biokimyoviy jarayonlarning qaytmas darajada to'xtab qolishiga sabab bo'lishi mumkin. Temperaturaning pasayishi esa, aksincha, fermentlar ta'sirining sekinlashuviga olib keladi. Bunda mikroorganizmlar hayotchanligini saqlab qolishi va uzoq vaqt anabioz holatda bo'lishi mumkin.

Aeratsiya intensivligining aerob mikroorganizmlarning o'sishiga ta'siri. Turli mikroorganizmlarning

kislorodga talabi har xil bo'ladi. Buni Varburg apparatida unga kirayotgan va undan chiqayotgan havoli kislorod miqdoriga qarab, polyarografik va balanslash usullari bilan aniqlash mumkin.

Aeratsiyaning mikroorganizmlarning o'sishiga ko'rsatadigan ta'sirini quyidagicha aniqlash mumkin. Tekshiriladigan to'plam uchun zarur muhit tayyorlanadi, optimal pH aniqlanadi va tebratgich kolbalariga (750 ml li) quyiladi (otboyniksiz kolbalarga — 100, 200, 300 ml dan, otboynikli kolbalarga — 100 ml dan). Keyin sterillanadi. Har qaysi idishdagi namunadan kamida ikki karra olinadi. Tekshiriladigan to'plamlardan har qaysi kolbaga 10% dan qo'shiladi (muhit hajmiga nisbatan). Kolbalarni tebratma uskunaga qo'yib, muayyan temperaturada 3—5 kun o'stiriladi. Har kuni (ba'zi to'plamlarniki har 4—8—12 soatda) biomassasi aniqlanadi. Tajriba sharoitida aeratsiya intensivligi sulfit usulida aniqlanadi. Biomassasi nefelometrik usulda aniqlanadi. Buning uchun sterillangan pipetkada har qaysi kolbadan 5 ml dan to'plam olib, tuzlar erishi uchun 1—2 tomchi konsentrlangan xlorid kislotaga qo'shiladi. To'plam juda zich bo'lsa, suyultiriladi. FEK ko'rsatkichini 1 l da grammga aylantirish uchun oldindan tayyorlab qo'yilgan o'lchash egri chizig'idan foydalaniladi. Tajribalar natijasi jadval yoki grafik tarzida ifodalanadi. Ordinatalar o'qiga tajribaning to'rt varianti bo'yicha biomassa (g/l), abssissalar o'qiga vaqt (sutka yoki soat) yoziladi. Aeratsiya intensivligi har xil bo'lganligi bilan o'sish tezligi taqqoslanadi va tekshirilayotgan to'plam uchun qanday sharoit eng qulay bo'lishi haqida xulosa chiqariladi.

Oksidlanish-qaytarilish potentsiali (OQP) ning ta'siri. OQP mikroorganizmlarni, ayniqsa, anaeroblarni o'stirishda muhim parametr bo'lib hisoblanadi. OQP hujayralar morfologiyasiga, ularning ko'payishiga, fermentlar aktivligiga, almashinuv jarayonlari yo'nalishiga, metabolitlar sintezlanishiga ta'sir etadi.

7. OZIQ-OVQAT KORXONALARI HAVOSINI, SUVNI VA JIHOZLARNI (ASBOB-USKUNALARNI) MIKROBIOLOGIK NAZORAT QILISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Suvdan, asbob-uskuna apparatlaridan, truboprovodlardan, idish, jihozlardan, shuningdek, ishchilarning qo'li va kiyimidan namuna olish qoidalari bilan tanishish. Sedimentatsion usulda havodagi mikroorganizmlar miqdorini, mikroorganizmlarning umumiy miqdorini va suvdagi ichak tayoqchalari hamda har xil chiqindi suvdagi mikroorganizmlar sonini aniqlash.

7.1. Havoni va suvni analiz qilish

Ishlab chiqarish binolarining havosi xom ashyo, yarim tayyor mahsulotlar va tayyor oziq-ovqat mahsulotlari mikroblar bilan ifloslanadigan manba hisoblanadi. Bu esa ular sifatining pasayishiga, saqlash normativ muddatlari qisqarishiga sabab bo'lishi, shuningdek, odamda turli kasalliklar keltirib chiqarishi mumkin. Havodagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlashda turli usullardan foydalaniladi.

Sedimentatsion usul — mikroblarni Kox usulida cho'ktirish eng oddiy usul bo'lib, maxsus apparaturani talab qilmaydi. Bu usul usti ochiq Petri likopchasi yuzasiga mikroorganizmlar tushishiga asoslangan. Bu usuldan foydalanilganda ichida ozuqa muhiti bo'lgan likopchalarning usti 5 minut (ekspozitsiya vaqti), ba'zan esa havoning ifloslanish darajasiga ko'ra undan ham uzoqroq vaqt ochiq qoldiriladi. Shundan keyin likopchalar qopqog'ini yopib, termostatga qo'yiladi va 30—35°C issiqda 2-3 kun qoldiriladi. Likopchanning butun yuzasi bo'ylab koloniyalar sanab chiqiladi. Har bir tirik hujayradan koloniya hosil bo'ladi

deb hisoblanadi. Hisoblashda V L. Omelyanskiy taklif etgan formuladan foydalaniladi. Bunga ko'ra, 5 minut davomida likopchanning 100 sm² yuzasiga 10 l havoda qancha bo'lsa, shuncha mikroorganizm tushadi. 1 m³ havodagi mikroorganizmlar soni (x) quyidagi formulaga muvofiq topiladi:

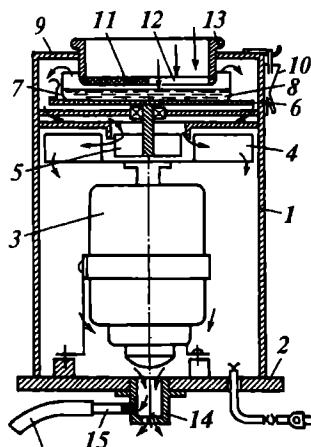
$$x = \frac{\alpha \cdot 100 \cdot 5 \cdot 100}{v \cdot t};$$

bu yerda: a — Petri likopchasida o'sgan koloniyalar soni (uchtadan o'rtachasi); v — Petri likopchasining yuzasi (maydoni, sm²); t — ekspozitsiya vaqti (min); 100 — likopcha yuzasini 100 sm² ga aylantirib hisoblash; 5 — Omelyanskiy bo'yicha likopchanning ekspozitsiyasi vaqti (min); 100—1m³ ga aylantirib hisoblash.

Aspiratsion usul Yu. A. Krotov konstruksiyasidagi teshikli apparatdan foydalanishga asoslangan. Apparatning sxemasi 51-rasmda ko'rsatilgan. Apparat ventilyatori 4000—5000 ob/min.da aylanadi, apparatning ponasimon tirqishi (teshigi) dan kirayotgan havoni tez so'rib olib, Petri likopchasidagi ozuqa muhiti yuzasiga uradi. Havo elektrodvigatelni aylanib o'tib, l/min ga rostlangan asbobdan rotometr orqali chiqadi. Mikroorganizmlar muhit yuzasiga bir tekis taqsim-

51-rasm. Yu. A. Krotov asbobining tuzilish sxemasi:

- 1—silindr; 2—silindr asosi;
- 3—elektromotor; 4—markazdan qochirma ventilyator;
- 5—krilchatka; 6—disk;
- 7—prujinalar; 8—Petri likobchasi;
- 9—asbobning qopqog'i;
- 10—pleksiglasdan qilingan disklar;
- 12—ponasimon tirqish;
- 13—qirqilgan halqa;
- 14—shtuzer diafragma bilan;
- 15—chiqarish trubkasi.



lanishi uchun Petri likopchasi qo'yilgan disk ham 60—100 ob/min da aylantiriladi. 1 minutda apparatdan 25—50 l havvo o'tadi. Mikroorganizmlar havoga umumiy tarqalganligini aniqlash uchun apparat 1—3 minut, sanitariya holatini va patogen mikroorganizmlar bor-yo'qligini aniqlash uchun 3—15 minut ishga tushiriladi. So'ngra apparatning qopqog'ini ochib, mikroorganizmlar ekilgan likopchalar olinadi va to'plamlar o'sishi uchun 37°C issiq termostatga 24 soatga qo'yiladi. Shundan keyin ular 48 soat xona temperaturasida qoldiriladi va o'sib chiqqan koloniyalar hisobga olinadi. Havoning so'rilish tezligi va davomiyligiga qarab, umumiy hajm hisoblanadi va 1m³ havodagi mikroorganizmlar miqdori hisoblanadi.

Ishlab chiqarish binolari havosining 1m³ da ko'pi bilan 500 ta mikroorganizm bo'lsa, bino havosi toza hisoblanadi.

Oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan suv ichimlik suviga bo'lgan GOST talablariga javob berishi kerak. Shahar suv tarmog'idan foydalanilganda har kvartalda bir marta, shaxsiy suv tarmog'i bo'lsa, har oyda bir marta: bakteriyalarning umumiy miqdori, ichak tayoqchalari guruhiga mansub bakteriyalar soni va patogen mikroorganizmlar (ich terlama, vabo, ichburug' kassaliklarini tarqatuvchilar) bor-yo'qligi aniqlanadi. Patogen mikroblarni aniqlash bo'yicha analiz ishlari sanitariya inspeksiyasi laboratoriyasida olib boriladi.

Namuna tanlab (ajratib) olish. Buning uchun idishlar (kolba, butilkalar — 0,25; 0,5 va 1 l ga mo'ljallangan) yaxshilab yuvilib, og'zi paxta-doka tiqin bilan berkitiladi, ustdan qog'oz qalpoqcha kiydirib, bo'yni bog'lanadi va avtoklavda 120°C da 30 minut sterillanadi. Xlorlangan suv namunasi uchun sterillashdan oldin butilkaga natriy tiosulfatning 1,5 % li eritmasidan 2 ml quyiladi. Quruq issiqda sterillangan idishga, namuna olishdan ilgari, aseptika qoidalariga amal qilgan holda 2 ml natriy tiosulfat quyiladi.

Kran yoki chiqarish quvurining cheti kavsharlash lampasi yoki spirt shimdirib yoqilgan paxta tampon bilan kuydiriladi. Kranni ochib, 10—15 minut davomida suv oqiziladi, shundan

keyingina namuna olinadi. Suv namunasi oldindan tayyorlab qo'yilgan idishga, paxta tiqinini ho'l qilib yubormay olinadi. Idishni alanga ustida tutib turib, og'zi tiqin bilan berkitiladi va bog'lab qo'yiladi. Ochiq suv havzalarida namunalar chuqurdan batometr yordamida olinadi. Buning uchun batometrni suvga tushirib (ma'lum chuqurlikka), arqonchasini tortib qopqog'i ochiladi. Idish suvga to'lgandan keyin arqonchasi bo'shashtiriladi va tiqin o'z-o'zidan bekiladi. Batometrni suvdan chiqarib olib, metall tiqini paxta tiqiniga almashtiriladi. Suv namunasi bo'lgan butilikalarga manbaning nomi va qayerda joylashganligi, namuna olingan kun va soat, meteorologik sharoit (havo temperaturasi, yog'in), tekshirishdan maqsad, namuna olgan yoki uni analizga yuborgan shaxsning lavozimi yozib qo'yiladi va imzo chekiladi.

Suvdan namuna olganda uni 2 soatdan kechiktirmay analiz qilish kerak. Namunani 5°C dan oshmaydigan temperaturada tashish va 6 soatdan kechiktirmay tekshirish kerak. Namunalarni qishda yaxlab qolishdan, yozda isib ketishdan asrash kerak.

Suvdagi mikroorganizmlar normasi. Suvning sifatiga sanitariya-gigiyena jihatdan baho berishda 1000 ml suvdagi ichak tayoqchalari soni bilan (koli-indeks) yoki bitta ichak tayoqchasi bo'lgan va millilitrda ifodalangan (koli-titr) eng kichik hajm bilan ifodalanadigan ko'rsatkichlarga asoslaniladi.

$\text{Koli-titr} = 1000 / \text{Koli-indeks}$, $\text{Koli-indeks} = 1000 / \text{Koli-titr}$.

Amaldagi GOST ga muvofiq, tozalangan ichimlik suvi uchun ichak tayoqchasi titri 300 dan past bo'lmasligi, koli-indeks ko'pi bilan — 3; 1 ml suvdagi bakteriyalarning umumiy soni 100 dan oshmasligi kerak.

Boshqa suv manbalari uchun norma belgilanmagan, lekin:

a) artezian suvida 1 ml da ko'pi bilan 100 ta bakteriya bo'lishi va koli-titri kamida 500 ga teng kelishi (1 l da 2-3 ta ichak tayoqchasi bo'lishi) kerak;

b) quduq va buloq suvlarining 1 ml da ko'pi bilan 100 ta bakteriya va koli-titri 200—250 gacha (1 l da 4-5 ta ichak tayoqchasi) bo'lishi kerak;

d) ochiq suv havzalari (hovuz, daryo, suv omborlari, ko'llar) suvini faqat tozalangandan keyin oziq-ovqat sanoatida ishlatish mumkin.

Suvda patogen mikroorganizmlar bo'lmasligi kerak.

1 ml suvdagi mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash. Buning uchun sterillangan pipetkada tekshirilayotganda suvdan va to'plam aralashtirilgan (1:10) suvdan 1 ml dan olib, 2 tadan Petri likopchasiga ekiladi. Toza suvni (vodoprovod, artezian suvini) aralashtirmay ekiladi. Suvning ifloslangan namunalariidagi mikroblarni aniqlash uchun ularni suyultirish kerak (6.2. bo'lim, 49-rasm). Mikroblar konsentratsiyasini pasaytirish uchun suyultirishda likopchada kamida 30 ta va ko'pi bilan 300 ta koloniya hosil bo'lishi kerak.

Ma'lum aralashmadagi mikroorganizmlar hujayrasining miqdorini aniqlab, 1 l suvga nisbatan hisoblab chiqiladi. 1 ml suvda 0 dan 100 tagacha koloniya bo'lsa — suv toza, 100 dan 1000 tagacha koloniya bo'lsa — gumonli, 1000 tadan ko'p koloniya bo'lsa, bunday suv yaroqsiz hisoblanadi.

Ichak tayoqchalari guruhiga kiruvchi bakteriyalar miqdorini aniqlash. Mahsulotlar va suvdagi hamma patogen mikroorganizmlarni tez aniqlash qiyin. Shuning uchun ularning mikroblar bilan ifloslanganligi unda ichak tayoqchalari bor-yo'qligiga qarab aniqlanadi. Ichak tayoqchalari shartli patogen mikroorganizmlar deb hisoblanadi. Ular boshqa patogen mikroorganizmlarga qaraganda tashqi muhit ta'siriga ancha chidamlidir. Shu sababli mahsulotda ichak tayoqchalari bo'lmasa, boshqa patogen mikroblar ham yo'q deb hisoblanadi.

Ichak tayoqchalari odam va issiq qonli hayvonlar mikroflorasining tipik vakilidir. Ular tashqi muhitda saprofitlar kabi yashaydi. Odam chiqindisining 1 g da yuzlab, millionlab ichak tayoqchalarining hujayralari bo'ladi. Suv yoki mahsulotda bu bakteriyalarning topilishi ularning fekal ifloslanganligini ifodalaydi. Ichak tayoqchalari sanitar-ko'rsatkich (indikator) mikroorganizm vazifasini bajaradi.

Ichak tayoqchalari guruhiga *Enterobacteriaceae* oilasiga mansub uchta turkum: *Escherichia* turkumi (*E. coli*, *E. coli* var. *coliforme*, *E. coli* var. *aurescens*), *Citrobacter* turkumi (*C. freundii*, *C. freundii* var. *parafreundii*, *C. freundii* var. *intermedium*) va *Enterobacter* turkumi (*E. aerogenes*, *E. aerogenes* var. *aerogenoides*, *E. cloacae*, *E. alginyticus*) kiradi. Keyingi ikkita turkum birinchisidan farq qilib, cheklangan sanitar ahamiyatga ega va yangi, fekal ifloslanish ko'rsatkichi sifatida baholanmaydi.

Ichimlik suvining sifatiga amaldagi GOST bo'yicha baho berishda 35—37°C da 24 soat ichida glukozani bijg'itib, kislota va gaz hosil qiladigan ichak tayoqchalari hisobga olinadi. Bular grammanfiy kalta asporogen tayoqchalar bo'lib, fuksin-sulfatli agarda (Endo muhitida) o'sadi va metallsimon yaltiroq qizil, to'q qizil va o'rtasi qoramtir bo'lgan pushti, shuningdek, bo'yalmagan shaffof koloniyalar hosil qiladi. Bakteriyalarning o'lchami 0,5 x 1÷2 mkm ga teng, ko'pchiligi harakatchan, keng temperatura diapazonida (15—55°C gacha) o'sadi, optimumi 37°C ga yaqin, 60°C da nobud bo'ladi, aerob yoki fakultativ anaeroblardir. GPA da bir kunda kulrang-havorang tovlanuvchi shaffof koloniyalar hosil qiladi; koloniyalarning cheti yoyilgan yoki to'liqinsimon. Suyuq ozuqa muhitida o'stirilganda muhitni kuchli loyqalantiradi (xiralashtiradi) va och kulrang cho'kma hosil qiladi, parda hosil qilmaydi. Jelatinani suyultirmaydi, laktozani va boshqa shakarlarni bijg'itish xossasiga qarab o'zgaradi. Ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalarni differensiyalashda yuqorida aytilgan morfologik, kultural va biokimyoviy belgilardan tashqari, indol, atsetoin, vodorod sulfid, ureaza hosil bo'lishi kabi ko'rsatkichlari, metil qizil bilan reaksiyasi, sitratdan foydalanish ham hisobga olinadi.

Membrana filtrlar usuli. Ushbu usul oziq-ovqat korxonalarida laboratoriyalarida keng tarqalgan. Bu usul boshqa usullarga qaraganda bir qancha afzalliklarga ega. Chunki bu usul analiz muddatini 24 soatgacha kamaytiradi, kam

mehnat talab qiladi, suvdagi hatto juda kam miqdordagi mikroorganizmlarni ham aniqlash, koloniyalarni bevosita va aniq sanash, ularni toza holda ajratib olish imkonini beradi.

Membrana filtrlar diametri 35 mm va qalinligi 0,1 mm bo'lgan teshik-teshik selluloza plyonkadir. Teshiklarining diametri quyidagicha bo'lishi bilan xarakterlanadi (mkm): № 1-0,35; № 2-0,5; № 3-0,7; № 4-0,9 va № 5-1,2. Suvdagi ichak tayoqchasi guruhi bakteriyalarini hisobga olishda № 3 filtrdan foydalaniladi. Suvni muallaq dag'al zarrachalardan tozalaydigan dastlabki filtrlar teshigining diametri 3—5 mkm bo'ladi.

Filtrlash uchun Zeyts asbobidan foydalaniladi (5-rasm). U avtoklavda yoki spirt bilan namlangan tampon yordamida va kuydirib sterillanadi. Membrana filtrlarni fabrika o'ramidan ochib, kamchiligi — yorilgan, uzilgan, singan joylari yo'qligi tekshiriladi. Ularni ishlatishdan oldin distillangan suvli stakanga tushiriladi va 20—30 minut saqlanadi. Stakandagi distillangan suv 50—60°C gacha issiq bo'lishi lozim. Keyin suvni to'kib tashlab, yangisi quyiladi. Bunday hol 2—3 marta takrorlanadi. So'ngra filtrlar 1 minut qaynatiladi, suvini to'kib, yangisi quyiladi, havo va filtrni tayyorlashda ishlatilgan organik kislotalar batamom chiqib ketishi uchun 15—20 minut sekin qaynatiladi. Chunki qattiq qaynatilganda filtrning teshiklari buzilib ketadi. Tayyor bo'lgan filtrni sterillangan, chetlari tekis pinsetda olib, xira tomonini yuqoriga qaratib Zeyts asbobining metall to'ridagi asbest plastinkaga qo'yiladi. Filtrga ehtiyotlik bilan voronka o'rnatib, uni metall qisqich bilan yaxshilab mahkamlanadi yoki vint bilan burab qo'yiladi. Voronkaga tekshiriladigan suvni solib, asbob suv oqimli elektr nasosga yoki Kamovskiy nasosiga ulanadi.

Vodoprovod suvini (pivo, alkogolsiz ichimliklar, yuvish suvlarini) analiz qilish uchun undan 300—500 ml olinadi. Yarim tayyor mahsulotlar (kupaj, sharbat va hokazolar) oldin tayyor ichimlik holiga kelguncha sterillangan suv bilan suyultirilgandan keyin analiz qilinadi. Birinchi marta tekshiriladigan suvdan 1000, 500, 100, 10, 5 va 1 ml dan olish

kerak. Juda ifloslangan suvni filtrlashdan oldin sterillangan suv qo'shiladi. Agar 1 ml va undan kam suyuqlik filtrlanadigan bo'lsa, asbobning voronkasiga 10 ml sterillangan suv quyib, keyin tekshiriladigan namunadan qo'shiladi.

Filtrlash tugagandan keyin voronka olinadi va qizdirilgan pinsetda filtrni olib, xira tomonini yuqoriga qaratib, Petri likopchasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi; bunda agar bilan filtr orasida havo pufakchalari hosil bo'lmasligi kerak. Filtrning pastki (orqa) tomonidagi suv tomchilari oldin sterillangan filtr qog'ozga shimdirib olinadi. Oddiy diametrli likopchaga 4—5 ta filtr qo'yiladi. Likopcha tubida filtrning tagida ekish muddati, analiz nomeri va filtrlangan suvning hajmi ko'rsatilgan yozuv bo'ladi. Ekilgan bakteriyalar termostatda 37°C issiqda 18—24 soat o'stiriladi. Shundan keyin lupada qarab, ichak tayoqchasiga xos koloniyalar sanab chiqiladi. 2—3 ta koloniyadan mazok tayyorlab, Gram usulida bo'yaladi. Grammanfiy bakteriyalar ichiga 5 ml glukozapeptonli ozuqa muhiti (Eykman muhiti) quyilgan bijg'itish probirkalariga ekiladi. Probirkalar 43°C issiq termostatda 24 soat saqlanadi. Probirkalarda gaz va loyqa (quyqa) hosil bo'lishi tekshirilayotgan suvda ichak tayoqchasi guruhining bakteriyalari mavjudligidan dalolat beradi. Eykman muhitini bijg'itib, gaz hosil qiladigan grammanfiy bakteriyalar koloniyasining umumiy soni hisobga olinadi. Masalan, filtrda 5 ta tipik koloniya o'sgan, filtrlangan suv miqdori 500 ml. Binobarin 100 ml suvda bitta ichak tayoqchasi bo'lgan, ya'ni koli-titri 100 ga, koli-indeksi 10 ga teng.

Bijg'ituvchi namuna usuli. Tekshiriladigan suv ichida Eykman yoki Bulir muhiti bo'lgan bijg'ituvchi idishlarga (butilka, kolba, naychali probirkalarga) quyiladi. Vodoprovod yoki artezian suvini tekshirishda uning 300 ml (100 ml dan 2 hajmga, 10 ml dan 10 hajmga) ekiladi. 100 ml suv konsentrlangan 10 ml ozuqa muhit bo'lgan kolba yoki butikalarga, 10 ml suv 1 ml o'sha muhit bo'lgan probirkalarga quyiladi, ya'ni muhit bilan suvning nisbati 1:10 bo'ladi.

Markazlashtirilmagan suv ta'minoti manbalari (quduq, buloq) suvini tekshirishda 200—300 ml suv olib, koli-titrni aniqlash uchun 100, 10, 1 va 0,1 ml hajmlisi ekiladi. Daryo, hovuz, ko'llar suvidan 100 ml olib, 10 marta suyultiriladi (1:10 dan 1 : 10⁵ gacha) va suyultirmasdan 10 va 1 ml ning hamda suyultirilgan suvlardan 1 ml dan olib, koli-titrni aniqlash uchun Kessler muhitiga ekiladi. Oqova suvlar koli-titrni aniqlash uchun suyultirilmagan suvdan ham 1 ml, suyultirilganlaridan ham 1 ml dan olib (1:10 dan 1:10⁶ gacha) Kessler muhitiga ekiladi.

Sharbatlar va alkogolsiz meva ichimliklari koli-titrni aniqlashda 2 hajm 100 ml dan va 10 hajm 10 ml dan olinadi. Ichimliklar Bulir, Kessler muhitiga qo'shilganda yaxshi natija olinadi. Pivodan Kessler muhitiga 10,1; 0,1 va 0,01 ml qo'shiladi: 10 ml pivoga 50 ml muhit, 1 ml pivoga — 10 ml va 0,1 hamda 0,01 ml pivoga 5 ml dan muhit qo'shiladi.

Pivo va muhit solingan idishlar 43°C issiq termostatda 18—24 soat saqlanadi. Shundan keyin kolba va probirkalarni ko'rib chiqib, gaz hosil bo'lishi va loyqalanishi qayd etiladi. Agar vodoprovod suvi tekshirilganda mikroorganizmlar o'smagan bo'lsa, analiz tugallanadi va koli-titri 300 dan yuqori deb hisoblanadi. Ifloslangan (daryo, oqova) suvning analizida mikroorganizmlar topilmasa, yana bir kun saqlanadi. Agar mikroorganizmlar o'sgan bo'lsa, bijg'ituvchi titri aniqlanadi, bu gaz hosil bo'lishi qayd etilgan eng kam suyultirmadir.

Endo ozuqa muhitiga ekish usuli. Muhit loyqalangan, gaz hosil bo'lgan kolba va probirkalardan tomchi suyuqlik olib, Endo muhitga shtrix usulda shunday ekish kerakki, koloniyalar bir-biridan ajralgan holda o'sib chiqsin. Likopchani tubini bir necha qismga bo'lib, har bir probirka yoki kolbadan tomchi suyuqlik olib, alohida-alohida qismga ekiladi. Keyin likopchalarni 37°C issiq termostatga qo'yib, 24 soat saqlanadi. Ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar koloniyasining yo'qligi qat'iy oxirgi natija hisoblanadi. Agar likopchada ti pik rangli va rangsiz koloniyalar bo'lsa, mazok

tayyorlanadi, Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda tekshiriladi. Mazoklarda kalta grammanfiy asporogen tayoqchalar bo'lishi ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar borligini bildiradi.

Ikkilamchi bijg'ituvchi namuna. Mazogida grammanfiy bakteriyalar topilgan koloniyalar naychali va ichiga Eykmanning glukoza-pentonli ozuqa muhiti yoki glukoza aralash yarim suyuq agar solingan probirkalarga qayta ekilib, 43°C issiq termostatda 24 soat saqlanadi. Gaz hosil bo'lmastligi salbiy natija beradi, gaz hosil bo'lishi ichak tayoqchasi bakteriyalari borligini ifodalovchi oxirgi ijobiy natija bo'ladi.

2—5-jadvallardan foydalanib analiz natijalari koli-indeks va koli-titr shaklida ifodalanadi.

2-jadval

Vodoprovod suvi

**(Ekiladigan hajmlar: 2 hajmda 100 ml dan,
10 hajmda 10 ml dan)**

100 ml ga	0		1		2	
10 ml dan musbat hajmlar soni	Koli-indeksi	Koli-titri	Koli-indeksi	Koli-titri	Koli-indeksi	Koli-titri
0	<3	>333	4	250	11	91
1	3	333	8	125	18	56
2	7	143	13	77	27	37
3	11	91	18	56	38	26
4	14	71	24	42	52	19
5	18	56	30	33	70	14
6	22	45	36	28	92	11
7	27	37	43	23	120	8
8	31	32	51	20	161	6
9	36	28	60	17	230	4
10	40	25	69	14	>230	<4

Quduq suvi
(Ekiladigan hajmlar: 100, 10,1 va 0,1 ml)

100	10	1	0,1	Koli- indeksi	Колл- titri	100	10	1	0,1	Koli- indeksi	Колл- titri
	-			<9	>111		+	+	+	28	36
			+	9	111	+			+	92	11
		+		9	111	+		+		94	10
	+			9,5	105	+		+	+	180	6
	-	+	+	18	56	+	+			230	4
	+		+	19	53	+	+	-	+	960	1
	+	+		22	46	+	+	+		2380	0,4
+	-			23	43	+	+	+	+	>2380	<0,4

Daryo suvi
(Ekiladigan hajmlar: 10,1, 0,1 va 0,01 ml)

10	1	0,1	0,01	Koli- indeksi	Koli- titri	10	1	0,1	0,01	Koli- indeksi	Koli- titri
				<90	>11,1		+	+	+	280	3,6
			+	90	11,1	+		-	+	920	1,1
	-	+		90	11,1	+		+		940	1,0
	+			95	10,5	+		+	+	1800	0,6
	-	+	+	180	5,6	+	+			2300	0,4
	+		+	190	5,3	+	+		+	9600	0,1
	+	+		220	4,6	+	+	+		23800	0,04
+	-			230	4,3	+	+	+	+	>23800	<0,04

Oqova suv
(Ekiladigan hajmlar: 1, 0,1, 0,01 va 0,001 ml)

1	0,1	0,01	0,001	Koli- indeksi	Koli- titri	1	0,1	0,01	0,001	Koli- indeksi	Koli- titri
-	-			<900	>1,11	-	+	+	+	2 800	0,36
-	-		+	900	1,11	+	-		+	9 200	0,11
-	-	+		900	1,11	+		+		9 400	0,10
-	+			950	1,05	+		+	+	18 000	0,06
	-	+	+	1800	0,56	+	+			23 000	0,04
	+		+	1900	0,53	+	+		+	96 000	0,01
-	+	+		2200	0,46	+	+	+		238 000	0,004
+				2300	0,43	+	+	+	+	238 000	0,004

7.2. Oziq-ovqat sanoati korxonalaridagi sanitariya-gigiyena nazorati

Apparatlar va asbob-uskuna (jihoz)lar yuvilgandan, dezinfeksiyalangandan, bug'latilgandan keyin ish boshlashdan oldin tezda nazorat qilinadi. Bunda 1 ml yuvindi suvdagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlash maqsadida ajratib olingan namuna ekiladi. Pivo pishirish, sut-qatiq, non pishirish, alkogolsiz ichimliklar, qandolat mahsulotlari tayyorlash, achitqi ishlab chiqarish korxonalaridagi idishlar yuvilgan suvda ichak tayoqchalari bor-yo'qligi aniqlanadi.

Buning uchun sterillangan paxta yoki doka tampon, sterillangan 10 ml suv (yoki fiziologik eritma) quyilgan probirkalar va sterillangan pinset tayyorlanadi. Tamponlarni yog'och o'qqa mahkamlab, har birini ichida 10 ml suv bo'lgan probirkalarga bittadan tushirib, 20—30 minut davomida 0,1 MPa da sterillash kerak. Katta hajmdagi uskunalaridan va apparatlardan namuna olishda o'rtasi o'yiqliq zanglamaydigan metall trafaretlardan foydalaniladi (o'yig'i 10, 25 yoki 100 sm² ga teng bo'ladi). Namuna olishdan ilgari trafaretni spirtida

ho'llab, qizdiriladi va tekshiriladigan yuzaga qo'yiladi. Cheklangan maydon ho'l tampon bilan yuviladi, shundan keyin tamponni shu probirkaga solinadi, qolgan suv yoki fiziologik eritmani ham quyib yaxshilab aralashtiriladi. Yuvilgan suvdan 1 ml olib, GPAGA ekiladi. 37°C issiqda 48 soat termostatda saqlangandan keyin mikroorganizmlarning umumiy soni aniqlanadi. Suvni maxsus muhitlarga ekib, shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalarni (leykonostokni) aniqlash ham mumkin. Qolgan suvni tamponi bilan birga naychali va 5 ml Kessler muhiti quyilgan probirkalarga ekib, 42—43°C issiqda termostatda 12 soat saqlanadi. Yaxshilab yuvilgan apparatlarda mikroorganizmlarning umumiy miqdori va ichak tayoqchasi titri ularning yuviladigan toza suvdagi miqdoridan oshmasligi kerak. Shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar soni 1 ml da 5 tadan oshmasligi kerak. Quvurlar, ularning tarmoqlari, shlanglar, ba'zi apparatlarning ichki yuzasidan trafaretlarda yuvilgan suv olish qiyin. Bunday hollarda preparatlarni mikroskopda ko'rish va yuvilgan oxirgi suvni ekish yo'li bilan maqsadga erishiladi. Sterillangan idishga tekshirilayotgan obyektidan chiqayotgan suvdan namuna olinadi. Shundan 10 ml olib, 1500—2000 ob/min da 10 minut sentrifugalanadi. Keyin sentrifugani to'kib, cho'kma mikroskopda ko'riladi. 10 ta ko'rish maydonida ko'pi bilan 5—6 ta hujayra bo'lishi kerak. Har bir ko'rish maydonida mikroorganizmlar bo'lishi asbob-uskunalar va apparatlar yetarlicha yuvilmaganligini bildiradi.

Mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun GPAGA ekiladi. Membrana filtrlar yoki bijg'ituvchi namunalalar yordamida koli-titri aniqlanadi. Idishlar yuvilgan suvdagi mikroorganizmlarning umumiy miqdori va koli-titri korxonada ishlatiladigan suvning ko'rsatkichlaridan farq qilmasligi kerak.

Idishlar va boshqa har xil buyumlarni nazorat qilish. Shisha idish. Har qaysi yuvish mashinasidan yu-

vilgan 5—10 ta butilka ajratib olinib, og'zi sterillangan paxta tiqin bilan berkitiladi. Laboratoriyada ularni 100 ml sterillangan suv (yoki fiziologik eritma) bilan chayiladi. Bunda chayilgan suyuqlik ketma-ket bir butilkadan ikkinchisiga quyilaveradi. Mikroorganizmlar, shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar miqdorini va koli-titrini aniqlash maqsadida oxirgi butilkadagi suvdan ekiladi. Bitta butilkaga aylantirib hisoblaganda, mikroorganizmlarning umumiy miqdori 300 tadan oshmasligi, 1 ml yuvilgan suvdagi mikroorganizmlar miqdori butilkalar yuviladigan toza suvdagidan ko'p bo'lmasligi; shilimshiq bakteriyalar bo'lmasligi; koli-titri kamida 100 bo'lishi kerak.

Bochkalar, bidonlar, sisternalar. Oxirgi yuvilgan suv namunasini sentrifugalangandan keyingi cho'kmani mikroskopda ko'rib yoki uni quyuq ozuqa muhitiga ekib, idishlarning yuvilish sifatini aniqlash mumkin. Bunda mikroorganizmlarning umumiy soni va koli-titri korxonada ishlatiladigan suvnikidan uncha farq qilmasligi kerak.

Shkantlar, tiqinlar, kronen-tiqinlar. Analiz uchun ishlash vaqtida unda tiqinlar, shkantlar bo'lgan 300—500 ml suv olinadi. Mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun u GPAGA yoki suslo-agarga ekiladi. Membrana filtr orqali o'tkazib, ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar bor-yo'qligi aniqlanadi. Mikroorganizmlarning va ichak tayoqchalarining umumiy miqdori korxonaga oqib keladigan — ishlatilishidan oldingi suvdagi bilan bir xil bo'lishi kerak. Kronen-tiqindan 10 donasini pinsetda olib, 100 ml sterillangan suv quyilgan sterillangan likopchaga qo'yiladi va 5 minut davomida silkitiladi. Keyingi suvdan olib mikroorganizmlarning umumiy miqdori va koli-titri aniqlanadi.

Sex jihozlari. Sex jihozlarining yuvilishiga baho berish uchun ulardan ishga tayyorlangan vaqtda namuna olinadi. Mayda jihozlarning (aralastirgich, namuna oladigan idish,

termometr, pichoq, shprits va hokazolar) butun yuzasidan sterillangan tamponda mazok olib, mikroorganizmlarning umumiy miqdori tekshiriladi. Shuningdek, ichak tayoqchalari bor-yo'qligini aniqlash uchun Kessler muhitiga ekiladi. Stol, tokcha, lotok, chelak, belkurak va hokazolardan ham sterillangan tamponda mazok olib (qizdirilgan trafaret yordamida), yuqoridagi kabi analiz qilinadi.

Ishlab chiqarish binolarining devori, polining tozaligi quyidagicha olingan namunalarni mikroskopda ko'rib nazorat qilinadi: iflos yuzadan ozgina qirqib olib, sterillangan suvli probirkaga solinadi va yaxshilab chayqatiladi. Keyin undan preparat tayyorlab, bo'yamasdan yoki metilen ko'ki bilan bo'yab mikroskopda qaraladi. Mikroorganizmlar miqdorini aniqlash uchun trafaretdan va ho'llangan paxta tampondan foydalaniladi; keyin Petri likopchasidagi qattiq muhitga ekiladi.

Qo'llarning tozaligi mahsulot yoki toza asbob-uskunalar bilan bevosita munosabatda bo'ladigan ishlarda ish jarayoni boshlanishi oldidan oldindan ogohlantirmay turib nazorat qilinadi.

Buning uchun yog'och o'qqa mahkamlangan sterillangan tamponni sterillangan suv (yoki fiziologik eritma) bilan ho'llab (namlab), ikkala qo'lning kafti, usti (orqa yuzasi), tirnoqlar orasi va barmoqlar orasi artiladi. Keyin tamponning o'zi namlangan probirkaga solib, yaxshilab chayqatiladi va 1 ml olib, 1:10 va 1:100 nisbatda suv qo'shiladi. Uning 1 ml dagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun suvdan GPAGA ekiladi va termostatda 37°C da 48 soat saqlanadi. Suvning qoldig'i tampon bilan birga olib 5 ml Kessler muhiti bo'lgan probirkalarga solinadi va 43°C da 24 soat o'stiriladi. Keyin bijg'ituvchi namunalar yordamida ichak tayoqchalari bor-yo'qligi aniqlanadi.

Qo'llarning tozaligiga 1 ml yuvilgan suvdagi mikroorganizmlar miqdoriga qarab baho beriladi. Bunda ichak tayoqchalari bo'lmasligi kerak.

Qo'l yuvilgan 1 ml suvdagi mikroorganizmlar soni	Tozaligiga berilgan baho
1000	A'lo
1000—5000	Yaxshi
5000—10000	Qoniqarli
10000 dan yuqori	Yomon

Xalat, kurtka, fartuklar, matodan tikilgan qo'lqoplarda ichak tayoqchalari bor-yo'qligini aniqlash uchun ular vaqt-vaqtida nazorat qilib turiladi. Buning uchun ular yuvilgan suvdan 1 ml olib, Kessler muhitiga ekiladi. Toza maxsus kiyimda ichak tayoqchalari bo'lmaydi.

8. SPIRT ISHLAB CHIQRILISHINI MIKROBIOLOGIK NAZORAT QILISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Xom ashyodan, shakar hosil qiluvchi materiallardan, yarim tayyor mahsulotlardan namuna tanlab (ajratib) olish qoidalari bilan tani-shish va ularning mikroflorasini o'rganish. Achitqilar bilan brajkalarni nazorat qilish usullarini o'rganish.

8.1. Xom ashyoni, shakar hosil qiluvchi materiallarni va yarim tayyor mahsulotlarni nazorat qilish

Spirt ishlab chiqarishda har xil xom ashyodan: tarkibida kraxmal bo'lgan kartoshka, dondan; kraxmali bo'lmagan lavlagi, shakarqamish, lavlagi bilan xom shakarning melassasi, oqjo'xori poyasi, sholi kepagi, meva va hokazolardan, shuningdek, tarkibida selluloza bo'lgan qog'oz sanoati chiqindilari, donli ekinlar poyasi makkajo'xori so'tasi, paxta chanog'i, yog'och payraxasi, sholi kepagi va hokazolardan foydalaniladi.

Spirt olish uchun butun dunyoda xom ashyo sifatida asosan kartoshka, don va lavlagi melassasi ishlatiladi. O'zbekistonda esa asosan dondan spirt ishlab chiqariladi.

Kartoshka. Spirt zavodlariga sifati har xil bo'lgan kartoshka keltiriladi. Ular toza, sovuq urgan (muzlagan), yara-chaqali, kasallangan va zararkunandalar shikastlagan bo'ladi. Shikastlanmagan toza kartoshka saqlanganda, sirtidagi mikroorganizmlarning ko'pchiligi noaktiv holatda bo'ladi va ko'paymaydi. Mexanik shikastlangan kartoshka tugunaklarida esa parazit va yarim parazit zamburug'lar mitseliysi uning ichiga o'sib kirib, hujayralar devorini buzadi. Natijada hosil bo'lgan hujayra shirasida har xil mikroorganizmlar rivojlanadi va kartoshka chirib ketadi.

Vegetatsiya jarayonida, shuningdek, kartoshkani saqlash davrida zararlantiradigan kasalliklar tufayli ham anchagina nobudgarchilikka yo'l qo'yiladi.

Fitoftoros, ya'ni qo'ng'ir chirish kasalligi (*Oomyetes* sinfiga mansub *Phytophthora infestans* qo'zg'atadi). Bunda kartoshka tugunaklari yuzasida qo'ng'ir rangli, bir oz yassi dog'lar paydo bo'ladi, kesib ko'rilganda zararlangan to'qimaning qismlari kartoshkaning ichiga qarab til shaklida yoki ponasimon notekis chuqurlashib borganligi bilinadi. Nobud bo'lgan to'qima ham qo'ng'ir va qattiq bo'ladi. Saqlanganda fitoftoroz bilan zararlangan *Fusarium* turkumiga mansub saprofit zamburug'lar rivojlanadi, natijada tugunaklar qurib, ichi po'k bo'lib qoladi. Bakteriyalar ko'payayotganda "ho'l chirish" bosqichida jarayon tugaydi.

Rakni *Chytridiomycetes* sinfiga mansub *Synchytrium endobioticum* zamburug'i qo'zg'atadi. Bunda kartoshka tugunaklarining ko'zchalariga yaqin joyda avval mayda, silliq va rangsiz do'mboqchalar hosil bo'ladi. Keyin ular o'sib, do'mboq o'simtarga aylanadi va ichi zamburug'ning tinim holatidagi sporalari bilan to'la bo'ladi. Tugunaklar kuchli zararlansa, butun yuzasiga do'mboqchalar chiqib ketadi va uning tovarlik ko'rinishi yo'qoladi. Vaqt o'tishi bilan bu do'mboqchalar buziladi va qo'lansa hidli shilimshiq massaga aylanadi.

Oddiy parshani *Streptomyces scabies*, *S. tricolor*, *S. cretaceus* qo'zg'atadi. Bu kasallik yengil qumli, qumloq

va ohakli yerlarda yetishtiriladigan kartoshkada uchraydi. Bunda kartoshka tugunaklari yuzasida yumaloq, yassi yoki bir oz bo'rtgan va yulduzga o'xshab yorilgan so'galcha yoki yaralar hosil bo'ladi. Zararlangan kartoshka tez so'lib qoladi. Yorilgan joylaridan ichiga parazit zamburug'lar va bakteriyalar kirib, uni chiritadi.

Kukunsimon parshani *Chytridiomycetes* sinfiga mansub *Spongospora subterranea* zamburug'i qo'zg'atadi. Bu kasallik og'ir soz, qumoq tuproqli va torfli yerlarda tarqalgan. Bu zamburug' yosh tugunaklarni zararlaydi, ular yuzasida diametri 3-4 mm bo'lgan oq so'galchalar paydo bo'ladi. Vaqt o'tishi bilan bu so'galchalar qurib, kartoshkaning po'sti yorilib ketadi va ichida kukunsimon qora massa borligi aniqlanadi. Bu massa zamburug'ning tinim holatidagi sporalaridir.

Kumushsimon parshani *Deuteromycetes* sinfiga mansub *Spondilocladium atrovirens* zamburug'i qo'zg'atadi. Ular bahorga yaqin rivojlanib, kumushsimon tovlanadigan dog' hosil qiladi. U shimoliy rayonlarda, torfli yerlarda yetishtiriladigan kartoshka uchun xos. Kartoshkaning zararlangan qismining to'qimasi birmuncha ezilgan holga kelib, aniq ifodalangan metallsimon yaltiroq bo'ladi.

Qora parshani *Deuteromycetes* sinfiga mansub *Rhizoctonia solani* zamburug'i qo'zg'atadi. Bu kasallik rizoktonioz deb ham ataladi. *Rhizoctonia solani* kartoshka tugunaklari yuzasiga zamburug' sklerotsiyalari shaklida yopishib, loy bo'lakchasiga (kesakchaga) o'xshaydi. Kartoshka saqlanayotganda zamburug'lar bu shaklda zarar yetkazmaydi. Kartoshka maysalari rivojlanayotganda bu zamburug' xavfli bo'ladi.

Fuzariozni *Deuteromycetes* sinfiga mansub *Fusarium solani* zamburug'i qo'zg'atadi. Bu quruq chirish deb ham ataladi. U kartoshkani saqlash davri o'rtalarida paydo bo'ladi. Zamburug' zararlagan to'qima qurib, kartoshkaning po'sti burmali bo'lib qoladi. Usti o'roq shaklidagi juda ko'p

konidiylardan tashkil topgan oqish-pushti g'ubor bilan qoplanadi. Saqlanaversa, tugunaklar qurib, burishadi va qattiq bo'lib qoladi. Kartoshka zararlanganda (zaxa bo'lsa, kesilib ketse), muzlasa, shilimshiq qurti va boshqa zararkunandalar bilan zararlanganda, ana shunday quruq chirishga uchraydi.

F o m o z n i *Deuteromyces* sinfiga mansub *Phoma tuberosa* zamburug'i qo'zg'atadi. Buni tugmachaka kasallanish deb ham ataladi. Bunday kasallangan kartoshkada yumshoq, ezilgan bir nechta dog' paydo bo'ladi; bu dog'lar xuddi barmoq bilan yoki tugmacha bilan bosilganga o'xshaydi. Kesib ko'rilganda dog' tagidagi to'qima jigarrang, chetlari qora ekanligi aniqlanadi.

Kartoshka saqlanishi davrida vaqt o'tgan sari zararlangan joylari burishib, yorilib ketadi.

Saqlash davrida kartoshkani *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Cladosporium* kabi turkumlarga mansub saprofit zamburug'lar zararlaydi. Ular kartoshkaning nobud bo'lgan to'qimalarida rivojlanib, keyin butunlay chiritadi.

Kartoshkaning halqasimon chirish kasalligini *Corynebacterium sepedonicum* zamburug'i qo'zg'atadi. Kartoshka kesib qaralganda och sariq, so'ngra sariq va qo'ng'ir rangli o'ziga xos yaxlit yoki uzuq-yuluq halqa shaklida ko'rinadi. To'qimalarning bakteriyalar bilan zararlanishi boshqa zararlanishdan shu bilan farq qiladiki, birinchi holda to'qimalardagi naychalar (tomirlar) yumshab, ularni bosganda shilimshiq oqish massa tomchisi chiqib turadi. Chuqur chirishda tugunakning po'chog'i tagida yog'simon sarg'ish yumaloq dog'lar paydo bo'ladi. Ular faqat kartoshkaning po'sti artilganda ko'rinadi.

Kartoshka tugunaklarining temirsimon dog'lanishi, ya'ni zang — faqat kartoshka kesilganda ko'rinadigan yuqumsiz kasallik. Kartoshka etida har xil kattalikda va turli shakldagi zang dog'lar ko'rinadi.

Namunatanlab olish. Transportda (avtomashina, vagon, barjada) gi kartoshkaning yoki zavod hududidagi

kartoshka uyumining turli joyidan — yuqori, oʻrta va pastki qatlamidan olib, oʻrtacha namuna hosil qilinadi. Har qaysi joydan olingan kartoshka 3 kg dan kam boʻlmasligi kerak. Olingan kartoshkani tekis taxta supaga yoki brezent ustiga yoyiladi, aralashtiriladi, tekislab, diagonali boʻyicha toʻrt qismga boʻlinadi. Analiz uchun oʻrtacha namunaning umumiy massasi kamida 10 kg keladigan miqdorda, sifati past kartoshkadan esa 15—20 kg olinadi.

Kartoshkaning tashqi koʻrinishiga baho berish. Spirt zavodlariga keltiriladigan kartoshka amaldagi GOST talablariga mos kelishi kerak. Namunadan tugunaklarning oʻlchami (eng katta diametri boʻyicha), mayda, koʻkargan, soʻligan, mexanik va zararkunandalar bilan zararlangan, aniq chirigan, oʻsiqlari bor tugunaklar soni aniqlanadi. Kartoshkaning kasalliklar bilan kasallanishi va chirishi tashqi belgilariga qarab aniqlanadi. Bunda hidiga, poʻstining buzilganligi, qorayganligi va toʻqimalari qisman buzilganligiga eʼtibor beriladi. Ichki chirishi va boshqa kasalliklarni aniqlash uchun qolgan namunadan tanlamasdan 15% olib, ular uzunasiga kesiladi. Agar kesilgan tugunaklardan temirsimon dogʻlar va boshqa kasalliklar topilmasa, boshqa tugunaklar kesilmaydi. Agar yuqorida aytilgan kasalliklar topilsa, tugunaklarning hammasi kesib koʻriladi.

Texnik sharoitga koʻra, parsha va rizoktonioz bilan kasallangan kartoshka zavodga qabul qilinadi. Fitofloroz bilan kasallangan va temirsimon dogʻli kartoshka har galdagi partiya miqdorining koʻpi bilan 2% ni tashkil etishi kerak.

Don. Gʻalla ekinlari donida juda koʻp mikroorganizmlar boʻlib, ular gʻalla oʻsimliklari oʻsishi va doni pishishida, hosilini oʻrib-yigʻib olishda va tashishda tuproqdan, havodan tushadi. Bular epifit mikrofloradir.

Don haddan tashqari nam boʻlsa, koʻpincha oʻzidan-oʻzi qizib ketadi. Bunda spirt ishlab chiqarish korxonasi uchun xavfli boʻlgan mikroorganizmlar — spora hosil qiluvchi anaerob va aerob bakteriyalar keskin koʻpayib ketadi.

Namuna tanlab (ajratib) olish. Don omboridagi yoki ishlov berish, qaynatish, solod tayyorlash uchun keltirilgan don partiyasidan o'rtacha namuna olinadi. Bo'lgich yordamida yoki qo'lda o'rtacha namunadan kvadratlar usulida naveska olinadi. 10 g dan tortib olingan ikkita parallel naveskani sterillangan likopchalarga (byuks yoki kolbachalarga) solib, og'zi tezda berkitiladi. Don omboridagi don ikki oyda bir marta analiz qilinadi. Agar sifatida o'zgarish sezilsa, tez-tez analiz qilinadi.

Solod — undirib yanchilgan arpa. Donni ivitish va undirib yanchish davrida don mikroflorasi aktivlashib ketadi. Soloddagi mikroorganizmlarning umumiy miqdori dondagi miqdoriga qaraganda 10—15 marta ko'payadi. Solodda mitseliyli zamburug'lar (*Penicillium glaucum*, *Aspergillus clavatus*, *Mucor racemosus*), achitqilar (*Saccharomyces exiguns*, *S. intermedius*, *S. ellipsoideus*, *Torulopsis va Candida*), spora hosil qiluvchi (*Bacillus subtilis*) va spora hosil qilmaydigan bakteriyalar — sartsina, sirka kislotasi hosil qiluvchi, sut achituvchilar (*Leucontoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri*) eng ko'p uchraydi.

Spirt ishlab chiqarish sanoatida soloddagi hamma mikroorganizmlar ham xavfli emas. Shakarga aylanish temperaturasining nisbatan uncha yuqori emasligi (60—62°C), muhit reaksiyasining kislotaliligi, anaerob sharoit va bijg'ishda hosil bo'ladigan etil spirt ba'zi mikroorganizmlarning rivojlanishini to'xtatadi, boshqalarini nobud qiladi. Kislotasi hosil qiluvchi turlar — sut achituvchi gomo- va geterofermentativ bakteriyalar sanoat uchun eng zararli hisoblanadi. Ular shakarlarni aktiv o'zlashtirib, almashinuv natijasida solod fermentlariga va achitqi hujayralariga salbiy ta'sir etuvchi har xil kislotalar ajratadi.

Namuna ajratib olish. Yangi undirilgan solodni ishlab chiqarishga uzatishdan oldin, qatoridan o'rtacha namuna olinadi. Qator (gryadka) ning to'rtta burchagidan,

o'rtasidan chuqurcha qilib olinadi; chetidan 15—20 sm qoldirib, har xil balandligidan, shu jumladan, yerga yaqin qismidan olinadi. Bu chuqurchalardan olingan solodni yaxshilab aralashtirib, o'rtacha namuna ajratib olinadi va sterillangan Petri likopchasida, byukslarda yoki og'zi keng kolbachalarda 10 g dan ikkitadan parallel naveska tortib olinadi va shu zahoti qopqog'i berkitiladi.

Solod suti. Solod sutida mikroorganizmlar ayniqsa tez ko'payadi. Solod sutida sut achituvchi tayoqchalar (*Lactobacterium plantarum*, *L. fermenti*, *L. brevis*, *L. buchneri*) va kokklar, sirka kislota, yog' kislota hosil qiluvchi bakteriyalar, mitseliy hosil qiluvchi zamburug'lar (*Aspergillus clavatus*, *Asp. niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor racemosus* va boshqalar) eng ko'p uchraydi. Xona temperaturasida solod sutiga infeksiya tez tushadi.

Namuna ajratib olish. Donni undirib, yanchilgandan va suv bilan aralashtirilgandan keyin, antiseptik qo'shmasdan oldin, katta idish (chan) dan, solod ishlatilgan chandan yoki shakarga aylantiruvchi idishga (osaxarivatelga) solod suti uzatilishini tartibga soluvchi dozatorlardan solod suti olib, sterillangan kolbalarga yoki spirt bilan yuvilgan stakanlarga quyiladi. Namuna maxsus namuna olgich asbobda (probnikda) idishning balandligi bo'yicha bir necha qatlamidan: yuqoridan (yuzasidan 0,5 m pastdan), o'rta va pastki qatlamlaridan (tubidan 0,5 m yuqoridan) olinadi. Ajratib olingan namunalarni aralashtirib, o'rtacha namuna olinadi va analiz uchun 10 g dan ikkita naveska tayyorlanadi.

Ferment preparatlari. Ferment preparatlarining yuzasidagi to'plamda produtsent zamburug'lardan tashqari, boshqa zamburug'lar sporasi, spora hosil qiluvchi bakteriyalar — *Bacillus subtilis*, sut achituvchi bakteriyalar — *Lactobacterium plantarum*, *L. leichmannii*, sut achituvchi gomo- va geterofermentativ kokklar ham uchraydi. Chuqurdan olingan sterillanmagan to'plam bilan birga sut achituvchi tayoqchalar va kokklarning, spora hosil qiluvchi va hosil qilmay-

digan bakteriyalarning chidamli formalari paydo bo'lib qolishi spirt ishlab chiqarishda o'rinsizdir.

Namuna tanlab olish. Zavodda zamburug'larning yuza to'plamini olish uchun ishlab chiqarishga uzatiladigan 5 ta kyuvetaning har birini chuquridan namuna olinadi. Bitta chuqurdan olingan namunaning vazni taxminan 40 g bo'ladi. Agar zavodga tayyor yuza to'plam keltirilsa, 10 kg li har bir partiyaning 5 ta joyidan, 40 kg li har bir katta partiyaning 5—7 joyidan — chuquridan sterillangan asbobda 40 g dan namuna olinadi. Ularni ishqalab mahkam yopiladigan, tiqinli sterillangan bankalarga solib, yaxshilab aralash-tiriladi. So'ngra xuddi dondagi kabi o'rtacha namuna olinadi va undan 10 g dan ikkita namuna tortib olinadi.

Zamburug'larning chuqur to'plamidan namuna olish usuli solod sutidan namuna olish bilan bir xil.

Sharbat (suslo). Ko'pincha infeksiya tushgan shakarga aylanadigan materiallardan foydalanilganda, shakarga aylantiruvchi apparatlar 2—3 soat to'xtab qolganda, apparatlar, nasoslar, kommunikatsiyalarning biror joyi buzilib qolganda, ular yaxshi yuvilmaganda va muntazam dezinfeksiyalab turilmaganda sharbatda zararli mikroorganizmlar rivojlanadi. Bu holda sharbatda sut achituvchi, yog' kislota hosil qiluvchi va chirituvchi bakteriyalar, achitqilar rivojlanadi. Noqulay bo'lgan joylarda mitseliyli zamburug'lar o'sishi mumkin. Bunda mikroorganizmlarning yuqori temperaturaga va antiseptik moddalar ta'siriga eng chidamli turlari tanlanadi. Infeksiya tushmagan sharbatning titrlash kislotaliligi 0,15—0,25 grad. bo'ladi.

Namuna ajratib olish. Sharbat namunasi bevosita shakarga aylantiruvchi apparatdan yoki issiqlik almashtirgich bilan biyg'itish apparati o'rtasidagi quvurga o'rnatilgan maxsus jo'mrakdan quyib olinadi. Shakarga aylantiruvchi idishning 3—4 joyidan botirib sharbat olib, aralash-tiriladi (o'rtacha namuna). Bu o'rtacha namunadan 10 g dan yana ikkita namuna olinadi.

Melassa. Qand lavlagi melassasida lavlagidan tushgan tuproq bakteriyalari va shakar ishlab chiqarishdagi har xil bosqichda rivojlanadigan zararli mikroorganizmlar borligi aniqlanadi. Konsentrlangan melassada (50% ga yaqin shakar, 70—80% quruq moddalar bo'ladi) mikroorganizmlar plazmolizlangan holatda bo'lib, ko'paymaydi. Normal melassa uzoq saqlanganda kuchsiz osmofil turlarning nobud bo'lishi natijasida undagi mikroorganizmlar soni kamayadi. Melassa suv bilan suyultirilganda mikroblar hujayrasining ko'payishi uchun qulay muhitga aylanadi va ularning soni o'n va hatto yuz ming marta ortib ketadi. Mikroorganizmlarning faol hayot faoliyati natijasida melassalarning kimyoviy tarkibi o'zgarib, ular kamchiligi bor mahsulot qatoriga qo'shiladi. Kamchiligi (nuqsoni) bor melassalar suyuqroq, tarkibida umumiy azot miqdori kam bo'lishi, invert shakar ko'pligi, reaksiyasi kislotaliligi, rangdorligi oshgani va mikroblar ko'payib ketganligi bilan ifodalanadi.

Melassadagi spora hosil qiluvchi bakteriyalar ko'pincha *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. circulans*, *B. mycoides* turlari, shuningdek, tipik anaerob batsillalar — *Clostridium butyricum* dir. *Pseudomonas* turkumiga mansub spora hosil qilmaydigan bakteriyalardan melassada *P putida*, *P stutzeri*, *P aureofaciens* uchraydi. Agar suyultirilgan melassa uzoq vaqtgacha qayta ishlash uchun yuborilmasa, yuqorida aytilgan turlar aktiv ravishda ko'payadi. Ularning zararli ta'siri hujayralarining modda almashinuv jarayonlarida shakar isrof bo'lishi va melassa tarkibidagi nitratlar (nitrat kislota tuzlari) ning nitritlar (nitrit kislota tuzlari) gacha qaytarilishi bilan bog'liq. Nitritlar nihoyatda zararli moddalardir. Ular konsentratsiyasi 0,005% bo'lganda, achitqi hujayralarining normal kurtaklanishi to'xtaydi, 0,004% da ularning ko'payishi sekinlashadi (40—50% ga), 0,02% da o'sishdan va ko'payishdan deyarli butunlay to'xtaydi va ular qisman nobud bo'ladi. Anaerob sharoitda nitritlar hosil bo'lishi faollashadi.

Ishlab chiqarishda kislota hosil qiluvchi bakteriyalar katta zarar yetkazadi. Ularda leykonostoklar (*Leuconostoc mesenteroides* va *L. dextranicum*) ko'p uchraydi. Melassa sharbatida, pH kamida 5,0 bo'lganda leykonostoklar osonlikcha dekstrandan tashkil topgan shilimshiq kapsula hosil qiladi. Kapsulalar leykonostok hujayralarining issiqlik va antiseptiklarga chidamliligini oshiradi. Kapsulasi bo'lmasa, ular 65°C gacha, kapsulasi bo'lsa, 90°C gacha va hatto qisqa vaqt qaynatishga ham chidaydi. Quritilgan holatda 110—114°C gacha chidaydi. Leykonostoklar achitqilar hujayrasiga yopishib, ularni g'uj qilib qo'yadi. G'ujlangan achitqilar esa bijg'ituvchi apparatlar tubiga tez cho'kadi (achitqilar agglyutinatsiyasi ro'y beradi). Bu hol achitqi hujayralarining oziqlanishi jarayonini buzadi va ularning kurtaklanishini to'sadi.

Suyultirilgan melassaning kislotaliligini faol oshirib yuboradigan sut achituvchi gomo- va geterofermentativ tayoqchalar — *Lactobacterium plantarum*, *L. helveticus*, *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. leishmannii*, *L. buchneri* spirt ishlab chiqarishda ma'lum darajada xavf tug'diradi.

Melassalarda doimo uchraydigan kokklar mikroflorasi (*Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina* turkumining vakillari) faqat melassa suyultirilganda ko'payadi va spirtli bijg'ishga alohida ta'sir ko'rsatmaydi. Suyultirilgan melassalarda achitqilar (*Saccharomyces*, *Torulopsis* va *Candida* turkumlari) invert shakar miqdorini oshiradi, shuningdek, saxarozani bijg'itib, spirt hosil qiladi. Achitqilar bilan birga ko'pincha sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar ham uchraydi. Melassada mitseliy hosil qiluvchi zamburug'lardan *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* turkumining ba'zi turlari uchraydi.

Namuna ajratib olish Namuna har bir temir yo'l sisternasidan tog'ora (korito) ga o'rnatilgan kichik jo'mrak orqali yoki namuna olgich asbobda yuqori, o'rta va pastki qatlamidan har 10 t melassadan 1 l hisobidan (massasi bo'yicha qabul qilishda) va 10 l hisobidan (hajmi bo'yicha

qabul qilishda) olinadi. Agar melassa bochkalarda bo'lsa, har qaysi bochkadan 200—300 g dan namuna olib, bitta idishga solinadi va yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiyasi kislotali bo'lgan melassaga akt tuzilib, nuqsonli deb hisoblanadi. Reaksiyasi kislotali bo'lgan, tarkibida quruq moddalar miqdori kam, invert shakar ko'p bo'lgan melassalar mikrobiologik jihatdan tekshiriladi. Bunday melassalar alohida yig'uvchi idishga quyib olinadi. Melassaga mikroorganizmlar tushgan-tushmaganligini va mikrofloraning xarakterini aniqlash uni qayta ishlash usulini to'g'ri tanlash imkonini beradi.

Namunalarni tekshirish uchun tayyorlash 10 g dan tortib olingan don, kartoshka, solod, solod suti, ferment preparatlari, sharbat (suslo) namunasi isrof qilmasdan sterillangan kolbachalarga alohida-alohida solinadi, 90 ml sterillangan suv bilan yuvib, og'zini paxta tiqin bilan berkitib, 10 minut yaxshilab aralashtiriladi (silkituvchi apparatga ham qo'yish mumkin). Don bilan solod namunasini oldin hovonchada maydalab, keyin kolbachalarga solish tavsiya etiladi.

Suyultirma tayyorlash, ekish, koloniyalarni o'stirish sharoiti va hisobga olish ishlari bilan 6-bobda tanishganmiz.

Melassani mikroskopda ko'rish va infeksiyalanish darajasini aniqlash Quyuq melassani mikroskopda ko'rib, mikroorganizmlarni aniqlash qiyin, chunki substratda quruq moddalar konsentratsiyasi yuqori bo'lganidan hujayralar plazmolizlanib qolib, muallaq zarrachalardan deyarli farq qilmaydi. Melassa 5—10 marta suv qo'shib suyultirilgandan bir necha soat o'tgandan keyingina mikroorganizmlar o'ziga xos ko'rinishga qaytib, ko'paya boshlaydi. Ana shunda ularni mikroskopning ko'rish maydonida aniqlash mumkin bo'ladi.

Melassadagi mikroorganizmlarni aniqlash uchun o'rtacha namunadan texnik tarozida 2 marta 10 g dan tortib olib, 90 ml sterillangan suv (1:10 nisbatda) bilan yaxshilab ara-

lashtiriladi. Kolbalar og'zini paxta tiqin bilan berkitib, mikroblar hujayrasi suvini shimishi va normal turgor holatga kelishi uchun 3—4 soat tinch qoldiriladi. So'ngra har biridan 2 tadan parallel suyultirma tayyorlanadi (10^2 , 10^3 va 10^4). 1 g melassadagi mikroblar miqdorini (sonini) aniqlash uchun achitqi avtolizati (0,5—1,0%) yoki tuzlar qo'shilgan agarli 12% quruq moddasi (QM) bor melassa sharbatidan foydalaniladi. Probirkada alohida ravishda sterillangan bo'r (10% li) tayyorlanadi. Sut achituvchi yoki spora hosil qiluvchi bakteriyalarni, leykonostoklarni aniqlash uchun 2-ildovada ko'rsatilgan agarli elektiv ozuqa muhitidan foydalaniladi.

8.2. Achitqilarni tekshirish

Spirit ishlab chiqarishda foydalaniladigan achitqilar non achitqilariga oid oila, turkum va turga kiradi, ular *Saccharomyces cerevisiae* deb nomlanadi. Ammo spirit olishda foydalaniladigan achitqilar irqi bilan non achitqilarining irqi orasida anchagina farq bor, hatto bir irqdagi achitqilar orasida ham farq bo'ladi. Masalan, spirit olishda don-kraxmalli xom ashyoga *Sacch. cerevisiae XII* irqi ishlatilsa, melassaga esa *Sacch. cerevisiae* Ya va V irqlari ishlatiladi.

Spirit ishlab chiqarishda foydalaniladigan achitqilar quyidagi talablarga javob berishi kerak: ularda aktiv bijg'ituvchi kompleks fermentlar bo'lishi; muhitning yuqori kislotaliligiga chidamli va begona mikroorganizmlardan tozalash uchun sulfat kislota bilan ishlov berishga bardoshli; muhitdagi quruq moddalarning yuqori konsentratsiyasiga chidamli — osmofil bo'lishi kerak.

Sut achituvchi bakteriyalar ozuqa muhitining (zatorning) kislotaliligini oshirib, uning (don-kartoshkali xom ashyoning) sifatini yaxshilash uchun ishlatiladi. Asosan *Lactobacterium delbrueckii* turiga mansub bakteriyalardan foydalaniladi.

Ishlab chiqarish achitqilari mikroflorasi. Ekiladigan achitqilar zavodlarda tabiiy toza to'plam usulida tayyorlanadi.

Buning uchun achitqilarga qulay sharoit va zararli begona mikroorganizmlar uchun nobud qiladigan noqulay sharoit yaratiladi. Achitqilar uchun sifatli xom ashyodan sharbat (suslo) tayyorlab, sulfat kislota qo'shiladi yoki oldin pH 3,8—4,2 gacha sut kislotali bijg'ish hosil qilinadi.

Texnologiya jarayonlariga to'g'ri amal qilinsa, achitqilar kamdan-kam holda infeksiya manbai bo'lib hisoblanadi. Ularning kislotaliligi doimiy bo'lib qoladi. Agar ishlab chiqarishda texnologiya rejimi talablariga amal qilinmasa, nuqsonli xom ashyodan foydalanilsa, asboblar, kommuni-katsiyalar yaxshi yuvilib, yaxshi dezinfeksiyalanmasa, achitqi bo'limi binolarining sanitariya holatiga yetarlicha e'tibor berilmasa, ekiladigan achitqilarga begona mikroorganizmlar tushib qolishi mumkin. Agar titrlanadigan kislotalilik 0,05 gradusdan oshib ketsa, u bakterial infeksiya rivojlanganini bildiradigan birinchi belgi hisoblanadi.

Ishlab chiqariladigan achitqilar bilan birga ko'pincha sut achituvchi: *Lactobacterium plantarum*, *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. buchneri*, *L. helveticus*, *L. leichmannii*, *L. delbrueckii* bakteriyalari uchraydi. Tarkibida 3—6% spirt bo'lgan muhitda sut achituvchi kokklar yaxshi rivojlanadi. Spirtning umumiy miqdori 10—12% bo'lganda tayoqchasimon sut achituvchi bakteriyalar o'z aktivligini yo'qotmaydi.

Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning ko'payishi ham kislotalilikning ortishiga yordam beradi. Achitqilarning sanoatda qabul qilingan kislotaliligi sharoitida, odatda, spora hosil qiluvchi bakteriyalar rivojlanmaydi. *Clostridium* turkumiga mansub yog' kislota hosil qiluvchi batsillalar bundan mustasnodir. Ular kraxmalni osonlikcha gidrolizlaydi, shakarni parchalab kislotalar hosil qiladi. Ular ajratadigan yog' kislota muhitda hatto juda oz miqdorda — 0,0005% bo'lganda ham achitqi hujayralarining ko'payishiga to'sqinlik qiladi, achitqilar kuchsizlanib, bijg'ish energiyasi pasayib ketadi.

Shuningdek, kislotalilikning ortishi ham ishlab chiqarish achitqilari begona achitqilar va mitseliyli zamburug'lar bilan

ifloslanishi natijasidir, chunki shakarlarning bir qismi organik kislotalarga aylanadi. Bunda achitqi suslosi yuzasida parda (plyonka) hosil bo'ladi, achitqilarning bijg'itish kuchi pasayadi.

Ishlab chiqarish achitqilarini mikroskopda tekshirish. Achitqilarni muntazam ravishda mikroskopda ko'rib turish ularning ko'payishini, morfologik va fiziologik holatini hamda begona mikroorganizmlar bilan ifloslanish darajasini kuzatishga imkon beradi. Buning uchun filtrlanmagan achitqilar namunasidan yorma zarrachalarsiz bir tomchi olib, unga bir tomchi suv qo'shib, "ezilgan tomchi" preparatida, achitqilar ko'payishi davrida kamida ikki marta mikroskopda ko'riladi.

Spirтли ishlab chiqarish achitqilari — *Saccharomyces cerevisiae* ning XII irqi o'lchami 5—6,2x 5—8 mkm bo'lgan yumaloq yoki tuxumsimon hujayralar bo'lib, yuqori qatlamda bijg'iydi, butun sharbat (suslo) bo'ylab yaxshi tarqaladi, changsimon. Aktiv ko'payish davrida 4—5 ta hujayradan tashkil topgan to'da hosil qiladi. Ekiladigan achitqilarda kurtaklanuvchi hujayralar soni 3% dan oshmasligi kerak. Ishlab chiqarish achitqilari sterillanmagan sharoitda tayyorlangani uchun ularda bir qancha bakteriyalar, 1—3 ta harakatsiz hujayralar bo'lishi mumkin. Kuchli darajada infeksiyalangan achitqilarda spora hosil qiluvchi harakatchan tayoqchalar bo'lishi mumkin. Yog' kislotasi hosil qiluvchi batsillalar preparatni yod bilan bo'yash orqali aniqlanadi. Uning hujayralari yod ta'sirida kulrang-ko'kish tusga kiradi.

Begona achitqilar hujayralarining shakli va o'lchami, cho'zinchoq yakka-yakka hujayralar yoki shoxcha, butacha hosil qilishi, yaxshi rivojlangan psevdomyceliysi (*Candida mycoderma*, *C. utilis* va boshqalar) bilan ishlab chiqarish achitqilaridan farq qiladi.

Achitqilar hujayrasidagi glikogeni aniqlash. Glikogen achitqilar sharbatning 2/3 qism shakarini bijg'itgan davrda hosil bo'ladigan zaxira ozuqa moddadir. Glikogeni aniqlash uchun buyum oynasiga filtrlanmagan

achitqidan bir tomchi tomizib, ustiga yodning 0,5% li eritmasidan 2—3 tomchi (yod eritmasi: 0,5 g J + 1 g KJ 100 ml suvga) qo'shiladi. Tomchilar aralashiriladi va ustiga qoplagich oyna yopib, suyuqlikning ortiqchasi filtr qog'ozga shimdirib olinadi. 2—3 minutdan keyin achitqi hujayralarining sitoplazmasi och sariq, glikogen donachalari qizil-qo'ng'ir rangga bo'yaladi. Agar glikogen hujayra hajmining 1/4 qismidan kam bo'lsa, u yetarlicha emas deb hisoblanadi.

Yosh achitqilar yod ta'sirida och sariq rangga kiradi. O'ta yetilgan va och hujayralarda glikogen bo'lmaydi yoki juda oz miqdorda vakuolalarda bo'ladi.

Achitqilarning nobud bo'lgan hujayralari miqdorini aniqlash. Buning uchun buyum oynasiga bir tomchi achitqi va bir tomchi metilen ko'ki (1:5000) eritmasi tomiziladi. Agar metilen ko'ki eritmasi kuchsiz bo'lsa, u ikki hissa olinadi. 2 minutdan keyin barcha achitqi hujayralari soni, so'ngra faqat ko'klari (nobud bo'lganlari) soni sanab chiqiladi. Buyum oynasini bir oz surib, yangi ko'rish maydoni kuzatiladi. Beshta ko'rish maydonidagi achitqilar hisobga olinadi.

Neytral qizilning suvli eritmasi (1:10000) nobud bo'lgan hujayralarni qizil rangga bo'yaydi, tirik hujayralarda faqat metaxromatin donalari va sitoplazmaning qo'shilmalari bo'yaladi. Bo'yab bo'lingandan 15 minutdan keyin mikroskopda qaraladi.

1 ml dagi achitqi hujayralarining miqdorini aniqlash. 1 ml achitqilar o'stirilgan ozuqa muhitida achitqilar hujayrasining miqdori sanash kamerasi yordamida aniqlanadi. Normal ishlab chiqarish achitqilarining 1 ml da 120—160 mln ta hujayra bo'ladi.

8.3. Toza to'plamdan ekilgan achitqilarni ko'paytirish

Spirt zavodlarida kraxmalli sharbatni bijg'itish uchun u yerga probirkalarda toza to'plam olib kelinadi. To'plamlar probirkalardagi qiya suslo-agarga ekilgan va probirkalar og'zi

paxta tiqin bilan berkitilgan bo'ladi. Toza to'plam bilan birga sterillangan susloli (sharbatli) va uchi kovsharlangan ampulalar ham keltiriladi. Ularning yaroqliligi yorlig'ida ko'rsatilgan ekish muddatidan boshlab, 2 oy hisoblanadi. Achitqilarning toza to'plami solingan probirkalar zavodda sovitkichda 4—6°C da saqlanadi va kamida 2 oyda bir marta qayta ekiladi.

Toza to'plamni ko'paytirish. Achitqilarning toza to'plami asta-sekin, bir necha bosqichda to'planadi. Bunda unga begona mikroorganizmlar aralashib qolmasligi uchun muayyan qoidalarga amal qilinadi. Achitqilar uchun optimal oziqlanish sharoiti, pH, temperatura va sterillik yaratiladi. Achitqilar ko'payishi jarayonida asta-sekin yuqori kislotalilikka ko'nikib boradi. Lekin kislotalilik haddan tashqari yuqori bo'lsa, achitqilar hujayrasini infeksiyalanishdan saqlashdan ko'ra, ularga zarar yetkazadi. Shuning uchun kislotalilikni 0,9 gradusdan oshirmaslik kerak. Kimyoviy jihatdan toza sulfat kislota (zichligi 1,84) oldin 10 marta suv qo'shib suyultiriladi.

Kolbalaridagi va probirkalaridagi ozuqa muhiti oldin tayyorlab qo'yiladi. Kolbalar hajmining 2/3 qismigacha muhit bilan to'ldiriladi, aks holda bijg'ish jarayonida paxta tiqinlar namlanib qoladi.

Achitqilarning toza to'plamini ko'paytirish sxemasi quyidagicha: probirka → kolba (0,5—1,0 l) → kolba (3,0—5,0 l) → butil (15—20 l) → ekiladigan achitqilar uchun apparat.

I bosqich. Suslo-agarga ekilgan toza to'plamli probirkaga gorelka alangasi ustida uning 1/2—2/3 qismigacha konsentratsiyasi 8—10% QM va tabiiy kislotaliligi 0,3—0,5 grad. bo'lgan sterillangan, filtrlangan suslo (sharbat) qo'shiladi. Buning uchun ampulalarda keltirilgan sharbatdan foydalaniladi yoki u zavod laboratoriyasida yangi undirilgan soloddan tayyorlanadi. Ampulani alangaga yaqin qiyalatib, uchi pinset bilan sekin urib sindiriladi. Agar singanda teshigi

kichik bo'lsa, qizdirilgan pinset bilan kengaytiriladi. Chetlari tezda kuydiriladi, probirkaning paxta tiqinini ochib, uning chetlari ham kuydiriladi va ampula bilan probirkani alangaga yaqin qiyalatib turib, probirkaga sharbat quyiladi. Keyin probirkani 30°C issiq termostatga qo'yib (issiq suv hammomiga qo'yish ham mumkin), jadal bijg'ish sodir bo'lguncha saqlanadi. So'ngra probirkani kaftlar orasida sekin-sekin aylantirib, harakatlanayotgan muhit oqimida agar yuzasidagi achitqilar yuviladi.

II bosqich. Probirkada bijg'igan sharbat yuqorida aytilgan sterillash qoidalariga amal qilgan holda ozuqa muhitli 0,5—1 litrli kolbaga quyiladi va 28—30°C issiq termostatda 18—24 soat saqlanadi. Ozuqa muhiti konsentratsiyasi 10—12 QM bo'lgan qalin mato orqali filtrlangan solod sharbatidan tayyorlanadi va avtoklavda 0,05 MPa da 30 minut sterillanadi.

III bosqich. Bu bosqichdan boshlab toza to'plam zavodda qayta ishlanadigan xom ashyodan tayyorlangan va konsentratsiyasi 12—15% QM bo'lgan sharbatda o'stiriladi. Bu sharbat teshiklarining diametri 2—3 mm bo'lgan metall to'r yoki elakdan filtrlanadi. Keyin 3—5 l li kolbalarga quyib, avtoklavda 0,1 MPa da 40 minut sterillanadi. Sharbatga sulfat kislota qo'shib, kislotaliligi 0,7 gradusga yoki sut kislota qo'shib, 1,6—1,7 gradusga yetkaziladi. Tayyor achitqilarni 0,5—1 l li kolbalardan alanga ustida tutib turib voronkada 3—5 l li kolbalarga quyiladi. Bu kolbalar 70% li spirt bilan yaxshilab yuvilgan bo'lishi lozim. Achitqilar ko'payishi uchun 28—30°C issiqda termostatga qo'yiladi.

IV bosqich. Laboratoriyada oxirgi marta ko'paytirishda ichida filtrlanmagan, yaxshilab qandga aylantirilgan suslo quyilgan (sterillangan yoki pasterlangan) 15—20 l hajmli butil olinadi. Susloning konsentratsiyasi 17—18% QM va sulfat kislota qo'shilgandagi kislotaliligi 0,8 grad. yoki sut kislota qo'shilgandagi kislotaliligi (pH 3,8—4) 2 grad. bo'ladi. Butillar o'rniga achitqilar ekiladigan apparatdan foydalanish mumkin. Bu apparatga oldin 5 dal suslo quyiladi.

Butillardagi susloga (sharbatga) III bosqichda tayyorlangan achitqi suyultirmasidan ekiladi. 18—24 soat 25—26°C da saqlangandan keyin achitqilar mikroskopda tekshiriladi va bunda ularning tozaligiga, fiziologik va morfologik holatiga e'tibor beriladi. Tayyor achitqilar ishlab chiqarishga uzatiladi. Tayyor achitqilar achitqilar ko'paytiriladigan apparatda butildan olinib, qandga aylantirilgan sterillangan (yoki pasterlangan), keyin sovutilgan (25°C gacha), konsentratsiyasi 18—19% QM va kislotaliligi 0,9 grad bo'lgan suslo (sharbat) ga qo'shiladi. 18—24 soat davomida sharbat 6—7% konsentratsiyagacha bijg'itiladi, shundan keyin achitqilar achitqi apparatiga yoki achitqi generatoriga yuboriladi. Oldin ekiladigan achitqilar mikroskopda tekshiriladi. Agar begona mikroorganizmlar uchrasa, achitqilarning probirkadagi toza to'plamni qaytadan ekiladi va ko'paytiriladi.

Achitqilarning faol variantlarini tanlash. Ishlab chiqarish achitqilaridan hujayralarning eng faol variantini tanlab olish mumkin. Buning uchun achitqilar suyultirmasdan Petri likopchasidagi suslo-agarga ekiladi. Keyin 5—10 ta eng yaxshi koloniyasi — yirik, yuqoriga ko'tarilganlarini tanlab, mikroskopda ko'riladi va eng kuchli bijg'ish energiyasini aniqlash uchun 100 ml sterillangan solod sharbati quyilgan kolbachalarga ekiladi. Ulardan eng yaxshilari mikroskopda ko'riladi va probirkadagi qiya suslo-agarga ekiladi. Achitqi ishlab chiqarish uchun toza to'plam sifatida tanlab olingan variantlardan foydalaniladi.

8.4. Brajkaning mikroflorasini o'rganish

Kraxmalli xom ashyoning bijg'ishida hosil bo'ladigan brajka. Sharbatning sust bijg'ishi, kislotaliligi 0,2 grad dan ham ortib ketishi, parda (plyonka) hosil bo'lishi brajka zararli mikroorganizmlar bilan ifloslanganligini bildiradi. Kislotaliligi ortib ketishiga sabab shuki, bijg'ishning dastlabki bosqichlarida sut achituvchi kokklar rivojlanadi.

So'ngra brajkada gomo- va geterofermentativ tayoqchalar — *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. buchneri*, *L. pastorianus* ko'payib ketadi. Achitqilar ishtirokida yuqoridagi turlar aktiv kislotalar hosil qiluvchilarga aylanadi va ma'lum miqdorda shakar o'zlashtiradi. Bakteriyalar ajratadigan uchuvchan kislotalar achitqi hujayralarining kurtaklanishiga to'sqinlik qiladi, solod va zamburug'lar to'plami fermentini inaktivatsiyalaydi, natijada bijg'imagan uglevodlar shaklida ko'p nobudgarchilik bo'ladi.

Bijg'ish jarayonining oxirida ko'pincha sirka kislotalar hosil qiluvchi bakteriyalar rivojlanadi. Brajka yuzasida dastlab alohida-alohida, keyin yoppasiga kulrang qalin parda hosil bo'ladi. Agar yetilgan brajka apparatda uzoq qolsa, sirka kislotalar hosil qiluvchi bakteriyalar anchagina zarar yetkazadi.

Spirtning sirka kislotagacha oksidlanishi natijasida nobudgarchilik 25—50% gacha yetishi mumkin.

Bijg'ituvchi apparatlar devorida, sexdagi nam joylarda mitseliyli zamburug'lar tez rivojlanib, brajkaga tushadi va uglevodlarni o'zlashtiradi, kislotalilikni oshiradi, spirt chiqishini kamaytiradi.

Brajkaning begona mikroorganizmlar bilan infeksiyalanishi bevosita mikroskopda ko'rish va titrlash yo'li bilan aniqlanadi. Har qaysi bijg'itish apparatidagi brajka sutkasiga kamida 3 marta mikroskopda tekshiriladi. Dastlabki bijg'ish soatlarida (12—22 s) begona mikroorganizmlar bo'lmasligi kerak. Asosiy bijg'ish davrida (34—38 s) ayrim begona hujayralar bo'lishiga yo'l qo'yiladi. Yetiltirib bijg'itishda bakteriyalar soni mikroskopning ko'rish maydonida 3—5 ta individdan ortmasligi kerak. Achitqili sharbatning titrlanadigan kislotaliligi 0,2—0,3 grad.ga yaqin, yetilgan brajkaniki — 0,3—0,5 grad. bo'lishi kerak.

Siklik va to'xtovsiz bijg'itish usulida ko'rish maydonidagi bakteriyalar soni 3—4 tadan oshmasligi kerak. Birinchi apparatlarda achitqilar hujayrasining soni 100—150 mln/ml, kurtaklanuvchilar — 10—12%, nobud bo'lganlar — 3—4%,

titrlanadigan kislotalilik 0,45 grad. (pH 4,4) bo'ladi. Keyingi apparatlarda achitqilar hujayrasining miqdori 160—170 mln/ml gacha ortadi, kurtaklanuvchilar kamayadi, nobud bo'lganlari ko'payadi.

Melassa bij'ishidagi brajka. Brajka har oyda mikroskopda ko'rib turiladi va 1 ml dagi achitqilar hujayrasining soni, ulardagi glikogen miqdori, kurtaklanuvchi va nobud bo'lgan hujayralar foizi, begona mikroorganizmlar bor-yo'qligi aniqlanadi. Achitqilar hujayrasi hisoblash kamerasi yordamida sanaladi.

Melassadan spirt ishlab chiqarishda achitqilar hujayrasidagi glikogen yod bilan qiyin bo'yaladi. O.M. Selishchenskaya usuli bo'yicha glikogenni quyidagicha bo'yash tavsiya etiladi: probirkaga tekshiriladigan achitqidan 1 ml o'lchab olib, glikogenni cho'ktirish uchun 0,1 ml 1n. sulfat kislotasi eritmasi qo'shiladi (kislotaning pH 3,7—3,9 ga teng). 10 minutdan keyin achitqilarga yodning 0,5% li eritmasidan teng miqdorda qo'shiladi. 2-3 minutdan keyin hujayralardagi glikogen bo'yalib, mikroskopning ko'rish maydonchasida yaxshi ko'rinadigan bo'ladi. Achitqilar yaxshi to'yinganda kamida 50% hujayrasida glikogen bo'ladi, o'rtachadan yuqori to'yinganda — 35—40%, o'rtacha to'yinganda — 20—25% va kuchsiz to'yinganda — 10—15% bo'ladi. Kurtaklanuvchi hujayralar achitqi generatorida 25—30% atrofiida bo'ladi. Ular hujayralarining shakliga ko'ra, zavodda foydalaniladigan irqiga mos tushishi kerak. Nobud bo'lgan hujayralar soni ko'pi bilan 3—5% bo'lishi kerak.

Bosh apparatdagi brajka har smenada bir marta mikroskopda tekshiriladi. Buning uchun buyum oynasidagi bir tomchi brajkaga 2 tomchi metilen ko'ki (1:5000) qo'shiladi va 400—600 marta kattalashtirilgan holda 10 tagacha ko'rish maydonchasi tekshiriladi. Bunda achitqilardan tashqari, 1—5 ta, asosan, sut achituvchi bakteriyalar ham uchraydi. Brajkada infeksiyalovchi mikroorganizmlar sonining sezilarli darajada ortishi nuqsonli melassa qayta ishlanganidan,

kislotalilik rejimi va ishlab chiqarish sanitariyasi buzilganidan, belgilangan texnologik rejimga rioya qilinmaganlikdan dalolat beradi.

9. DON, YORMA, UN VA NONNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Don, un va yorma mikroflorasining soni va sifatini aniqlash. Non pishirishda ishlatiladigan achitqilarni va sut achituvchi bakteriyalarni ko'paytirish, ularni saqlashni hamda xamir, nonning mikroflorasini o'rganish. Non kasalliklari va ularga qarshi kurash choralari bilish.

9.1. Don, yorma va un mikroflorasi

Don. Boshqoli o'simliklar o'tlar oilasining *Gramineae* turkumiga kiradi. Ularning doni parranda va hayvonlar uchun ozuqadir. Bug'doy, javdari bug'doy, sholi, makkajo'xori, arpa, tariq, suli eng muhim don turlari hisoblanadi.

Don mikroorganizmlari saprofitlarga, fitopatogen va odam hamda hayvonlar uchun patogen bo'lgan turlarga bo'linadi.

Saprofit guruhga tipik epifit mikroorganizmlar kiritiladi, ular o'simliklarga o'sishi va hosili pishishi davrida tushadi yoki hosilni yig'ishtirish va tashish davrida tuproqdan yoki havodan o'tadi. Yangi o'rib-yig'ib olingan sifatli donda (g'al-lada) *Pseudomonas* turkumiga mansub chirituvchi bakteriyalar son jihatidan ko'p bo'ladi. Bu turkumning asosiy vakili *P. herbicola* bug'doy, javdar va boshqa g'allalar donidagi barcha bakteriyalarning 70—95% ni tashkil etadi. Bu bakteriya donni buzmaydi (zararlamaydi), lekin juda ko'p aktiv holatda bo'lib, intensiv ravishda issiqlik ajratadi va o'zidan-o'zi qizib ketish jarayoni boshlanishiga sabab bo'ladi. Boshqa mikroorganizmlar rivojlanganda esa (mitseliyli zamburug'lar, kokklar, spora hosil qiluvchi bakteriyalar) *P. herbicola* nobud bo'ladi, bu esa donning sifati pasayganidan dalolat beradi.

Pseudomonas fluorescens epifit bakteriyalarning son jihatdan ikkinchi vakili hisoblanadi. Juda chang donni saqlashda spora hosil qiluvchi *Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *B. megaterium* va boshqa bakteriyalar soni anchagina ko'payadi. Zararlangan donda *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Proteus* turkumiga mansub bakteriyalar topiladi.

Achitqi mikroflorasi donning saqlanishiga va sifatiga katta ta'sir ko'rsatmaydi, lekin namlik yuqori bo'lganda donning o'zidan-o'zi qizib ketishiga va donda "ombor" hidi paydo bo'lishiga olib keladi.

Yangi o'rib-yig'ilgan g'allada doim mitseliyli zamburug'lar bo'ladi. Donning saqlanishi va sifatiga asosan *Aspergillus*, *Penicillium* *Alternaria* turkumiga mansub zamburug'lar ta'sir etadi.

Fitopatogen guruhga bakteriya va zamburug'larning parazit turlari kiradi. O'simliklar o'sishi va hosili pishishi davrida ular bakterioz va mikoz kasalligini qo'zg'atadi. Bug'doy, arpa, javdar, makkajo'xori, sholi bakteriozi keng tarqalgan bo'lib, uni *Pseudomonas* turkumining ayrim vakillari qo'zg'atadi. Kasallik dog' paydo bo'lishi, boshqoq tangachalarining, boshqoq o'qining va poyasi yuqori qismining qorayib qolishi bilan xarakterlanadi ("qora kasallik"). Kasallik kuchayib ketsa, don qorayib, burishib qoladi va 60—70% gacha vaznini yo'qotadi. Zamburug' kasalliklari, don mikroblari orasida toshkuya (sporinya) va qorakuya (golovnaya) eng ko'p tarqalgan. Toshkuyani *Ascomycetes* sinliga mansub *Claviceps purpurea* zamburug'i qo'zg'atadi.

Bu zamburug' asosan javdar, kamdan-kam bug'doy va arpani gullashi davrida zararlaydi. Boshqoqda tuguncha o'rnida to'q binafsha rangli yirik qattiq boshqoqchalar (sklerotsiyalar) hosil bo'ladi. Hosil o'rim-yig'imi davrida ular yerga to'kilib qolib, bahorda bo'rtib,unib chiqadi va ipsimon bandli boshcha shakldagi meva tana hosil qiladi. Boshcha ichida xaltachalar, har qaysi xaltachada 8 tadan ipsimon sporalar bo'ladi.

Sporalar tugunchaga tushib, o'sadi va mitseliy hosil qiladi. Mitseliysida bir oz shirinroq suyuqlik bilan o'ralgan konidiyali konidiyabandlar shakllanadi. Suyuqlik hasharotlarni o'ziga jalb qiladi, ular esa konidiyalarni sog'lom o'simliklarga yuqtiradi. Zararlangan tugunchada javdar pishishi davrida mitseliy zichlashadi va don o'rnida shoxchalar (rojki) shakllanadi. Ularda zaharli moddalar — alkaloidlar (ergotin, ergotinin, ergotoksin, ergotin kislota va ularning stereozomerlari) bo'ladi. Toshkuya alkaloidlari odamlar, hayvonlar va qushlar uchun zaharlidir. Tarkibida toshkuya shoxchalari bo'lgan undan pishirilgan non is'temol qilinsa, odam bo'shashadi, boshi aylanadi, tomiri tortishadi.

Qorakuya barcha asosiy g'alla ekinlarini zararlaydi. *Basidiomycetes* sinfiga mansub parazit zamburug'lar bu kasallikni qo'zg'atuvchilardir. Bu zamburug'lar qop-qora sporalardan ko'payadi. Zararlangan o'simlikda bunday sporalarning to'planishi natijasida u ko'mirga aylangan o'qqa o'xshaydi, uning "qorakuya" degan nomi shundan kelib chiqqan. Don yanchilganda qorakuya sporalari don massasining yuzasiga tushib qoladi. Bu sporalar tarkibida trimetilamin bo'lganidan dondan tuzlangan baliq hidi anqib turadi. Zararlangan donning uni qoramtir, hidi va ta'mi noxush bo'lib, undan pishirilgan non so'lak bezlarini qo'zg'atadi, ichakning funksiyasini buzadi.

Fuzarioz *Fusarium* turkumiga mansub zamburug'lar qo'zg'atadigan g'alla o'simliklari kasalligidir. *F. graminearum* bilan zararlangan donda glukozidlar bilan alkaloidlar tipidagi mikotoksinlar to'planadi. Fuzariozli don aralash tortilgan undan pishirilgan non "mast kasallik" deb ataladigan zaharlanishga sabab bo'ladi (kuchsizlik, oyoq-qo'llarda og'irlik seziladi, bosh qattiq og'riydi, ich ketadi, ba'zan ko'rish qobilivati ham buziladi). Bunday zaharlanishga hayvonlar ham zgir. *F. sporotrichioides* va *F. roseum* qishda qor ostida qishlovchi g'alla o'simliklari, ayniqsa grechixa bilan tariqda rivojlanib, juda zaharli modda — fuzariogen sintez-

laydi. Bu moddadan zaharlanganda (alimantar-toksik aleykiyada) odam holsizlanadi, tomog'i va tanglayi shishadi, yutinganda tomog'i, qizilo'ngachi va oshqozoni og'riydi. *Cladosporium* turkumiga mansub ba'zi zamburug'lar ajratadigan kladosporiy kislota ham shunga o'xshash ta'sir qiladi.

Ko'pgina zamburug'lar donda rivojlanib, odam va hayvonlar uchun xavfli bo'lgan toksin (zaharli modda) lar, xususan, aflatoksinlar (*Asp. flavas*), fumigatotoksinlar (*Asp. fumigatus*), oxratoksinlar (*Asp. ochracues*), viridikatoksinlar (*Asp. viridicatum*), staxibotriotoksinlar (*Stachybotrys alternans*, *St. atra*, *St. lobulata*) va boshqalar hosil qiladi.

Odam va hayvonlar uchun patogen bo'lgan mikroorganizmlar — zoonozlar tasodifiy mikrofloraga kiradi. Ular o'rim-yig'im davrida yoki o'simliklar o'sishi davrida donga qo'shiladi, kemiruvchilar va hayvonlar yordamida tarqaladi.

Dondagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash O'rtacha namunani olish usuli 8.1-bo'limda bayon etilgan. Endi shu o'rtacha namunadan 10 g tortib olib, 90 ml sterillangan suvga aralastiriladi va qo'lda yoki maxsus laboratoriya apparatida yaxshilab silkitib, undan yuvindi suv ajratib olinadi. Undan tayyorlangan $1:10^2$ suyultirma mitseliyli zamburug'larni aniqlashda ishlatiladi. $1:10^3$ va $1:10^4$ suyultirmadan bakteriyalar aniqlanadi. So'ngra Petri likopchasidagi elektiv muhitga chuqur (1 ml dan) yoki yuza usulda ekiladi. Har bir suyultirmadan kamida 2 ta parallel likopchaga ekiladi. Bakteriyalar ekilgan likopchalar $25-30^{\circ}\text{C}$ da, zamburug' ekilganlari $22-25^{\circ}\text{C}$ da termostatda saqlanadi. 48 soatdan keyin o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi. Agar koloniyalarni aniqlab ajratish zarur bo'lsa, likopchalar xona temperaturasida bir necha kun saqlanadi.

Dondagi fitopatogen zamburug'larni aniqlash. Agar don ko'rib chiqilganda yoki ifloslanganligi analiz qilinganda qoramtir-binafsha rangli mayda shoxchalar topilsa, qo'shimcha ravishda 400 g don tortib olib, undagi

toshkuyalar soni aniqlanadi va foizda ifodalanadi. Qorakuya zararlangan don yoki uning qismlari va to'zib ketgan sporalar shaklida bo'ladi.

Tashqi belgilariga qarab 50 g namunadan ajratib olingan fuzariozli donni tortib, olingan namunaga nisbatan foizda ifodalanadi.

Yorma. Yorma mikroflorasi birinchi navbatda ishlov berish uchun olingan dondagi mikroflora tarkibi bilan aniqlanadi. Yangi ishlab chiqarilgan turli yormalar mikroflorasining tarkibi dastlab ishlov berish uchun olingan donnikiga yaqin bo'ladi, ammo mikroorganizmlar soni yormada kamayadi.

Yorma mikroflorasi donga ishlov berishga bog'liq (donni oqlash, shillflash va hokazo). Bir xil turdagi yormaning mikroflorasi uni ishlab chiqarish texnologiyasining o'ziga xosligiga bog'liq ravishda turlicha bo'lishi mumkin. Masalan, gidrotermik ishlov berilgan (bug'langan) don yormasida bug'lanmagan don yormasidagiga nisbatan mikroblar kamroq bo'ladi. Donning mikroorganizmlaridan tashqari, yormada ham ikkilamchi mikroflora bo'ladi. U yorma ishlab chiqish jarayonida tashqi muhitdan tushadi.

1 g yormadagi bakteriyalar soni 10^4 — 10^5 ni tashkil qiladi, mog'orlar (sporalar) esa — 10^2 — 10^3 . Bug'lanmagan don yormasi bakterial florasining eng ko'p uchraydigan turi gerbikola dondagidek umumiy bakteriyalar sonining 70—90% ni tashkil qiladi. Gidrotermik ishlov berilgan don yormasida 35—50% spora hosil qiluvchi bakteriyalar va 10—20% mikrokokklar bo'ladi. Batsillalardan ko'pincha *Bacillus subtilis* va *Bac. pumilus* uchraydi. Yormaning mog'or zamburug'lari florasini *Penicillium* va *Aspergillus* turkumining turlari tashkil etadi. Kam miqdorda *Mucor* mog'orlari uchraydi. Yormalarda uchraydigan ba'zi mog'orlar zaharli moddalar ishlab chiqaradi. Shuning uchun yormalar uzoq vaqt saqlansa, ular mikroorganizmlar va yormadagi fermentlar ta'sirida buzilishi mumkin.

Mikroorganizmlarning rivojlanish imkoniyati va tezligi birinchi navbatda yormaning namligiga bog'liq. Mahsulotni saqlash davrida yormaning namligi havoning nisbiy namligiga qarab o'zgarib turadi. Saqlash temperaturasining ham ahamiyati katta. Yormaning namligi qancha yuqori bo'lsa, mikroorganizmlar uchun rivojlanish temperaturasining chegarasi shuncha kengroq bo'ladi. Yorma yarim yil davomida havoning nisbiy namligi 70—75% da 15-16°C da saqlanganda, dastlabki bakteriyalarning 25—40% qoladi, bir yil saqlanganda esa 10—15%, asosan spora hosil qiluvchilar qoladi. Yormadagi mog'or zamburug'lari (sporalari) soni o'sha sharoitda o'zgarmaydi.

Bug'lab ishlov berilgan don yormasida bug'lanmagan don yormasidagiga nisbatan mog'or zamburug'lari tez rivojlanadi.

Yormadagi mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash usuli donniki bilan bir xil.

Un. Undagi mikroorganizmlar soni ularning don vaznidagi dastlabki miqdoriga, donni tozalash usullariga, un chiqishiga va naviga bog'liq. Quruq (namligi 10% dan oshmaydigan) unda mikroorganizmlar noaktiv holatda bo'ladi. Un uzoq vaqt normal sharoitda saqlansa, asporogen turlarning nobud bo'lishi hisobiga mikroorganizmlarning umumiy soni doim kamayib borishi aniqlangan. Agar mahsulot namligi yo'l qo'yilishi mumkin bo'lganidan 1—2% gina ortiqcha bo'lsa, mikroorganizmlar aktivlashib, unning achishi, taxirlashuvi yoki mog'orlashi natijasida sifati pasayadi.

Undagi kislota hosil qiluvchi bakteriyalar va zamburug'lar shakarlarni bijg'itishi natijasida un achiydi. Yog' kislota hosil qiluvchi bakteriyalar va mitseliyli zamburug'lar fermenti ta'sirida kraxmal bijg'uvchi shakarlargacha gidrolizlanadi. Kislotalar unda o'ziga xos achchiq hid va ta'm paydo bo'lishiga olib keladi. Shu bilan bir vaqtda unning titrlanadigan kislotaliligi ortadi va non pishirish sifati yomonlashadi.

Taxirlanish — un tarkibidagi yog'larning havo kislorodi bilan biokimyoviy oksidlanish jarayoni, shuningdek, ayrim

bakteriya va zamburug'larning lipolitik fermentlari ta'sirida yog'larning gidrolitik parchalanishi natijasidir. Bunda unda yog' kislotalar to'planadi, rangi, hidi va ta'mi o'zgaradi, yangiligi belgisi yo'qoladi.

Un omborlarda havoning nisbiy namligi 80% dan yuqori bo'lgan sharoitlarda saqlansa, mog'orlaydi. Uning namlanishi zamburug'larning, ayniqsa, don yuzasida topilgan turlarining rivojlanishi uchun qulay bo'ladi. Mog'orlagan un taxir va ketmaydigan qo'lansa hidli bo'ladi. Natijada un kleykovinasining sifati yomonlashadi: rangi ancha qorayadi, tez uziladi va yaxshi yuvilmaydi. Uning namligi oshib ketsa, o'zidan o'zi qizib ketishi mumkin. Bunda faqat zamburug'lar emas, balki spora hosil qiluvchi issiqqa chidamli bakteriyalar ham aktiv rivojlana boshlaydi.

Undagi mikroorganizmlarning umumiy sonini (miqdorini) aniqlash. Zavodga keltirilgan har bir partiya un dastlab organoleptik tekshiriladi. Mog'or hidi yoki ta'mi taxir, achchigligi sezilsa, mikroorganizmlarning umumiy sonini yoki ularning ayrim guruhlarini aniqlash maqsadida un suyultirmasi don va yormani aniqlash usuli bo'yicha ekiladi.

Uning toshkuya bilan zararlanish darajasi kimyoviy usulda aniqlanadi: buning uchun 10 g unga 1 ml sulfat kislotali (1% li) 20 ml dietil efir qo'shiladi. Probirkani ehtiyotlik bilan chayqatib, keyin 6—12 soat tinch qoldiriladi. Ularni aralashtirib, qog'oz filtr orqali filtrlanadi. Filtratga 2 ml Na_2CO_3 qo'shib (konsentratsiyasi 1:14), tindirib qo'yiladi. Agar unda toshkuya bo'lsa, soda eritmasi binalfsha rangga kiradi; toshkuya 0,05% bo'lganda ana shunday jarayon boshlanadi.

Undagi spora hosil qiluvchi bakteriyalarni aniqlash. Spora hosil qiluvchi bakteriyalar (*Bacillus subtilis*) non pishirishdagi xavfli zararkunanda hisoblanadi. Ular nonni cho'ziluvchan qiladi, ya'ni kartoshka kasalligini keltirib chiqaradi. Non pishirishda (non eti —

ichining temperaturasi 95—97°C) bu bakteriyalarning vegetativ hujayralari nobud bo'ladi, lekin sporalari tirik qoladi.

Undagi sporalarni mikrobiologik usulda aniqlash. Buning uchun o'rtacha namunadan 10 g un olib, sterillangan 90 ml suv bilan yaxshilab aralashtiriladi (1:10), 90—95°C li suv hammomida 10 minut isitib, 1:10² nisbatda suyultirma tayyorlanadi.

Tayyorlangan suyultirmalardan 1 ml dan olib, ichiga go'sht-peptonli yoki 2% shakarli, pH 7,0—7,2 bo'lgan achitqili agar quyilgan likopchalarga chuqur usulda ekiladi. So'ngra 25—30°C li termostatga 2—3 kun qo'yiladi. Shundan so'ng spora hosil qiluvchi bakteriyalar koloniyasi sanab chiqiladi va bunda suyultirmalar hisobga olinadi.

Agar 1 g unda 200 tagacha bakteriyalar sporasi bo'lsa, bunday un normal, 200 dan 1000 tagacha bo'lsa — gumonli, 1000 tadan ko'p bo'lsa — kuchli infeksiyalangan, ishlab chiqarish uchun xavfli va tegishli ehtiyot choralarini ko'rmasdan turib, ishlatishga yaroqsiz hisoblanadi.

Oynada o'stirish usuli. Analiz qilinadigan don, yorma yoki unning ustiga 2—3 kun sterillangan toza buyum oynasi qo'yib qo'yiladi. Shu kunlar ichida oynaga muhit zarrachalari va unda o'sayotgan mikroorganizmlar yopishadi. Ana shunday yo'l bilan oynada mahsulotning izi qoladi. 2—3 kundan keyin oynani nihoyatda ehtiyotlik bilan olib, fiksirlanadi, substratning yirik zarralari yuviladi, 1% li karbolli eritrozini bilan bo'yaladi, so'ngra bo'yoqni yuvib tashlab, quritiladi va mikroskopda qaraladi. Bunda 40 ta ko'rish maydonchasidagi har xil guruh mikroorganizmlari soni 40x yoki 90x obyektivda, 10x yoki 15x okularda ko'rib hisoblab chiqiladi. Tayoqchasimon bakteriyalar, kokklar, achitqilar va mog'orlar foizi qayd etiladi. Agar tekshirilayotgan mahsulotda mikrobiologik jarayonlar boshlangan bo'lsa, mikroorganizmlar soni anchagina ko'payganligi kuzatiladi.

Shunday qilib, mikroorganizmlar aktiv faoliyatining boshlanishini "oynada o'stirish" usuli bilan aniqlash mumkin.

Sinab ko'rish uchun pishirilgan nonni analiz qilish usuli. Cho'ziluvchan (kartoshka) kasallikni ogohlantirish ko'rsatmasiga muvofiq, bug'doy uni 1 maydan 1 oktabrgacha bo'lgan davrda (janubiy rayonlarda 1 apreldan to 1 oktabr ichida) spora hosil qiluvchi bakteriyalar bilan qanchalik zararlangani tekshiriladi. Buning uchun laboratoriyada sinab ko'rish uchun pishirilgan shaklli nondan bittasini olib, nam qog'ozga o'rab qo'yiladi va termostatda 37°C da saqlanadi. 24 soatdan keyin nonni o'tkir pichoq bilan kesib, kasallik belgilari (o'ziga xos hidi, etining yopishqoqligi) bor-yo'qligi organoleptik tekshiriladi. Analiz natijasi quyidagicha yoziladi: "non 24 soatdan keyin cho'ziluvchan kasalligi bilan kasallandi" yoki "non 24 soatdan keyin cho'ziluvchan kasalligi bilan kasallanmadi"

9.2. Non pishirishda ishtirok etadigan mikroorganizmlar

9.2.1. Xamirni ko'pchitadigan mikroorganizmlar

Xamirni achitqilar va sut achituvchi bakteriyalar ko'pchitadi. Bug'doy unidan qilingan xamirni oshirish uchun *Saccharomyces cerevisiae* achitqilari ishlatiladi. Ular presslangan, quritilgan yoki suyuq achitqilardir.

Sut achituvchi bakteriyalar ishlatilganda bug'doy uni xamirida bu bakteriyalar kislota to'playdi, tayyor mahsulotning ta'mi va hidi paydo bo'lishida ishtirok etadi. Hosil bo'lgan sut achituvchi bakteriyalarning rivojlanishini to'xtatadi.

Javdar unining xamiri ko'pchishida *Saccharomyces cerevisiae* va *S. minor* achitqilari hamda sut achituvchi bakteriyalar ishtirok etadi. Achitqilar nonning ta'mi va hidiga muhim ta'sir ko'rsatadi, chunki ular etil spirt bilan karbonat angidrid gazidan tashqari, sivush moylari, atsetoin, diatsetil, efirlar ham hosil qiladi. Sut achituvchi gomofermentativ bakteriyalar xamir shakarini biyg'itib, sut achitadi, geterofermentativ bakteriyalar esa sut kislotadan tashqari,

ma'lum miqdorda uchuvchan kislotalar — sirka, chumoli, propion kislota, shuningdek, etil spirt va karbonat angidrid to'playdi. Shuning uchun sut achituvchi geterofermentativ bakteriyalar achitqilar bilan bir qatorda javdar uni xamirini oshirishda ishtirok etadi va nonning ta'mi, hidi shakllanishiga muhim ta'sir ko'rsatadi. Bundan tashqari, sut kislota javdar uni xamirining ko'pchishiga yordam beradi, natijada xamirning yopishqoqligi va gazni tutib qolish xossasi ortadi va non yoqimli, kuchsiz, nordon mazali bo'ladi. Boshqa organik kislotalar (kahrabo, olma kislota va hokazo), uchuvchan karbonil birikmalari va ayniqsa uchuvchan kislotalar nonda o'ziga xos xushbo'y hid paydo bo'lishida ishtirok etadi.

Sut achituvchi bakteriyalarning gomo- va geterofermentativli shtammlari birgalikda ishlatilsa, ta'mi yaxshi va hushbo'y hidli non pishiriladi.

Presslangan achitqilar va achitqi suti bug'doy unidan shirin yog'li mahsulotlar va bulochkalar pishirishda ishlatiladi.

Suyuq achitqilar bevosita non zavodlarida unli atalaga sut achituvchi bakteriyalar qo'shib tayyorlanadi va oliy, I-II nav bug'doy unidan, javdari bug'doy unidan non pishirishda ishlatiladi. Sanoatda achitqilarning monoto'plamidan va aralash to'plamidan foydalaniladi.

Javdar unidan non pishirishda quyucuk va suyuq xamirturush ishlatiladi. Javdar unidan suyuq xamirturush tayyorlashning texnologik sxemasi sut achituvchi bakteriyalarning toza to'plami bilan achitqilarning har xil irqi va shtammlaridan iborat muayyan kombinatsiyadir.

9.2.2. Achitqilarning va sut achituvchi bakteriyalarning toza to'plamini saqlash va ko'paytirish

Sut achituvchi bakteriyalar to'plami zavodga ichiga bo'r aralash solod sharbati quyib, uchi kavsharlangan ampulalarda, achitqilar qiya suslo-agarli probirkalarda yuboriladi. Achit-

qilar yangi suslo-agarga qayta ekiladi, 30°C da 2 kun o'stiriladi, so'ngra 1—2 oy muzlatkichda saqlanadi. Sut achituvchi bakteriyalar har 7—8 kunda filtrlanmagan suyuq susloga ekiladi va optimal temperaturada termostatda saqlanadi, 48 soatdan keyin muzlatkichga qo'yiladi.

Suyuq achitqilar uchun mikroorganizmlar to'plamini ko'paytirish. Sut achituvchi bakteriyalarni ko'paytirish. Ko'paytirish quyidagi sxemada olib boriladi: 1—3 ml filtrlanmagan solod suslosi quyilgan probirka, 12% QM (quruq modda) → yana 100 ml shunday suslo quyilgan kolba → 1kg unli atala solingan idish (un: suv = 1:3) yoki filtrlanmagan 750 ml suslo solingan kolba, 12% QM → 5—6 kg unli atala. To'planning tayyor bo'lganligi unli atalada kislota to'planishiga (12—14 grad) qarab aniqlanadi.

Achitqilarni ko'paytirish. Toza to'plam achitqilari quyidagi sxema asosida ko'paytiriladi: suslo agarli probirka → 50 ml sterillangan solod suslosi qo'yilgan kolbacha, 8% QM, bijg'ish 2 kun davom etadi, temperatura 28—30°C → shu xildagi suyuqlikdan 500—600 ml quyilgan kolba, bijg'ish vaqti 1 kun, 30°C → 28°C gacha sovutilgan shirin atala (achitqilar atala hajmining 5—10% ni tashkil etadi), bijg'ish vaqti 14—15 soat.

Suyuq achitqilarni mikroskopda ko'rish. Buning uchun 1 g suyuq achitqi 10 qism suvda suyultiriladi, yaxshilab chayqatiladi va aralashma tinganidan keyin yuza qatlamidan preparat tayyorlanadi. Mikroskopda qaralganda kurtaklanuvchi hujayralar soni, ularning morfologik holati, begona mikroflora bor-yo'qligi aniqlanadi. Achitqilar hujayrasi Goryayev kamerasida sanaladi. 1 g suyuq achitqidagi hujayralar soni 90 dan 120 mln gacha bo'ladi, achitqilar bilan sut achituvchi bakteriyalarning nisbati 1:1 ga teng. Suyuq achitqilarda spora hosil qiluvchi harakatchan bakteriyalar bo'lishiga yo'l qo'yilmaydi. Ular yig'uvchi to'plam usulida topiladi: achitqilar namunasi sterillangan solod suslosi quyilgan probirkaga solinadi, 70—75°C li suv hammomida 30

minut isitiladi. So'ngra termostatda 37°C da 24 soat saqlanadi. Agar mikroskopda qaralganda spora hosil qiluvchi harakatchan tayoqchalar topilsa, achitqilar qaytadan ko'paytiriladi.

Suyuq achitqi xamirturushi uchun to'plam ko'paytirish. Kislota hosil qiluvchi bakteriyalar 30—32°C temperaturada to'satdan, achitqi hujayralari bilan bir vaqtda ko'payadi. Achitqilar 2—3 soat davomida amilorizin qo'shib shakarga aylantirilgan atalada ko'paytiriladi. 10 ml ozuqa muhiti quyilgan probirkaga achitqilarning suslo-agarda saqlangan toza to'plami ekiladi. Ko'payish 28—30°C da 18—24 soat davom etadi. So'ngra probirka ichidagilar 100 ml atalaga qo'shiladi va 30—32°C da 10—12 soat saqlanadi. Har 3—3,5 soatda teng miqdorda ozuqa muhiti qo'shib, zarur miqdordagi xamirturush hajmiga yetkaziladi.

Suyuq xamirturushda (min/g da): achitqilar — 200—240, sut achituvchi bakteriyalar — 215—220 bo'lishi kerak.

Quyuq javdar xamirturushi uchun to'plam ko'paytirish. Sut achituvchi bakteriyalarning toza to'plami filtrlanmagan sterillangan solod suslosiga (12% QM) ketma-ket uch bosqichda: probirkada 100 va 1500 ml hajmda ko'paytiriladi. Bakteriyalarning har bir shtammi alohida o'stiriladi. Har bir bosqichdagi ko'paytirish davri 30—32°C temperaturada 2 kun. Achitqilarning loza to'plami ham sterillangan susloga (8% QM) uch bosqichda qayta ekiladi: probirka, 100 va 1000 ml yo'li bilan ko'paytiriladi. Har qaysi bosqichda bijg'ish 25—26°C da 1 kun davom etadi. Ishlab chiqarish xamirturushi tayyorlashdan oldin sut achituvchi bakteriyalar bilan achitqilar to'plami aralashtiriladi, so'ngra unli ozuqa aralashmasi bilan bir necha marta yoshartiriladi.

Suyuq xamirturush tayyorlash uchun sut achituvchi bakteriyalar 800 ml gacha (har qaysi shtammidan 200 ml dan), achitqilar 100 ml gacha to'planadi. To'plamning umumiy 900 ml hajmidan xamirturush tayyorlashda foydalaniladi. Uning tayyor bo'lganligi kislotaliligiga (10—11 grad), ko'pay-

tirish kuchiga (zoldircha bo'yicha 17—20 min) va optimal namligiga qarab aniqlanadi (namligi 70—75% bo'lishi kerak).

9.2.3. Xamirturush ishlab chiqarishni mikrobiologik nazorat qilish

Qand lavlagi melassasi non pishirishda ishlatiladigan xamirturush uchun xom ashyo hisoblanadi. Melassaga mikroorganizmlar tushganligi uning xamirturush ishlab chiqarishga yaroqliligini bildiruvchi ko'rsatkichlaridan biridir. Agar melassaning 1 g da ko'pi bilan 2000 ta mikroorganizm bo'lsa, u yaxshi hisoblanadi. Agar 2000 dan 20000 tagacha bo'lsa, xom ashyoga maxsus ishlov berish yo'li bilangina normal va sifatli achitqi olish mumkin. Melassaning 1 g da 20000 dan ortiq mikroorganizm bo'lsa, u xamirturush ishlab chiqarish uchun qoniqarsiz deb hisoblanadi. Melassaning mikroflorasi va uni mikrobiologik nazorat qilish 9.1-bo'limda bayon etilgan.

Non pishirishda ishlatiladigan xamirturush tayyorlashda mikroorganizmlarning quyidagi guruhlari eng xavfli hisoblanadi:

Spora hosil qiluvchi bakteriyalar (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. megaterium*, *B. brevis*, *B. polymyxa*). Ular chirituvchi turlarga kiradi, aktiv nitrit hosil qiluvchilar achitqilarning ko'payishini sekinlashtiradi.

Chirituvchi asporogen bakteriyalar (*Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. aureofaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus* va boshqalar) xamirturush chiqishini kamaytiradi, ularning sifatini buzadi. Ba'zi turlar aktiv proteolitik ekzofermentlar ishlab chiqaradi, natijada presslangan xamirturushning tez buzilishiga, qo'lansa hidli uchuvchan moddalar (indol, skatol, merkaptan, vodorod sulfid va boshqalar) hosil bo'lishiga olib keladi.

Sut achituvchi bakteriyalar (*Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentii* va boshqalar) achitqilarning ko'payishi aktivligini pasaytiradi. *Leuconostoc mesen-*

teroides, *L. dextranicum* dekstran sintezlaydi, achitqi hujayralarining yopishib (g'ujlanib) qolishiga sababchi bo'ladi, achitqilarning kurtaklanishini to'xtatadi, ularning ko'pchitish kuchini yomonlashtiradi va maltozaning aktivligini pasaytiradi.

Takomillashmagan achitqilar (*Candida mycoderma*, *C. krusei*, *C. utilis* va boshqalar) ning ishlab chiqarishdagi achitqilarga qaraganda ko'payish aktivligi yuqori bo'ladi va ularni siqib chiqarishi mumkin. Ular achitqilar hujayralarining aglyutinatsiyasiga sabab bo'ladi, presslangan xamir-turushning chidamliligini pasaytiradi, ularning konsistetsiyasini yomonlashtiradi, bijg'itish aktivligi, ko'pchitish kuchi va maltozaning aktivligini pasaytiradi.

Nitritlar hosil qiluvchi bakteriyalar borligini aniqlashga doir biologik namuna. Sterillangan probirkada melassa sterillangan suv bilan 1:10 nisbatda suyultiriladi, pH 7,0—7,2 ga yetkaziladi va 30°C li termostatga qo'yiladi. 12, 16, 24, 36 va 48 soatdan keyin nitritlarni aniqlash uchun sifat namunasi olinadi.

Toza quruq probirkaga 0,5 ml dan Grissning birinchi va ikkinchi eritmasidan quyiladi, qaynayotgan suv hammomida 1—2 minut isitiladi va tekshirilayotgan melassa eritmasidan 0,2—0,3 ml olib tomchilatib quyiladi. Aralashmaning qizarishi muhitda nitritlar borligini bildiradi. Bo'yalish intensivligiga qarab, nitritlar miqdori haqida xulosa chiqariladi.

Eritmaning rangi

Och qizil

Qizil

Qizil-pushti

Och pushti

Nitritlar miqdori

Juda ko'p

Ko'p

Anchagina ko'p

Kam

Suyultirilgan melassada (1:10) nitritlar hosil bo'lishi tezligiga qarab, uning achitqi ishlab chiqarishga yaroqlilik darajasi haqida xulosa chiqariladi. Agar Griss reaktivi quyilgan probirkada 12—16 soatdan keyin hatto och pushti

rang paydo bo'lsa ham bakteriyalar o'sishining oldini olish choralarini ko'rish zarur.

Chirituvchi bakteriyalarni aniqlash. Chirituvchi bakteriyalar Bogdanovning sutli agariga chuqur ekib aniqlanadi. Suvli (3% li) agar eritiladi, sterillangan, yog'i olingan sut bilan aralashtiriladi va Petri likopchasiga quyiladi; likopchaga oldindan tekshiriladigan namuna suyultirmasi quyilgan bo'ladi. Sut kazeini parchalanishi hisobiga koloniyalar atrofidagi oqish joylar paydo bo'lishiga qarab, chirituvchi bakteriyalar topiladi.

Takomillashmagan achitqilarni aniqlash. Bular lizinli sterillangan sintetik muhitda, suyultirmani yuza ekish usulida aniqlanadi. Lizinni o'zlashtirmagan saxaromitsetlar muayyan elektiv muhitda o'smaydi yoki nuqtaga o'xshash mayda koloniyalar hosil qiladi. Lizinni assimilyatsiyalovchi takomillashmagan achitqilar, ayniqsa, *Candida* turkumi chetlari tekis yoki buralgan yirik, tekis (silliq), burishgan yoki chiziqli, yassi yoki ko'tarilib turadigan koloniyalar shaklida rivojlanadi.

Spora hosil qiluvchi bakteriyalarni aniqlash. Melassada spora hosil qiluvchi bakteriyalar (mikroorganizmlar umumiy miqdorining 90% ga yaqini)ning bo'lishi achitqi ishlab chiqarishda uni qiyin ishlanadigan mahsulot deb hisoblashga asos bo'ladi, chunki ular orasida nitrit hosil qiluvchilar ham bo'lishi mumkin.

Makkajo'xori ekstraktidagi mikroorganizmlar soni 1 g da 500 dan 10000 tagacha o'zgarib turadi.

Makkajo'xori ekstrakti mikroskopda ko'rib yoki melassani analiz qilishda ko'rsatilgan ozuqa muhitlariga ekib tekshiriladi.

Bakteriyalar ko'p tushgan ekstrakti ishlatishdan oldin suv bilan (1:1) suyultiriladi va bug'da 90—95°C gacha isitiladi.

Non pishirishda ishlatiladigan achitqilar (xamirturush) ishlab chiqarishda *Saccharomyces cerevisiae* ning irqalaridan

foydalaniladi. Ular melassada tez ko'payadi, presslangan, quritilgan holatda chidamli va yuqori zimaza hamda maltaza aktivligiga ega.

Toza to'plam o'stirish bosqichi. Achitqilarni ko'paytirishning birinchi bosqichi zavod laboratoriyasida probirka va kolbalarda olib boriladi, so'ngra toza to'plam sexida, oxirgi bosqichlari esa asosiy bo'limdagi achitqi o'stiradigan apparatlarda o'tkaziladi. Bunday achitqilar toza to'plam (TT) deb ataladi. Ular 2—4°C temperaturada achitqi konsentrati, 1 l da 500 g achitqi bo'lgan suvli aralashma yoki presslangan holatda saqlanadi.

Achitqilarning tabiiy toza to'plami (TTT) ni o'stirish bosqichi. TT achitqilari TTT uchun ekish materiallari hisoblanadi. TTT ishlab chiqarishdagi apparatlarda o'stiriladi. TTT achitqilari ham TT achitqilari kabi saqlanadi va tovar achitqi (xamirturush) yetishtirishda ekiladigan achitqi sifatida ishlatiladi.

Har bir bosqich oxirida mikrobiologik analiz uchun 2—3 dan 300 ml gacha namuna olinadi. Mikroskopda 10 ta ko'rish maydonchasi ko'riladi, bakteriya va achitqi infeksiyasini aniqlash uchun bo'r aralash suslo-agarga, takomillashmagan achitqilarni aniqlash uchun maxsus muhitga ekiladi. Mikroskopda qaralganda kurtaklanayotgan hujayralar soni (10% dan 80% gacha o'zgarib turadi), nobud bo'lgan hujayralar soni (protsentning 1/10 dan oshmasligi kerak) aniqlanadi, begona achitqilar va bakteriyalar hujayrasi bo'lmasligi, mayda hujayralarning ko'payish aktivligi 20—25% dan oshmasligi kerak.

Tovar achitqilari o'stirish bosqichi. Achitqi o'stirishning barcha bosqichlarida, oraliq, ekiladigan va tovar achitqilari bosqichlarida har soatda namuna olib, mikroskopda ko'riladi. Bunda kurtaklanayotgan hujayralar miqdori (%), kurtaklanishning to'g'riligi, mayda hujayralar bor-yo'qligi, nobud bo'lgan hujayralar va kurtaklar miqdori, begona achitqi va bakteriyalar bor-yo'qligi qayd etiladi.

Achitqili namunalardagi bakteriyalar sonini aniqlash uchun N. V. Rozmanova nistatin antibiotigi bo'lgan muhitga ekish usulini taklif etgan. Nistatin achitqilar va zamburug'larning o'sishini pasaytiradi.

Presslangan achitqilarni nazorat qilish. Mikroskopda ko'rish. Mikroskopda qaralganda, saxaromitsetlar hujayrasining o'lchamiga va bir xilligiga hamda begona mikroorganizmlar bor-yo'qligiga qarab, presslangan achitqilar sifatiga baho beriladi.

Bir necha millilitr sterillangan suvga ilmoqda achitqi aralashiriladi. Hosil qilingan bu suspenziyadan buyum oynasiga bir tomchi tomizib, metilen ko'ki bilan aralashiriladi. Mikroskopda bir nechta maydonchasi ko'rib, achitqi hujayralarining morfologik holati, nobud bo'lgan hujayralar protsenti, takomillashmagan achitqilar, bakteriyalar aniqlanadi.

Saxaromitsetlar va begona mikroorganizmlarning foiz miqdorini aniqlash. Agar tayyor mahsulotning ko'pchitish kuchi va chidamliligi keskin pasaygan bo'lsa, presslangan achitqilarning mikrobiologik tarkibi va ularning begona achitqi yoki bakteriyalar bilan ifloslanish darajasi oddiy usulda — bo'rli suslo-agarga ekish usulida yoki murakkab usulda — bir nechta elektiv ozuqa muhitiga ekish yo'li bilan aniqlanadi.

Murakkab usul. Bunda g'o'lacha bo'lak o'rtasidan olingan 1 g achitqilar namunasi 100 ml sterillangan suv quyilgan kolbaga solinadi. Uni yaxshilab aralashirib (10^2), yana suyultiriladi (10^3 — 10^8 gacha). Achitqi sutida begona mikroorganizmlar bor-yo'qligini aniqlash uchun 2 ml hajmda boshlang'ich namuna olinadi va 6-jadvalda ko'rsatilgan sxema asosida ekiladi.

Achitqi koloniyalarining umumiy miqdorini 100% deb olib, begona achitqilar, mitseliyli zamburug'lar, chirituvchi, sut achituvchi va spora hosil qiluvchi bakteriyalarning foiz miqdori aniqlanadi.

Bacillus subtilis mavjudligini quyidagicha aniqlash mumkin: 2 ml achitqi (I suyultirmadan) solingan probirka 20—

30 minut qaynayotgan suvga botirib qo'yiladi, unga 5 ml sterillangan solod suslosi (sharbati) qo'shiladi va 37°C issiqlikdagi termostatga bir-ikki kun qo'yiladi. Muayyan bakteriyalar bo'lsa, o'ziga xos burishgan parda hosil bo'ladi.

Achitqilarda *Proteus vulgaris* mavjudligini aniqlash uchun tekshirishda I va II suyultirmadan olib, qiya agarning kondensatsion suviga 37°C da ekiladi.

6-jadval

**0,1 ml dan tayyorlangan suyultirmani
har xil ozuqa muhiti quyilgan ikkita parallel
likopchaga ekish sxemasi**

Mikroorganizmlar quruhi	Ozuqa muhiti	Suyultirma
Achitqi va zamburug'larning umumiy miqdori	Suslo-agar (8% QM)	10^7-10^8
Takomillashgan achitqilar	Lizin aralash sintetik muhit	10^6-10^8
Bakteriyalarning umumiy miqdori	4% saxarozali va nistatinli achitqi agari	10^5-10^7
Sut achituvchi bakteriyalar	Bo'r va nistatinli suslo-agar (12% QM), sorbin kislotali MRS-4 muhiti, solod asosli 10-muhit	10^5-10^7
Leykonostoklar	10-muhit achitqili suvda tayyorlangan	10^4-10^6
Chirituvchi bakteriyalar	Nistatin qo'shilgan sutli agar	10^3-10^5
Spora hosil qiluvchi bakteriyalar	Go'sht-peptonli agar, 4% saxaroz va nistatinli achitqi agari (isitilgan namunadan ekilgan)	10^3-10^5
Ichak tayoqchasi	Indikatorli sintetik muhit	10^3-10^5

24—48 soat o'tgandan keyin bu bakteriyani probirkaning devori bo'ylab ko'tarilayotgan yupqa bakteriya pardasidan aniqlash mumkin.

Sifatli presslangan achitqilarda begona achitqilar ko'pi bilan 30%, kislota hosil qiluvchilar 15—35% bo'lishiga yo'l qo'yiladi, chirituvchi bakteriyalar bo'lmasligi kerak.

9.2.4. Yarim tayyor mahsulot va tayyor mahsulotlarni mikrobiologik tekshirish

Xamir. Xamirda saxaromitset achitqilari va sut achituvchi bakteriyalardan tashqari, begona mikroorganizmlar ham uchraydi. Ular shartli ravishda uch guruhga bo'linadi.

Birinchi guruhga xamirning oshishiga ta'sir etmaydigan saprofit mikroorganizmlar — mikrokokklar, sarsinalar kiradi. Un ularning manbai bo'lib hisoblanadi.

Ikkinchi guruhga xamirning normal achishini buzadigan va tayyor nonning sifatini aynitadigan mikroorganizmlar: takomillashmagan *Candida* achitqilari (*C. kru-sei*, *C. mycoderma*, *C. utilis*, *C. guilliermondi*), *Torulopsis*, bakteriyalarning ayrim turlari — *B. coagulans*, *Leuconostoc mesenteroides* kiradi. Un, presslangan achitqilar, sut zardobi takomillashmagan achitqilar o'sishi uchun manba bo'lib hisoblanadi. *Candida* turkumi presslangan achitqilar malta-zali aktivligini pasaytiradi, ularning ko'pchitish kuchini yomonlashtiradi, xamirning oshishida ishtirok etmaydi, lekin ozuqa moddalar o'zlashtirib, bijg'ituvchi mikroflora bilan raqobatlashadi. *Candida* tushgan javdar uni achitqisining hidi noxush, mazasi taxir bo'ladi va nonning organoleptik xossalari buzadi. *B. coagulans* jadal ravishda kislota to'plashi, cho'ziluvchan shilimshiq to'plam hosil qilishi, pishloq hidi anqib turishi mumkin. Sut zardobi bu bakteriyalarning manbai bo'ladi. Bunday holat ko'pincha bahor-yoz davrida sodir bo'ladi. *Leuconostoc mesenteroides* shilimshiq hosil qiladi.

Uchinchi guruhga xamirda rivojlanib, keyin tayyor non mahsulotlarining mikrobiologik buzilishiga sabab bo'ladigan zararkunanda mikroorganizmlar kiradi.

Xamir mikroflorasining sifat tarkibini aniqlash. Xamirdagi mikroorganizmlarning alohida guruhlari namunalar suyultirmasini elektiv muhitga ekish yo'li bilan aniqlanadi (presslangan achitqilar mikroflorasini aniqlash kabi, 9.2.3. ga qarang). Xamir yetilishi jarayonida

achitqilarning ko'payish darajasi hisoblash kamerasida aniqlanadi.

Sut achituvchi bakteriyalarning aktivligi metilen ko'ki rangining qaytarish intensivligiga qarab aniqlanadi; buning uchun 20 g xamir olib, 40 ml suvga aralashtiriladi (40°C gacha isitilgan suvga). Keyin undan 10 ml dan ikkita namuna olinadi. Birinchi (tajriba) probirkaga metilen ko'kining 0,05% li suvli eritmasidan 1 ml quyiladi. Ikkinchi probirka kontrol hisoblanadi.

Probirkalar 40°C li termostatga qo'yiladi. Sut achituvchi bakteriyalarning aktivligi bo'yoq rangsizlangungacha ketgan vaqt bilan aniqlanadi: aktivligi past —90—100 min, yuqori —35—50 min, juda yuqori —7—25 min.

Non yuzasining ichak tayoqchalari bilan ifloslanishini aniqlash. Buning uchun non yuzasiga sterillangan (10x10 sm li) trafaret qo'yiladi va chegaralangan yuza sterillangan suv bilan namlangan paxta tampon bilan artiladi. Keyin paxta yuvilgan suvni Endo muhitiga ekib, ichak tayoqchalari koloniyasi aniqlanadi. Nonda ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar bo'lishiga yo'l qo'yilmaydi.

Nondagi spora hosil qiluvchi bakteriyalarni aniqlash. Bug'doy unining noni etidan sterillangan lansetda 10—20 g o'yib olib, sterillangan kolbaga solinadi va ustiga 100 ml sterillangan suv quyiladi, keyin 5 minut davomida silkitiladi. Hosil bo'lgan emulsiyadan 1:10² — 1:10³ suyultirma tayyorlanadi. Har qaysi suyultirmadan 1 ml dan olib, suyuq GPBga ekiladi. 37°C issiq termostatda 48 soat saqlanadi. Keyin oq nondan 2—3 sm qalinlikdagi mayda burda kesib olib, Petri likopchasiga qo'yiladi va 0,15 MPa da 20 minut sterillanadi. Sovigandan keyin non burdalari ustiga 10 ml dan bijg'igan bulyon to'plami quyiladi. Likopchani ichiga ozroq suv quyilgan eksikatorga qo'yib, 35—37°C issiq termostatda 2 kun saqlanadi. Agar kartoshka tayoqchalari bo'lsa, non burdalari shilimshiqlanib, rangi qorayadi va

o'ziga xos hid tarqatadi. Nonga quyidagicha baho beriladi: titri 1:10 bo'lgan non kuchsiz; 1:10² bo'lgani o'rtacha; 1:10³ bo'lgani kuchli zararlangan hisoblanadi.

9.2.5. Nonning mikroorganizmlar keltirib chiqaradigan kasalliklari va ularga qarshi kurash choralari

Nonning mog'orlashi. Non temperaturasi yuqori va havosining nisbiy namligi 70% dan yuqori bo'lgan skladlarda saqlansa, mog'orlay boshlaydi. Nonga mitseliyli zamburug'lar sporasi uni sovitish, tashish va saqlash davrida iflos havodan, tashish va o'rash vositalaridan, ishchilarning qo'lidan, kiyimidan tushishi mumkin. Zamburug' miseliysi dastlab non yuzasiga tarqaladi, keyin yoriq-teshiklardan uning ichiga kiradi. 20—40°C issiqlik va pH 5—6, mahsulotning namligi 20% bo'lishi zamburug'lar rivojlanishi uchun optimal (qulay) hisoblanadi. Nonni *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* turkumlariga mansub zamburug'larning har xil turlari mog'orlatadi. Ular momiqday mayin g'ubor hosil qiladi va har xil rangga bo'yalgan bo'ladi. Shuningdek, *Rhizopus nigricans* va *Geotrichum candidum* ham mog'orlatadi.

Mitseliyli zamburug'larning fermentlari uglevodlar, oqsillar, yog'larni gidrolizlab, qo'lansa hidi va ta'mi yomonligi bilan nonning sifatini buzadi. Ayrim turlar nonda odam uchun faqat zararligina emas, balki kanserogen bo'lgan mikotoksinlar (aflatoksin, patulin, oxratoksin, rubratoksin va hokazolar) hosil qiladi.

Non mog'orlamasligi uchun uni quruq va yaxshi shamollatiladigan xonada 10—12°C dan yuqori bo'lmagan sharoitda saqlash kerak. Uni orasidan havo o'tishi uchun zichlamay joylash kerak. Nonning yuzasida yoriq, zararlangan joylar bo'lmasligi kerak. Havoni tozalab turish, mog'orlagan nonni tezda sexdan olib chiqib ketish, jihozlar va binoni (xonani) toza tutish, shaxsiy gigiyena qoidalariga amal qilish zarur. Nonni sterillash (termik, yuqori chastotali tok bilan, ultra-

binafsha va ionlantiruvchi nurlar bilan) va konservalash usullari tavsiya etilgan.

Nonning melli kasalligi. Bunda nonning yuzasida yoki etida oq dog'lar paydo bo'ladi. Ular qurib un changi yoki maydalangan bo'rga o'xshab qoladi. Bu kasallikni *Endomyces fibuliger* va *Trichosporon variabile* achitqilari qo'zg'atadi. Ular non pishib bo'lgandan keyin tushadi. Melli kasalligi nisbatan kam uchraydi, odam sog'lig'i uchun xavfli hisoblanmaydi, biroq zararlangan non tovarlik sifatini yo'qotadi.

Non etining qizarishi. Havo namligi yuqori bo'lsa, pishirilgan non-bulka mahsulotlarida *Serratia marcencens* bakteriyalari (ajoyib tayoqcha) qizil pigment — prodigiozin chiqarib, qizil rangli koloniyalar hosil qiladi. Bu bakteriyalar fermenti kraxmalni shakarga aylantiradi va kleykovinani suyultiradi. Eti qizarib ketgan nonning ko'rinishi o'zgaradi va ishlatishga yaroqsiz hisoblanadi. Nonda sariq, ko'k, binafsha rang pigment hosil qiluvchi boshqa bakteriyalar ham rivojlanishi mumkin. *Rhodotorula* turkumiga mansub achitqilarning ayrim vakillari bo'yovchi modda ajratadi va nonda sariq, pushti yoki och-qizil shilimshiq dog'lar hosil qiladi.

“Mast non” kasalligi. Nonni *Fusarium* turkumining xavfli toksinlar to'playdigan zamburug'lari zararlaydi. Non pishirishda toksinlar parchalanib ketmaydi va faqat non yeyilayotganda bilinadi. Dalada qishlab chiqqan va sovuqqa chidamli donni tegishli chora ko'rmasdan turib un qilib tortish mumkin emas.

Nonning cho'ziluvchan, ya'ni kartoshka kasalligi. Bu kasallikni qo'zg'atuvchi *Bacillus mesentericus* zamburug'i kuchli infeksiyalangan un yoki uvoqlar bilan nonga tushadi va non pishirishda uning etida saqlanadi. Non 20°C dan yuqori temperaturada, yuqori namlik, pH 7 bo'lganda saqlansa, bakteriyalar sporasining unib chiqishi va vegetativ hujayralarining rivojlanishi tezlashadi. pH 4,5—4,8 bo'lganda bakteriyalar rivojlanmaydi. Bu kasallik bilan ko'pincha bug'doy noni zararlanadi, uning eti ham kislotali bo'ladi. Nondan o'ziga xos

kuchsiz meva hidi kelishi kasallik boshlanayotganidan dalolat beradi. Agar non kesib ko'rilsa, kumushsimon ingichka shilimshiq ipchalar ko'rinadi. So'ngra non eti nam, yopishqoq bo'lib, shilimshiq qoladi. U kesib ko'rilganda cho'ziluvchan uzun qayishqoq ipchalar ko'rinadi. Etining rangi och sariqdan to sariq-jigarrangacha o'zgaradi. Hidi qo'lansa bo'ladi.

Bu kasallikka qarshi kurashish uchun quyidagi choralar ko'riladi:

xamirning kislotaliligini oshirish;

achitqi tayyorlashda kartoshka tayyoqchasining rivojlantirishini susaytiruvchi propion kislotasi va sut achituvchi bakteriyalardan foydalanish;

unga 0,029% kaliy bromat qo'shish;

nonni 10°C gacha tez sovitish va yaxshi shamollatiladigan xonalarda shu temperaturada saqlash.

Cho'ziluvchan kasalligi bilan kasallangan non yoqib yuboriladi yoki ko'mib tashlanadi.

10. MAKARON VA QANDOLATCHILIK MAHSULOTLARI ISHLAB CHIQRISHNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Makaron ishlab chiqariladigan xom ashyo va tayyor mahsulot mikroflorasini o'rganish. Shakar, sut, qaymoq, quyultirilgan sut, tuxum, melanj, tuxum poroshogi, kakao dukkagi, un, meva-rezavor yarim tayyor mahsulotlari, kremli mahsulotlar, marmelad, pastila, saryog'li pomadka, shokoladli mahsulotlar va karamel mikroflorasini aniqlash.

10.1. Makaron ishlab chiqarish mikroflorasi

10.1.1. Xom ashyoni va yarim tayyor mahsulotlarni nazorat qilish

Makaron mahsulotlari uzoq (1 yilgacha) saqlanadigan mahsulotlarga kiradi, chunki uning tarkibida nam kam (11-

18%) bo'ladi. Biroq ular saqlash jarayonida, asosan, mikroorganizmlar ta'sirida buzilishi mumkin.

Zararli mikroorganizmlar ishlab chiqarishga xom ashyo, suv, havo, apparatlardan o'tishi mumkin.

Suv. Xamir qorish uchun ishlatiladigan suvga alohida talablar qo'yiladi. Tarkibida mikroorganizmlar ko'p bo'lgan suv ishlatilsa, xamir to'satdan tez oshib ketadi, yarim tayyor mahsulotlar achiydi va mog'orlaydi. Shuning uchun suvni doim nazorat qilib turish (mikroorganizmlarning miqdorini kuzatib turish kerak; 1 l da ko'pi bilan 100 ta bo'lishi mumkin); ichak tayoqchasi titrini aniqlash zarur (kamida 333 ml), ya'ni suv amaldagi GOST ga mos kelishi kerak.

Un, xamir. Unda juda ko'p har xil mikroorganizmlar bo'ladi. Ulardan sut achituvchi, gaz hosil qiluvchi gomofermentativ bakteriyalar eng xavfli hisoblanadi. Bu bakteriyalar xamirda rivojlanadi, keyinchalik makaron mahsulotlarini buzadi. Bunda ular yuzasida har xil do'mboqchalar hosil bo'ladi. Do'mboqchalar o'rni bo'sh bo'ladi. Un va xamirga bakteriyalar juda ko'p tushgan bo'lsa yoki shakllangan makaron tez quritilmay turib qolsa, ana shunday holat yuz beradi.

Tuxum, melanj. Tuxumda mikroorganizmlar juda ko'p, shu jumladan, zararlilari ham bo'ladi. Eritilgandan bir qancha vaqtdan keyin ishlatiladigan melanjning 1 ml da millionlab bakteriya bo'ladi va u xamirning mikroorganizmlar bilan ifloslanish manbai bo'lib hisoblanadi.

Xamir qoradigan, shakl beradigan apparatlar yaxshi yuvilmagan va ularda xamir qoldiqlari bor bo'lsa, har xil zararli mikroflora — gaz hosil qiluvchi, sut achituvchi bakteriyalar, achitqilar, mahsulotni buzadigan zamburug'lar sporasi va konidiyalari manbai bo'lishi mumkin.

10.1.2. Tayyor mahsulotni nazorat qilish

Tayyor mahsulotning namligi (ko'pi bilan 13%) va kislotaliligi (ko'pi bilan 3,5—5°H) uning asosiy ko'rsatkichi hisoblanadi. Makaron mahsulotlarini salqin, yaxshi shamol-

latiladigan, havosining nisbiy namligi ko'pi bilan 70% bo'lgan xonalarda saqlash kerak. Joylash materiallari (faner yashiklar, karton qutilar, qog'oz va boshqalar) ning namligi 15% dan oshmasligi kerak.

Makaron mahsulotlari noto'g'ri rejimda saqlansa, quyidagicha buziladi: namligi 16% gacha ortib ketsa, mog'orlaydi (*Penicillium, Aspergillus, Rhizopus*), sut achituvchi geterofermentativ bakteriyalarning rivojlanishi sababli achiydi, yuzasi do'mboqchali bo'lib qoladi, pigmentli mikroorganizmlar koloniyasi borligi tufayli rangli bo'lib qoladi.

10.2. Qandolatchilik mahsulotlari ishlab chiqarish mikroflorasi

10.2.1. Xom ashyoni va yarim tayyor mahsulotlarni nazorat qilish

Qandolatchilik mahsulotlarining ko'p turlarini ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan foydalanilmaydi. Non pishirishda ishlatiladigan achitqilar bundan mustasno. Kekslarning ba'zi turlarini, galet, oshirma bulochkalar tayyorlashda shulardan foydalaniladi. Biroq mikroorganizmlar qandolatchilik mahsulotlari ishlab chiqarishda faqat xom ashyoni, yarim tayyor mahsulotlarni va saqlash davrida tayyor mahsulotlarni buzadi.

Texnologiya jarayoni, odatda, tez (2—3 soatda) kechadi va ko'pincha yuqori temperatura ta'siriga bog'liq bo'ladi. Bunday sharoitda zararli mikroorganizmlar yo ko'payib ulgurmaydi yoki yuqori temperaturada nobud bo'ladi. Biroq, hamma mikroorganizmlar ham nobud bo'lmaydi, ayniqsa, bakteriyalar ko'p tushgan xom ashyoni qayta ishlashda shunday bo'ladi. Tayyor mahsulotlar sanitariya talablariga rioya qilinmagan holda joylanganda va saqlanganda ham ular yuzasiga kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlar tushadi.

Shakar. Shakar standart namligida (0,15%) undagi mikroorganizmlar soni 1 g da 50 tadan 200 tagacha yetadi.

Shakarda uchraydigan osmofil achitqilar va termofil hamda mezofil bakteriyalar sporasi ishlab chiqarishda xavfli hisoblanadi. Ular meva pyuresini, murabbo, povidlo, jemni buzadi; issiqqa chidamli bakteriyalar gaz (H_2S , CO_2) hosil qiladi: *Leuconostoc* turkumining bakteriyalari meva sharbati va siropini cho'ziluvchan, shilimshiq qilib qo'yadi.

Shakarni mikrobiologik nazorat qilish 1 g shakardagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlash uchun suyultirma ($1:10$, $1:10^2$, $1:10^3$ va hokazo) ni Petri likopchasiga chuqur usulda ekiladi; likopchaga 5 minut davomida isitilgan va isitilmagan differensial-diagnostik qattiq muhit solingan bo'ladi. Shakardagi termofil bakteriyalar (kislota hosil qiluvchilar, H_2S hosil qiladigan va H_2S hosil qilmaydigan anaeroblar) va mezofil mikroorganizmlar (shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar, osmofil achitqilar, mitseliyli zamburug'lar) aniqlanadi.

Sut, slivka, quyultirilgan sut. Sut mikroorganizmlarini quyidagi guruhga bo'lish mumkin.

Sut achituvchi bakteriyalar — *Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *S. thermophilus*; enterokokklar — *S. faecalis*, *S. faecalis var liquefaciens*, *S. faecium*, *S. bovis*; tayoqchalar — *Lactobacterium helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*. Ular sutda rivojlanib, uni achitadi, sutning ta'mi yoqimli, kuchsiz nordon bo'ladi. Faqat *S. faecalis var liquefaciens* (mammokokklar) rivojlanganda sut va sut mahsulotlari taxir bo'lib qoladi.

Chirituvchi bakteriyalar sut oqsilini kuchli parchalab, gazlar hosil qiladi, noxush hid va ta'mni keltirib chiqaradi, ba'zan zaharli moddalar ham ajratadi. Bu bakteriyalar bo'lgan sutning konsistensiyasi cho'ziluvchan, shilimshiq bo'lishi mumkin. Asporogen tayoqchalardan *Proteus vulgaris* va *Pseudomonas fluorescens*, aerob spora hosil qiluvchi *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. megaterium* va spora hosil qiluvchi anaerob turlardan *B. putrificus*, *B. polymyxa* sutni chirituvchi bakteriyalarga kiradi.

Ichak tayoqchasi guruhining vakillari sutni ivitib, gaz hosil qiladi, natijada sutning hidi qo'lansa, ta'mi yomon bo'ladi, ba'zan cho'ziluvchan bo'lib qoladi. Ichak tayoqchasi sutning sanitar ko'rsatkichi hisoblanadi. Uning ayrim turlari odamda ichak kasalliklarini qo'zg'atadi.

Achitqilar achitqi va mitseliyli zamburug'lar yangi sog'ilgan sutda juda kam uchraydi, lekin sut-qatiq mahsulotlari ishlab chiqarishda va ularni saqlashda muhim rol o'ynaydi. Oqsil va yog'larning parchalanishi natijasida zamburug'lar sut mahsulotlarida nordon ta'm hosil qiladi.

Sutda uchraydigan patogen bakteriyalar infeksiya qo'zg'atuvchilar va toksikoinfeksiya hamda toksikoz qo'zg'atuvchilarga bo'linadi. Birinchi turdagilari brutsellyoz, oqsim, mastit, sil, kuydirgi, koli-infeksiya bilan kasallangan sigirlar suti orqali odamga yuqadi. Ikkinchi turdagilari sanitariya qoidalariga rioya qilmay sigir sog'ishda, sutni saqlash va tashishda unga tushadi. Ular ich terlama, paratif, batsillyar dizenteriya, vabo, streptokokk infeksiyasini tarqatadi, stafilokokk zaharlanishiga olib keladi. Sut pastirlansa, sterillansa, shuningdek shokolad, sariyog'li nachinkalar pishirilganda sutdagi patogen bakteriyalar yo'qoladi, lekin kremlar tayyorlashda ular tirik saqlanib qoladi.

Quyultirilgan sutda dastlabki sutdagi va shakardagi mikroorganizmlar bo'ladi. Sut vakuum ostida 50—60°C temperaturada quyultirilganda ham ular nobud bo'lmaydi. *Catenularia fuliginea* nomli mitseliyli zamburug'lar quyultirilgan sutni buzadi. Ular mahsulot yuzasida to'q-jigarrang bo'lakchalar (tugmachalar) hosil qiladi. Bunda sutdan yoqimsiz pishloq maza keladi. Katta bankalarga quyilgan quyultirilgan sutni mitseliyli zamburug'lardan *Penicillium glaucum* va *Cladosporium herbarum* mog'orlatadi. Shakarlarni biyog'itib, suyultiruvchi osmofil achitqilar ham katta zarar yetkazadi. Rangli koloniya hosil qiladigan mikrokokklar aktiv lipolitik fermentlarga ega bo'lib, yog'larni va oqsillarni parchalashi mumkin.

Namuna ajratib olish. Sut yaxshilab aralashtirilgandan keyin sterillangan probirkaga namuna olib, og'zi paxta tiqin bilan berkitiladi. Sut bilan slivka tezda tekshiriladi yoki 5-6°C gacha sovitib, uzog'i bilan 4 soat saqlanadi. Quyultirilgan sutli bankani iliq suv bilan yuvib artiladi, qopqog'i spirtida ho'llangan paxta tampon bilan kuydiriladi. Bankani ochgandan keyin sterillangan likopcha yoki byuksda 10 g sut tortib olinadi.

Mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash. Sutdagi va sut mahsulotlaridagi bakteriyalarning umumiy miqdori standart likopcha usulida aniqlanadi. Ajratib olingan namunalardan fiziologik eritmada bir necha o'n marta suyultirilgan eritma tayyorlanadi. Xom sut bilan xom slivkani suyultirish darajasi 1:10⁵—1:10⁶, pasterlangan sut, slivka, quyultirilgan sutniki 1:10—1:10³. Har qaysi suyultirmadan Petri likopchasiga 1 ml dan quyib, ustiga eritib, 45°C gacha sovitilgan 10—15 ml GPA qo'shiladi. Odatda, har qaysi suyultirmadan 2 ta likopchaga ekiladi. Termostatda 37°C temperaturada 48 soat saqlangandan keyin, o'sib chiqqan koloniyalar hisobga olinadi.

V. M. Bogdanov usuliga muvofiq, sutdagi bakteriyalarning umumiy miqdorini gidrolizlangan sut va mel (bo'r) solingan agarda aniqlash mumkin. Ekilgan mikroorganizmlar 30°C temperaturada 3 kun saqlanadi. Bunda sut achituvchi bakteriyalar koloniyasi oqish zonalar hosil qiladi; bu sut kislota bo'rni eritib yuborishi natijasida sodir bo'ladi. Jelatinali gidrolizlangan sutda yoki sutli agarda proteolitik bakteriyalar aniqlanadi. Yog' kislota hosil qiluvchi bakteriyalarni aniqlash uchun suyultirma qaymog'i olinmagan sterillangan sutli probirkaga ekiladi, 85°C issiq suv hammomida 10 minut isitiladi va termostatda 30°C da 3 kun saqlanadi. Keyin mikroskopda ko'rib, shuningdek, yog' kislota hidiga va gaz hosil bo'lishiga qarab, yog' kislotalar hosil qiluvchi bakteriyalar bor-yo'qligi aniqlanadi. Achitqilar va zamburug'lar suslo-agarga ekib aniqlanadi.

Ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalarni aniqlash. Bu ish standart usul bo'yicha bajariladi: xom sut va slivka (1:10 dan 10^5 gacha), pastirlangan sut, slivka, quyultirilgan sut (1 va 1:10) suyultirmasi naychali probirkalardagi 5 ml muhitga 1 ml dan yoki naychali kolbachalardagi 40—50 ml Kessler muhitiga 10 ml dan ekiladi. Keyin ular termostatda 43°C da 18—24 soat saqlanadi. Vaqt o'tgandan keyin gaz hosil bo'lgandagi eng kichik (kam) suyultirma bo'yicha bijg'itish titri aniqlanadi. Agar olingan natija normativdan past bo'lsa, Endo muhitiga ekiladi.

Quyultirilgan sutning 1 g da mikroorganizmlar soni 50 mingdan oshmasligi, ichak tayoqchasi titri kamida 0,3 bo'lishi kerak. Sutda va sut mahsulotlarida tillo rang stafilkokklar va boshqa patogen bakteriyalar bo'lmasligi kerak.

Sariyog'. Sariyog'dagi mikroorganizmlar manbai yangi yoki achitilgan slivkalar, asbob-uskunalar, suv, tuz, bo'yoqlardir. Shirin sariyog'da, asosan, xom ashyodan va ishlab chiqarish jarayonida tushadigan mikroorganizmlar uchraydi. Nordon sariyog'da o'n millionlab mikroorganizmlar, ko'proq sut achituvchi bakteriyalarning toza to'plami uchraydi. Yog'larni saqlash vaqtida mikroorganizmlar plazmada rivojlanadi. Plazma — bu oqsil, sut shakari, sut kislota, tuzlar va boshqa moddalarning suvli eritmasi bo'lib, ularni mikroblar hujayrasi o'zi rivojlanishi uchun assimilyatsiya qiladi. Natijada sariyog' ayniydi va nuqsonlar paydo bo'ladi. Sariyog'ning yuzasi to'q sariqlanishiga (shtaffga) fluoressensiya xossaga ega bakteriyalar sabab bo'ladi. Ular *Pseudomonas fluorescens* bakteriyalardir. Havo kislorodi ta'sirida kechadigan oksidlanish jarayonlari ham ta'sir etadi. Spora hosil qiluvchi bakteriyalar va psevdomonaslar ta'sirida sariyog' achchiq bo'lib qoladi; *Candida* turkumining achitqilari, kokklar — *S. faecalis var liquefaciens*, mitseliyli zamburug'lar, spora hosil qiluvchi proteolitik bakteriyalar ta'sirida taxirroq bo'ladi; sut achituvchi bakteriyalar ta'sirida ortiqcha achchiq; *Penicillium glaucum*, *Endomyces lactis* ta'sirida usti mog'or-

laydi; kamdan-kam holda *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Mucor* uchraydi; *Cladosporium herbarum* ta'sirida sariyog'ning ichki chuqur qismi mog'orlaydi; plazmada proteolitik bakteriyalar aktiv rivojlangan, tuzlangan baliq hidi keladi.

Namuna ajratib olish. Sterillangan shchupni 3/4 qismigacha yog' bo'lagi ichiga, chetidan 3—5 sm ichkariga qarama-qarshi devoriga qiya yo'nalishda kiritib namuna olinadi. Keyin sterillangan shpatelda kesib, 20 g tortib olinadi.

Mikroorganizmlarning umumiy miqdori ni aniqlash. Olingan 20 g namunani sterillangan idishga solib, og'zi paxta tiqin bilan berkitiladi va temperaturasi 45—48°C bo'lgan suv hammomiga botirib qo'yiladi. Bir xil suspenziya hosil bo'lguncha yaxshilab aralashtiriladi va 40—45°C gacha isitilgan sterillangan suv quyilgan probirkalarda bir nechta (1.10 dan 10³ gacha) suyultirma tayyorlanadi. Keyin ular qattiq muhitga ekiladi. Nordon sariyog'dagi proteolitik bakteriyalar, achitqilar, mitseliyli zamburug'lar soni, bijg'ituvchi namuna; normal (shirin) sariyog'da qo'shimcha ravishda bakteriyalarning umumiy soni aniqlanadi.

Sariyog'ni analiz qilishda xuddi sutni analiz qilishdagi ozuqa muhitlaridan foydalaniladi.

Tuxum, melanj, tuxum poroshogi. Yangi tovuq tuxumi amalda deyarli steril bo'ladi. Saqlash jarayonida sekin asta har xil mikroorganizmlar bilan zararlanadi. Mitseliyli zamburug'lar (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*) tuxum po'chog'idagi mayda teshikchalar orqali ichiga kirib, uni buzadi va rangini o'zgartiradi (och yashil, qora, sariq rangga kiradi). Zamburug'lardan keyin chirituvchi bakteriyalar (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis* va hokazolar) zararlaydi. Tuxum tovuq axlati, go'ng bilan ifloslangan sari bakteriyalar soni ko'payaveradi. Bakteriyalar tuxumning ichida rivojlanib, oqsilini gidrolizlaydi, so'ngra sarig'i ichiga kiradi. Tuxum ichki moddasining parchalanishi natijasida uning rangi o'zgaradi, qo'lansa hid va gaz hidi anqib turadi.

Melanj (tuxum oqi bilan sarig'ini yaxshilab aralashtirib, filtrlab, so'ngra maxsus idishda muzlatilgan massa) da ham tuxumdagi mikroorganizmlar bo'ladi. Melannda mikroorganizmlar juda tez rivojlanadi, shuning uchun uni muzlatib saqlanadi, eritilgandan keyin 2—3 soat ichida qayta ishlanadi. Tuxumdan, ayniqsa, melanndan patogen bakteriyalar, dizenteriya tayoqchalari, ichterlama guruhi bakteriyalari (salmonellalar) topiladi. Salmonellalar ko'pincha suvda suzib yashaydigan parrandalar tuxumiga kiradi va oziq-ovqat toksikoinfeksiyasiga sabab bo'ladi. G'oz va o'rdaklar tuxumidan mayda un mahsulotlari ishlab chiqarishda foydalanishga ruxsat etiladi. Tuxum poroshogi 6,5% namlikkacha quritilgandan keyin chirituvchi va pigmentli bakteriyalarning eng chidamli turlari, shuningdek, mitseliyli zamburug'larning sporalari tirik qoladi.

Namuna ajratib olish. Tuxum bilan melanj zararlanganligi gumon qilinganda u sanitariya inspeksiyasi talabiga ko'ra tekshiriladi. Analiz qilish uchun ovoskopiya qilganda sifati gumonli bo'lgan tuxumlar olinadi. Buning uchun tuxumning ustini sterillangan suvda ho'llangan paxta bilan artib, spirt shimdirilgan tampon bilan kuydiriladi. So'ngra po'stini sterillangan pinset bilan teshib, ichki moddasi pipetkada aralashtiriladi va tekshirish uchun namuna olinadi. Melanjni analiz qilishda har partiyadan 6 bankadan, har bankadan 20—25 g dan namuna olinadi. Namuna tuxum poroshogining 5—10 sm chuqurligidan maxsus namuna oluvchi asbobda olinadi.

Mikroorganizmlar umumiy miqdorini aniqlash. Tuxum, melanj, tuxum poroshogini nazorat qilishda 1 g dagi mikroorganizmlar soni, koli-titr, o'rdaklarning tuxumi va melanjini tekshirishda, salmonellalar guruhiga mansub bakteriyalar bor-yo'qligi aniqlanadi. 10 marta suyultirilgan (tuxum va melanj 1:10 dan 1:10⁴ gacha, tuxum poroshogi 1:10 dan 1:10² gacha) suyultirmani GPAGA ekib, termostatda 37°C issiqda 48 soat saqlanishi kerak. Koli-titr

standart usulda aniqlanadi. Salmonellalar differensial-diagnostik muhit quyib, yaxshilab quritilgan likopchaga ekib aniqlanadi.

Melanj, tuxumda va tuxum poroshogida patogen (salmonellalar va tillorang stafilokokklar) va chirituvchi bakteriyalar (*Proteus vulgaris*) bo'lishiga yo'l qo'yilmaydi. Koli-titri 0,1 ml dan past bo'lmasligi kerak.

Kakao dukkagi. Kakao dukkagi kakao poroshogi va kakao yog'i ishlab chiqariladigan asosiy xom ashyo hisoblanadi. Bu mahsulotlar shokolad va shokoladli konfetlar tayyorlashda ishlatiladi. Ta'mini yaxshilash uchun kakao dukkagi fermentatsiya qilinadi, quritiladi va qovuriladi. Ana shunda mikroorganizmlar nobud bo'ladi. Agar kakao dukkagi uzoq vaqt saqlansa (ayniqsa sernam sharoitda), ular yuzasida mikroorganizmlar qaytadan rivojlanadi. Ularni mitseliyli zamburug'lar, achitqilar buzadi.

Sanitariya inspeksiyasi talabi bo'yicha kakao dukkagi mikrobiologik analiz qilinganda, koli-titri, mikroorganizmlarning umumiy miqdori va patogen formalar bor-yo'qligi aniqlanadi.

Un. Un mikroflorasi va uni tekshirish 9.1-bo'limda bayon etilgan. Mikroorganizmlar bilan zararlangan un taxir, nordon, mog'orlagan, qandolatchilikda ishlatishga yaroqsiz bo'ladi.

Meva-rezavor yarim tayyor mahsulotlari. Meva-rezavor yarim tayyor mahsulotlari (pyure, povidlo, murabbo) ni saqlash davrida yuqori temperaturaga, kislotalarga va konservantlarga chidamli turli mikroorganizmlar rivojlanishi mumkin. Ayniqsa pyure tez buziladi; pyure tayyorlash uchun mevalar yuviladi, bug'latib, keyin artiladi, konservantlar (0,1—0,2% sulfat kislota yoki sorbin kislotaning natriyli tuzi 0,07%) qo'shiladi va bochkalarga quyiladi. Pyureda spirtli bijg'ish (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. vini* va boshqalar), sirka kislotali (*Acetobacter*) yoki sut achituvchi (*Lactobacillus*, *Streptococcus*) bijg'ishlar ro'y berishi mumkin. Ba'zan uning yuzasida achitqilar va mitseliyli zamburug'lar

pardasi hosil bo'ladi. Natijada mahsulotning kimyoviy tarkibi o'zgaradi, ta'mi va hidi yomonlashadi.

Povidlo ancha turg'un hisoblanadi, chunki unga shakar qo'shilgandan keyin qaynatiladi. Lekin povidlo noto'g'ri saqlansa yoki uni tayyorlash texnologik rejimi buzilsa, tayyor mahsulotda mikrobiologik jarayonlar borishi mumkin. Povidloni *Saccharomyces* turkumiga mansub osmofil achitqilar bijg'itadi. Shakar, iflos idishlar, havo bu achitqilar manbai bo'lishi mumkin. Povidloning yuzasida mitseliyli zamburug'lar rivojlanishi tufayli u mog'orlaydi.

Mahsulotda shakar miqdorining kamayib ketishi, yomon ta'm va hid paydo bo'lishi yuqorida aytib o'tilgan jarayon natijasidir.

Mikroorganizmlar miqdorini aniqlash. Meva pyuresi va povidlosi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini va achitqi hamda zamburug'lar bor-yo'qligini aniqlash uchun analiz qilinadi. Koli-titri aniqlanmaydi, chunki yarim tayyor mahsulotlarning kislotaliligi yuqori bo'lgani uchun ichak tayoqchasi rivojlana olmaydi.

10.2.2. Tayyor mahsulotlarni nazorat qilish

Kremli mahsulotlar (tortlar, pirojniylar). Krem mikroorganizmlar, shu jumladan, patogen turlari ko'payishi va saqlanishi uchun eng yaxshi substrat hisoblanadi. Agar krem uy (xona) temperaturasida saqlansa, 12 soatdan keyin uning 1 g dagi mikroorganizmlar soni sanitariya-gigiyena normalaridan ortib ketadi.

Mikroorganizmlar kremga eng avval xom ashyo: sut, slivka, tuxum, yog', shakar bilan birga tushadi. Krem tayyorlash jarayonida ko'pchilik mikroblar hujayrasi tirik holatda qoladi. Krem namunalari ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar, chirituvchi bakteriyalardan *Proteus vulgaris*, spora hosil qiluvchi *Bacillus subtilis*, mikrokokklar, sut achituvchi va pigment hosil qiluvchi bakteriyalar, achitqilar, mitse-

liyli zamburug'lar topilgan. Ular rivojlanib, kremli mahsulotlarning ta'mini buzadi va tovarlik sifatini pasaytiradi. Patogen stafilokokklar, *Salmonella* turkumining vakillari ayniqsa xavfli hisoblanadi. Chunki ular odamning ovqatdan zaharlanishiga va oshqozon-ichak kasalliklariga sabab bo'lishi mumkin.

Tillorang va oq stafilokokklar ishchining qo'lida yiringli mayda toshmalar bo'lsa, havo-tomchi usulida va boshqa yo'llar bilan kremga tushadi. Ular kremda rivojlanib, ekzotoksin (enterotoksin) ajratadi. Enterotoksin isitishga anchagina chidamli, qaynatishga va hatto undan yuqori temperaturaga ham chidaydi. Stafilokokklar noqulay ta'sirlarga chidamli: namlik 40%, shakar miqdori 40—50% gacha bo'lgan sharoitda ham o'sadi, 70—80°C gacha isitilganda 20—30 minutdan keyingina nobud bo'ladi. Toksin hosil bo'ladigan optimal temperatura 35—37°C, xona temperaturasida 4—5 soatdan keyin hosil bo'ladi. 5—6°C da saqlanganda, toksin sintezlanishi sekinlashadi. Shuning uchun pirojniy va tortlarni temperaturasi 5°C dan yuqori bo'lmagan, havosining nisbiy namligi 70—75% bo'lgan sharoitda saqlash kerak. Stafilokokklar mahsulotning organoleptik xossalarini o'zgartirmaydi, lekin 1 g dagi soni 10^6 — 10^9 bo'lsa, oshqozon-ichak zaharlanishiga olib keladi.

Namuna ajratib olish. Har qaysi partiyadagi kremli mahsulotdan 2 tadan namuna olinadi va sterillangan idishga solib, tezda tekshiriladi.

Mikroskopda ko'rish Kremni 40—45°C issiq suv hammomida isitib, yupqa mazok tayyorlanadi va spirt bilan efir aralashmasida yog'sizlantirib (1:1), Gram usulida bo'yaladi va tekshiriladi.

Kokk formalariga (stafilokokklarga) va grammanliy tayoqchalarga alohida e'tibor beriladi.

Bakteriyalar miqdorini aniqlash. Aerob mezofil turlar kremning issiq suvdagi suyultirmasini (1:10-1.10³) GPAGA ekib aniqlanadi. Koli-titri standart usulda

aniqlanadi (patogen mikroorganizmlar yo'qligida kamida 0,1 ml dan kam bo'lmasligi kerak). Gumonli koloniyalar topilsa, krem namunalari differensial-diagnostik muhitda tekshiriladi. Buning uchun qattiq muhitga ekib, 37°C da 24—48 soat o'stiriladi. Stafilokokklar sut-tuzli agarda diametri 2—4 mm li, chetlari tekis, oq, tillo rang, sariq rangli disk shaklidagi koloniyalar hosil qiladi; tuxum sarig'idan tayyorlangan tuzli agarda koloniyalar atrofida yoysimon tojlar va muhitning loyqalanish zonaları kuzatiladi.

Marmelad, pastila, sariyog'li pomadka, karamel, shokoladli mahsulotlar. Marmelad-pastila mahsulotlari yuzasida ko'pincha *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus* turkumlariga mansub mitseliyli zamburug'lar koloniyasi rivojlanadi. Ularning rivojlanishini to'xtatish uchun marmeladni natriy benzonatning 1% li eritmasi yoki sorbin kislotaning 0,4% li spirtli eritmasi bilan ishlov berilgan pergament qog'ozga o'rab joylash kerak. Kremi bor shokoladli mahsulotlarning yorilishi, uzilib to'kilishi va shaklining buzilishi osmofil achitqilar — *Saccharomyces*, kamdan-kam holda *Brettanomyces* turkumiga mansub achitqilar ko'payishi natijasida gaz hosil bo'lishi bilan bog'liq. Ushbu mahsulotlarning ichida, shuningdek, *Penicillium* va *Aspergillus* zamburug'lari ham uchrashi mumkin.

Karamel, konfet, shokoladlar mexanizatsiyalashtirilgan potok liniyalarda tayyorlanadi. Shuning uchun ularga odam qo'li tegmaydi. Namlikning kamligi, shakar konsentratsiyasi yuqoriligi va qattiq konsistensiya mikroorganizmlarning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi. Faqat konfetlarning sariyog'li pomadkali yoki likyorli ayrim turlarining namligi yuqori bo'ladi. Shuning uchun saqlash davrida ular shishib chiqishi, yorilishi va shakli o'zgarishi mumkin. Osmofil achitqilar va gaz hosil qiluvchi bakteriyalar ta'sirida shakarlar bijg'ishidan gaz ajralib chiqishi bunga sabab bo'ladi.

N a z o r a t. Shokoladli mahsulot sanitariya inspeksiyasi talabiga ko'ra mikrobiologik nazorat qilinadi. Bunda uning

koli-titri va bakteriyalarning umumiy miqdori, patogen bakteriyalar bor-yo'qligi aniqlanadi. Mahsulotda ichak tayoqchalarini, ayniqsa, patogen mikroorganizmlar bo'lmashligi kerak.

11. SHAKAR ISHLAB CHIQRISHNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Qand lavlagining mikroorganizmlar keltirib chiqaradigan kasalligini o'rganish. Yarim tayyor mahsulotlar va shakar mikroflorasini o'rganish.

Qand lavlagidan shakar ajratib olish va uni kristall mahsulotga — shakarga, presslangan shakar-qandga aylantirish texnologiyasi murakkab fizik-kimyoviy va ko'p bosqichli jarayondir. Shakar ishlab chiqarish texnologik jarayoni mikroorganizmlarning hayot faoliyatiga ta'sir etmaydi. Biroq mikroorganizmlar ishlab chiqarishga va saqlanayotgan xom ashyoga katta zarar yetkazadi. Ularning hayot faoliyati natijasida shakar xom ashyoligi vaqtida ham, uni ishlab chiqarish jarayonida ham ko'p nobudgarchilik bo'lishi kuzatiladi.

Zararli mikroorganizmlar manbai va ularning kirish yo'llari xuddi boshqa oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishdagi kabi, birlamchi (xom ashyo, suv, tuproq) va ikkilamchi (asbob-uskunalar) bo'ladi.

11.1. Zararli mikroorganizmlar ta'sirida lavlagining kasallanishi

Lavlagining vegetatsiya davridagi kasalliklari. Lavlagi o'sishi davrida tuproq-iqlim sharoiti noqulayligi, oziqlanish rejimining buzilishi, ildiz mevalari qoplaminig zararkunandalar yoki yerga ishlov berish qurollari bilan zararlanishi natijasida har xil kasalliklar bilan kasallanadi.

Rizoktoniyani *Rhizoctonia violacea* zamburug'i qo'zg'atadi (qizil chirish kasalligi). Bunda lavlagining faqat po'chog'i ostidagi tashqi qismi chiriydi. Lavlagi kesib qaralganda, qizargan va qo'ng'ir-qoramtir to'qimalar ko'rinadi.

Qo'ng'ir chirishni *Rhizoctonia aderholdi* zamburug'i qo'zg'atadi, natijada lavlagi ildizmevasi buziladi, barglari tezda qurib qoladi.

F o m o z (quruq qora chirish, ya'ni o'zagining chirishi) ni *Phoma betae* zamburug'i qo'zg'atadi. Barglarida konsentrik zonali sarg'ish-qo'ng'ir dog'lar shaklida paydo bo'ladi. Tanasida (poyasida) oq dog'lar hosil qiladi. Zararlangan to'qima qora, quruq va qattiq bo'ladi.

N a y c h a l a r nekrozini *Fusarium*, *Trichoderma*, *Verticillium* turkumiga kiruvchi zamburug'lar qo'zg'atadi. Kasallik qurg'oqchilik sharoitida kelib chiqadi. Tuproq qurib, yorilishi natijasida lavlagining nimjon yon ildizchalari qurib, nobud bo'ladi, zamburug'lar mitseliysi esa naychalar tutami orqali ildizmevaning ichiga kiradi, natijada o'simlik quriydi. O'sishning kechroq bosqichlarida kasallansa, lavlagining naychalar tutami oldin qo'ng'ir rangga kiradi, keyin qorayib nobud bo'ladi. Ildizmevalar saqlanayotgan davrda nekros davom etaveradi.

L a v l a g i q o ' t i r i (p a r s h a) ni aktinomitsetlar qo'zg'atadi. Kasallangan lavlagi ildizmevasida mayda yoriqlar, egatchalar, qo'ng'ir yoki qora rangli yarachalar paydo bo'ladi.

I l d i z r a k i d a yirik o'siqlar paydo bo'ladi. Lavlagini saqlash davrida ular oson chiriydi.

S i l d a lavlagining bo'yin qismida o'siqlar paydo bo'ladi.

K a v a k l i k tuproq namligining va oziqlanish rejimining keskin o'zgarishi natijasida paydo bo'ladi. Ildizmevalar parenximasi chetki va markaziy qismlarning notekis o'sishi natijasida to'qimalar uzilib, kavak hosil bo'ladi. Kavakdagi to'qimalar qo'ng'ir rangga kiradi va turli mikroorganizmlar, asosan, bakteriyalar va *Fusarium*, *Mucor* zamburug'lari ta'sirida parchalanadi. Ichi kavak lavlagi saqlanganda tez chiriydi.

Lavlagining saqlash davridagi kasalliklari. K a g a t c h i r i s h n i bakteriya va zamburug'lar qo'zg'atadi. Natijada qand lavlagi ildizlari yumshab, buziladi. Bu kasallikni asosan

mitseliyli zamburug'lar qo'zg'atadi. Ularning 150 dan ziyod turi bor.

Qand lavlagini saqlash davrida mitseliyli zamburug'lar botritioz, fuzarioz va fomez kasalligini qo'zg'atishi mumkin.

B o t r i t i o z n i *Botrytis cinerea* zamburug'i qo'zg'atadi. U, odatda, ildizning kesilgan, ezilgan, tiralgan va boshqacha mexanik shikastlangan joyida rivojlanib, oq yoki kulrang mitseliy hosil qiladi. Ildizning chirigan to'qimasi qoramtir rangga kiradi. 1,5—2,0 oydan keyin sklerotsiyalari shakllanadi va ikki yilgacha yaxshi saqlanadi. Zamburug' juda ko'p fermentlar (sellyulazalar, pektinazalar, invertaza) ajratadi. Ular ildiz hujayralari devorini, hujayralararo moddalar va saxarozani aktiv ravishda buzadi va boshqa mikroorganizmlarning ko'payishi uchun sharoit yaratadi. Kislotali (pH 4,5—5,0) muhit, temperatura 25°C (–4°C dagina zamburug' o'sishdan to'xtaydi), havoning nisbiy namligi kamida 94% (90% da ko'payishdan to'xtaydi), aeratsiya aktiv bo'lishi zamburug'lar rivojlanishi uchun qulay sharoit hisoblanadi. Neytral muhitda zamburug'ning o'sishi sekinlashadi, ishqoriy muhitda butunlay to'xtaydi va nobud bo'ladi. Botritiozga qarshi kurash choralaridan biri ana shunga asoslangan.

F u z a r i o z n i *Fusarium* turkumiga mansub zamburug'lar qo'zg'atadi. Bu zamburug'ning qand lavlagi vegetatsiyasi davrida ildizida va lavlagini saqlash vaqtida parazitlik qiladigan 60 dan ziyod turi ma'lum. Omborga ko'pincha dalada chirigan ildizlar bilan kelib qoladi. To'qimaning zararlangan qismida pushti yoki och sariq rangli yirik ochiq mitseliy hosil bo'ladi. Ba'zan bu mitseliy bir nechta ildizni birga o'rab oladi. Lavlagi to'qimasi aktiv turlar mitseliysi tagida to'q qo'ng'ir va hatto qora rangga kiradi. Tarkibida fermentlar to'plami ko'p bo'lgani uchun fuzariylar juda aktiv. Pektinazalar ildiz-mevalarning parenxima to'qimalarini matseratsiya qiladi. Sellulozalar hujayralar devorini buzadi. Invertaza saxarozani gidrolizlaydi. *Fusarium* ning ko'p turlari pH 2,0 dan 9,0 gacha (ba'zan undan yuqori), optimum pH

3,5—5,0 bo'lganda o'sa oladi. Ularning optimal o'sish temperaturasi 18—20°C atrofida (chegarasi 0—35°C). Fuzariylar fakultativ anaeroblardir.

F o m o z n i *Phoma betae* zamburug'i qo'zg'atadi. To'qimalar orasiga botib kirgan juda ko'p yumaloq piknidalari ko'payish organi hisoblanadi. Bu zamburug' saxarozani shiddat bilan parchalaydi. Kislotalilikka kam talabchan, pH 3,0 dan 9,0 gacha bo'lganda, shuningdek, kislorod juda kam bo'lgan sharoitda rivojlanadi. 95% li nisbiy namlikda yaxshi rivojlanadi. Lavlagiga ohak bilan ishlov berish fomezga qarshi kurashda kam samara beradi, chunki zamburug' kuchli ishqoriylikka chidamli.

Omborda chirishni ko'pincha har xil mikroorganizmlar birgalikda qo'zg'atadi. Omborlarda temperatura yuqori bo'lishi *Rhizopus nigricans* nomli termofil zamburug'ning rivojlanishiga qulay ta'sir etadi, bu zamburug' ildiz to'qimalarini aktiv ravishda buzilishiga ko'ra, ba'zan *Botrytis cinerea* dan ham o'tadi. Bu zamburug'ning temperatura optimumi 30—35°C. U kislorodsiz ham yaxshi rivojlanadi. Saxarozani parchalab, *Rhizopus nigricans* spirtli bijg'ishni qo'zg'aydi. Tarkibida aktiv pektolitik va amilolitik fermentlar bor. O'rgimchak ipiga o'xshash hurpaygan mitseliysi ildiz bo'ylab tez tarqaladi. Bu zamburug' qo'zg'atgan ildiz chirishi ochiq yoki och qo'ng'ir rangli bo'ladi.

Penicillium, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Cladosporium* ning ko'p turlari tipik saprofit va yarim saprofitlar omborda chirish bilan birga uchraydi. Ular uzoq saqlanayotgan lavlagi yuzasida rivojlanib o'sadi, hujayralar po'stini eritadi, uglevodlar, oqsillarni gidrolizlab, buzishni davom ettiradigan va qand lavlagini yaroqsiz holga keltiradigan bakteriyalarning ko'payishi uchun sharoit hozirlaydi.

Bakteriyalarning qand lavlagini saqlashdagi chirituvchi asosiy turlari fiziologik-biokimyoviy belgilariga ko'ra *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri* ning xilma xil turkumlari va turlariga kiradi. Ular shakarlarini bijg'itib, sut

kislota, sirka kislota, chumoli kislota, CO₂ va spirt hosil qiladi; geterofermentativ kokklar — *Leuconostoc mesenteroides* va *L. decstranicum* shilimshiq-dekstran hosil qiladi; chirituvchi bakteriyalar — *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus megaterium* lavlagining oqsil moddalarini va uglevodlarni buzadi. Yog' kislota hosil qiluvchi bakteriyalar pektin moddalarni, kraxmal va shakarni gidrolizlaydi.

Lavlagi ildizmevasi bakteriozining quyidagi xillari: shilimshiqli, naychali tolalar bog'lamining qorayishi va qurishi uchraydi. Shilimshiq bakterioz eng ko'p tarqalgan. Boshqa turlari kamroq uchraydi. Shilimshiq bakteriozni qo'zg'atuvchi bakteriyalar (*Erwinia aroideae*, *E. carotovara*) kislorod borligida ham, CO₂ atmosferasida ham yaxshi rivojlanadi. Aktiv pektolitik fermentlari borligi tufayli ular ildiz to'qimasi ichkarisiga kirib, hujayralar moddasini shilimshiqqa aylantiradi. Ildizmevalar yumshoq bo'lib qoladi. Agar ezilsa, bo'shliqlardan tiniq yoki loyqa suyuqlik ajraladi. Lavlagidan qo'lansa hid keladi. Shilimshiq bakteriozda ko'pincha *Saccharomyces* turkumiga mansub achitqilar uchraydi. Ular hujayra shirasidagi shakarni bijg'itib, spirt va CO₂ hosil qiladi.

Namuna ajratib olish. Har smenada bir xil miqdorda lavlagi namunasi olinadi va analiz qilish uchun xom ashyo laboratoriyasiga yuboriladi, u yerda namunaning umumiy vazni (massasi), chirigan massa foizi, chirib ketgan lavlagining umumiy soni va foizi aniqlanadi.

Zamburug'larning omborda chirish kasalligini qo'zg'atuvchi turlarini aniqlash. Aktiv zamburug'larni ajratib olish uchun tekshirilayotgan ildiz-mevalar sterillangan suvda chayiladi va chirigan to'qimasi bo'ylab kesiladi. So'ngra sterillangan skalpelda sog' va zararlangan to'qima chegarasidan o'yib olinadi. Uni eritib, keyin 45—46°C gacha sovitilgan quyuq ozuqa muhiti bo'lgan probirkaga solinadi, yaxshilab aralashtiriladi, shundan keyin Petri likopchasiga quyiladi.

Lavlagi ildizmevasi yuzasidagi zamburug'larni ajratib olish uchun eritilgan agarli probirkaga sterillangan ignada mitseliy bo'lakchasi yoki konidiyalar uvog'i solib, aralash-tiriladi va Petri likopchasiga quyiladi. Keyin likopchalarni termostatga 18—25°C issiqqa qo'yib, har kuni o'sishi kuza-tiladi. Koloniyalar paydo bo'lishi bilanoq ular probirkadagi qiya qattiq agarga ekiladi. Likopchanning tubida namuna olingan joy belgilab qo'yiladi. Bir necha kun kuzatuv olib boriladi. Zamburug'larning yangi koloniyalari probirkadagi qiya agarga ekiladi. Zamburug'larni differensial-diagnostik muhitga ekib, ularning turlari aniqlanadi.

11.2. Yarim tayyor mahsulotlar va shakar mikroflorasi

Shakar ishlab chiqarishda uning hisobga olinmagan nobudgarchiligi qayta ishlanadigan lavlagi massasining 0,5—1,0% ni tashkil etadi va ma'lum darajada mikroorganizmlar hayot faoliyatining natijasi hisoblanadi. Lavlagini qayta ishlashdagi texnologik jarayonning dastlabki bosqichlarida: uni yuvish, to'g'rashda, diffuzion apparatlarda infeksiyalovchi mikroorganizmlarning paydo bo'lishi va rivojlanishi uchun eng qulay sharoit hosil bo'ladi.

Lavlagi qirindisi. Lavlagi qirindisining mikroorga-nizmlar bilan zararlanishi lavlagining holatiga, lavlagi yuvi-ladigan suvning bakteriologik xarakteristikasiga, lavlagining loyi va boshqa aralashmalari yuvilgan suvning sifatiga bog'liq.

Mikroorganizmlar lavlagini yuvish bo'limiga loy yopish-gan ildizmevalardan, transportyorda yuvilgan suvdan tushadi. Ko'p marta qayta ishlatilgan suvning 1 ml da bir necha yuz mingdan bir necha milliongacha mikroorganizm bo'ladi. Transportyorda yuvish uchun ishlatiladigan suv spora hosil qiluvchi bakteriyalar, shilimshiq hosil qiluvchi *Leuconostoc*, achitqilar — *Saccharomyces*, *Candida* va hokazolar manbai bo'lishi mumkin.

Namuna ajratib olish. To'xtovsiz diffuziya holatida lavlagi qirindisidan sterillangan pinsetda namuna olib, sterillangan yoki yaxshilab yuvilgan idishga solinadi. Namuna bevosita bug'latgich oldidan yoki batareyali diffuzordan olinadi.

Lavlagi qirindisini tekshirish. Qirindining infeksiyalanganligi to'satdan o'zidan-o'zi bijg'ish va qirindidan mikroorganizmlarni yuvib olish usullarida aniqlanadi.

To'satdan bijg'ish usulida sterillangan kolbaga 50 g qirindi solinib, ustiga 150 ml sterillangan suv quyiladi, dastlabki pH ni o'lchab, termostatga 55—60°C ga qo'yiladi. pH har soatda o'lchab turiladi. Qirindining bakterial aktivligi vaqt bo'yicha aniqlanadi, bu vaqt davomida pH o'zgarmaydi. Agar 6 soatdan keyin pH pasaymasa (6,8 darajada qoladi), lavlagi sifatli deb hisoblanadi. Diffuziya uchun kelayotgan suv ham o'zidan-o'zi bijg'ish usulida analiz qilinadi.

Lavlagi qirindisidagi mikroorganizmlarning miqdori va tur tarkibi yuvish usulida aniqlanadi. Buning uchun undan 50 g tortib olib, sterillangan kolbaga solinadi va ustiga 50 ml sterillangan suv quyiladi. 10—15 minut yaxshilab chayqatiladi, mikroorganizmlar yuviladi. Keyin 100 ml li kolbaga 5 ml quyib olib, suyultiriladi (1:10, 1:10², 1:10³) va har xil muhitga ekiladi.

Diffuzion sharbatning mikroorganizmlar bilan ifloslanganligi ma'lum darajada diffuziya jarayonidagi temperaturaga va pH ga, ishlatiladigan suvga, apparatlar konstruksiyasi va ishlash maromiga bog'liq.

Diffuzion sharbatda *Bacillus* va *Clostridium* turkumlariga mansub spora hosil qiluvchi bakteriyalar tez-tez topiladi. Ular saxarozani parchalaydi, organik kislotalar, sirka aldegid, gazlar (CO₂, H₂) va nitritlar to'playdi. Ayrim turlari oqsillarni parchalab, ammiak ajratadi. *Bacillus subtilis* ning tur xillari boshqa bakteriyalar bilan birgalikda shilimshiq massa hosil bo'lishiga yordam beradi. Diffuziya jarayonida bakteriyalar yuqori temperaturaga moslashadi va 67—70, hatto 75—

80°C da ko'payadigan o'ziga xos yig'indi to'plamni tashkil qiladi. Bakteriyalarning sporalari ishlab chiqarishning keyingi bosqichlarida ham hayotchanligini saqlaydi.

Leuconostoc turkumiga mansub (*L. mesentereoides* va *L. dextranicum*) shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar anchagina xavf tug'diradi. Ular ko'payganda diffuzion sharbat shilimshiqlanadi, cho'ziluvchan, liqildoqsimon bo'lib qoladi va apparatlarda qiyin suriladi, yaxshi filtrlanmaydi. Kapsulasi borligi tufayli *Leuconstoc* hujayralari yuqori temperaturaga va antiseptiklarga chidamli bo'ladi. Quritilgan dekstran uvoqchalarida hujayralar hayot faoliyatini 3,5 yilgacha saqlaydi.

Mezofil bakteriyalar — *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides* juda ko'p gaz hosil bo'lishiga sabab bo'ladi. Bu xavfli bo'lib, ya'ni portlash sodir bo'lishi va apparatlar to'xtab qolishi mumkin.

Lactobacillus turkumiga mansub sut achituvchi bakteriyalar shakarlarni parchalab, kislota hosil qiladi. Diffuziya jarayonida achitqilar ham anchagina shakarni o'zlashtiradi.

Diffuzion qurilmalarni ta'minlash uchun qaytuvchi (jom presslangan. barometrik) va daryo (hovuz) suvi yuboriladi. Suv va lavlagi yaxshilab tayyorlangan bo'lishiga qaramay, diffuzion apparatlarning asosiy qismiga mikroorganizmlar lavlagi qirindisi, tuproq zarrachalari va transportyorni yuvuvchi suv bilan birga, oxirgi qismiga jomni presslovchi va barometrik suv bilan birga tushadi.

Ishlov berilgan barometrik suv mikroblar bilan zararlanganligi bo'yicha daryo (hovuz) suvi bilan bir xil bo'ladi. Qayta ishlatilgan suv mikroorganizmlar bilan ifloslangan bo'lib, uning 1 ml da yuz ming va hatto o'n millionta mikroorganizmlar bo'ladi.

Namuna ajratib olish. Diffuzion sharbatdan har soatda sterillangan idishga namuna olinadi. Davriy diffuziyada har qaysi diffuzordan alohida namuna olinadi. Bunda oldin

jo'mrakda turib qolgan sharbat ozgina chiqarib yuboriladi va keyin namuna olinadi. To'xtovsiz ishlaydigan apparatlarining esa har xil seksiyalaridan olinadi.

Diffuzion sharbatni tekshirish. Olingan namunada: aktiv (pH) va titrlanadigan kislotalilik, invert shakar miqdori, bevosita mikroskopda ko'rib (bo'yamasdan yoki kongo-qizil bilan bo'yab) yo bo'lmasa hisoblash kamerasida mikroorganizmlar soni aniqlanadi.

O'zidan-o'zi bijg'ish namunasida diffuziya jarayonida mikroorganizmlarning rivojlanishini kuzatish mumkin. Buning uchun 200 ml diffuzion sharbat olib, sterillangan kolbaga solinadi va dastlabki pH o'lchanadi, keyin kolba og'zini paxta tiqin bilan berkitib, termostatga 55—60°C ga qo'yiladi. Har soatda pH aniqlanadi. Jarayon normal borganda sharbatning pH o'zgarmaydi va 6,2—6,6 ga teng bo'ladi.

1 ml dagi mikroorganizmlar sonini sanash va infeksiyalanish holatini aniqlash uchun qattiq ozuqa muhitiga (GPAGA, 10% saxaroza qo'shilgan GPAGA, Chapek muhitiga, suslo-agarga) ma'lum miqdorda diffuzion sharbat ekiladi. Mezofil mikroorganizmlarni aniqlash uchun mikroorganizmlar ekilgan Petri likopchalari 35—37°C da, termofillar —55—60°C da, mitseliyli zamburug'lar va achitqilar —22—25°C da saqlanadi.

Bakteriyalar 2 kundan, zamburug'lar 7 kundan keyin hisobga olinadi va analiz qilinadi.

Yuqorida aytilgan analizlarni qaytar suvlarning (jom presslangan, transportyorni yuvgan, barometrik suvlarning) infeksiyalanganini tekshirishda qo'llash mumkin (smenada bir marta analiz qilinadi).

Saturatsiya sharbati va siroplar. Ishqoriy muhit pH 9,8—11,5 saturatsion sharbatda, yuqori temperatura sirop-larda mikrofloraning rivojlanishiga yo'l qo'ymaydi, natijada ular kam infeksiyalanadi. Termofillarning sporalari va kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning hujayralari hayotchan holatda — tirik qoladi. pH 9,0 gacha pasayganda preddefeka-

torlarda bakteriyalar, asosan, shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalari rivojlanishi kuzatiladi. Bunda sharbat jelega o'xshash massaga aylanib qoladi.

Mikroorganizmlar sharbatni filtrlash bosqichida, ayniqsa, filtr-pressda ishlanganda ko'payishi mumkin. Agar texnologiya buzilishi natijasida filtrlanish to'xtab qolsa yoki sanitariya-gigiyena talablariga amal qilinmasa, sharbatda shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar aktiv rivojlana boshlaydi. Shilimshiq filtrlash jarayonini to'xtatadi.

Qolgan boshqa mahsulotlarda (sirop, oqib tomib tushgan mahsulot, klerovka, utfelda) termofil bakteriyalar, osmofil achitqilar, mitseliyli zamburug'larning eng chidamli sporalari birmuncha qoladi. Mahsulotlarning apparatlarda turib qolishi va ikkilamchi infeksiyalanishi: yig'uvchi idishlar, vakuum-apparatlar, sharbat tutuvchilarda mikroorganizmlar koloniyasi bo'lishi, kristallizatorlarga, sentrifuga, tebratma transportyorga suv va iflos havo bilan sporalar, vegetativ hujayralar tushishi infeksiyalanishning kuchayishiga imkon beradi.

Namuna ajratib olish. Sharbat, sirop, klerovka utfel namunasini sterillangan idishga solib, zavod yoki guruh laboratoriyasida tekshiriladi. Namunalarni 5°C temperaturada 24 soatdan oshirmay saqlash kerak.

Yarim tayyor mahsulotlarni tekshirish. Sharbat namunasida aktiv kislotalilik (pH) va mikroorganizmlar mavjudligi (bevosita mikroskopda qarab) aniqlanadi: preddefekatorida pH kamida — 10, mikroorganizmlar soni — har bir ko'rish maydonida 1—2 ta bo'lishi kerak. 10 g sirop tortib olib, 1:10 ga suyultiriladi. Hosil bo'lgan eritmani sterillangan ikkita kolbaga quyib, og'zini paxta tiqin bilan berkitiladi. Kolbalarning biri qaynayotgan suv hammomida 5 minut qizdiriladi. Mezofil mikroorganizmlarni (shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar, zamburug'lar, achitqilarni) aniqlash uchun isitilmagan kolbadan 1—2 ml eritma olib, 3—5 ta Petri likopchasidagi GPAGA, 10% saxaroza qo'shilgan GPAGA, suslo-agarga, Chapek muhitiga termofil gruppani aniqlash

uchun esa isitilgan kolbadan eritma olib ekiladi. Bakteriyalar soni 48 soatdan keyin, zamburug'lar bilan achitqilar 7-10 kundan keyin hisobga olinadi.

Shakar. Shakar tozalash, quritish, joylash va saqlash jarayonida mikroorganizmlar bilan ifloslanadi. Quruq shakar-da osmofil achitqilar, mezofil va termofil bakteriyalar sporasi, mog'or zamburug'lari konidiyasi va sporalari bo'ladi. Agar shakarning namligi oshsa (0,15% dan yuqori bo'lsa), 1 g dagi mikroorganizmlar soni ko'payib ketadi.

Namuna ajratib olish. Shakar namunasi steril-langan shisha yoki metall bankalarga olinadi. Ularning og'zi zich berkitiladigan bo'lishi kerak. Har 5 qop shakardan 250—300 g dan namuna olinadi. Namunani saqlash muddati uzog'i bilan 7 kun.

Shakarni mikrobiologik analiz qilish haqida 10.2.1-bo'limda bayon etilgan.

12. PIVO, ALKOGOLSIZ ICHIMLIKLAR ISHLAB CHIQARISHNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Pivo ishlab chiqarishda ishlatiladigan achitqilarning asosiy xossalarini va ulardan suyultirma tayyorlashni o'rganish. Pivo va alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarish zararkunandalari bo'lgan mikroblarni ajrata (taniy) bilishni o'rganish. Ekiladigan achitqilar, sharbat va pivo, shuningdek, alkogolsiz ichimliklarni mikrobiologik tekshirish.

12.1. Pivo ishlab chiqarish mikroflorasi

Pivo — asosan undirib yanchilgan arpagaga xmel (qulmoq) o'simligini qo'shib tayyorlanadigan kuchsiz alkogolli ichimlik. Texnologiyaning turli bosqichlarida sharbat moddalarining o'zgarishi va kechadigan biokimyoviy jarayonlar pivo achitqilari faoliyatiga asoslangan. Pivo sharbatida ular uchun zarur moddalar (uglevodlar, aminokislotalar va mineral tuzlar) bo'ladi.

Pivo tayyorlash texnologik jarayonining asosiy bosqichlari: undirib yanchilgan arpa tayyorlash, pivo sharbati (suslo) olish, uni bijg'itish, saqlash, ya'ni yetiltirish, pivoni filtrlash va idishlarga quyishdan iborat.

12.1.1. Pivo ishlab chiqarishdagi zararli mikroorganizmlar

Pivoda mikroorganizmlarning faqat muayyan turlari rivojlanadi; ular pivo ishlab chiqarishdagi o'ziga xos sharoitga moslashgan bo'ladi. Quyida bakteriyalar, begona achitqilar va mog'or zamburug'lardan iborat pivo zararkunandalari ta'riflangan.

Bakteriyalar. Sut achituvchi tayoqchalar (*Lactobacillus* turkumi) pivo tayyorlashdagi barcha bosqichlarda uchraydi. Ular pivoga suslodan, ekilgan achitqilardan, ishchilarning kir kiyimidan, yaxshilab tozalanmagan suvdan tushadi. Filtrlab, idishlarga quyilgan pivoda ipaksimon loyqa (quyqa) hosil qiladi, kislotaliligini oshiradi, metabolism mahsulotlari to'planishi hisobiga pivoning ta'mi va hidi ayniydi. Ba'zi turlari pivoni shilimshiqlashtirib qo'yadi.

Sut achituvchi tayoqchalar uzun va kalta, spora hosil qilmaydigan, harakatlanmaydigan fakultativ anaeroblar bo'lib, spirt, kislotalar va xmelning antiseptik ta'siriga chidamli. Pivodagi uglevodlar va aminokislotalar qoldig'i ularning rivojlanishini kuchaytiradi. Ayrim turlari asosan pastki bijg'ishda uchraydi (*Lactobacillus lindneri*, *L. fridigus*).

Sut achituvchi termofil bakteriyalar *L. delbrueckii* sharbat 50—54°C gacha sovitilganda ham ko'payishi va pivoni achitishi mumkin, xmel qo'shilgan susloda va pivoda rivojlanmaydi.

Pivo sarsinalari (*Pediococcus* turkumi) yakka-yakka, juftlashib, to'rttadan va to'p-to'p bo'lib joylashadigan kokklar; mikroaerofil yoki anaerob bo'lib, rivojlanishi uchun CO₂ ni talab qiladi. Uglevodlarni gomofermentativ bijg'itishi bilan

xarakterlanadi. Spirt ta'siriga chidamli. Optimal rivojlanish temperaturasi 21—25°C, lekin 7 dan 45°C gacha ham o'sishi mumkin. Pediokokklar pivoda pastki bijg'ishda ko'payadi va kamdan-kam yuqorigi bijg'ishda uchraydi. Xmel qo'shilgan suslo va pivoda pediokokklar yaltiroq loyqalanish hosil qiladi, so'ngra suyuq sutga o'xshash loyqalanish, mayda zarrachali cho'kma, shilimshiqlanish hosil qiladi; 2 ml gacha (1 l pivoda) diatsetil to'playdi, uning oxirgi konsentratsiyasi 1 l pivoda 0,2 ml bo'lishi kerak. Pivoning ta'mi yomonlashadi va undan asal hidi keladi; kislotaning diatsetil bilan aralashishi natijasida ana shunday bo'ladi. Bu "sarsina" kasalligidir. Diatsetil ishlab chiqariladigan achitqilarning o'sishi va ko'payishiga salbiy ta'sir ko'rsatadi, ularning cho'kishi va nobud bo'lishini tezlashtiradi.

Kokklar shaklidagi boshqa bakteriyalar: *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* turkumining vakillari ham pivoni buzadi. Ular anaerob sharoitga osonlikcha moslashib, pivoni loyqalantirishi va ta'mini o'zgartirishi mumkin.

Sirka hosil qiluvchi bakteriyalar (*Acetobacter* va *Acetomonas*) pivo yuzasida oq yoki kulrang plyonka hosil qiladi. Bular juda kalta tayoqchalar (52-rasm) bo'lib, yakka-yakka, juft-juft yoki zanjirsimon birlashgan, ayrim turlari harakatlanadi, spora hosil qilmaydi, 5 dan 40°C gacha



52-rasm. Sirka kislotali bakteriyalar.

temperaturada o'sadi, aerofil. Xmel smolalarining fitonsidlik ta'siriga, kislotalarga (pH 4,5 dan 3,2 gacha rivojlanadi), spirtga (8 ob. % gacha) chidamli. Uglerod manbai sifatida spirt bilan shakarlardan foydalaniladi. *Acetobacter* turkumiga mansub bakteriyalar etil spirtini dastlab sirka kislotagacha, so'ngra CO₂ va H₂O gacha oksidlaydi.

Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning ayrim turlari pivoni tez achitishi, loyqalatishi, ta'mini va hidini batamom aynitishi (buzishi) mumkin. *A. capsulatum*, *A. viscosum* shilimshiq va cho'ziluvchanlik hosil qiladi. Shilimshiq miqdori pivodagi dekstrinlar miqdoriga bog'liq. *A. mobile* pivo yuzasida yupqa parda, so'ngra kukunsimon cho'kma hosil qiladi. Bochka va butilkalar yaxshi to'ldirilmasa, og'zi yaxshilab berkitilmasa, idishlar yaxshi yuvilmagan bo'lsa, sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar rivojlanishi uchun qulay sharoit tug'iladi.

Obesumbacterium proteus bakteriyalari yo'g'on kalta tayoqchalar bo'lib, spora hosil qilmaydi, harakatlanmaydi, ko'pincha bir-biriga zanjir shaklida ulangan bo'ladi. Ishlab chiqarishga suv bilan tushadi. Suslo pH 6,0 bo'lganda va yuqori temperaturada yaxshi o'sadi. Pivoda birinchi achish kuniyoq rivojlanadi, pH 4,4—4,5 gacha pasayganda ko'payishi sekinlashadi. Infeksiyalangan pivoda ipaksimon loyqalanish hosil qiladi. Pivo 60°C gacha isitilganda bakteriyalar 5 minutda nobud bo'ladi.

Zymomonas turkumi — tayoqchasimon bakteriyalar bo'lib, glyukoza, fruktozalarni (maltozani emas) biyog'itish ularga xosdir; spora hosil qilmaydi, qat'iy anaeroblar, cheklangan miqdordagi kislorodga chidamli. pH 3,5—7,5 bo'lganda rivojlanadi, xmel moddalariga va past temperaturaga chidamli. *Z. anaerobia* juda harakatchan tayoqchalardir. 2—3 kunda pivoni yaroqsiz holga keltiradi, chunki uni loyqalantiradi va noxush yomon hidli qilib qo'yadi.

Escherichia va *Klebsiella* shirin xmelisiz va xmel qo'shilgan susloda tez ko'payadi va pivoning ta'miga, hidiga ta'sir etadigan juda ko'p har xil moddalar hosil qiladi. Natijada pivo shirinroq, meva mazali va qaynatilgan karam hidli bo'lib qoladi. Ishlab chiqarishga iflos suvdan, ekiladigan achitqilardan, qaytarilgan idishlardan, iflos jihozlardan, ishchilar shaxsiy gigiyena qoidalariga rioya qilmasligidan tushadi.

Yovvoyi achitqilar. Pivo tayyorlashdagi zararli achitqilar yovvoyi achitqilar deb ataladi. *Saccharomyces* turkumiga mansub achitqilar orasida eng ko'p tarqalganlari quyidagilar:

Saccharomyces pastorianus ning hujayralari oval, yakka-yakka, juft-juft yoki kalta zanjir shaklida birlashgan bo'ladi. Asosiy bijg'ishda madaniy achitqilar bilan birga cho'kmaydi, yosh pivo bilan birga yetiltirish sexiga boradi. Rivojlanishining 10—14-kuni rivojlanishi tezlashib, pivo xiralashadi (loyqalanadi), qo'lansa hidli, ta'mi taxir-achchiqroq, yaxshi tiniqlashmaydigan bo'ladi.

Saccharomyces turbidans ning hujayralari elli pssimon va oval shaklda, ko'pincha 4—5 tadan birlashib, zanjir hosil qiladi. Pivoni loyqalantirib va ta'mini o'zgartirib, uni buzadi. 33—34°C da 3—4 kunda pivo yuzasida parda hosil bo'ladi.

Saccharomyces diastaticus pivodagi yuqori spirtlar va efirlar miqdorini oshiradi. Pasterlangan pivoning xavfli zarar-kunandasi hisoblanadi.

Saccharomyces apiculata limon shaklli mayda achitqilardir. Bijg'iyotgan substratda uchuvchan kislotalar, efirlar va vodorod sulfid miqdorini oshiradi. Pivoda cho'kma hosil qiladi, uning ta'mi o'ziga xos taxir va hidli bo'ladi.

Saccharomyces ellipsoideus yakka-yakka, juft-juft oval tayoqchalardir. Pivoni loyqalantiradi, ta'mini buzadi.

Saccharomyces validus shakli va o'lchamiga ko'ra polimorf, cho'ziq, kolbasimon hujayralari ko'p. Xavfli zararkunanda, pivoni buzadi va loyqalantiradi.

Saccharomyces bayanus ning hujayralari elli pssimon. Shakarlarni, shuningdek, etil spirt bilan glitserinni oksidlaydi. Pivo shirinroq, lekin yomon hidli bo'lib qoladi.

Hansenula (H. anomala) turkumiga mansub achitqilar yumaloq, elli pssimon, ba'zan kolbasasimon yoki chuqmorsimon hujayralardir. Spirtlar, shakarlar, organik kislotalarning oksidlanishi hisobiga substrat yuzasida yashaydi va pivoda o'tkir hid hosil qiladi.

Pichia achitqilari (*P. membranafacienes*) uchuvchan kislotalar va juda ko'p miqdorda efirlar hosil qiladi, natijada pivo o'ziga xos meva-efir va dori mazali bo'lib qoladi. Ular pivo yuzasida rivojlanib, xuddi un sepib qo'ygandek, oq parda hosil qiladi.

Suslo bilan pivoni infeksiyalovchi takomillashmagan achitqilardan eng ko'p uchraydigani: *Brettanomyces* pivoda paydo bo'lganda undan kuchli olma hidi keladi va u loyqalanadi.

Candida aerob hisoblanadi, oq yoki och kulrang parda hosil qiladi, pivoni loyqalatishi va hidi hamda ta'mini buzishi mumkin. Kislorod mavjudligi ularning ko'payishiga sharoit tug'diradi (bochka va butilkalar to'ldirilmasa va og'zi yaxshi berkitilmasa).

Torulopsis pivoni loyqalatadi, ta'mini buzadi, filtrlashda ajralmaydi. Pivo torulalarining asosiy zarari shundan iboratki, ular pivoda madaniy achitqilardan oldin nobud bo'ladi va avtolizlanadi, bu esa pediokokklarning rivojlanishi uchun sharoit yaratadi. Ular ko'pincha ekiladigan achitqilarda, yashil solodda, havoda bo'ladi.

Mog'or zamburug'lari. Mitseliyli zamburug'lar (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Endomyces*) ozuqa manbai tanlamaydi va nam bo'lsa, yerto'lalar devorida, shi pida, hatto juda kam miqdorda sharbat yoki pivo yuqi bo'lgan bochka, shlang, katta idishlarda rivojlanadi. Ular chala to'ldirilgan lager tanklardagi pivo yuzasida va turli idishlarda rivojlanishi mumkin. Pivo yot (begona) hidni tez qabul qiladi. *Penicillium* ning har xil turlari mog'or hidi, *Mucor* lar ombor hidi taratadi.

Penicillium solod arpasining murtagi ichiga uning ildizchasidan kirib, uni nobud qilishi mumkin. Bunda solod qorayadi, shakarga aylanish xossasi pasayadi, undan olinadigan susloning kislotaliligi ortadi. *Rhizopus* ham shunday zarar yetkazadi. Yangi o'stirilgan solodda, yormada, idish (chan) larning qurimagan ho'l devorida *Endomyces* uchraydi. *E. luputi* yaxshi quritilmagan xmelni buzadi.

12.1.2. Pivo ishlab chiqarishda foydalaniladigan achitqilar va ularni ko'paytirish usuli

Pivo ishlab chiqarish achitqilar faoliyati natijasida amalga oshadigan biokimyoviy jarayondir. Ishlatiladigan achitqilarning xossalriga ko'ra, pastki bijg'ish (6—10°C temperaturada) va yuqorigi bijg'ish (14—25°C temperaturada) farq qilinadi. Bijg'ish natijasida pivoda 3—8% alkogol, 0,4% gacha karbonat angidrid va qo'shimcha mahsulotlar to'planadi.

Suslo muayyan sort uchun mos keladigan miqdorda spirt hosil bo'lguncha bijg'itiladi. Susloning miqdoriga qarab, 0,5% achitqi qo'shiladi. Bijg'ish davomida ular miqdori 3—3,5 marta ko'payadi.

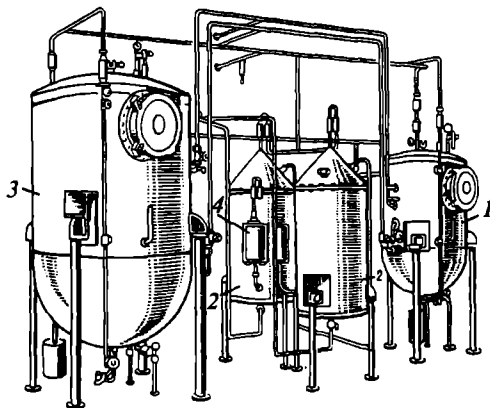
Pivo ishlab chiqarishda achitqilarning *Saccharomyces carlsbergensis* turiga mansub irqalaridan ko'p foydalaniladi.

Pivo ishlab chiqarishda achitqilarning asosiy ko'rsatkichi bijg'itish kuchi (energiyasi), ko'payish va cho'kish xossasi, shuningdek, pivoda muayyan ta'm va hid hosil qilishidan iborat.

Achitqilarni saqlashda ishlab chiqarish uchun qimmatli bo'lgan xossalari doimiy saqlanishi zarur. Zavod sharoitida achitqilarni 5—8°C dan yuqori bo'lmagan temperaturada saqlash yo'li bilan bunga erishiladi. To'plamlar davriy ravishda, lekin har yili kamida 4 marta yangi suslo-agarga qayta ekiladi.

Toza to'plamni ko'paytirishdan maqsad muzey kolleksiyasidagi probirkadan achitqi olib, uni bijg'ituvchi apparatga uzatiladigan miqdorda ko'paytirishdan iborat.

Toza to'plamni laboratoriyada ko'paytirish bosqichi. Toza to'plamli probirkadan sterillangan holatda achitqi olib, 300 ml sterillangan suslo solingan kolbaga qo'shiladi. Kolbani termostatga qo'yib, 18—25°C da 24—36 soat saqlanadi. Keyin yaxshi bijg'igan suslo 2—3 l susloli 3—5 l hajmli butilga steril holatda quyiladi va 15—18°C temperaturada 24—36 soat saqlanadi. Ushbu butildagi bijg'igan suslo



53-rasm. Greyner apparati.

yaxshilab yuvib, 70% li spirt bilan chayilgan va ichida 20—25 l suslo (suslo qaynatadigan qozondan olingan) bo'lgan 25—30 l hajmli butilga quyiladi. Bijg'ish 12—15°C temperaturada 48 soat davom etadi.

Achitqilarni Greyner apparatida ko'paytirish. Greyner apparati (53-rasm) ikkita — kichik 1 (65 dal) va katta 3 (400 dal) sterilizatoridan, bijg'itish uchun 2 ta silindrdan (36 dal dan) tuzilgan. Silindrlar apparat ishlayotgan vaqtda toza to'plam olish uchun idish 4 (10 l) bilan jihozlangan.

Laboratoriyada achitqilar bir necha marta qayta ekiladi va oxirgi Karlsbergning mis kolbasiga ekish bilan tugallanadi. Karlsberg kolbasidagi achitqilar 7—8°C temperaturada 5—6 kun o'stirilib, keyin sexga yuboriladi. Apparatni ishga tushirishdan oldin sterilanadi. So'ngra sterilizator 1 ga xmel qo'shilgan issiq suslo to'ldirib, bosim ostida bug' bilan sterilanadi, keyin sovutiladi. Suslo bijg'ituvchi silindrlarga 2 uzatiladi. Karlsberg kolbalarini tashqi tomondan spirt bilan yaxshilab artib, ichidagi moddasi yaxshilab chayqatiladi va pastki rezina naychasi orqali steril holatda bijg'ituvchi silindrlarga 2 quyiladi. 7—8°C temperaturada 3 kun davomida achitqilar ko'payadi va suslo bijg'iydi. Achitqilar tayyor

bo'lishi vaqtiga katta sterilizator 3 susloga to'ldiriladi, sterilanadi va sovitiladi, so'ngra ustiga bijg'ituvchi silindrdagi massa quyiladi. Bu massaning 1 qismi idishga 4 solib qo'yiladi va keyingi ko'paytirishgacha saqlanadi. Bo'shagan bijg'ituvchi silindrlar 2 kichik sterilizatoridagi sterilangan suslo bilan qaytadan to'ldiriladi va 4 idishlarda saqlanayotgan achitqilar ekiladi.

To'plamning iflosligi aniqlanguncha achitqilarni ko'paytirish jarayoni to'xtovsiz davom ettirilaveradi.

12.1.3. Bijg'itish va lager bo'limlarida mikrobiologik tekshirish

Bijg'itish bo'limi

Susloni tekshirish. Susloning biologik turg'unligini aniqlash. Bir gal pishirishdagi suslo namunasi 10-15 ml dan sterilangan probirka yoki kolbalarga bir necha takroriylikda olinib, og'zi paxta tiqin bilan berkitiladi va olingan joyi, muddati, sharbatning pishirilganligi nomeri yozib qo'yiladi. Parallel namunalardan biri termostatga 20°C issiqqa qo'yiladi. Susloning holati har kuni tekshiriladi va cho'kma, loyqalanish, shilimshiqlanish, parda hosil bo'lish, achiy boshlash, rangining o'zgarishi va hokazolar vaqti belgilab qo'yiladi (sutka hisobida). Susloning biologik turg'unligi quyidagi sxema bo'yicha baholanadi:

Susloning o'zgarish muddati (sutka)

Birinchi
Ikkinchi
Uchinchi
To'rtinchi

Susloning sifati

Yomon
Qoniqarli
Yaxshi
Juda yaxshi

Turg'unligi aniqlab bo'lingandan keyin namunalarni mikroskopda ko'rib, susloni o'zgartiruvchi mikroorganizmlarning asosiy guruhlari aniqlanadi.

1 ml suslodagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash. Qolgan parallel namunalardan Petri likopchasidagi xmel qo'shilgan suslo-agarga 1 ml va 0,1 ml dan ekiladi. Keyin likopchalar termostatga 25—30°C issiqqa qo'yiladi. 48 soatdan keyin o'sib chiqqan koloniyalar hisobga olinadi.

Kislota hosil qiluvchi bakteriyalarni aniqlash. Tekshiriladigan material (suslo, pivo, yuvish suvlari, filtratsion massa yuvilgan suv va hokazolar) pH 6,8 bo'lgan bo'rli (melli) achitqi agariga chuqur usulda 1; 0,1 va 0,01 ml dan ekiladi. Keyin likopchalar termostatda 25—30°C da 48 soat saqlanadi, shundan so'ng bo'r erishidan oq zona hosil bo'lgan koloniyalar sanab chiqiladi. Agar tekshirilayotgan namunada ma'lum miqdorda achitqi hujayralari bo'lsa, ularni yo'qotish uchun 1 ml achitqi agariga 40—60 birlik nistatin antibiotigi yoki 2 mg/l aktidion qo'shiladi.

Kislota hosil qiluvchi bakteriyalarni MRS, MRS-1 elektiv muhitlarda va boshqa muhitlarda aniqlash mumkin.

Koli-titrni aniqlash. Namunali va suyultirmali o'sha probirkalardan membrana filtrlariga 10; 1; 0,1; 0,01; 0,001 ml dan filtrlab ekiladi. Keyin filtrlarni likopchadagi Endo muhitiga joylab, termostatda 43°C issiqda 18—24 soat saqlanadi. So'ngra ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar koloniyasi sanab chiqiladi. Preparat Gram usulida bo'yaladi va ikkilamchi bijg'itish namunasiga ekiladi (7-bobga qarang).

Ekiladigan achitqilarni tekshirish. Ekiladigan achitqilar sifatining asosiy ko'rsatkichlari: hujayralarni morfologik holati, biologik tozaligi va fiziologik xossalaridir.

Namuna ajratib olish. Toza shisha naychani (trubkani) vannacha tubiga tushirib yuvilgan, yaxshilab aralash-tirilgan achitqilardan namuna olinadi va sterillangan kolbachalarga solinadi. Kolbachalar og'zini tezda paxta tiqin bilan berkitib, achitqilar irqi va generatsiyasi yozib qo'yiladi.

Hujayralarning morfologik holatini aniqlash. Hujayralarning morfologik holati mikroskopda qarab aniqlanadi. Achitqilar foydalanilayotgan irqiga mos shaklda va o'lchamda bo'lishi kerak. Hujayralari bir xil yiriklikda, qobig'i yupqa, sitoplazmasi bir xil yoki mayda donador, mayda vakuolali bo'lishi kerak. Agar morfologik jihatdan o'zgargan hujayralar ko'p bo'lsa, ayniqsa ularning bijg'itish aktivligi pasayib ketsa, to'plamning degeneratsiyasidan dalolat beradi. Bunday achitqilarni ishlatish tavsiya etilmaydi. Sitoplazmasi donador, vakuolalari yirik bo'lib, kurtaklanuvchi hujayralari bo'lmasa, to'plam eski hisoblanadi.

Nobud bo'lgan hujayralarning foiz miqdorini aniqlash. Buyum oynasida bir tomchi achitqi bir tomchi metilen ko'ki bilan aralashtiriladi. Tayyorlangan preparat mikroskopning 10 ta ko'rish maydonchasida qaraladi. Tirik va nobud bo'lgan hujayralarning umumiy yig'indisiga nisbatan nobud bo'lgan hujayralarning foiz miqdori aniqlanadi. Ekiladigan sifatli achitqilar tarkibidagi nobud bo'lgan hujayralar ko'pi bilan 5% ni tashkil etishi kerak.

Biologik tozaligini aniqlash. Buning uchun bir tomchi achitqi buyum oynasidagi KON ning 10% li eritmasiga yoki 50% li sirka kislotaga tomiziladi; ana shunda oqsillar va yog' zarrachalari erib ketib, preparatni ko'rish qulay bo'ladi. Shuningdek, faza-tafovut mikroskopdan foydalanish tavsiya etiladi. Ko'rish maydonchasida 50 taga yaqin hujayra bo'lishi kerak. 20 ta ko'rish maydonchasida 1000 ga yaqin hujayra ko'riladi va shular orasidan shakliga qarab yovvoyi achitqilar hamda bakteriyalar (tayoqchasimon, kokklar, pediokokklar) farq qilinadi. Tarkibida ko'pi bilan 1% bakteriyalar va 0,5% yovvoyi achitqilar bo'lgan ekiladigan achitqilar ishlab chiqarishga yaroqli hisoblanadi.

Ekiladigan achitqilardagi infeksiyalovchi bakteriyalar miqdorini ham suyultirmalarni (1:10; 1:10²; 1:10³ va hokazo)

suslo-agarga, 1% glukozali va bo'ri achiqili agarga, anti-biotikli, nistatinli yoki aktidionliga ekiladi.

Yovvoyi achiqilarni aniqlash uchun ozuqa moddalarga madaniy pivo achiqilarining ko'payishiga to'sqinlik qiladigan moddalar qo'shiladi. *Saccharomyces* turkumiga mansub yovvoyi achiqilar kristall violetli (20 mg/l) agarda, 2% vino kislota qo'shilgan susloda, saxarozaning 10% li eritmasiga 4% vino kislota qo'shilgan susloda, tekshiriladigan namunani 20 minut davomida 50°C da isitib, keyin atsetatli agarga ekish yo'li bilan aniqlanadi. *Saccharomyces diastaticus* namunani to'liq bijg'igan pasterlangan pivoga ekish yo'li bilan topiladi.

Saccharomyces turkumiga mansub bo'lmagan yovvoyi achiqilar lizinli sintetik muhitda aniqlanadi. Ushbu muhitdan, shuningdek, xmel qo'shilgan suslo-agardan foydalanib, 7-jadvalga muvofiq achiqilar mikroflorasini ajratish (differen-siyalash) mumkin.

7-jadval

Achiqilarning har xil ozuqa muhitida o'sishi

Achiqilar turi	Sharbat-agar	Kristall-violet-agar	Lizin-agar
Madaniy achiqilar	+	-	-
<i>Saccharomyces</i> turkumiga mansub yovvoyi achiqilar	+	+	-
<i>Saccharomyces</i> turkumiga kirmaydigan achiqilar	+	-	+

E s l a t m a: Plyus — achiqilar o'sayotganini, minus — o'smayotganini bildiradi.

Saxaromitset bo'lmagan achiqilarning alohida turkumlari 8-jadvalda ko'rsatilgan belgilari bo'yicha farq qilinadi.

**Saxaromitset bo'lmagan achitqilarning
farq qiluvchi belgilari**

Achitqilar	Spora hosil bo'lishi	Kislota hosil bo'lishi	Soxta mitseliy bor-yo'qligi	Plyonka bor-yo'qligi
<i>Pichia</i>	+	-	-	+
<i>Hansenula</i>	+	+	-	+
<i>Candida</i>	-	-	+	+
<i>Torulopsis</i>	-	- c	-	-
<i>Brettanomyces</i>	-	+	+	+

Eslatma: Plyus — muayyan belgi mavjudligini, minus — yo'qligini, c — belgining kuchsiz ifodalanishini bildiradi.

Achitqilarning fiziologik holatini aniqlash. Achitqilarning to'laligi tarkibidagi glikogen miqdoriga qarab aniqlanadi; buning uchun hujayralar Lyugol usulida yod bilan bo'yaladi. Preparat tayyorlangandan 5—6 minut o'tgandan keyin mikroskopda qaraladi. To'la normal achitqilar hujayrasining 70—75% ida glikogen bo'ladi. Glikogenli hujayralar kamligi esa ularning qariganidan, vannachalardagi suv tubida uzoq saqlanganidan yoki yetarlicha oziqlanmaganidan dalolat beradi.

Bijg'ishning oxirgi darajasini aniqlash. Shisha idish (sklyanka) ga QM si ma'lum konsentratsiyali suslo quyib, 10% yaxshi presslangan achitqi qo'shiladi va yaxshilab chayqatiladi. Termostatda 20—25°C da ikki kun bijg'itiladi, shundan keyin quruq moddalar miqdori yana qaytadan aniqlanadi. Bijg'ishning oxirgi darajasi quyidagi formulaga muvofiq hisoblanadi:

$$v = [(P - P_1) / P] \cdot 100$$

Bu yerda: v — oxirgi bijg'ish darajasi, %; P — QM ning dastlabki miqdori, %; P₁ — QM ning oxirgi miqdori, %.

Oxirgi bijg'ish darajasi ayniqsa, yangi mahsulotga o'tilganda har oyda 2 marta aniqlanadi.

Achitqilarning bijg'itish energiyasi (kuchi) ni aniqlash. Achitqilarning bijg'itish kuchi har xil usulda aniqlanadi; ular ma'lum vaqtda hosil bo'lgan CO₂ yoki spirt miqdorini hisobga olishdan iborat bo'ladi.

Achitqilarning ko'payish qobiliyatini aniqlash. Kurtaklanuvchi hujayralar soni achitqilarning ko'payish qobiliyatini ko'rsatadi: aktiv achitqilarning 40—70% hujayrasi kurtakli bo'ladi. Achitqilarning ko'payish tezligi 1 ml xmel qo'shilgan susloning jigulevskoye sortidagi (QM 11%) hujayralar konsentratsiyasining ortishiga qarab aniqlanadi; 3 kundan keyin susloning temperaturasi aniqlanadi, u 6—8 gradus (pastki achitqilar uchun) bo'lishi kerak.

Achitqilarning cho'kishga moyilligini aniqlash. Flokulyatsiya ko'z bilan chamalab aniqlanadi. Miqdoriy baho berishda Chexiya da ishlab chiqilgan usuldan foydalanish mumkin. Tarkibida taxminan 3 g QM bo'lgan achitqi namunasi 500 ml hajmli o'lchov silindriga fiziologik eritma bilan yuvib tushiriladi va 400 ml ga yetguncha eritma quyiladi. 1 minut chayqatilgandan keyin tinch qoldiriladi va 12 minutdan keyin cho'kkan achitqilar hajmi aniqlanadi. Sifatli achitqilar shu vaqt ichida kamida 28 mm qalinlikdagi cho'kma hosil qiladi.

Toza to'plam achitqilarini tekshirish. Toza to'plam achitqilarini mikroskopda ko'rib ularning morfologik holati va tozaligi aniqlanadi: barcha laboratoriya bosqichlarida va idishlarda kurtaklanuvchi to'liq hujayralar foizi yuqori bo'lishi, o'lik hujayralar va begona mikroorganizmlar bo'lmasligi kerak. Agar ular paydo bo'lsa, probirkadan yangi toza to'plam olib ko'paytiriladi.

Gips bloklarga ekish. Toza to'plamda yovvoyi achitqilar bor yoki yo'qligi 24 soatlik to'plam tomchini gips blok yuzasiga ekish yo'li bilan aniqlanadi. Yovvoyi achitqilar 40 soat ichida spora hosil qiladi. Bu vaqt ichida achitqilarning

pivo ishlab chiqarishda ishlatiladigan irqi spora hosil qilmaydi.

Pivoning turg'unligini aniqlash. Toza to'p-lam apparatidan olingan pivoning turg'unligini pivodan steril holatda namuna olib, sterillangan kolbaga solib, og'zini tezda paxta tiqin bilan berkitib, bir oy davomida termostatda 20°C da saqlash yo'li bilan aniqlanadi. Agar u loyqalansa, mikroskopda ko'riladi va uning kelib chiqishi aniqlanadi. Agar begona mikroorganizmlar topilsa, apparat o'chirib qo'yiladi.

Yosh (yangi) pivoning sifatini aniqlash. Yosh pivo namunalari tanlab mikroskopda ko'riladi. Ular pivoni yetiltirish sexiga yuborishdan oldin bijg'itish apparatidan olingan bo'ladi. Sterillangan sharoitda olingan namunadan 10 ml ni probirkaga quyib, 1500—2000 ob/minutda 10 minut sentrifugalanadi. Keyin yuzidagi suyuqlikni to'kib tashlab, cho'kmadan bir tomchi olib buyum oynasiga tomiziladi va bir tomchi KON ning 10% li eritmasi bilan aralashtiriladi. So'ngra yovvoyi achitqilarni, tayoqchasimon bakteriyalarni, kokklar, pediokokklarni aniqlash maqsadida mikroskopda ko'riladi. Zarurat bo'lib qolsa, kislota hosil qiluvchi bakteriyalarni aniqlash maqsadida glukoza va bo'r (mel) qo'shilgan agarga ekiladi.

Lager bo'limi

Filtrmassaning sifatini aniqlash. Presslangan filtr massaning o'rtasidan yoki filtrmassa pasterlangandan keyin bevosita massa yuviladigan idish (massamoyka)dan sterillangan pinsetda no'xotdek filtrmassa namunasini olib, sterillangan suslo quyilgan probirkalarga solinadi. Keyin probirkalarni sekin chayqatib, termostatga 20°C ga qo'yiladi. Har kuni suslodagi o'zgarish (loyqa paydo bo'lishi, bijg'ishi, cho'kma, parda va hokazolar hosil bo'lishi) kuzatiladi va o'zgarish belgilab qo'yiladi. Filtrmassani yuvish sifatiga quyidagi sxema bo'yicha baho berish mumkin.

Susloning turg'unliligi (sutka)

Yuvish sifati

Birinchi-ikkinchi
Uchinchi
To'rtinchi
Beshinchi

Yomon
Qoniqarli
Yaxshi
A'lo

Susloning o'zgarishi sabablari (achitqilar, bakteriyalar-tayoqchalar, kokklar, pediokokklar rivojlanganligi) uni mikroskopda ko'rib aniqlanadi. Kislotalilikning ortishi titrlash yo'li bilan aniqlanadi. Bu hol filtrmassada kislota hosil qiluvchi bakteriyalar borligidan dalolat beradi.

Filtrmassaning mikroorganizmlar bilan umumiy ifloslanishini aniqlash. Buning uchun 1 g filtrmassani 9 ml sterillangan suvli probirkaga solib, 5 minut davomida silkitiladi va kislota hosil qiluvchi bakteriyalarni, kokklar, pediokokklar, yovvoyi achitqilarni aniqlash uchun bo'rli suslo-agarga, glukoza va bo'rli achitqi agariga yoki elektiv muhitga 1,0 va 0,1 ml dan ekiladi.

Yaxshi yuvilgan filtrmassadagi mikroorganizmlarning umumiy soni ishlab chiqarishda ishlatiladigan suvning 1 millilitridagi miqdoridan oshib ketmasligi kerak. Yuvilgan va 80°C da pasterlangan filtrmassada achitqilar, kislota hosil qiluvchi va spora hosil qilmaydigan boshqa bakteriyalar bo'lmasligi kerak.

Ichak tayoqchasi bor-yo'qligini aniqlash. Yuvilgan filtrmassadan steril holatda olingan namuna (1 g) glukoza-peptonli muhit (Eykmann muhiti) solingan va bijg'ituvchi naychali probirkaga quyiladi. So'ngra probirka termostatda 43°C issiqda 18—24 soat saqlanadi. Keyin bijg'igan massadan olib, Endo muhitiga ekiladi. Yaxshi yuvilib, pasterlangan filtrmassada ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar bo'lmaydi.

Tayyor pivoning sifatini aniqlash. Pivoning turg'unligi uning loyqalanishi vaqtiga qarab aniqlanadi. Buning uchun har qaysi sortidan 2 butilkadan pivo olib, termostatga

20°C issiqqa qo'yiladi. Butilkalarni har kuni qarab, loyqalanish, cho'kma hosil bo'lish, plyonka va hokazolar hosil bo'lish vaqti (sutka hisobida) qayd etiladi. Jigulevskoye pivosining turg'unliligi 7 kundan kam bo'lmasligi kerak. Agar pivo standartda belgilangan muddatdan oldin loyqalansa, o'zgarishga sabab bo'lgan mikroorganizmlarni aniqlash maqsadida cho'kma yoki parda mikroskopda ko'riladi.

Koli-titrni aniqlash. Pivoning har bir sorti koli-titrini aniqlash uchun har oyda kamida bir marta tekshiriladi. Bunda membrana filtrga 10; 1,0; 0,1 va 0,01 ml dan ekiladi.

12.2. Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarish mikroflorasi

Kuchsiz alkogolli ba'zi ichimliklar (kvas va boshqalar) bijg'itish yo'li bilan tayyorlanadi. Bunda spirt va sut achituvchi mikroorganizmlar katta rol o'ynaydi. Alkogolsiz ichimliklar kupaj yo'li bilan tarkibiy komponentlardan, lekin mikroorganizmlarning aktiv ishtirokisiz ishlab chiqariladi.

Alkogolsiz ichimliklar fizik-kimyoviy xossalariga ko'ra, mikroorganizmlar uchun yaxshi ozuqa muhiti bo'lib hisoblanadi. Ichimliklar tarkibida 80—99% suv, 0,5—15% shakar, $5 \cdot 10^{-4}$ — 10^{-10} % organik azot, $5 \cdot 10^{-3}$ — 10^{-10} % mineral tuzlar. ba'zan V guruhi vitaminlari yuqi bo'ladi; pH 2,5—4,0 ga teng.

12.2.1. Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishda foydalaniladigan mikroorganizmlar

Foydali mikroorganizmlardan faqat bijg'itish usulida olinadigan ichimliklar ishlab chiqarishda, asosan, kvas tayyorlashda foydalaniladi. Non kvasi oxirigacha yetib bormagan spirtli va sut kislotali bijg'ish mahsuloti hisoblanadi. Spirt hosil qilib bijg'ishda 0,5% gacha spirt yig'iladi. Kvas uchun yangi xamirturushdan, suyuq pivo achitqisidan yoki toza to'plamlardan foydalaniladi. Toza to'plamdan foydalanishda

kvas achitqilari sut achituvchi bakteriyalar bilan birgalikda ishlatiladi.

Saxaromitset achitqilarning temperatura optimumi 26—30°C, ular glukoza bilan saxarozani yaxshi bijg'itadi. Sut achituvchi bakteriyalar gomof fermentativ kalta tayoqchalardir. Ular kvas sharbatida 0,54—1,23% sut kislotasi va uchuvchan moddalar hosil qiladi. Ular kvasni o'ziga xos ta'm va hidli qiladi.

Boshqa alkogolsiz ichimliklar va meva suvlari ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan foydalanilmaydi. Ularga mikroob tushsa, ko'payib ketib, mahsulotni buzadi.

12.2.2. Alkogolsiz ichimliklarda zararli mikroorganizmlarning rivojlanishi

Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishda uchraydigan zararkunanda mikroblar achitqilar, bakteriyalar va mog'or zamburug'larga kiradi. Achitqilar tarkibida shakar bo'lgan suyuqliklarga tushsa, spirtli bijg'ish jarayonini qo'zg'atishi mumkin. 60% va undan ham ko'p shakar bo'lganda ko'payish xossasiga ega bo'lgan osmofil achitqilar meva siropi, sharbati, kupaj va hokazolarni bijg'itadi. Kandida zamburug'i kvas va ichimliklar yuzasida bo'lib, oq yoki och kulrang parda hosil qiladi. U sharbatlarda rivojlansa, ularning rangi va ta'mi o'zgaradi. Kandida aerob hisoblanadi va bochkalar yaxshi to'ldirilmasa, butilkalar og'zi yaxshi berkitilmasa, ko'paya boshlaydi.

Hanseniaspora apiculata achitqilari ham sharbat, kupaj va meva siroplarini bijg'itishi mumkin. Natijada ular xiralashadi, tarkibidagi spirt miqdori ortadi va karbonat angidrid ajratib chiqaradi. Shizosaxaromitsetlar meva-rezavorlar sharbati tarkibidagi olma kislotani parchalaydi va kislotalilikni pasaytirib yuboradi.

Kislotasi hosil qiluvchi bakteriyalar kvas sharbatini, gazli ichimliklarni tez achitadi. Ular rezavor mevalarda, havoda, uzoq saqlangan meva mezzasida uchraydi.

Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar ichimliklar yuzasida oqish yoki kulrang parda hosil qiladi. Sut achituvchi bakteriyalar turg'un loyqa hosil qiladi va xom ashyo hamda mahsulotlarni buzadi.

Leuconostoc turkumiga mansub bo'lgan shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar issiqqa nihoyatda chidamli, 90°C gacha isitishga va hatto qisqa muddat qaynatishga ham chidamli. Ichimliklar, kvas sharbati, kvasni shilimshiq-lantirib qo'yadi. Ishlab chiqarishda, shuningdek, namlik yuqori bo'lsa, mog'or zamburug'lari — penitsillium va rokodium ko'payishi mumkin.

Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishda shakar, sharbatlar, morslar va ekstraktlar, vino, bo'yovchi moddalar, kvas ishlab chiqarishda javdar solodi yoki kvas ekstrakti asosiy xom ashyo hisoblanadi. Shakar asosan o'z holicha ishlatiladi. Ishlab chiqarishga infeksiyalangan shakar bilan birga leykonostok bakteriyalari ham tushadi. Ular shakarli suyuqliklarda shilimshiq kapsula hosil qiladi va mahsulotni shilimshiq-lantirib qo'yadi.

Shakar sharbati to'g'ri qaynatilsa, mikroorganizmlar sporasi kam bo'ladi. Lekin u uzoq saqlansa, unga havodan (shakarli qoplar changidan) yoki iflos kommunikatsiyalar orqali infeksiya tushadi.

Zaxa bo'lgan, yorilgan, ezilgan mevalar va rezavor mevalarda mikroblar juda ko'p bo'ladi. Ular orqali ishlab chiqarishga har xil mikroorganizmlar tushishi mumkin. Sharbatlar, ekstraktlar va vino spirt qo'shilgan yoki sulfit qo'shilgan holda saqlanadi. Agar ular mikroblar bilan ifloslangan bo'lsa, ichimlik tayyorlashda ulardan foydalanish mumkin emas.

Bo'yovchi moddalar, javdar solodi, javdar non suxarisi (qotirilgani) ham infeksiya manbai bo'lishi mumkin.

12.2.3. Ishlab chiqarishni mikrobiologik nazorat qilish

Infeksiya manbalarini aniqlash uchun mikrobiologik nazorat qilish zarur. Sifatsiz suv, xom ashyo, mikroorga-

nizmlar bilan zararlangan yarim tayyor mahsulotlar, iflos jihozlar, idishlar, ishchilarning kiyimi va qo'llari, xonaning havosi ana shunday manbalar bo'lib hisoblanadi.

Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqariladigan zavodlarda suv, shakar, bo'yoq moddalar, meva-rezavor sharbatlari, ekstrakt va hokazolar nazorat obyekti hisoblanadi.

Suvni mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash va ichak tayoqchalari titrini bilish uchun nazorat qilinadi (7.1-bo'lim).

Shakardan namuna olish va uni mikrobiologik nazorat qilish 11.2.1-bo'limda bayon etilgan.

Bo'yoq moddalardagi mikroorganizmlarning umumiy miqdori suslo-agarga ekish yo'li bilan aniqlanadi. Buning uchun 10 ml bo'yoq modda 1:10 nisbatda sterillangan ichimlik suvda suyultiriladi va membrana filtrda filtrlanadi. Bunda achitqilar bo'lmasligi kerak. Uning 1 ml da bir-ikkita mikroorganizm hujayrasi bo'lishiga yo'l qo'yiladi.

Tabiiy meva-rezavor sharbatlari (spirt qo'shilgan va konsentrlangan) ni suslo-agarga ekish yo'li bilan tarkibidagi achitqilar miqdori aniqlanadi. Spirt qo'shilgan sharbatlar bevosita ozuqa muhitiga 0,1—0,2 ml miqdorida ekiladi. Konsentrlangan sharbatlarning mikroblar sporasi bilan ifloslanganligi ularni membrana filtrlardan o'tkazish (filtrlash) yo'li bilan aniqlanadi. Buning uchun oldin sharbat ichimlik suvi bilan 1:10 nisbatda suyultiriladi. Analiz uchun 10 ml sharbat olinadi.

Filtrlash qiyin bo'lsa (yaxshi suyultirilmaganidan), konsentrlangan sharbatni suyultirmasdan turib, 0,5 ml dan suslo-agarga ekiladi. 1 ml da ko'pi bilan 300 ta achitqi hujayrasi bo'lgan spirtli sharbat sifatli hisoblanadi. Konsentrlangan sharbatning 1 ml da mikroorganizmlarning bir-ikkita hujayrasi bo'lishiga yo'l qo'yiladi, achitqilar bo'lmasligi kerak.

Ichimliklar va kvas sharbati konsentratlari. Bularni suslo-agarga ekish yo'li bilan tarkibidagi mikroorganizmlarning umumiy miqdori tekshiriladi. Buning uchun 10 ml

konsentrat sterillangan ichimlik suv qo'shib suyultiriladi va membrana filtrda filtrlanadi. 1 ml da bir-ikkita mikroorganizm hujayrasi bo'lgan konsentratlar sifatli hisoblanadi. Achitqi hujayralari bo'lmasligi kerak.

Kupaj siroplarini 0,1—0,5 ml dan suslo-agarga yuza ekish yo'li bilan achitqilar bor-yo'qligi aniqlanadi. Konservantlar qo'shilgan kupajdan 10 ml olib, sterillangan vodo-provod suvida suyultiriladi (1:8 nisbatda) va membrana filtrda filtrlanadi. Keyin filtr 15—20 ml sterillangan suv bilan yana qo'shimcha yuvib olinadi. 1 ml da ko'pi bilan 400—500 ta achitqi hujayrasi bo'lgan kupaj siropi (konservantsiz) sifatli hisoblanadi. Konservantlar qo'shilgan siropda bir-ikkita achitqi hujayralari bo'lishiga yo'l qo'yiladi. Namunalar katta idish (chan) lardan, liniya va dozalovchi (o'lchovchi) mashinalardan olinadi.

Kvas sharbati va non kvasi ichak tayoqchalari guru-higa mansub bakteriyalarni aniqlash maqsadida tekshiriladi. Bunda hamma qabul qilgan usuldan foydalaniladi. Tayyor sharbat va kvas leykonostok bilan ifloslanmagan bo'lishi kerak.

Gazli alkogolsiz ichimliklar quyidagi ko'rsatkichlari: achitqilar, ichak tayoqchalari bor-yo'qligi, turg'unililigi bo'yicha analiz qilinadi. Buning uchun 0,1—0,5 ml ichimlik olib, suslo-agar yuzasiga ekiladi. Ichak tayoqchalari bor-yo'qligi hamma qabul qilgan usulda aniqlanadi. 1 ml da ko'pi bilan 100 ta achitqi hujayrasi bo'lgan ichimliklar sifatli hisoblanadi. Turg'unililigi — meva-rezavor sharbatlardagini kamida 7 kun, nastoy va essensiyalardagini kamida 15 kun. Konservantlar qo'shilgan ichimliklarniki (yuglon, natriy benzonat va hokazolar qo'shilgan) — 30 kun. Ichimliklarning turg'unililigi termostatda 20°C da saqlab tekshiriladi. Konservantlar qo'shilmagan ichimliklarning koli-indeksi ko'pi bilan 3 ga teng.

Non xom ashyodan tayyorlangan gazli alkogolsiz ichimliklar ichak tayoqchalar va achitqilar bor-yo'qligini aniqlash

uchun tekshiriladi. Pasterlanmagan gazli ichimliklarning kolindeksi ko'pi bilan 3 ga teng bo'lishi va pasterlanganlarida achitqilar bo'lmasligi kerak.

Tovar siropni 0,1—0,5 ml dan suslo-agarga ekib, mikroorganizmlarning umumiy miqdori aniqlanadi. Bunday siropning turg'unliligi kamida 20 kun.

Idishlar, og'zi berkitiladigan materiallar ham nazorat qilinadi. Ish joyidan sterillangan pinsetda 10 ta tiqin yoki kronen-tiqin olib, og'zi keng kolbaga quyilgan 100 ml sterillangan vodoprovod suviga solinadi. 5 minut yaxshilab silkitilgandan keyin mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash uchun ozuqa muhitiga ekiladi.

Binoning, jihozlarning, kommunikatsiyalar, uskunalarning, ishchilar qo'lining sanitariya holati 7.2-bo'limda bayon etilgan usulda nazorat qilinadi. Havoni nazorat qilish 7.1-bo'limda bayon etilgan.

13. VINO ISHLAB CHIQARISHNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Vino ishlab chiqarishda foydalaniladigan achitqilarning asosiy turlarini va vinoning mikroorganizmlar keltirib chiqaradigan asosiy kasalliklarini bilish. Vino materiallari va vinoning turg'unligiga baho berishning mikrobiologik usullarini o'zlashtirish.

13.1. Vino ishlab chiqarish jarayoni va vinochilikda foydalaniladigan achitqilar

Vino uzum yoki meva-rezavor sharbatining spirtli bijg'ishi mahsulotidir. Bunday texnologiya jarayonining mohiyati shundan iboratki, sharbat achitqilar ta'sirida kimyoviy o'zgarishga uchraydi. Bu o'zgarish muhit tarkibiga va achitqilarning fermentativ faoliyatiga bog'liq bo'ladi. Sharbatning eng muhim tarkibiy qismlari: suv, uglevodlar, pektin moddalar, organik kislotalar, oshlovchi, bo'yovchi va

azotli moddalar, vitaminlar, fermentlar, efir moylari va mineral moddalardir. Ba'zi moddalarning miqdori uzumning (meva, rezavor mevalarning) naviga, iqlim, meteorologiya sharoitiga, tuproqqa va hokazolarga bog'liq.

Vino ishlab chiqarishda birlamchi va ikkilamchi vinochilik farq qilinadi. Xom ashyo — uzum, meva va rezavor meva yetishtiriladigan viloyatlarda birlamchi vinochilik qo'llanadi. Tayyorgarlik ishlari xom ashyoni maydalash, uzum bandi, danak, urug'larini ajratib olish, presslash (sharbatini ajratib olish), sharbatni tindirish va sovitishdan iborat.

Birlamchi vinochilikdagi asosiy ishlar — bu bijg'itish jarayoni va olingan mahsulotga qayta ishlov berishdan iborat. Bijg'itish jarayonida sharbat tarkibidagi shakar achitqilar bilan bijg'ib, spirt va karbonat angidrid gazi hosil qiladi. Sharbatga uning miqdoriga nisbatan 1,5—2% achitqi qo'shiladi. Bijg'itish jarayoni katta idish (bochka, but) larda davriy usulda yoki bijg'itish rezervuarlarida to'xtovsiz usulda amalga oshiriladi. Temperatura 20—25°C, shakar miqdori 10—12% va sharbatning kislotaliligi 8—10 g/l bo'lishi bijg'ish uchun optimal sharoit hisoblanadi. Past temperaturada bijg'ish jarayoni uzayib ketadi, lekin olinadigan vino xushbo'y bo'ladi.

Bijg'ish tugagandan keyin vinoni cho'kmadan quyib olib, filtrlanadi.

Vino materiallarini yetishtirishni oxirigacha tamomlash va idishlarga quyish ishlari ikkilamchi vinochilik zavodlarida bajariladi. Ular xom ashyo bazasidan uzoqda bo'lishi mumkin. Egalizatsiya, sovitish, filtrlash, quyish, yopishtiruvchi moddalar bilan ishlov berish, termik ishlov berish va hokazolar vino ishlab chiqarishda amalga oshiriladigan jarayonlardir.

Vinoni saqlashda va tobiga yetkazishda unda murakkab biokimyoviy jarayonlar boradi, ular shartli ravishda quyidagi bosqichlarga bo'linadi: vino hosil bo'lishi va shakllanishi, yetilishi, qarishi, parchalanishi va nobud bo'lishi.

Shampan vino materiallari ishlab chiqarish texnologik jarayoni sharbat olish, uni tindirish va bijg'itishdan iborat. Bir xil turdagi vino hosil qilish uchun vino materiallari aralashtiriladi. keyin kupajlanadi va ikkilamchi bijg'itiladi.

Shampanlashtirish butilka yoki rezervuar usulida amalga oshiriladi. Birinchi holatda tiraj tayyorlash (vinoni butilkalarga quyish), bijg'itish, saqlash va cho'kmasini yo'qotish asosiy texnologik operatsiyalar hisoblanadi. Vinoni butilkalarga quyishda unga tiraj likyori shaklida shakar, ko'paytirilgan achitqilar toza to'plami 1 ml ga 1 mln ta hujayra hisobidan, to'liq ocharishi uchun yopishtiruvchi materiallar qo'shiladi. Og'zi yopilgan butilkalarni taxlab, 12°C temperaturada 2—3 yil saqlanadi. Sekin bijg'ishda hosil bo'ladigan karbonat angidrid erib, butilka ichida bosim hosil qiladi, vinoda buket rivojlanadi, natijada u tiniq va o'ziga xos ta'mli bo'ladi. Achitqi cho'kmasi asta-sekin tiqinga o'tkaziladi (remyuaj), keyin butilkadan chiqarib tashlanadi (degorjaj).

Rezervuarlarda shampanlashtirilganda vinoni yerto'lalarda saqlash talab etilmaydi, shuning uchun vino tayyorlash muddati 1-2 oyga qisqaradi. Bijg'itish rezervuariga (akratoforga) sharbat kupaji, likyor va achitqilarning toza to'plami solinadi.

Bijg'ish jarayoni tugagandan keyin shampanlashtirilgan vino sovitiladi va tindiriladi.

Hozirgi vaqtda sanoatda vinoni to'xtovsiz (uzluksiz) shampanlashtirish sxemasi joriy etilgan. Bu usulda vino tayyorlashda texnologik uskunalarning unumdorligi 30% ga ortadi (mahsulot sifatli bo'lgan taqdirda).

Uzum va meva-rezavor vinoni ishlab chiqarishda ham uzluksiz bijg'itish usuli joriy etilmoqda.

Vino ishlab chiqarish texnologiyasi achitqilar hayot faoliyatiga, ular uglevodlarni asosiy mahsulot bo'lgan etil spirtga biokimyoviy aylantirilishiga va bijg'ishning ikkilamchi mahsulotlari hosil bo'lishiga asoslanadi.

Vinohilikda ham, bijg'ituvchi boshqa sohalardagi kabi, tasniflashda achitqilar irqi (shtammi) asosiy birlik hisob-

lanadi. Irlar turlarga, turlar turkumlarga, turkumlar oilalarga birlashadi.

Vinohilikda ishlatiladigan achitqilar *Saccharomyces* turkumiga kiradi. V. I. Kudryavsev tasnifi (sistematikasi)da bu turkumga 18 ta tur kiradi. *Saccharomyces vini* Meyen (Lodder bo'yicha *Sacch. cerevisiae* Hansen) sharbatlar, meva va rezavor mevalar bijg'ishida eng ko'p tarqalgan achitqi turidir. *Sacch. ellipsoides* achitqilarining uzoq vaqtgacha hamma biladigan va keng tarqalgan turi bo'lgan.

Sharbatlarni bijg'ituvchi barcha achitqilar ichida *Sacch. vini* 80% ni tashkil etadi. Bijg'iyotgan muhit ko'pik bilan qoplanadi; achitqi cho'kmasining xarakteri (turi) uning irqiga bog'liq; u changsimon, oson loyqalanadigan yoki pag'a-pag'a oson cho'kadigan bo'ladi.

Sacch. vini achitqisining irqlari spirt hosil qilishiga, sulfatga chidamliligiga, vinoda organoleptik xossalar paydo qiluvchi uchuvchan komponentlar va boshqa mahsulotlar biosintezlashiga ko'ra o'ziga xos xususiyatga ega.

Sacch. vini ning hujayralari oval yoki ellipsimon, bo'yi 5—12 mkm va eni 3—8 mkm keladi. Bu achitqilar kurtaklanib ko'payadi va spora hosil qiladi. Vino achitqilari ko'payishi uchun 18—25°C eng qulay temperatura hisoblanadi; agar temperatura 35°C gacha ko'tarilsa, bijg'ish to'xtaydi, 16°C dan pasayib ketsa, ko'payishi va bijg'ish jarayoni sekinlashadi.

Sovuqqa chidamli irqlari nisbatan past (13—15°C) temperaturada bijg'itishda ishlatiladi. Bijg'ishning dastlabki davrida (boshida) 10% spirt to'planguncha temperatura birdek bo'lishi kerak. Sharbatning hajmiga qarab 1,5—2% achitqi qo'shiladi.

Sharbatning tarkibiy komponentlari, shuningdek, fizik-kimyoviy sharoit achitqilar hayot faoliyatiga ta'sir etadi. Muhitning kislotaliligi katta ahamiyatga ega, titrlanadigan kislotalilik 8-10 g/l bo'lganda bijg'ish eng muvaffaqiyatli boradi.

Bijg'ishda hosil bo'ladigan spirt ham achitqilarning ko'payishini tormozlaydi. *Sacch. vini* spirtga chidamli, ayrim

shtammlari 18% gacha spirt hosil qiladi. Achitqilarning bu xossasi ishlab chiqarishda qimmatli ahamiyatga ega. Bundan tashqari, ko'p miqdorda spirt hosil bo'lishi infeksiyaning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi.

Xeres achitqilari *Sacch. oviformis* turiga kiradi va ular ham 18 % ga yaqin spirt hosil qiladi. Bu achitqilar quyuq vino yuzasida parda hosil qiladi. Ular xeres vino ishlab chiqarishda foydalaniladi. Xeres achitqilari rivojlanadigan optimal temperatura 16—20°C. Bundan ancha past temperaturada parda hosil bo'lmaydi, ancha yuqori temperaturada esa kamayadi yoki nobud bo'ladi.

Yuqori sifatli vino olish uchun achitqilarning ajratib olingan va ma'lum tipdagi sharbatlar uchun tanlangan to'plamlari ishlatiladi. Toza to'plamdan foydalanilganda vinoning ta'mi va hidi yaxshilanadi, sharbat to'liq bijg'iydi va tiniqlashadi. Sharbatda hosil bo'ladigan spirt miqdori 0,5—1,0% ga ortadi.

Vino ishlab chiqarishda achitqilarning quyidagi irqalaridan:
nordon uzum sharbati uchun: Tempelgof 29, Tempelgof 14, Sersial 14, Burguni 20, Feodosiya 1—19, Turkiston 36/5, Pino 14, Rkatsiteli 6, Kaxuri 7 va hokazo;

nordon vino materiallari uchun: Massandra 3, Sersial 14, Turkiston 36/5 va hokazo;

xeres tipidagi vinolar uchun: Xeres achitqilari 20-S, Xeres 96-K va hokazo;

butilkada shampanlashtiriladigan shampan vinosi uchun: Kaxuri 2, Kaxuri 7, Shampanskaya 7 lardan foydalaniladi. Rezeruarda shampanlashtirish uchun Sankt-Peterburg, Xarkov, Nijniy Novgoroddagi zavodlarda yetishtirilgan Shteynberg 21, Moskva zavodida yetishtirilgan 21-r irqalari tavsiya etilgan;

meva va rezavor meva vinolari ishlab chiqarishda — olma va oq kupaj vinosi uchun Yablochnaya 7, Sidrovaya 100 va Vishnevaya 33 dan foydalaniladi.

Sifatli vino ishlab chiqarish uchun saxaromitset achitqilarning toza to'plamidan foydalaniladi. Sharbat toza to'plam

ishtirokida bijg'ishi uchun quyidagi shartlarga amal qilish zarur:

sharbatni shunday tiniqlashtirish kerakki, bunda achitqilar miqdori birmuncha kamaygan darajada bo'lsin;

achitqilarning raqobatga chidamli irqlaridan foydalanish;
achitqilarning ko'paytirilgan toza to'plamini sharbatga kuchli (avj olib) bijg'ishi bosqichida va yetarli miqdorda qo'shish;

tindirib, bijg'ish uchun tayyorlangan sharbatga qo'shilgan achitqilar toza to'plamini sharbatning butun massasiga tez aralashtirib yuborish.

Achitqilarning uzum sharbatida tayyorlangan ko'paytirilgan toza to'plami avj olib bijg'ishi bosqichida, odatda, 100—150 mln/ml hujayrasi bo'ladi. Agar sharbatning hajmiga nisbatan 2% ko'paytirilgan toza to'plam qo'shilsa, uning hujayralari soni 2—3 mln/ml ga yetadi. Qo'shilgan achitqi irqlarida sharbat yaxshi bijg'ishi uchun achitqi hujayralarining sharbatdagi soni toza to'plam qo'shilgandan oldingiga qaraganda taxminan 10 marta ko'p bo'lishi kerak. Demak, sharbatda ko'pi bilan 200—300 ming/ml achitqi bo'lishi kerak.

Achitqilarning toza to'plamini ko'paytirish uchun 8.3-bo'limida bayon etilgan usuldan foydalanish kerak. Faqat vinochilikda ishlatiladigan achitqilar uzum sharbatiga yoki boshqa xom ashyoga ekib o'stiriladi.

13.2. Zararli mikroorganizmlar va vino kasalliklari

Uzum sharbati ajoyib ozuqa muhiti hisoblanadi, chunki uning tarkibida oson bijg'iydigan uglevodlar, azotli moddalar va vitaminlar bo'ladi. Vino ishlab chiqarishda quyidagi infeksiya manbalari qayd etiladi:

xom ashyo — uzum, meva va rezavor mevalar birlamchi vinochilikda; shakar, vino materiallari, vakuum-sharbat, bekmes va boshqalar ikkilamchi vinochilikda;

ifloslangan uskunalar;

sanitariya talablariga javob bermaydigan suv;
ishchilarning kiyim-boshi, oyoq kiyimi va qo'llari.

Xom ashyoda, odatda, mikroorganizmlar bo'ladi; uzum, meva va rezavor mevalar yuzasidan ular sharbatga, uskunalariga va idishlarga o'tadi.

Xom ashyoda mikroorganizmlar ko'p bo'lishiga qaramay, sharbatga tushganlarining hammasi ham rivojlanavermaydi. Sharbatlar va vinolar quyidagi sabablarga ko'ra tabiiy chidamli bo'ladi:

organik kislotalar mavjudligi va pH pastligi 2,5—4 kislotaga sezgir mikroblarning, xususan, bakteriyalarning rivojlanishini to'xtatadi;

ba'zi mikroorganizmlarga bakteriostatik, boshqalariga bakterisidlik ta'sir ko'rsatadigan spirt mavjudligi; ko'p mikroblar hatto spirt 2 hajm % bo'lgandayoq faoliyatini susaytiradi;

osmotik bosimning yuqoriligi;

azotli moddalar kamligi.

Vinohilikda mikroblarning o'sishini to'xtatish uchun sulfit anhidrid (SO_2) ishlatiladi.

Sharbatga sulfit anhidrid qo'shilsa, undagi yovvoyi achitqilarning rivojlanishini: 50 mg/l miqdori — 1 kunga, 100 ml/l miqdori — 2-4 kunga, 200 ml/l miqdori — 6-8 kungacha to'xtatadi.

Begona va zararli mikroorganizmlar vinoda kasallik qo'zg'atadi — tarkibini o'zgartirib, ta'mi va hidini buzadi, sifatini pasaytiradi, ba'zan esa hatto mahsulot umuman aynishiga sabab bo'ladi. Sharbat bilan vinoni infeksiyalovchi mikroorganizmlar achitqilar, mog'or zamburug'lari va bakteriyalarga mansubdir. Sharbat va vinolarda faqat spirtga va organik kislotalarga chidamli mikroblargina rivojlanishi mumkin.

Mog'or zamburug'lari xom ashyoda, yerto'lalar devorida va yerida ko'payib, ishlab chiqarish sexlarini ifloslantirishi

mumkin. Ulardan vinoga yomon hid yuqadi, keyin uni ketqazish qiyin bo'ladi. Kurtaklanib ko'payuvchi pullulyariya mog'ori uzum sharbatini cho'ziluvchan shilimshiq massaga aylantirib qo'yishi mumkin. Yovvoyi achitqilar ham vino ishlab chiqarishga anchagina zarar yetkazadi. Parda hosil qiluvchi achitqilar (kandida) vinodagi spirt miqdorini kamaytiradi, ekstraktini pasaytiradi (pixiya); ular sulfit angidridga chidamli. Spora hosil qiluvchi zararkunanda osmofil achitqilar tarkibida 60—80% shakar bo'lgan vakuum-sharbatni, asal, bekmesni bijg'itadi. Ganzenula uzum sharbatida parda va cho'kma, o'tkir yot hid hosil qiluvchi ko'p miqdorda efir paydo qiladi.

Uzumda va shirin mevalarda har doim limonsimon achitqilar — apikulyatus bo'ladi. Bu achitqilar tabiatda keng tarqalgan bo'lib, sharbatning barcha mikroflorasining 90% gacha qismini tashkil etadi. Ular rivojlanganda madaniy achitqilarning faoliyati susayadi, vino yoqimsiz hidli va ta'mli bo'lib, bijg'ish yaxshi bormaydi. Pixiya achitqilari sharbatning yuzasida burmali qalin parda hosil qiladi; vinoda bir qator noxush qo'shimcha mahsulotlar yuzaga keltiradi, glitserinni parchalaydi va vinoni aynitadi.

Ba'zi achitqilar sharbat va vino tarkibidagi olma kislotani to'liq parchalab, kislotalilikni pasaytirib yuboradi. Xom ashyo, ayniqsa, zararlangan meva va rezavor meva, shuningdek, uskuna va idishlar bunday infeksiya manbai bo'lishi mumkin.

Saxaromikoda achitqilari sharbatni bijg'itadi, uzum vinoni xiralashtiradi va madaniy achitqilarning rivojlanishiga to'siqinlik qiladi.

Brettanomitses achitqilari shampän vinolari ishlab chiqarish zararkunandasi hisoblanadi, uni loyqalatadi, ba'zan sichqon hidi hosil qiladi.

Bakteriyalarning juda ko'pchiligi — ishlab chiqarish zararkunandalari tayoqchasimonlardir. Kislotani hosil qiluvchi — sut kislotasi va sirka kislotasi hosil qiluvchi bakteriyalar vinoni achitib qo'yadi.

Vino kasalliklari. Vino kasallanganini tashqi belgilariga — hidi, rangi, ta'mi va hokazolarga qarab aniqlash mumkin. Lekin organoleptik belgilari kam vinoni texno-kimyoviy analiz qilish va mikrobiologik tekshirish yo'li bilan unga to'g'ri baho berish mumkin. Vinoda uchuvchan kislotalar ko'payib ketishi uning kasalligini aniqlashda muhim ko'rsatkich hisoblanadi.

Vinoning har bir kasalligi tufayli uning tarkibida chuqur o'zgarishlar sodir bo'ladi. U yaxshilanganda ham sifati pasayadi, hushbo'y hidi va ta'mi yo'qoladi.

Kasallangan vino yaxshilansa ham, uni bevosita iste'mol qilib bo'lmaydi va boshqa vinolar bilan birga faqat kupajda ishlatiladi.

Kasallangan vinolar texnologik uskuna-jihozlar va kommunikatsiya orqali sifatli vinolarni ham zararlashi mumkin. Mikrobiologning vazifasi ishlab chiqarishga infeksiya tushishining oldini olish va iloji boricha tezroq infeksiya manbalari hamda o'choqlarini topishdan iborat.

Vino sveli. Buni yuzada parda shaklida rivojlanadigan har xil achitqilar qo'zg'atadi. Bu kasallik infeksiyasi saqlanganda tarkibida spirt uncha ko'p bo'lmagan nordon uzum vinosiga (idishlar to'latilmasa) tushadi. Vino yuzasida silliq yupqa parda hosil bo'lib, u sekin-asta qalinlashadi, burishadi va och kulrang-oqish bo'ladi. Parda ostida vino xiralashadi, ta'mi, hidi o'zgaradi va qo'lansa ta'm-hidli suyuq massaga aylanadi.

Sirkali achish. Bu vinoning eng ko'p tarqalgan va eng xavfli kasalligidir. Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar infeksiyasi rivojlanganda vino yuzasida och kulrang yupqa parda hosil qiladi. Dastlab u tiniq bo'lib, infeksiya rivojlangan sari qalinlashib, burma hosil qiladi. Pardalar bo'lakchalari bochka tubiga tushib, cho'ziluvchan shilimshiq massa — sirka uyachalari hosil qiladi. Vinodan sirka kislota va uning efirlari hidi hamda ta'mi keladi. Agar vinoda 2 g/l dan ko'p uchuvchan kislotalar bo'lsa, u buzilgan va yaroqsiz hisoblanadi.

Yosh vinolar sirkali aynishga ayniqsa tez uchraydi; oq vinolar oshlovchi moddalarga boy bo'lgan qizil vinolarga qaraganda ko'proq infeksiyalanadi. Vinolarning spirtlilik pasaysa va shakarning konsentratsiyasi kam bo'lsa, ularning kasallanish xavfi ortadi.

Sut kislotali bijg'ish. Bu kasallik bilan ko'pincha kam kislotali shirin vinolar — desert vino (16% spirt va 16—20% shakar bor), quvvatlangan vino (18—19% spirt va 8—10% shakar bor) va kamdan-kam holda xeres (20% spirt va 3% shakar bor) zararlanadi. Sut achituvchi bakteriyalar rivojlanganda kasallangan vinoning tiniqligi yo'qolib, xiralashadi, unda ipaksimon to'lqinlar paydo bo'ladi. Vinoning ta'mi o'tkir, shirin-nordon, hidi achigan tuzlangan karamnikiga o'xshagan, ba'zan sichqon hidli bo'ladi. Vinoda sut kislota bilan birga uchuvchan kislotalar, asosan, sirka kislota ham hosil bo'ladi.

Kasallikning oxirgi bosqichida bakteriyalar cho'kishi natijasida vino ocharadi. Sut va uchuvchan kislotalar hosil bo'lishi hisobiga titrlanadigan kislotalilik ortadi, aktiv kislotalilik (vinoning pH) 3,7—4,2 ga yetadi. Vinoda ko'pincha mannit uchraydi.

Mannitli bijg'ish. Bu kasallik asosan iqlimi issiq joylarda tarqalgan bo'lib, uni sut achituvchi *Bact. mannitopoeum* bakteriyalari keltirib chiqaradi. Bu kasallikda sharbat bilan vinoda (kislotaliligi pastroq bo'lganda) bakteriyalar fruktozadan foydalangan holda rivojlanadi. Bunda ular mannit, sirka kislotalar va sut achituvchilar hosil qiladi. Mezgada bijg'iydigan qizil vinolarda bu kasallik eng ko'p uchraydi. Bunda vino loyqalanadi, xiralashadi va undan chirigan meva hidi keladi, infeksiya kuchli rivojlanganda esa sirka hidi keladi, ta'mi yoqimsiz achchiq-chuchuk bo'ladi.

Mannitni aniqlash uchun kasallangan vinodan 1—2 tomchi olib, soat oynasiga tomziladi. Vino bug'lanib ketgandan keyin, cho'kmasi spirt bilan yuviladi. Oynada ninasimon kristallarning yulduzcha shaklida joylashgan yupqa qavati

qoladi. Uni mikrosokopda ko'rilganda o'ziga xos muar (rasm) ni kuzatish mumkin.

Agar vinoda shakar bilan spirt miqdori ko'p bo'lsa, mannit kasalligining rivojlanishi pasayadi yoki to'xtaydi.

Sichqon hidi kasalligi oq va qizil nordon vinolarni, quvvatlangan va desert vinolarni, shuningdek, shampän vinosini zararlaydi. Sichqon hidi farq qilish qiyin bo'lgan kasallik, uning o'ziga xos belgisi vinodan yoqimsiz hid, ya'ni sichqon chiqarindisiga o'xshash hid kelishidir. Sichqon hidi kasalligida vino loyqalanib, unda cho'kma hosil bo'ladi. Kasallik kuchayib ketsa, vinodan nihoyatda yoqimsiz hid keladi, mazasi yomon, ishlatishga yaroqsiz bo'lib qoladi.

Turn bilan kasallangan vinoning rangi va mazasi o'zgaradi — u xiralashadi, loyqalanadi, havo ta'sirida qorayadi, bemaza bo'lib qoladi. Agar bu kasallik vaqtida karbonat angidrid ajraladigan bo'lsa, uni puss deb ataladi.

Vino turn bilan kasallanganda undan yoqimsiz sirka efiri hidi keladi. Vino bijg'iyotganda va saqlanayotganda temperatura yuqori bo'lsa, ana shu kasallik paydo bo'ladi. Tarkibida azotli moddalar ko'p bo'lgan va kislotaliligi uncha yuqori bo'lmagan (pH 3,4 dan yuqori) vinolar bu kasallik infeksiyasi bilan ayniqsa ko'p zararlanadi. Bu kasalliklar vinolarda (10—12% spirtli) va quvvatlangan (16% gacha spirtli) vinolarda kuzatiladi.

Bu kasallikni sut achituvchi bakteriyalar qo'zg'atadi.

Vinoning yog'lanishi. Bunda vino shilimshiqlanib qoladi. Asosan nordon vinolar va kamdan-kam holda qizil vinolar ushbu kasallik bilan kasallanadi. Tarkibida ekstrakt, spirt va kislotalar miqdori uncha ko'p bo'lmagan yosh vinolar bu kasallik bilan kasallanadi. Natijada vino yopishqoq, shilimshiq, cho'ziluvchan va yoqimsiz ta'mli bo'ladi; lekin hidi o'zgarmaydi. Tarkibida 12% va undan ko'p spirt bo'lgan nordon vinolarda infeksiya rivojlanmaydi. Vinodagi shakar parchalanib, dekstringa o'xshash uglevod-viskoza ($C_6H_{10}O_5$) hosil bo'ladi, karbonat angidrid va mannit, ba'zan sut kislotasi va uchuvchan kislotalar kelib chiqadi.

Bu kasallik bochkalardagi shampan vino materiallarida ham shakar to'liq bijg'imaganda paydo bo'ladi. Yuqori temperaturada butilkalarda shampanlashtirishda ham rivojlanishi mumkin. Kasallikni sut achituvchi bakteriyalarning ayrim turlari keltirib chiqaradi; ular vinoning yopishqoqligini oshiradigan polisaxaridlarni sintezlaydi.

Taxirlashish kasalligi asosan uzoq saqlangan eski qizil vinolarni zararlaydi. Bunda vino dastlab yaltiroqligini yo'qotadi, ta'mi yoqimsiz bo'lsa ham tiniqligini saqlaydi. Kasallik rivojlanganda vino achchiqroq, o'tkir ta'mli va hidli bo'lib qolib, bijg'iy boshlaydi. Rangi jigarrang va ko'k-qora bo'lib, cho'kma hosil qiladi. Vino parchalanib, achchiq va iste'molga yaroqsiz bo'lib qoladi.

Bu kasallikni *Bact. amaracrilus* qo'zg'atadi. Bu spora hosil qiluvchi aerob tayoqcha bo'lib, glitserinni parchalaydi, glitserindan vinoni achchiq qilib qo'yadigan akrolein hosil qiladi.

Kasallangan vinolar yaxshilanmaydi.

Kislotalilikning biologik pasayishi. Kislotalilikning pasayishi uzoq muddat saqlash uchun tayyorlangan yangi meva va rezavor meva sharbatlari tarkibida sulfitlar kam bo'lgan sharoitda kuzatiladi. Bijg'iyotgan sharbatda ham kislotalilikning biologik pasayishi kuzatiladi. Kasallik olma kislota miqdorining tezda kamayishi va 4—6 kundan keyin butunlay parchalanib ketishida namoyon bo'ladi. Vino materiali, kislotasiz, yoqimsiz mazali va qo'ng'ir-qora rangli bo'lib qoladi.

Bu kasallikni *Schizosaccharomyces* turkumiga mansub achitqilar keltirib chiqaradi. Ular har xil meva va rezavor mevalar sharbatida rivojlanadi, lekin faqat olma kislota eng ko'p bo'lgan sharbat va vinolarning kislotaliligi pasayishi kuzatiladi. Bunda olma va olcha sharbatlarining titrlanadigan kislotaliligi 90% va undan ortiq kamayadi. Olxo'ri, ko'ksulton, nok, o'rik va boshqa mevalar sharbatida ham kislotalilik kuchli pasayadi, lekin titrlanadigan kislotalilik faqat 40—60% ga pasayadi, chunki sharbatlarda olma kislotadan tashqari, limon kislota ham bo'ladi, uni shizosaxaromisetlar parchalamaydi.

13.3. Vinochilikdagi mikrobiologik tekshirish

Doimiy mikrobiologik tekshirish zarur, chunki u infeksiya o'choqlarini topib, ularni o'z vaqtida yo'qotishga imkon beradi. Sifatli mahsulot ishlab chiqarish uchun texnologiya jarayoni-ning har bir bosqichida mikrofloraning soni va sifati tarkibini bilish zarur.

Mikrobiologik tekshirishda ikkita asosiy vazifa: sharbat, vino materiallari va vino bijg'ishida ham, saqlanishida ham kechadigan mikrobiologik jarayonlarni kuzatish hamda ularga baho berishdan; infeksiyalangan vino materiallari va vinolarga qarash tartibini belgilash, kasallangan vinolarni qayta ishlashdan iborat.

Mikrobiologik tekshirish quyidagi sxema bo'yicha: obyekt, joy, tekshirishning davriyligi, tekshiriladigan parametr, tekshirish usuli, obyektning mikrobiologik holatiga baho berish.

Shirin uzum to'poni, bijg'itilgan va spirtli to'pon, saqlanmay tashlab yuboriladigan achitqi cho'kmalari mikrobiologik jihatdan tekshirilmaydi.

Uzumdan namuna olish. Qo'lda uzilgan uzumning mikroorganizmlar bilan infeksiyalanganligini tekshirish uchun transport birligining har xil joyidan 50 dona g'ujum olib, 100 ml sterillangan suv quyilgan keng og'izli kolbaga solinadi va 3—5 minut yaxshilab chayqatiladi. Mikroskopda ko'rish uchun yuvilgan suvdan preparat tayyorlanadi.

Vino materiallari va vinodan namuna olish. Bir xil partiyadagi vino materiallaridan o'rtacha namuna olinadi; zarur bo'lganda esa qabul qilish va namuna olish qoidalariga mos holda har bir alohida idishdan olinadi. Ozuqa muhitiga ekish yo'li bilan analiz qilish zarurati tug'ilganda esa sterillilik qoidalariga amal qilingan holda namuna olinadi.

Agar vino materiali uzoq vaqt saqlangan (tinch turgan) bo'lsa, uning bir necha qatlamidan, shu jumladan, cho'kma-

sidan ham namuna olinadi. Buning uchun rezina shlangiardan (qisqichli) va shisha naycha yoki namuna olinadigan asbobdan foydalaniladi; har gal namuna olingandan keyin ular toza suv, keyin esa tekshiriladigan vino materiali bilan yuviladi. Infeksiyalangan vinomateriallardan namuna olib bo'lingandan keyin, shlang va namuna olinadigan asbobni suvda, keyin spirtda chayish va faqat 5 minutdan keyin ulardan foydalanish mumkin. Agar pastki jo'mrakdan namuna olish zarur bo'lsa, oldin 5—10 l vino materiali oqizib yuboriladi.

Butilkalardagi vinodan namuna olinadigan bo'lsa, oldin ular yaxshilab chayqatiladi va quruq toza pi petkada butilkaning o'rtasidan namuna olinadi.

Namuna olingandan keyin iloji boricha tezroq analiz qilish kerak; namunalar $6 \pm 1^{\circ}\text{C}$ da saqlanganda 2 soatdan kechiktirmay, agar mikrofloraning miqdoriy tarkibi aniqlanadigan bo'lsa, 30 minutdan kechiktirmay analiz qilinadi.

9-jadval

Birlamchi vinochilik korxonasiga olib kelinadigan uzumni tekshirish sxemasi

Nazorat qilish obyekti	Tekshirish joyi	Tekshiriladigan ko'rsatkich	Tekshiriladigan ko'rsatkichlarning eng yuqori qiymati	Tekshirish usuli
Qo'lda uzilgan uzum	Transport bo'limi	Mikroorganizmlar miqdori (soni)	Bitta ko'rish maydonida ko'pi bilan 1-2 ta mikroorganizmlar hujayrasi	Yuvilgan suvni bevosita mikroskopda qarash
Mashinada uzilgan uzum	Transport bo'limi	Mikroorganizmlar miqdori (soni)	Bitta ko'rish maydonida ko'pi bilan 10 ta mikroorganizmlar hujayrasi	Uzum massasining cuyuq fraksiyasini bevosita mikroskopda ko'rish

13.4. Vino va vino materiallarining mikrobiologik chidamliligiga baho berish usullari

Dastlabki baholash usuli. Dastlabki, taxminiy-ekspres baholash usuli vino materiallarining mikroorganizmlar — achitqilar, sut achituvchi, sirka kislota bakteriyalari bilan ifloslanganligi darajasini aniqlashga asoslangan. Olingan namunani mikroskopda ko'rish yoki sentrifugalab, so'ngra mikroskopda ko'rish yo'li bilan mikroorganizmlar hujayrasining umumiy soni aniqlanadi.

Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish uchun tekshiriladigan 10 ml material 25sek.^{-1} ($1,5 \cdot 10^3$ ob/min da) tezlikda 10 minut yoki 50sek.^{-1} ($3,0 \cdot 10^3$ ob/min) aylanish tezligida 5 minut sentrifugalanadi. Keyin cho'kma ustidagi suyuqlikni butunlay quyib olib, mikroskopda ko'rish uchun preparat tayyorlanadi.

1 ml vino materialidagi mikroorganizmlar hujayrasi sonini aniqlash uchun hisoblash kamerasidan foydalaniladi (6.1.-bo'lim).

Mikroorganizmlarning sistematik guruhlarini taxminiy aniqlashda ularning mikroskopda ko'rilgandagi morfologik belgilariga asoslaniladi.

Vino materiallarining holatiga dastlabki taxminiy ekspres baho berishda 12-jadvaldan foydalanib, mikroorganizmlarning miqdorini hisobga olish ma'lumotlariga asoslaniladi.

Vino va vino materiallarining mikrobiologik loyqalanishga chidamliligiga baho berish. Vino materiallarining mikrobiologik holati ularga har gal ishlov berilgandan keyin, saqlanayotgan vino materiallariniki kamida bir oyda bir marta tekshiriladi.

Vino va vino materiallarining mikrobiologik chidamliligiga baho berishning asosiy usuli olingan namunada, elektiv ozuqa muhitida mikroorganizmlarning rivojlanish vaqtini aniqlashdan va mikroskopda ko'rishdan iborat (13-jadval).

Uzum vino materiallari ishlab chiqarishni tekshirish sxemasi (birlamchi vinochilik)

T/r	Tekshirish obyekti	Tekshirish joyi	Tekshirishning davriyligi	Tekshiriladigan parametr	Tekshiriladigan parametrlarning eng yuqori qiymati	Tekshirish usuli
1	2	3	4	5	6	7
1	Tindirilgan va cho'kmasidan ajratib olingan sharbat	Tindirish rezervuari yoki texnologik idish	Tiniqlashtirish jarayonida 1-2 marta	Mikroorganizmlar soni	Bitta ko'rish maydonida ko'pi bilan 1-2-ta mikroorganizm hujayrasi	Bevosita mikroskopda ko'rish
2	Achitqilarning toza to'plami ko'paytmasi	Drojjanka (achitqilar kopaytiriladigan rezervuar)	Harkuni	Achitqilarning fiziologik holati va miqdori. Begona mikroorganizmlar bor-yo'qligi	Ko'paytirilgan suyultirmada kamida 80 mln/ml hujayra —shulardan kamida 30% kurtaklanuvchi, ko'pi bilan 5% nobud bo'lganlari. Begona mikroorganizmlar bo'lishiga yo'l qo'yilmaydi	Bevosita mikroskopda ko'rish, bo'yash 1 ml dagi hujayra sonini hisobga olish
3	Bijg'iyotgan sharbat va mezga	Bijg'ituvchi rezervuar	Bijg'ish to'xtab qolgan holda	Achitqilarning fiziologik holati va miqdori. Begona mikroorganizmlar bor-yo'qligi, temperatura, CO ₂	Nobud bo'lgan achitqilar ko'pi bilan 5%. Begona mikroorganizmlar ko'pi bilan 1% bo'lishi kerak	Bevosita mikroskopda ko'rish

1	2	3	4	5	6	7
4	Bijg'ish tugaganidan keyingi vino materiali	Har bir rezervuar	Haftada kamida 1 marta	Begona mikroflora va olma kislotasi mavjudligi	Begona mikroorganizmlarga yo'l qo'yilmaydi. Agar olma kislotasi bor bo'lsa, sut achituvchi bakteriyalar ishtirok etishiga yo'l qo'yiladi	Sentrifugalab, mikroskopda ko'rish. Olmasut kislotali bijg'ishni tekshirish
5	Ishlov berilmay saqlanayotgan vino materiali	Har bir rezervuar	Har oyda kamida 1 marta (nordon vinolar) kvartalda 1 marta (quvvatlangan vinolar)	Begona mikroflora va olma kislotasi bor-yo'qligi	Bitta ko'rish maydonida 10 tagacha hujayra bo'lishiga yo'l qo'yiladi. Olma kislotasi mavjud bo'lsa, sut achituvchi bakteriyalar ishtirok etishiga yo'l qo'yiladi	Sentrifugalab, mikroskopda ko'rish. Olmasut kislotali bijg'ishni tekshirish
6	Ishlov berilgandan keyingi vino materiali	Har bir partiya	Ishlov berilgandan, saqlangandan keyin yuklash (jo'natish)dan oldin	Mikroorganizmlar soni	Bitta ko'rish maydonida ko'pi bilan mikroorganizmlarning 2 ta hujayrasi bo'lishi	Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish

Uzum vinosi ishlab chiqarishni tekshirish sxemasi (ikkilamchi vinochilik)

T/r	Tekshirish obyekti	Tekshirish joyi	Tekshirish-ning davriyligi	Tekshiriladigan parametr	Tekshiriladigan parametrning qiymati	Tekshirish usuli
1	2	3	4	5	6	7
1	Idishlarga quyish uchun keltirilgan vino materiallari (ishlov berilgan)	Harqaysi partiyaning o'rtacha namunasi	Har bir partiya	Mikroorganizmlar soni	Bitta ko'rish maydonida mikroorganizmlarning ko'pi bilan 4 hujayrasi bo'lishi	Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish
2	Kam-ko'sti to'ldirilib ishlov berilgan vino materiali, kupajlar	Harqaysi partiya, kupaj rezervuari	Keltirilgan sari	Mikroorganizmlar soni	5 ta ko'rish maydonida ko'pi bilan 2 ta hujayra	Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish
3	Saqlanayotgan vino materiali	Harqaysi partiya	Oyda bir marta	Mikroorganizmlar soni	5 ta ko'rish maydonida ko'pi bilan 2 ta hujayra	Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish
4	Qo'shimcha to'ldirib quyish uchun ishlatiladigan vino materiali	Harqaysi partiya	Qo'shimcha quyishdan oldin	Mikroorganizmlar soni	Tirik mikroorganizmlar bo'lishiga yo'l qo'yilmaydi	Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish. Qattiq ozuqa muhitiga ekish. Mikrobiologik chidamliligiga baho berish (13-jadval)
5	Quyishga tayyorlab qo'yilgan vinolar	Harqaysi rezervuar	Quyishdan oldin	Mikroorganizmlar bor-yoqligi	10 ta ko'rish maydonida mikroorganizmlarning ko'pi bilan bit-ta hujayrasi bo'lishi	Oldin sentrifugalab, keyin mikroskopda ko'rish. Mikrobiologik chidamliligiga baho berish (13-jadval)

Vino materiallarining mikrobiologik holatiga ekspress baho berish

Vino materiallari	Mikroskopda ko'rilgandagi mikroorganizmlar soni				Vino materiallarining kimyoviy va organoleptik ko'rsatkichlari	Vino materiallariga dastlabki baho berish
	Sentrifugalangandan keyingi cho'kmada		Vino materialida			
	5 ta ko'rish maydonida	1 ml da	5 ta ko'rish maydonida	1 ml da		
Ishlov berilgan	100 tadan kam	5×10^6 dan kam	5 tadan kam	25×10^4 dan kam	Normativ-texnika hujjatlariga muvofiq	Sog'lom
	100 ta va undan ko'p	5×10^6 va undan ko'p	5 ta va undan ko'p	25×10^4 va undan ko'p	Normativ-texnika hujjatlariga muvofiq	Chidamsiz
	100 ta va undan ko'p	5×10^6 va undan ko'p	5 ta va undan ko'p	25×10^4 va undan ko'p	Uchuvchan kislotalarning massa konsentratsiyasi ruxsat etilgan miqdoridan yuqori, ta'mi va xushbo'yligida begona tuslar bor	Kasallangan
Ishlov berilgan	10 tadan kam	5×10^5 dan kam	—	—	Normativ-texnika hujjatlariga muvofiq	Sog'lom
	10 ta va undan ko'p	5×10^5 va undan ko'p	—	—	Normativ-texnika hujjatlariga muvofiq	Chidamsiz
	10 ta va undan ko'p	5×10^5 va undan ko'p	—	—	Uchuvchan kislotalarning massa konsentratsiyasi ruxsat etilgan miqdoridan yuqori, ta'mi va xushbo'yligida begona tuslar bor	Kasallangan

**Vino va vino materiallarining mikrobiologik
chidamliligiga baho berish**

Baholash	Mikroorganizmlarning rivojlanish vaqti (kun)				
	Vinoli va vino materiallarining probirkada o'sishi			Vino va vino materiallari ozuqa muhitiga ekilganda sut achituvchi bakteriyalarning o'sishi	
	achitqilar		sirka kislotaga hosil qiluvchi bakteriyalar yoki ularning achitqilar bilan aralashmasi	sorbin kislotaga bilan birga	etanoli bilan birga
	vino achitqilari	yovvoyi (parda hosil qiluvchi)			
Kasallangan	—	plyonka bo'lganida 1 ta	1—2 ta	3 ta	3 ta
Beqaror (chidamsiz)	1—3 ta	1—3 ta	3—5 ta	4—6 ta	4—5 ta
Barqaror (chidamli)	4 ta va undan ko'p	4 ta va undan ko'p	6 ta va undan ko'p	7 ta va undan ko'p	15 tadan ortiq

Eslatma: yuqori kislotali vino va vino materiallari analiz qilinganda aniqlangan sut achituvchi bakteriyalarning rivojlanishi olma-sut kislotali biyog'ishdan darak beradi.

Paxta tiqinli sterillangan probirkaga quyilgan 10 ml tekshiriladigan namuna (vinodan yoki vino materiallaridan olingan) temperaturasi $26 \pm 1^\circ\text{C}$ bo'lgan termostatga qo'yiladi.

Sut achituvchi bakteriyalar bilan infeksiyalangan vino va vino materiallari ularni elektiv ozuqa muhitiga ekib, rivojlanish vaqtini aniqlash bo'yicha topiladi. Buning uchun 0,5 ml tekshiriladigan namuna sorbin kislotali yoki etanolli ozuqa muhitining biriga ekiladi. Ular $26 \pm 1^\circ\text{C}$ temperaturada o'stiriladi (6.2-bo'lim).

Xeres tayyorlash uchun olingan vino materialining yaroqliligi xeres pardasining rivojlanish vaqtiga qarab aniqlanadi. Tekshiriladigan vino materialidan 10 ml olib, paxta tiqinli sterillangan probirkaga solinadi va ilmoqda xeres achitqilarining toza to'plamidan olib uning yuzasiga ekiladi. So'ngra xona temperaturasida o'stiriladi.

Vinoda yoki vino materialida jadvalda ko'rsatilgan mikroorganizmlarning xatto bittasi topilsa ham, ular "kasal" yoki "chidamsiz" hisoblanadi. Uchuvchan kislotalar massa konsentratsiyasining yo'l qo'yilgan normadan ortiq bo'lishi, shuningdek, organoleptik baho berishdagi begona tuslar kasallangan vinoning bilvosita ko'rsatkichidir.

"Kasallangan" "chidamsiz" deb baholangan vino materiallariga quyidagi sxema bo'yicha ishlov beriladi:

$75 \pm 5^\circ\text{C}$ da $12,5 \pm 2,5$ minut davomida pasterlash, so'ngra $15 \pm 5^\circ\text{C}$ gacha sovitish, filtrlash;

erkin SO_2 ni 25—30 mg/l gacha sulfidlash.

Ana shunday yo'l bilan ishlov berilgan vino materiallari yaxshilab mikrobiologik tekshiriladi va mustaqil realizatsiya qilishga yo'l qo'yilmaydi. Ularni kundalik vino materiallari kupajiga jo'natiladi.

Titrlanadigan kislotaliligi yuqori va sut achituvchi bakteriyalar mavjud bo'lgan vino materiallari olma kislota boryo'qligini bilish uchun xromatografiya usulida tekshiriladi. Olma kislota topilgan taqdirda olma-sut kislotali bijg'ish jarayoni tugaguncha vino materiallarini alohida turdagi vinolar tayyorlash uchun qoldirish yoki bu jarayonning oldini olish (masalan, pasterlash) masalasi hal etiladi.

Bakteriyalar sonining keskin ko'payishi, titrlanadigan kislotalar massa konsentratsiyasining pasayishi, uchuvchan kislotalar massa konsentratsiyasining ortishi olma-sut kislotali bijg'ishdan dalolat beradi. Temperaturaga va vinodagi SO_2 miqdoriga qarab, bu jarayon 20 kun davom etadi.

Jarayon tugagandan keyin bakteriyalar inaktivatsiyalanadi ($30\text{—}50$ mg/l SO_2 qo'shiladi, pasterlanadi), so'ngra yopishqoq moddalar bilan ishlov beriladi va filtrlanadi.

Biologik jihatdan stabil (turg'un) vinolarni ishlab chiqarish uchun texnologik instruksiyasi (ko'rsatmasi) ga muvofiq zavodda istalgan ishlov berish rejimi va turidan foydalanish mumkin.

14. GO'SHT, GO'SHT MAHSULOTLARI VA BALIQNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Go'shtni bakterioskopik tekshirish usullarini o'zlashtirish. Go'sht, go'sht mahsulotlari, baliq va parranda go'shtining buzilishi turlarini o'rganish. Go'sht, baliq va kolbasa mikroorganizmlarining miqdoriy tarkibini va turlarini aniqlash.

14.1. Go'sht va go'sht mahsulotlari mikroflorasi

Insonning ovqatlanishida go'sht va go'sht mahsulotlari alohida o'rinda turadi. Ular hayot jarayoni normal kechishi uchun zarur bo'lgan oqsillarning kattagina qismini ta'minlaydi. Go'sht — mayin ozuqa mahsulotidir. U ko'pgina mikroorganizmlar uchun yaxshi ozuqa muhiti hisoblanadi, chunki unda ular uchun zarur bo'lgan barcha moddalar — uglevod, azot manbai, vitaminlar, mineral tuzlar bo'ladi. Go'shtda suv va pH qulay bo'lishi ham ularning rivojlanishiga ijobiy ta'sir etadi, shunga ko'ra, go'sht tez buziladi.

Sog'lom hayvonlarning mushaklari steril bo'ladi. Kasal, so'yishdan oldin och qolgan, charchagan va hokazo hayvonlarning mushaklariga ichaklari orqali mikroorganizmlar o'tib qolgan bo'lishi mumkin. Bulardan tashqari, mollar so'yilgandan keyin tanasiga dastlabki ishlov berishda va nimtashda asboblardan, ishchilarning qo'li va kiyimlaridan, shuningdek, tashish va saqlashda ham go'shtga mikroblar tushishi mumkin. Shuning uchun yangi so'yilgan go'sht steril bo'lmaydi va anchagina mikroorganizmlar yuqqan bo'ladi.

Go'sht va go'sht mahsulotlarining mikroblar ta'sirida buzilishi eng ko'p uchraydigan hodisadir. Shuning uchun go'shtdagi mikroorganizmlar soni eng kam bo'lishiga erishish birinchi talabdir. Agar mikroorganizmlar go'shtning yuzasiga yoki ichiga tushgan bo'lsa, ular ko'payishining oldini olish, shuningdek, sonini kamaytirish choralarini ko'rish zarur. Buning uchun bir necha ming yillardan beri past va yuqori temperaturadan foydalaniladi. Shuningdek, quritish, tuzlash kabi usullardan ham foydalaniladi.

Go'sht mahsulotlarida har doim mikroorganizmlar qoldig'i bo'ladi. Shuning uchun go'sht mahsulotlarini mikrobiologik buzila boshlashidan oldin iste'mol qilish kerak. Agar go'sht mikroblar ta'sirida buzilsa, tarkibidagi uglevodlar, oq-sillar, yog'lar parchalanadi. Mikroflora tarkibi xilma-xil bo'ladi. Odam uchun patogen bo'lgan va toksikogen mikroblar turlari nihoyatda zararli hisoblanadi. Bular salmonellalar, *Bac. anthracis* va *Cl. botulinum*. Shuningdek, mog'or zamburug'larning mikotoksin hosil qiladigan shtammlaridir.

Yangi so'yib, muzlatilgan go'sht mikroblar bilan har xil darajada ifloslanadi. Go'shtning 1 sm² yuzasida minglab, o'n va yuz minglab hujayralar bo'lishi hisoblangan. Mikrofloraning tarkibi har xil. Bular asosan *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Aeromonas* turkumlariga mansub anaerob, sporasiz, grammanfiy tayoqchasimon bakteriyalar, ichak tayoqchasi va proteylar guruhi bakteriyalari, korineform, sut achituvchi bakteriyalar, mikrokokklardir. Kam miqdorda spora hosil qiluvchi aerob va anaerob bakteriyalar, achitqilar, mog'orlar sporasi uchraydi. Bu mikroorganizmlar orasida go'shtni buzuvchilari ham bo'ladi.

Kalla-pochcha, ichak-chavoq, miya, buyrak, yurak va boshqalar go'shtga nisbatan mikroblar bilan ko'proq ifloslangan bo'ladi, shuning uchun ular ancha tez buziladi.

Mikroorganizmlar go'sht yuzasidagi o'zi uchun qulay sharoitda ko'payib, keyin asta-sekin uning ichiga kiradi. Natijada go'shtning sifati pasayadi.

14.2. Go'shtning sifatini bakterioskopik usulda aniqlash

Go'shtni bakterioskopik tekshirish uchun uning har xil chuqurligidan steril holatda bo'lakchalar kesib olib, ularni kesilgan yuzasi bilan qizdirilgan oyna ustiga qo'yiladi. Ana shunda oynaga go'shtning izi tushadi. Keyin bu izni quritib, fiksirlab, Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda qaraladi. Gram usulida bo'yashdan maqsad ichak tayoqchalari va ich terlama kasalligini qo'zg'atuvchi guruhdagi bakteriyalar bor yoki yo'qligini aniqlashdan iborat; ular grammanfiy sporasiz tayoqchalardir.

Go'sht bo'lakchasining izi tushirilgan tamg'a-preparatning bitta ko'rish maydonidagi hujayralar soniga asoslanib mikroorganizmlar miqdori hisobga olinadi. 14-jadvalga muvofiq go'shtni bakterioskopik tekshirish natijalariga baho beriladi.

14-jadval

Go'shtning yangiligiga bakterioskopik usulda baho berish

Go'shtning yangiligi	Go'shtning pH	Bakterioskopik tekshirish ko'rsatkichlari
Yangi go'sht	5,9-5,5	Tamg'ada mikroflora topilmaydi yoki kokklar, achitqilar, tayoqchalarning yakka nusxalari ko'rinadi. Go'sht to'qimalarining parchalanish qoldig'i oynada umuman sezilmaydi. Mikrofloraning rangi grammusbat.
Yangiligi gumon qilingan go'sht	6,6	Tamg'aning har bir ko'rish maydonida bir necha o'nlab (20-30 ta) kokklar yoki bir nechta tayoqcha ko'rinadi. Mikroblardan tashqari, mushak to'qimasining parchalanish izlari yaqqol bilinadi. Mikrofloraning rangi ham grammusbat, ham grammanfiy.
Yangi emas	6,7	Tamg'ada mikroorganizmlar ko'p, grammanfiylari ustunlik qiladi (ko'rish maydoni ular bilan deyarli butunlay to'la). Mushaklarning parchalangan to'qimalari juda ko'p.

Go'shtning chuqur qatlamidan namuna olishda uning yuzasi qizdirilgan pichoq bilan kuydiriladi va sterillangan lansetda vertikal holatda chuqur kesiladi. So'ngra uning chetlari orasini pinsetda kerib, chuquridan kichik bo'lakcha kesib olinadi. Keyin uni kesilgan tomoni bilan buyum oynasi ustiga qo'yib, uning izi tamg'adek tushiriladi yoki shu bo'lakchani buyum oynasiga surtib, ortiqcha material tashlab yuboriladi.

Mazok safranin yoki metilen ko'ki bilan bo'yalganda grammusbat tayoqchalar yoki uchi to'mtoq tayoqchalar zanjiri, shuningdek, kapsulaga o'ralgan tayoqcha yoki tayoqchalar zanjiri ko'rinishi unda kuydirgi kasalligini qo'zg'atuvchi *Bact. anthracis* bo'lishi mumkinligidan dalolat beradi. Bunday material Davlat sanitariya inspeksiyasi laboratoriyasiga yuboriladi.

Agar mazoklarda tennis raketkasi shaklidagi sporali poli-morf grammusbat tayoqchalar topilsa, *Bact. votulinum* bor deb taxmin qilish mumkin. Bu material ham yana yaxshilab tekshirish uchun Davlat sanitariya inspeksiyasi laboratoriyasiga yuboriladi.

Tamg'a-preparatni tayyorlash va mikroskopda ko'rish. Buning uchun sterillangan toza buyum oynasi go'sht namunasining tekshiriladigan yuzasiga zich bosiladi. Tayyor bo'lgan tamg'a-preparat havoda quritilib, gorelka alangasida fiksirlanadi va Gram usulida bo'yaladi (5.2-bo'lim).

Agar go'sht yog'li bo'lsa, preparat spirt bilan efir aralash-masida fiksirlanadi. So'ngra preparat mikroskopda x90 obyektivida ko'riladi. Bunda kamida 10 ta ko'rish maydoni tekshiriladi. Kokklar bilan tayoqchalar alohida hisoblanib, har bir ko'rish maydoniga nisbatan o'rtacha soni chiqariladi. Topilgan bakteriyalarning Gram usulida bo'yashga munosabatini aniqlash va koli terlama guruhi tayoqchalari yo'qligi yoki bo'lishi mumkinligi haqida xulosa chiqarish kerak.

Olingan natijani 14-jadval ko'rsatkichlari bilan taqqoslab, go'shtning yangiligiga baho beriladi. Tekshirish natijalarini yozib olib, rasmi chiziladi.

14.3. Go'shtdagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlash

Tekshirilayotgan go'shtdagi mikroorganizmlar miqdorini, ichak-ich terlama guruhi va anaeroblar bor-yo'qligini aniqlash uchun preparatlarni bakterioskopik tekshirish bilan bir qator-da materialni ekish usulidan ham foydalaniladi.

Ekish usuli. Namunani ekishdan oldin yog' to'qimasidan tozalanadi, spirtga botirib qo'yib, yuzasi ikki marta kuydiriladi. Shundan keyin sterillangan pichoqda namunaning har xil joyi chuqurligidan 2—3 sm kattalikdagi go'sht bo'lakchasi kesib olinib, surkash yo'li bilan GPAlilikopchaga (bakteriyalarning umumiy sonini aniqlash uchun), Endo elektiv muhitiga (ichak-ichterlama guruhini topish uchun) ekiladi va probirkalardagi jigar bulyoniga tushiriladi (anaeroblarni aniqlash uchun).

Jigar bulyoniga ekilgan namunalarni termostatga qo'yishdan oldin 80°C da 20 minut isitiladi; bunda sporali formalar hisobga olinadi. Probirkalarning bir qismi isitilmaydi. Ekilgan idishlarning hammasi termostatga 37°C isiqqa qo'yib, 24—48 soat saqlanadi.

Jigar bulyoniga qilingan ekinlar anaeroblarni aniqlash uchun termostatda 8—10 kun saqlanadi. Agar muhitda mikroflora o'sayotganligi aniqlansa, u mikroskopda tekshiriladi.

Saprofit mikrofloraning umumiy miqdorini aniqlashda likopchadagi mikroorganizmlarning o'sish intensivligi quyidagi belgilar bilan ifodalanadi:

- likopchada o'smagan bo'lsa –
- 20 tagacha koloniya bo'lsa +
- 20 tadan 50 tagacha koloniya bo'lsa ++
- 50 tadan ortiq koloniya bo'lsa +++

Elektiv muhitlardagi koloniyalar miqdori yuqorida ko'rsatilgan usulda aniqlanadi, mikroorganizmlar o'sishining o'ziga xosligi belgilab boriladi. Elektiv muhitli likopchalarda ichak-ich terlama guruhi bakteriyalarini aniqlash juda muhimdir;

chunki ular ovqatdan zaharlanishga va infeksiya tarqalishiga sabab bo'ladi; shuningdek, mazkur guruhning o'sish intensivligi aniqlanadi.

Anaerob bakteriyalarning jigar bulyonida o'sishi muhitning anchagina loyqalanishiga qarab aniqlanadi. Loyqalangan muhitdan liksirlangan preparat tayyorlanadi. Agar preparatda *Bac. votulinus* ga o'xshagan sporalı tayoqchalar topilsa, botulizm batsillalarini aniqlash uchun material Davlat sanitariya inspeksiyasiga topshiriladi.

Kesib olish usuli. Bunda go'shtning 1 sm^2 yuzasidagi mikroflorani aniqlash uchun kesib olish usulida namuna olinadi.

1 - u s u l. Sterillangan o'tkir pichoqda go'shtdan 2—3 mm qalinlikda yupqa plastinka kesib olib, sterillangan va oldindan tortib qo'yilgan chinni idishga solinadi va qopqog'ini yopib vazni tortiladi. So'ngra namunani sterillangan qum bilan ishqalab, sterillangan va o'lchangan suv yordamida sterillangan kolbachaga quyiladi. Uni 5 minut yaxshilab aralashtiriladi va suvidan 1 ml olib, ozuqa agarga ekiladi. O'sib chiqqan koloniyalarni hisobga olishda (termostatga qo'yilgandan keyin) 1 g kesik go'shtning $1,5 \text{ sm}^2$ yuzasiga mos kelishini e'tiborga olish kerak. Shundan keyin mahsulotning 1 sm^2 dagi mikroblar soni aniqlanadi.

2 - u s u l. Yuqorida aytilganidek, mahsulotdan yupqa kesik tayyorlab, sterillangan qog'ozga qo'yiladi, so'ngra namuna olinadigan buramani spirtida yuvib, alangada qizdirib, uning yordamida mahsulot namunasi yumaloq kesik olinadi. Kesikni qum bilan ishqalab, hosil bo'lgan bo'tqa ma'lum miqdordagi suv bilan kolbachaga yuvib tushiriladi, keyin yaxshilab chayqatib (5 minut), suvidan 1 ml olib, ozuqa agarga ekiladi. Analiz natijasini hisobga olishda doira maydoni radiusi πr^2 formulaga muvofiq, millimetrlarga bo'lingan chizg'ichda aniqlanadi. So'ngra mahsulotning 1 sm^2 dagi mikroblar soni aniqlanadi.

14.4. Kolbasalarni mikrobiologik tekshirish

Kolbasalar mikroflorasi go'sht, tuz, yog', un, ziravorlar va ularni tayyorlashda ishlatiladigan boshqa xom ashyoga bog'liq. Ayniqsa go'shtni qiymalash jarayonida har xil mikroflora miqdori ortib ketadi. Qiyma qancha mayda bo'lsa, unga mikroblar shuncha ko'p tushadi. Bundan tashqari, qiymaga havodan va asbob-jihozlardan ham mikroorganizmlar tushadi.

Qiymani ichaklarga tiqib bo'lgach, ichidagi massaning havosini chiqarib yuborish uchun turli joyidan mayda-mayda teshiladi. Kolbasa batonlari past temperaturada saqlanganda ham havosi chiqib ketadi. Shunday qilib, unda asta-sekin kislorodsiz muhit yaratiladi, natijada aerob bakteriyalar rivojlana olmaydi.

Qattiq qizdirilganda (qovurilganda) kolbasalarning po'sti quriydi va oshlanadi hamda tashqi mikroflora kam kiradigan bo'lib qoladi. Bundan tashqari, qovurish jarayonida kolbasa qiymasiga o'tin yongandagi mahsulotlar hidi singib qoladi, bunda mikroflora qisman yo'qoladi va kolbasa o'ziga xos hidli bo'ladi. Tutun ham kolbasaning yuzasini sterillaydi.

Qaynatish natijasida go'sht fermentlarining faoliyati va ayrim mikrofloraning hayot faoliyati to'xtaydi. Dudlash jarayonida mahsulotning namligi ancha kamayib, tuzning foiz miqdori ortadi. Tutun elementlari mikrofloraning faoliyatini to'xtatadi va ularni yo'qotadi.

Shunday qilib, bu barcha texnologiya jarayonlari kolbasa qiymasining zararsizlanishiga yordam beradi: anaerob sharoit yaratadi, namni kamaytiradi va mahsulotni pasterlaydi.

Kolbasalarning turiga qarab, mikrofloraning miqdori va sifati o'zgaradi.

Liver kolbasalar kalla-pochcha, o'pka, oshqozon va boshqa submahsulotlardan tayyorlanadi, ularga ancha ko'p mikroblar tushgan bo'ladi. Ularning qiymasi juda mayda, g'ovak bo'ladi, shuning uchun ichiga mikroblar ko'p kiradi.

Liver kolbasalar yaxshi saqlanmaydi, shuning uchun ular tayyorlangandan keyin 12 soatdan kechiktirmay savdo tarmoqlariga yuborilishi kerak. Ular 12 soatdan uzoq saqlansa, bakteriyalar avj olib rivojlanishi va ovqatdan zaharlantirishga sabab bo'lishi mumkin.

Qaynatilgan kolbasalar tarkibida 50% dan 75% gacha nam bo'ladi. Ular dudlanmaydi va shuning uchun yaxshi saqlanmaydi. Pishirishdagi issiq bug' 63°C da ichak tayoqchalarini bir necha sekundda nobud qiladi, shu bilan bir vaqtda yog' qavati bilan o'ralgan hujayrasi esa 100°C da ham 1 soatgacha tirik saqlanadi. Tarkibida yog' bo'lgan kolbasalarda kokklar va yagona ichak tayoqchalari uchrashi ana shunga bog'liq.

Kolbasa tayyorlashda texnologiya va sanitariya rejimiga to'g'ri rioya qilinsa, mahsulotda ichak tayoqchasi sporasiz bakteriyalar uchramasligi kerak. Bunday sharoitda kolbasa mahsulotlarining qoldiq mikroflorasi asosan pichan va kartoshka tayoqchalari tipidagi bakteriyalarning sporali shakllaridan iborat bo'ladi. Kolbasa qiymasiga qo'shiladigan zira-vorlar sporali aerob bakteriyalar manbai hisoblanadi. Garm-dori sporali bakteriyalar bilan ayniqsa ifloslangan bo'ladi.

Ishlab chiqarish sanitariya va texnologiya rejimi buzilsa, mahsulotda aerob va anaerob sporali va sporasiz bakteriyalar saqlanishiga sabab bo'ladi. Botulizm batsillasi — *Bac. botulinus* sporali anaerob bo'lib, eng xavfli mikroorganizm hisoblanadi. Kolbasalar 10°C dan yuqori temperaturada saqlanganda ular ichidagi anaerob sharoit tufayli botulizm batsillasi rivojlanib, ovqatdan kuchli zaharlantirishga sabab bo'ladigan kuchli toksin to'planishi mumkin.

Agar kolbasa ichidan ichak tayoqchasi topilsa, bu texnologiyaning buzilganligidan (mahsulot yaxshi pishirilmaganidan) darak beradi. Kolbasa yuzasidan ichak tayoqchasi topilsa, u ikkilamchi ifloslanganini, ya'ni sanitariya rejimi buzilganini bildiradi. Kolbasalar tayyorlangandan keyin yuzasini artib tozalashda, omborga joylashda hamda tashishda yuzasi

ikkilamchi ifloslanadi. Natijada saqlanayotgan kolbasalar buzilishi: shilimshiqlanishi, mog'orlashi, un sepilgandek bo'lib qolishi va irigan hidli bo'lishi mumkin. Kolbasa mahsulotlarini mikroskopik analiz qilishda: mikroorganizmlarning umumiy soni, turkumi (kokklar, tayoqchalar, sporalı formalar), ichak tayoqchasi bor yoki yo'qligi aniqlanadi (5.2, 6.2, 7.1-bo'limlar).

N a m u n a o l i s h. Kolbasaning yuzasini pichoqda qirib, spirtida ho'llangan paxta tampon bilan artiladi, so'ngra yonayotgan tampon bilan sterillanadi. Shundan keyin kolbasani alangada qizdirilgan skalpelda uzunasiga kesib, sterillangan asbobda ichki qismidan namuna olinadi.

14.5. Baliqni mikrobiologik tekshirish

Baliq mikroflorasining tarkibi nihoyatda xilma-xil. Baliqning shilimshiq yuzasidagi bakteriyalar orasida ko'pincha har xil mikrokokklar, sarsinalar, spora hosil qiluvchi va sporasiz tayoqchalar, jumladan, *Bact. fluorescens*, *Bact. (proteus) vulgaris*, shuningdek, ichak tayoqchasi guruhiga mansub turli vakillar uchraydi.

Baliqlar ichagida juda ko'p miqdorda chirituvchi bakteriyalar rivojlanadi. Shunday qilib, baliq faqat tashqi tomondan emas, balki ichidan — ichagi va oyquloqlaridan ham buzila boshlaydi.

Baliqning sifatiga bakterioskopik baho berishda mushaklari ichidan namuna olib, tamg'a-preparat tayyorlash uchun orqasining o'rta qismini tangachalardan tozalab, unga gorelka alangasida qizdirilgan pichoqni bosiladi. Shundan keyin sterillangan skalpelda kesiladi.

N a m u n a o l i s h. Kesilgan joyni pinsetda kengaytirib, qaychida 1—1,5 sm chuqur kesiladi va yuzasi 2 sm² keladigan go'sht bo'lakchasi kesib olinadi. Keyin bu bo'lakcha alangada qizdirib, sovutilgan buyum oynasiga qo'yiladi. Tamg'a qurutiladi, ehtiyotlik bilan spirt lampa alangasida fiksirlanadi va Gram usulida yoki metilen ko'ki bilan bo'yaladi.

Baliq yuzasining tamg'asini tushirishda u kuydirilmaydi. Tekshiriladigan joyga oldin spirt lampa alangasida qizdirib, so'ngra sovutilgan buyum oynasi qo'yiladi, so'ngra esa preparat quritilib, fiksirlanadi va bo'yaladi.

Tayyor bo'lgan preparatni mikroskopda ko'rib, 15-jadval ko'rsatkichlariga muvofiq, baliqning sifatiga baho beriladi.

15-jadval

Baliqning sifatiga bakterioskopik baho berish

Bakterioskopik analiz ko'rsatkichlari	Yangi baliq	Ancha oldin tutilgan, lekin iste'molga yaroqli baliq	Aynigan va iste'molga yaroqsiz baliq
Yuzani bakterioskopik tekshirish	Mazokda yoki ko'rish maydonida mikroblar 1—2 tadan ko'p emas	Ko'rish maydonida mikroblar 5—6 tadan ko'p emas	Ko'rish maydonida 40 ta va undan ko'p hujayra
Mushaklarichini bakterioskopik tekshirish	Mikroblar topilmaydi	Preparatda 1—2 ta mikroblar	Ko'rish maydonida 10 tadan 20 tagacha va undan ko'p hujayra
Ozuqa agarli likopchaga ekilganda:			
a) mikroblar bilan ifloslanish darajasi, temperatura optimumi 20°C	1—2 ta koloniyadan to ularning tarqoq o'sishigacha	Koloniyalarning tarqoq o'sishidan to avj olib o'sishigacha	Koloniyalarning yoppasiga o'sishidan to avj olib o'sishigacha
b) mikroblar bilan ifloslanish darajasi temperatura optimumi 37°C	Koloniyalar o'smagan yoki 1-2 ta	1-2 ta koloniyadan to ularning tarqoq o'sishigacha	1-2 ta koloniyadan to yoppasiga o'sishigacha
d) lakmus bo'yicha reaksiya (pH)	Kuchsiz kislotali, 6,8—6,4	Kislotali, 6,4—6,0	Kislotali, 6,5 yoki kuchsiz ishqoriy, 7,0 dan yuqori; lekin normada bo'lishi mumkin

14.6. Parranda go'shti mikroflorasi

Parranda go'shti ham, qoramol go'shti singari, mikroorganizmlar rivojlanishi uchun qulay muhit hisoblanadi. Mikroblar tushish manbai, mikroflorasining tur tarkibi, parranda go'shtining buzilish (aynish) turlari va uni mikrobiologik analiz qilish usullari so'yilgan hayvonlar go'shtinikiga o'xshash bo'ladi. Biroq, parrandalar, ayniqsa suvda suzuvchilar, mushaklarida ko'pincha salmonellalar — ovqat toksinoinfeksiyasini qo'zg'atuvchilar uchrashi mumkin.

Ichak-chavog'i chala tozalangan parrandalar tanasida yaxshilab tozalanganlarinikiga qaraganda mikroblar anchagina ko'p bo'ladi. Chala tozalanganda ko'pincha ichagi yorilib ketadi va qorin bo'shlig'i ichak mikroorganizmlari bilan ifloslanadi.

Patini yulishda terisi zararlanishi ham mushaklarning mikroorganizmlar bilan ifloslanishiga sabab bo'ladi. Tovuq, broylerlar so'yilib, ularga ishlov berilgandan keyin yuzasining har 1 sm² da minglab bakteriya bo'ladi. Sovuqda saqlanganda (4—5°C), 4—6-kuni ular soni o'n, yuz mingga, hatto millionga yetadi. 1°C da saqlangan parranda go'shti mikroflorasi *Pseudomonas* (70—75% gacha), *Acinetobacter*, *Moraxella* turkumlariga mansub tayoqchasimon sporasiz aerob bakteriyalardan iborat bo'ladi.

So'yilgan parrandalar havo o'tkazmaydigan plyonkalariga joylansa, bakteriyalarning ko'payishi sekinlashadi. Sovutilgan parranda go'shti (tovuq, o'rdak go'shti) tarkibida karbonat anhidrid gazi ko'p bo'lgan, temperaturasi krioskopikka yaqin (−2°, −3°C) sharoitda saqlanganda saqlash muddati uzayadi.

Muzlatilgan parranda go'shti −12°, −15°C dan yuqori bo'lmagan temperaturada uzoq vaqt, oylab mikrobial buzilmasdan saqlanadi. Parranda go'shtining yangi-eskiligi (darajasi) tamg'a-mazoklar tayyorlab bakterioskopiya qilish yo'li bilan, xuddi qoramollar go'shtini tekshirishdagi usullarda va o'sha ko'rsatkichlar bo'yicha aniqlanadi (14-jadval).

15. SUT, SUT MAHSULOTLARI VA YOG'LARNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Sut va sut mahsulotlari mikroflorasini o'rganish. Mikrobiologik tekshirish uchun sut va sut mahsulotlaridan namunalar olishni o'rganish. Sut va sut mahsulotlaridagi mikroorganizmlarni aniqlash usullarini o'zlashtirish. Yog'larni parchalaydigan mikroorganizmlarni aniqlash.

15.1. Sut va sut mahsulotlari mikroflorasini o'rganish

Quyidagilar sutning ifloslanish manbalari bo'lib hisoblanadi: sigir (1 ml da bir necha yuzdan mingtagacha bakteriya); sigirning tevarak-atrofi (1 ml da bir necha mingdan o'n mingtagacha); yaxshi yuvilmagan sog'ish apparatlari, sisternalar, sut oqiziladigan quvurlar, sigir sog'uvchilar qo'lining yuzasi, idishlar, shuningdek, sut tashish vositalari (1 ml da bir necha o'n mingdan yuz mingtagacha, ba'zan milliontagacha bakteriya bo'ladi).

Sog'ilgan xom sutdagi bakteriyalarning eng asosiy manbai yelin so'rg'ichlari, ayniqsa, uning tashqi terisidir. Xom sut mikroflorasi mikrokokklar, enterokokklar, koli bakteriyalari va boshqa saprofit mikroblardir; shuningdek, patogen mikroorganizmlar (dizenteriya, ich terlamasi, brusellyoz, sil va boshqa kasalliklarni qo'zg'atuvchilar) va ovqatdan zaharlanishga sabab bo'ladigan tillo rang stafilokokk, salmonellalar ham bo'lishi mumkin. Saprofitlar orasida sutni har xil buzuvchi: taxirlantiruvchi, hidi va ta'mini buzuvchi, rangini o'zgartiruvchi (ko'karadi, qizaradi), cho'ziluvchan qilib qo'yadigan mikroorganizmlar bor.

Yangi sog'ilgan sutda bakteritsid moddalar — lakteninlar (laktoferrin, lizotsim, immunoglobulin) bo'lib, ular bakteriyalarning rivojlanishini vaqtincha to'xtatib turadi. Bu holat

turli omillarga bog'liq bo'lib, **bakteritsid faza** deb ataladi. Yangi sog'ilgan sutning temperaturasi 35°C ga yaqin bo'ladi. Uni sog'ilishi bilanoq sovutish kerak. Bakteritsid fazaning qancha davom etishi sutni saqlash temperaturasiga va sut sog'ish gigiyenasiga bog'liq. Sutchilik fermalarida sog'ilgan sut 6—3°C gacha sovutiladi va sut zavodlariga yuboriladi. U yerda sut mexanik iflosdan tozalanadi, pasterlanadi yoki sterillanadi, har xil idishlarga quyilib, savdo tarmoqlariga jo'natiladi. Pasterlangan sutni 10°C dan past temperaturada uzog'i bilan 36—48 soat saqlash kerak. Flyagadagi sutni ishlatishdan oldin albatta qaynatish kerak.

Asosiy sut mahsulotlariga qatiq mahsulotlari, sariyog', margarin, pishloqlar kiradi.

Sanoatda **qatiq mahsulotlari** tayyorlash uchun pasterlangan sut sut achituvchi bakteriyalarning toza yoki aralash to'plamidan maxsus tanlab olingan tomizg'i (zakvaska) bilan ivitiladi. Foydalaniladigan tomizg'ining faolligi va sutning sifati katta ahamiyatga ega. Ba'zan sut tarkibida quruq moddalar, vitaminlar kam bo'lsa, sigirlarni davolashda foydalaniladigan antibiotiklar mavjud bo'lsa, qatiq sekin iviydi. Sut achitish jarayoni susayganda, begona mikrofloraning rivojlanishi uchun sharoit yaratiladi, bu esa tayyor mahsulotda har xil kamchiliklar paydo bo'lishiga olib keladi.

Smetana va prostokvasha sutni *Str. lactis* va *Str. cremoris* to'plamlari bilan achitib, tayyorlanadi. *Str. lactis* diplokokk shaklida bo'lishi mumkin, u aktiv kislota hosil qiluvchidir. *Str. cremoris* (kokklar zanjiri shaklida) mahsulotni smetasimon konsistensiyali qiladi. Preparatda mikroorganizmlarning boshqa to'plamlari bo'lishi mahsulotning ular bilan zararlanganini bildiradi.

Laktobatsillin tayyorlash uchun *Str. lactis* va *Bact. bulgaricum* to'plamlaridan foydalaniladi. Keyingi bakteriya-ning shilimshiqsiz va shilimshiq irqi ishlatiladi. Shilimshiq irqining mavjudligi mahsulotning yopishqoqligi va cho'ziluvchanligidan darak beradi. Tayyor laktobatsillinning kislotaligi

120°C gacha. Bolgar prostokvashasi aniq seziladigan shilimshiq bo'lmashligi kerak.

Sifatli laktobatsillindan tayyorlangan preparat mikroskopda ko'rilganda *Str. lactis* ning hujayralari *Bact. bulgaricum* hujayralaridan 3—4 marta ko'p bo'lishi kerak.

Atsidofil mahsulotlar *Bact. acidophilum* nomli atsidofil tayoqchalar to'plamida tayyorlanadi. U bolgar tayoqchasiga yaqin bo'ladi. Atsidofil tayoqcha bolgar tayoqchasiga qaraganda fenol, indol va ishqorlarga ancha chidamli bo'ladi, biokimyoviy aktivligi yuqoriligi bilan farq qiladi, maltoza va saxarozani bijg'itish xossasiga ega.

Bact. acidophilum odam va hayvonlar ichagida yashab, kislota ishlab chiqarishda va moddalar almashinuvi mahsulotlari ajratishda davom etadi.

Atsidofil mahsulotlar sut kislota va moddalar almashinuvi mahsulotlari bilan chirituvchi bakteriyalarning rivojlanishini to'xtatadigan, organizmlar uchun zararsiz biologik antiseptik hisoblanadi.

Atsidofilin atsidofil tayoqcha va sut achituvchi streptokokklar to'plamida tayyorlanadi. Preparat mikroskopda qaralganda atsidofil tayoqchalar va *Str. lactis* hujayralari ko'rinadi. *Str. lactis* hujayralari atsidofil tayoqchalaridan 3—4 marta ko'p bo'ladi.

Atsidofil sut atsidofil tayoqchani toza to'plamida tayyorlanadi. Ivitish uchun 20% shilimshiq va 80% shilimshiqsiz irqi olinadi. Natijada smetanasimon konsistensiya hosil bo'ladi.

Tayyor mahsulotdan tayyorlangan preparatda ko'pincha faqat yirik atsidofil tayoqchalar bo'ladi.

Atsidofil sut oshqozon-ichak kasalliklari (kolit, dizenteriya va boshqalar) ni davolashda ishlatiladi.

Atsidofil pasta zardobi qisman kamaytirilgan, ta'mini yaxshilash uchun shakar sharbati qo'shilgan atsidofil sutdir. Buning uchun atsidofil tayoqchani kislota hosil qiluvchi irqilaridan foydalaniladi. Odatda, bir nechta shilimshiqsiz shtammiga shilimshiq shtammi qo'shiladi.

Preparat mikroskopda qaralganda faqat atsidofil tayoqchalar ko'rinishi kerak.

Atsidofil-achitqili sut atsidofil tayoqcha va laktozani bijg'ituvchi sut achituvchi achitqilar to'plamida tayyorlanadi.

Foydalaniladigan achitqilar bir qator saprofit va patogen bakteriyalarga, shu jumladan, sil tayoqchasi — *Mucobac. tuberculosis* ta'sir etadigan antibiotik moddalar ajratadi.

Sutda atsidofil tayoqcha bilan achitqilarning maxsus tanlab olingan irqlari birgalikda rivojlanishi tufayli davolashda yuqori samara beradigan mahsulot olinadi.

Tayyor mahsulot preparatlarida mikroskopning bitta ko'rish maydonida faqat donador atsidofil tayoqchalar va achitqilarning 5-6 ta hujayrasi bo'lishi kerak.

Qatiq sut achituvchi termofil tayoqcha, termofil va xush-bo'y ta'm beruvchi streptokokklar aralashmasida (1:1:1 nisbatda olingan) tayyorlanadi. Bu to'plamlar simbiozi oshqozon-ichak kasalliklarini qo'zg'atuvchilarga qarshi antibiotik aktivlikka ega. Mikroskopik preparatda sut achituvchi kokklar tayoqchalarga qaraganda 2 marta ko'p bo'lishi kerak.

Kefir sut kislotali hamda spirtli bijg'ish natijasida hosil bo'ladigan ichimlik. Tomizg'i tarkibiga sut achituvchi tayoqchalardan tashqari, sut achitqilari ham kiradi. Kefir sut kislota tayoqchalari, kefir achitqilari va sut achituvchi streptokokklarning tabiiy simbiozi bo'lgan "kefir zamburug'lari"ning hayot faoliyati mahsulotidir.

Kefir zamburug'idan preparat tayyorlash uchun ikkita toza buyum oynasi olinadi. Zamburug'ning kichik bo'lakchasini ular orasiga qo'yib eziladi. Keyin oynalarni ajratib, materialning ortiqchasi olinadi. Preparat spirt bilan efir aralashmasida 5 minut fiksirlanadi, metilen ko'ki bilan bo'yaladi, yuvib, quritiladi.

Preparat mikroskopda qaralganda, ko'rish maydonida chirmashib ketgan tayoqchalar massasi, ular orasidagi halqalarda achitqi hujayralari, sut kislota streptokokklarining

kalta zanjir yoki qo'shaloq kokk shaklidagi hujayralari ko'rinadi.

Kefir tayyorlash vaqtiga ko'ra, bir kunlik kefir — kuchsiz, ichaklarga yumshatuvchi ta'sir etadi; ikki kunlik kefir — o'rtacha, ichaklar funksiyasini yaxshi tartibga soladi; uch kunlik kefir — kuchli, mustahkamlovchi ta'sir etuvchi tur-larga bo'linadi.

Kefir zamburug'laridan tomizg'i tayyorlanadi, u suyuq smetana ko'rinishda bo'ladi va ko'pirib turadi. Tomizg'i mikroskopda qaralganda, sut achituvchi streptokokklar ko'p, tayoqchalar kamroq va 2—5 tagacha achitqi hujayralari ko'rinadi.

Qimiz xom biya sutidan tayyorlanadi, unga tomizg'i qo'shiladi. Uni sigir sutidan ham tayyorlash mumkin.

Qimiz tomizg'isi bolgar yoki atsidofil tayoqchasiga o'xshash sut achituvchi tayoqchalari va laktozani bijg'ituvchi *Torula cumis* achitqisidan iborat.

Qimizning o'ziga xosligi (spetsifikligi) shakarga boy bo'lgan biya sutining xossalariga asoslanib aniqlanadi, shuning uchun qimizda spirtli bijg'ish jadal boradi.

Bir kunlik qimizda 1% spirt, ikki kunlik o'rtacha qimizda — 1,5—2% va kuchli qimizda 2—2,5% spirt bo'ladi, bunda juda ko'p karbonat angidrid hosil bo'ladi. Qimizda azotli moddalarning ko'p qismi erigan va chala erigan shaklda bo'ladi. Erimagan kazein juda mayda parchalar shaklida bo'ladi va shunga ko'ra qimiz suyuq konsistensiyalidir. Qimiz oqsillari organizmga oson so'riladi va yaxshi o'zlashtiriladi.

Qimizda C vitamini bor. Bu ichimlik sil kasalligiga qarshi ta'sirga ega. Qimiz bilan davolash eritrotsitlarning cho'kish reaksiyasini pasaytiradi, oq qonni va vegetativ asab tizimini normallashtiradi, oshqozon shirasi kislotaliligini tartibga soladi va oshqozon sekretsiyasi ishini yaxshilaydi.

Sariyog' pasterlangan slivkalaridan tayyorlanadi. Ularda bakteriyalar soni uncha ko'p emas — 1 sm³ da yuzdan to bir necha mingtagacha. Bular asosan spora hosil qiluvchi

tayoqchalar va mikrokokklardir. Sariyog' ishlab chiqarishda unga yog' tayyorlovchi va boshqa apparatlardan, havodan va yog'ni yuvishda ishlatiladigan suvdan mikroorganizmlar tushadi.

Shirin sariyog'da pasterlangan slivkalarining qoldiq mikroflorasi va yog' ishlab chiqarishda tushadigan boshqa mikroorganizmlar bo'ladi.

Nordon sariyog' sut achituvchi streptokokklar (*Str lactis* va *Str cremoris*, xushbo'y hid beruvchi *Str diacetylactis*) ning toza to'plamlarini pasterlangan qaymoqqa qo'shib tayyorlanadi. Begona mikroflorani sut achituvchi bakteriyalar ishlab chiqargan sut kislota tutib qoladi.

Dunyoda **pishloqning** 400 dan ziyod turi bor. Eng ko'p tayyorlanadigani shirdonli pishloqlardir. Yog'sizlantirilgan sutdan tayyorlangan tvorog (yangi pishloq), nordon va yumshoq pishloq tayyorlash shirdonli pishloq tayyorlash asosiy prinsipidan anchagina farq qiladi. Pishloqlarning ta'mi, xushbo'yliigi, ko'rinishi, konsistensiyasi murakkab biokimyoviy jarayonlar natijasida yuzaga keladi, bunda mikroorganizmlar asosiy rol o'ynaydi.

Sut ivishi (kazeinning koagulyatsiyasi) uchun sut achituvchi bakteriyalar va shirdon fermenti talab qilinadi.

Sut achituvchi bakteriyalar morfologiyasiga ko'ra, ikki kichik guruhga: kokklar va tayoqchalarga bo'linadi. Tayoqchalar harakatlanmaydi, spora hosil qilmaydi va ko'pincha hujayralari donador tuzilgan (metaxromatin donalar) bo'ladi. Bu bakteriyalar fakultativ anaeroblardir. Gram usulida musbat bo'yaladi.

Tipik sut achituvchi bakteriyalar bijg'ishning oxirgi mahsulotlariga ko'ra, gomofermentativ va geterofermentativ bijg'ish bakteriyalariga bo'linadi. Gomofermentativ bijg'ishda shakarining hammasi sut kislotagacha bijg'iydi. Geterofermentativ bijg'ituvchi bakteriyalar shakarni bijg'itib, sut kislotadan tashqari, anchagina miqdorda uchuvchan yog' kislotalari (sirka, propion kislota), shuningdek, karbonat anhidrid va

xushta'm qiluvchi moddalar (atsetilmetilkarbinol) hosil qiladi. Atsetilmetilkarbinol oksidlanib, diatsetilga aylanadi.

O'simliklardan ajratib olingan sut achituvchi bakteriyalar har xil disaxarlarni, shuningdek, geksozalar va pentozalarni bijg'itish xossasiga ega. Sabzavotlarni tuzlashda, xamir qorishda, kvas tayyorlashda, yem-xashakni siloslashda, seldning yetilishida, teri va po'stinlarga ishlov berishda bu bakteriyalar sut kislotali bijg'ishni amalga oshiradi. Delbryuk bakteriyasi, *Bact. caccumeris fermentati*, *Bact. brassica fermentata* va sharsimon beta-kokklar sut achituvchi bakteriyalar guruhi vakillaridir.

Sut achituvchi bakteriyalar (ularning tabiiy muhiti qoramol sutidir) laktozani,glukozani va galaktozani tipik bijg'itadi. Bunda sut kislota asosiy bijg'ish mahsuloti hisoblanadi. Agar sut kislotaning konsentratsiyasi 60° T ga yetsa, sut iviydi.

Sut achituvchi kokklar eritmada 1—1,2% sut kislota hosil qiladi. Suslo-agar-bo'r ozuqa muhitida o'sayotgan koloniyalar atrofida och zona ko'rinadi, bu bo'rning sut kislota ta'sirida erishi natijasidir. Bakteriyalar koloniyasi ozuqa agarida mayda, yumaloq bo'ladi. Sut achituvchi kokklar oval diplokokk yoki oval kokklar zanjiri shaklida bo'ladi.

Sut achituvchi kokklarning asosiy vakillari quyidagilar:

a) sut achituvchi streptokokk — *Str. lactis*, ko'pincha oval-yumaloq juft hujayralar shaklida;

b) sariyog' streptokokki — *Str. cremoris* yumaloq yoki oval hujayralar zanjiri shaklida;

d) xushta'mlikni ta'minlovchi streptokokklar — *Str. diacetilactis*, *Str. citrovorus* va *Str. paracitrovorus* — yumaloq hujayralar zanjiri shaklida.

Str. lactis eng aktiv kislota hosil qiluvchidir. *Str. cremoris* quyuq mahsulotni mayin konsistensiyali qiladi. Xushta'mlikni ta'minlovchilar uchuvchan kislotalar va efirlar hosil qilganidan mahsulotning ta'mi yoqimli bo'ladi.

Sut achituvchi tayoqchalar eritmada 3—4% gacha sut kislota hosil qiladi. Ozuqa muhiti ichkarisida yaxshi o'sadi.

Asosiy vakillari quyidagilar:

- a) pishloq tayoqchasi — *Bact. casei*;
- b) bolgar tayoqchasi — *Bact. bulgaricum*;
- d) atsidofil tayoqchasi — *Bact. acidophilum*.

Zardobli agarda sut achituvchi tayoqchalar koloniyasi bir burda paxtaga yoki sochli tutamga o'xshaydi. Ayrim tayoqchalar koloniyasi o'simtali yasmiqchaga (chechevinaga) o'xshaydi. Ba'zi irqlari, ayniqsa, bolgar va atsidofillar rivojlantirishining dastlabki bosqichlarida shilimshiq hosil qilishga moyil. Umuman, sut achituvchi bakteriyalarning ko'pchiligi yoshligida shilimshiq kapsulali bo'ladi.

Sut achitqilari laktozani bijg'itib, spirt va karbonat anhidrid hosil qiladi. Bu moddalar sut mahsulotini gazli va o'tkir ta'mli, uni organizm yaxshi o'zlashtira oladigan qiladi. Sut achitqilari hujayrasi oval-yumaloq shaklli.

Sut achitqilarining vakillari quyidagilar:

- a) *Torula kefir*; b) *Torula cumis*; v) *Torula lactis*.

Ushbu achitqilar kefir va qimiz tayyorlashda ishlatiladi.

Mog'or zamburug'lari — *Penicillium candidum*, *Pen. camamberti* kamamber, bri, nordon mazali, yegulik gazakbop pishloqlari yuzasida o'sib, yog'larni va oqsilni parchalashi natijasida o'ziga xos ta'm hosil qiladi. Rokfor pishlog'ining orasida *Pen. roqueforti* o'sib, uni ko'k-yashil tusga kiritadi.

15.2. Sut va sut mahsulotlaridan mikrobiologik tekshiruv uchun namunalar olish

Sut mahsulotlari undan namuna olingandan keyin 4 soat ichida mikrobiologik tekshiriladi.

Sutdan, qaymoqdan va suyuq konsistensiyali boshqa sut mahsulotlaridan namuna olish uchun mahsulot sterillangan cho'michda yaxshilab aralashtiriladi va sterillangan kolbaga 50 ml quyib, og'zi sterillangan tiqin bilan berkitiladi. Shundan keyin mahsulotning temperaturasini o'lchab yozib qo'yiladi.

Idishlarga joylangan mahsulotlarning asl nusxasidan namuna olinadi (1—2 ta namuna). Olingan namunalar 6°C gacha sovutiladi.

Qog'ozlarga o'ralmagan muzqaymoq yuzasidan sterillangan qoshiqchada kamida 2,5 sm qalinlikda olib tashlanadi. So'ngra sterillangan qoshiqchada 50 g namuna olinadi. Qog'ozlarga o'ralgan muzqaymoqdan esa o'rog'ligicha 1—2 ta namuna olinadi va qog'ozini ochib, burab berkitiladigan yoki paxta tiqinli shisha sklyankaga solinadi. Tekshirishdan oldin namunali sklyanka temperaturasi 40—45°C bo'lgan suv hammomida 10—15 minut isitiladi.

Tvorogdan sterillangan shchupda, idishning ikki-uch joyidan, chetidan 3—5 sm ichkarisidan namuna olinadi. Bunda shchup tvorog qalinligining taxminan 3/4 qismigacha tushiriladi. So'ngra sterillangan shpatelda shchupdan 20 g ga yaqin mahsulot olib, sterillangan bankaga solinadi, og'zi tiqin bilan berkitiladi. Tekshirishdan oldin 10 g tvorogni chinni xovonchada ezib, sterillangan kolbachaga quyiladi.

Sariyog'dan ham xuddi tvorogdagi kabi namuna olinadi. Tekshirishdan oldin bankadagi sariyog' 40—45°C li suv hammomida eritiladi, bir xil emulsiya hosil bo'lguncha aralashtiriladi.

Namuna olinadigan pishloqning shu joyi qizdirilgan pichoq bilan kuydiriladi. Sterillangan shchup qiya holda pishloqning o'rtasiga uning uzunligining 3/4 qismigacha kiritiladi. Keyin shchupdan taxminan 10 g pishloq olib, buraladigan yoki paxta tiqinli sterillangan bankaga solinadi.

Tekshirishdan oldin kuydirilgan soat oynasida texnik tarozida 1 g pishloq tortib olib, sterillangan xovonchada yaxshilab eziladi, asta-sekin 100 ml suv qo'shiladi, bunda 1:100 marta suyultirilgan mahsulot hosil bo'ladi.

Sut mahsulotlarini mikrobiologik tekshirishda 1 g yoki 1 ml mahsulotdagi mikroorganizmlarning umumiy soni va ichak tayoqchasi titri (koli-titr) aniqlanadi.

15.3. Sut va sut mahsulotlaridagi mikroorganizmlarning umumiy sonini va ichak tayoqchalarining titrini aniqlash

Sut va sut mahsulotlaridagi mikroorganizmlarning umumiy soni har xil darajada suyultirilgan mahsulotni qattiq ozuqa muhitga ekish yo'li bilan aniqlanadi (6.2-bo'lim).

16-jadval

Mahsulotlarni ekish uchun tavsiya etiladigan suyultirish normalari

Mahsulotlarning nomi	Mahsulotlarni suyultirish darajasi
Xom sut (xom qaymoq, shirin sariyog')	1:10000, 1:100000, 1:1000000
Pasterlangan sut (pasterlangan qaymoq, sutle muzqaymoq).....	1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000

Likopchaga har qaysi suyultirmadan 1 ml dan ekiladi. Keyin ustiga iliq gidrolizlangan obratli agardan yoki GPA quyiladi.

Mahsulot ekilgan likopchalar 37°C issiq termostatda 48 soat saqlanadi. Keyin koloniyalar sanaladi va 1 ml mahsulotdagi mikroorganizmlar soni hisoblab topiladi.

Sut mahsulotlari mikroflorasini Brid usulida, mikroorganizmlarni bevosita mikroskopda sanash yo'li bilan ham miqdoriy analiz qilish mumkin (6.1.-bo'lim).

Ichak tayoqchasi titrini aniqlash uchun sut sanomatida Kessler muhitidan foydalaniladi.

Tekshirish uchun tabiiy sut sterillangan suv bilan miqdoriy jihatdan suyultiriladi. Mahsulot turiga qarab, ichiga Kesslerning elektiv muhiti quyilgan bir qancha probirkaga ekiladi (3-ilova).

**Koli-titrini aniqlash uchun mahsulot
ekish normasi**

Mahsulotning nomi	Mahsulot miqdoriga qarab, Kessler muhiti quyilgan proburkalar soni						
	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	0,001 ml	0,0001 ml	0,00001 ml	0,000001 ml
Pasterlangan sut va qaymoqlar	3	3	—	—	—	—	—
Atsidofil sut	3	3	—	—	—	—	—
Prostokvasha	3	3	—	—	—	—	—
Sariyog'	2	2	2	2	2	2	2
Pishloq	—	—	2	2	2	2	2

Ichida Kessler muhiti bo'lgan probirkaga 1 ml dan tabiiy sut va 1 ml tegishli suyultirma solinadi. Ularni yaxshilab aralashtirib (pufakchalar hosil bo'lmasligi kerak), 43—45°C issiq termostatda 48 soat saqlanadi. Agar 48 soatdan keyin bijg'ish (gaz hosil bo'lish) belgilari sezilmasa, mahsulot ichak tayoqchasi bilan ifloslanmagan hisoblanadi. Agar gaz hosil bo'lsa, ichak tayoqchalarining turi aniqlanadi (7.1-bo'lim).

Pasterlangan sut va qaymoqning, shuningdek, sufle muzqaymog'ining koli-titri quyidagi ko'rsatkichlari bo'yicha aniqlanadi:

a) probirkalarning birortasida ham gaz hosil bo'lishi kuzatilmadi — koli-titri 3 ml dan yuqori;

b) 1 ml mahsulot bo'lgan probirkalarning birida bijg'ish belgilari kuzatilgan — koli-titri 3 ml;

d) 1 ml mahsulot bo'lgan probirkalarning bittadan ko'p-rog'ida yoki 0,1 ml mahsulot bo'lgan probirkalarning juda bo'lmasa bittasida bijg'ish kuzatilgan — koli-titri 0,3 ml;

e) ikkala suyultirma ekilgan hamma probirkalarda, shuningdek, birinchi suyultirmali 3 ta va ikkinchi suyultirmali 2 ta probirkada bijg'ish kuzatilgan — koli-titri 0,3 ml.

Bakteriyalar bilan umumiy ifloslanganligiga va ichak tayoqchasining titriga qarab, sut mahsulotlari kategoriyasi aniqlanadi.

18-jadval

Sut va slivkalar kategoriyasi (toifasi)

Mahsulotlarning nomi va kategoriyasi	1 ml dagi bakteriyalarning umumiy soni, ko'pi bilan	Ichak tayoqchasi bo'lishiga yo'l qo'yiladigan mahsulot hajmi, ml
Butilkalardagi pasterlangan sut:		
A.	75 000	3
B.	150 000	0,3
D.	300 000	0,3
Flyagalardagi pasterlangan sut, pasterlangan qaymoqlar:	500 000	Normalanmaydi
A.	100 000	3
B.	300 000	3

Pasterlangan sutda patogen mikroblar bo'lmashligi kerak. Davolovchi parhez mahsulotlarning, shuningdek, bolalar oziq-ovqat mahsulotlarining bakteriyalar bilan ifloslanishi eng kam (minimal) darajada bo'lishi kerak. 1 ml yoki 1 g qaynatilgan yoxud pasterlangan mahsulotda 5000 dan kam mikroorganizm bo'lishiga; koli-titri 3 ml dan yuqori, qatiq mahsulotlari uchun ham 3 ml dan yuqori bo'lishiga yo'l qo'yiladi.

15.4. Qatiq mahsulotlarini bakterioskopik analiz qilish

Qatiq mahsulotlarining sifati asosan bakterioskopik tekshirish usulida aniqlanadi. Preparatlarni mikroskopda

ko'rish mahsulotning mikroflorasi normada yoki normada emasligi, binobarin, uning sifati haqida ham aniq ma'lumot olish imkonini beradi.

Turli xil mahsulotlarning me'yordagi o'z mikroflorasi bo'ladi.

Preparatdan mikroorganizmlar morfologiyasi va achitqidagi har xil mikroblarning miqdoriy nisbati, shuningdek, tasodifiy mikroflora, ya'ni mahsulotning ifloslanish darajasi aniqlanadi. Ayrim hollarda ichak tayoqchasining titri aniqlanadi.

Mikroskopik preparat tayyorlash uchun bir tomchi sut mahsuloti yoki zardobni bakteriologik ilmoqda olib, buyum oynasiga qo'yiladi va unga bir oz surtiladi. Keyin mazokni quritib, ustidan bir necha marta spirt bilan efir (1.1) aralashmasini quyib fiksirlanadi.

Bunda bakteriyalar nobud bo'ladi va oynaga yopishib qoladi (fiksirlanadi), shu bilan bir vaqtda mahsulotdagi yog' ajratib olinadi. Sut yog'i preparatga tushsa, mikroskopda ko'rishga to'sqinlik qiladi, shuning uchun uning yog'i chiqarib olinadi.

Bu ishni bajarishda o't olib ketishi mumkin bo'lgani uchun avvalo yaqin joyda garelka yo'qligiga ishonch hosil qilish kerak. Fiksirlangan preparat metilen ko'ki bilan 2—3 minut davomida bo'yaladi, keyin suv bilan yuvib, quritiladi va mikroskopning immersion obyektivida ko'riladi. Bakteriyalar yaxshi bo'yaladi, sut oqsili esa kuchsiz bo'yaladi.

15.5. Yog'larning lipolitik mikroorganizmlar ta'sirida parchalanishi

Yog'lar asosiy oziq-ovqat mahsulotlaridan biri bo'lib, o'simlik va hayvonot xom ashyosidan olinadi (hayvonlar yog'i va o'simliklar yog'iga bo'linadi). Shunga muvofiq, muayyan guruh yog'larning kimyoviy tarkibi biri-biriniqidan farq qiladi, ularni ishlab chiqarish texnologik jarayonida mikroorganizmlarning roli ham har xil bo'ladi.

O'simlik yog'lari moyli o'simliklar (kungaboqar, paxta, zig'ir, nasha va boshqalar) ning urug'idan va mevalaridan presslash, ekstraksiyalash yo'li bilan yoki kombinirlangan usulda olinadi. Bundagi texnologiya jarayonida mikroorganizmlar ishtirok etmaydi, lekin xom ashyo va mahsulotni saqlash jarayonida ularni buzishi mumkin. Xom ashyo — namligi yuqori bo'lgan yog'li urug'lar saqlanganda, shuningdek, saqlash rejimiga rioya qilinmaganda mog'orlab ketishi mumkin. Mog'or zamburug'larining sporalari va konidialari urug'lar yuzasida, ayniqsa, chang va tuproq zarrachalari bilan ifloslangan urug'larda har doim bo'ladi. Ular o'sishi uchun urug'lar namligi 14—16% bo'lishi yetarli. Natijada urug' qora, yashil, sariq rangli paxmoq g'ubor bilan qoplanadi.

Zamburug'lar zararlagan urug'dan ishlab chiqarilgan yog'ning sifati past bo'lib, kunjarasi yaxshi saqlanmaydi.

Tayyor mahsulot (yog') metall idishlarda uzoq saqlansa va temperatura yuqori bo'lsa, buzilishi mumkin. Idishlarda saqlanganda, asosan, fosfatidlardan iborat bo'lgan cho'kma hosil qiladi. U lipolitik fermentlari ko'p bo'lgan anaerob mikroorganizmlar uchun yaxshi ozuqa muhiti hisoblanadi. Bu bakteriyalar yog'larni glitserin bilan yog' kislotalargacha parchalaydi (gidrolizlaydi). Bu mikroorganizmlar hayot faoliyatining mahsulotlari yog'ning sifatini anchagina o'zgartirishi mumkin. O'zgarishlar cho'kmaga tutash zonadan boshlanib, keyin yog'ning hamma yog'iga tarqaladi. Natijada yog' taxir bo'lib qolishi yoki begona hid taratishi mumkin.

Urug'larning namligi alohida ahamiyatga ega. Kungaboqarda namlik ko'pi bilan 13%, chigitda — 12% va yer yong'oqda 11% dan oshmasligi kerak. Namligi konditsion bo'lmagan urug'larni maxsus joylarda quritish kerak.

Urug' saqlanadigan omborlar quruq, yaxshi shamollatiladigan, kemiruvchilardan himoyalangan bo'lishi kerak. Omborlarga urug' joylashdan oldin ular yaxshilab tozalanishi va dezinfeksiyalanishi lozim.

Saqlash jarayonida ayniqsa to'qib qo'yilgan urug'larning ichki (orasidagi) temperaturasini kuzatib borish zarur. Temperaturasi ko'tarilib ketsa, ularni sovitish va tozalash choralari ko'rish zarur. Yirik korxonalarda bir nechta siloslash minorasidan iborat elevatorlar quriladi, urug'larni tozalash va quritish bo'limlari tashkil etiladi. U joylarda optimal gigiyena rejimiga rioya qilish mumkin bo'ladi.

Urug'larga ishlov beriladigan apparat va jihozlar (presslar, qo'ralar, ekstraktorlar) ni har doim mahsulot qoldig'idan tozalab, issiq suv bilan va kalsinatsilangan sodaning 5—8% li eritmasi yoki boshqa yuvish hamda dezinfeksiyalash moddolari bilan yuvish kerak.

Yog' saqlanadigan katta-kichik idishlar, metall sisterna va bochkalar bug'latiladi yoki suv, yuvuvchi va dezinfeksiyalovchi moddalarning issiq eritmasi bilan yaxshilab yuviladi.

Idishlarning yuvilish sifati har doim mikrobiologik analiz qilib tekshirib turiladi. Bu ish zavod laboratoriyasida yoki sanitariya-epidemiologiya stansiyasining bakteriologik laboratoriyasida bajariladi.

Tayyor mahsulot og'zi zich berkitilgan idishlarda salqin binolarda saqlanadi. Yog'ning sifatini yaxshi saqlash uchun uni idishlarda inert gaz (azot yoki karbonat angidrid) atmosferasida saqlash tavsiya etiladi.

Hayvon yog'lari — qo'y yog'i, mol yog'i va boshqalar qushxonalardagi maxsus sexlarda hayvonlarning yog' to'qimalaridan olinadi. Har xil turdagi sariyog' va eritilgan sariyog' (alohida guruh — margarinlar) ham shu guruhga kiradi.

Har xil yog'lar saqlanganda mikroorganizmlar ular sifatini buzib, katta zarar yetkazadi. Biroq nordon sariyog' va margarin tayyorlashda mikroorganizmlardan sut achi-tuvchi bakteriyalarning maxsus tanlangan toza to'plamlaridan foydalaniladi.

Eritilmagan xom yog' (mol, qo'y yog'i va boshqalar) qayta ishlanguncha maxsus sovitish kameralarida toza idishlarda saqlanadi. Odatda, u uzoq saqlanmaydi. Aks holda yog'lar ularni parchalovchi mikroorganizmlar ta'sirida buziladi, qonning qoldiqlari va biriktiruvchi to'qimasi tez ko'payuvchi, chirituvchi bakteriyalar ta'sirida parchalanadi. Natijada xom yog'ning hidi qo'lansa, ta'mi taxir bo'lib qoladi.

Sut, qaymoq tarkibida juda ko'p mikroorganizmlar bo'lishi mumkin, shuning uchun ular 85—90°C da pasterlanadi.

Tozalangan tuzda onda-sonda bakteriyalar va ularning sporalari, mog'or zamburug'lari konidiyasi bo'ladi. Tozalangan tuzda esa mikroorganizmlar soni ancha ko'p, ana shunday tuzdan foydalanilganda tayyor mahsulotning, ayniqsa margarinning chidamliligi pasayadi. Tuzga 150—180°C temperaturada ishlov berish zarur.

Sariyog' va margarin ishlab chiqarishda hatto mikroorganizmlar kam bo'lgan suvda ham ko'pincha uchraydigan flyuoressensiyalovchi chirituvchi bakteriyalar ayniqsa xavflidir. Ular sariyog' va margarin suyuqligida ko'payib, oqsillarni va qisman yog'ni parchalaydi. Natijada mahsulotda yoqimsiz o'zgarishlar (saqlash jarayonida), masalan, taxirlashib qolish hollari ro'y berishi mumkin. Oshqozon-ichak kasalliklarini qo'zg'atuvchi patogen mikroorganizmlar sariyog' bilan margarinda uzoq saqlanishi mumkin.

Ishlab chiqarishda sexlarning, o'rash-joylash, tortish xonalarining havosi toza va 1 m³ da ko'pi bilan 500 ta mikroorganizm bo'lishi kerak. Bunda bakteriya va mog'or zamburug'larining sporalari bo'lmasligi kerak.

Turli bakteriyalar, ko'pgina mog'or zamburug'lari, achitqilar va aktinomitsetlar yog'ni va yog' kislotalarini parchalovchilardir. Bakteriyalardan *Pseudomonas* turkumining, ayniqsa flyuoressensiyalovchi turlari juda aktiv bo'ladi. Mog'orlardan *Oidium lactis*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus* bilan *Penicillium* ning ko'pgina turlari ma'lum li politik aktivlikka ega.

Yog'larni parchalovchi ko'pgina mikroorganizmlar psixrotrof hisoblanadi, ular past temperaturada yaxshi rivojlanadi.

Binolar havosida mikroorganizmlar sonini hamda suvda ularning umumiy soni va koli-titrini aniqlash uchun tekshiruvlar olib borish zarur (7.1-bo'lim). Xom ashyo (yog'li urug'lar, hayvon yog'lari, slivka, sut) ga bakteriyalar tushganini (6.1, 6.2-bo'lim), ularning koli-titrini (15.2-bo'lim) va ularda lipotik bakteriyalar bor-yo'qligini aniqlash uchun ularni tekshirish zarur.

Lipolitik bakteriyalarni aniqlash

I u s u l. 1 l distillangan suvda 2 g K_2HPO_4 , 3 g $(NH_4)_3PO_4$, 1 g $MgSO_4$, 0,1 g $CaCl_2$, 0,1 g NaCl bo'lgan ozuqa muhiti tayyorlanadi. Sterillangan ozuqa muhiti bo'lgan kolbachaga (yoki probirkaga) 1 ml (probirkaga 4—5 tomchi) kungaboqar yoki paxta yog'i quyiladi, unga 2—3 tomchi bromtimol ko'ki indikatoridan tomizib, ehtiyotlik bilan silkitib aralashtiriladi, tiqin namlanmasligi kerak. Muhit (pH 7,2—7,4) och havorang-yashil tusga kiradi. So'ngra kolbacha va probirkaga ozgina sariyog' yoki margarin yo bo'lmasa quruq sut, yog' yoxud tarkibida yog' bo'lgan boshqa mahsulot solinadi. Ekilgan material termostatga 25—30°C ga qo'yiladi. Yog' gidrolizlanib, kislotalar hosil bo'lishi natijasida pH o'zgarishi tufayli muhitning rangi och havorang-yashildan sariq rangga kirishiga qarab, lipolitik mikroorganizmlarning rivojlanishini aniqlash mumkin. Muhitdan "ezilgan tomchi" turidagi preparat tayyorlab, oddiy usulda bo'yaladi (2.2-bo'lim), mikroskopda ko'riladi va rasmi chizib olinadi.

II u s u l. Sterillangan Petri likopchasiga 2—3 ml qalinlikda eritilgan mol yog'i quyiladi. U sovigandan keyin ustiga eritib, 45°C gacha sovitilgan GPA quyiladi (2—3 mm). Agar yaxshi sovigandan keyin Petri likopchasining tubi qalamda bir necha sektorga bo'linadi. Har qaysi sektorga tekshiriladigan materialdan kichkina bo'lakcha ekiladi. Keyin likopcha

termostatga 25—30°C issiqqa qo'yiladi. Yog'ning parchalanishi zonasiga qarab, o'sib chiqqan mikroorganizmlarning lipolitik aktivligi (faolligi) haqida xulosa chiqarish mumkin. Keyin mikroskopda ko'rib, rasmi chizib olinadi.

16. KONSERVA ISHLAB CHIQRISHNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad. Bankali konservalarning aynish turlarini va ularning mikrobiologik sabablarini bilish. Konservalanadigan mahsulotlarni o'rganish. Ovqatdan zaharlanishga sabab bo'ladigan turli qo'zg'atuvchilarni aniq- lay bilish.

16.1. Bankali konservalarning ahamiyati va ular aynishining sabablari

Konservalar (lot. *conservare* — buzilmay qolgan degan ma'noni bildiradi) saqlanuvchanligini oshirish uchun qayta ishlangan mahsulotlardir. Sterillangan konservalarning boshqa konserva mahsulotlaridan afzalligi shundaki, ular ancha chidamli (tez buzilmaydi), oddiy usulda saqlanadi va ozuqalik qimmati saqlangan holda ta'mi hamda rangi kam o'zgaradi. Sterillangan konservalar chidamliligi o'rtacha 9 oydan 18 oy-gacha; ayrim hollarda konservalar hatto 10 yildan keyin ham iste'molga yaroqli bo'ladi.

Mustaqil Davlatlar Hamdo'stligi orasida O'zbekiston konserva mahsulotlari ishlab chiqarish hajmi bo'yicha asosiy o'rinlardan birini egallaydi. Bular asosan meva-rezavor va sabzavot konservalaridir. Ularni tayyorlash germetik-zich berkitish va termik ishlov berishga asoslangan. Tayyorlangan mahsulotlar temir yoki shisha bankalarga yoxud boshqa materialdan yasalgan va og'zi zich berkitiladigan (havosini chiqarib) idishlarga joylanib sterillanadi yoki pasterlanadi.

Asosiy xom ashyo (meva, rezavor meva, sabzavotlar va boshqalar) va konserva tarkibiga qo'shiladigan yordamchi

materiallar (tuz, shakar, ziravor va boshqalar) har doim ma'lum darajada mikroorganizmlar bilan ifloslangan bo'ladi. Ular orasida sporasi issiqqa chidamli bo'lgan va konservalarni buzadiganlari ham anchagina. Toksin hosil qiluvchi bakteriyalar ham bo'lishi mumkin.

Konservalarga termik ishlov berish tartibi birinchi navbatda odamlar sog'ligi uchun xavfli bo'lgan mikroorganizmlarning va har bir turdagi konservani buzuvchi asosiy bakteriyalarning issiqqa chidamliligiga asoslanib belgilanadi.

Konservalarni sanoatda sterillashda, ularda 1-2 ta tirik (hayotchan) mikroorganizm, asosan, sporalı bakteriyalar saqlanib qolishi mumkin. Konservalarning ana shu qoldiq mikroflorasining tur tarkibi, binobarin esa buzilish turi sterillanadigan mahsulotning turiga va sterillash tartibiga bog'liq.

Ko'p turdagi konservalarning qoldiq mikroflorasida *Bacillus* turkumiga mansub kislota va gaz hosil qiluvchi mezofil aerob va fakultativ anaerob bakteriyalar (*Bac. subtilis*, *Bac. pumilus*, *Bac. megaterium*, *Bac. cereus*), kislota hosil qiluvchi sporalı termofil aeroblar — *Bac. stearothermophilus*, *Bac. aerothermophilus*, chirituvchi mezofil anaerob bakteriyalar — *Clostridium sporogenes*, *Cl. putrificum*, shuningdek, yog' kislota hosil qiluvchi bakteriyalar uchraydi. *Bac. cereus* mahsulotda avj olib ko'payganda zaharlanishga sabab bo'ladi.

Kislotaliligi yuqori bo'lgan konservalarning qoldiq mikroflorasida (konservalarga pastroq temperaturada issiq bilan ishlov berilganda) ayrim sporasiz bakteriyalar, achitqilar, bakteriyalar sporasi saqlanib qolishi mumkin.

Sterillashda *Clostridium botulinum* — og'ir zaharlanishga sabab bo'ladigan bakteriyaning saqlanib qolishi katta xavf tug'diradi. Konserva ishlab chiqarishda sterillash rejimi konservalarning botulizmga va boshqa zaharlanishlarga nisbatan xavfsizligini ta'minlashi kerak.

Bombaj va yassi-achib buzilish konservalarning mikroblar ta'sirida ko'p uchraydigan buzilishi turlaridandir.

Bombaj sterillangandan keyin qolgan bakteriyalar rivojlanib, metabolizm jarayonida gaz hosil qilishi natijasida sodir bo'ladi. Bu vaqtda bankalarda bosim ortib ketib, ularning tubi shishadi, ba'zan devorlari deformatsiyalanib, choklari ochilib ketadi.

Yassi-achib buzilishda mahsulot achiydi, lekin idishning tashqi ko'rinishi o'zgarmaydi. Barcha turdagi konservalar shu xilda buzilishi mumkin. Bunday buzilishga, odatda, *Bacillus aerothermophilus* va *Bac. stearothermophilus* nomli termofil aerob bakteriyalar sabab bo'ladi.

Havosi chiqarib yuborilmay berkitib, pastertlangan konservalar (povidlo, jem, murabbo, kompot, sharbatlar) mog'orlab qolishi mumkin.

16.2. Konservalanadigan mahsulotlarni tekshirish (analiz qilish) usullari

Namuna olish:

cuyuq massasi ko'p bo'lgan mahsulotlardan suyuq faza; bo'tqasimon mahsulotlardan bevosita tekshiriladigan mahsulot olinadi;

suyuq fazasi bo'lmagan yoki juda kam bo'lgan mahsulotlardan sterillangan suv bilan 1:1 nisbatda yuvilgan suvdan olib, ozuqa muhitiga ekiladi.

Maxsus hollarda mahsulotni ozuqa muhitiga ekishdan oldin gomogenat tayyorlanadi. Buning uchun 0,1 aniqlik-kacha 10 yoki 50 g mahsulot tortib olib, gomogenizatorning oldindan tortib sterillangan stakaniga solinadi va fosfatli buferning suvli eritmasidan (1 ml distillangan suvda fosfatli buferning eritmasidan 1.25 ml 0,003 M) 90 yoki 450 ml, yo bo'lmasa, peptonning distillangan suvdagi 0,5% li eritmasidan qo'shiladi (pH 7,0). Barcha aralashma 15000—20000 ob/min da 2 minut gomogenizatsiyalanadi. Agar tekshirilayotgan (analiz qilinayotgan) namuna ko'pirsa (ko'pik chiqarsa), juda ko'p ko'pik hosil bo'lishining oldini olish maqsadida gomo-

genizatsiya 1 minut davom ettiriladi. Keyin mahsulot 2—3 minut tinch qo'yiladi, so'ngra tegishli suyuqlashtiriladi. Barcha suyuqlashtirmalar kamida 25 marta jadal aralashtiriladi.

Bakteriyalar bilan umumiy ifloslanganlikni aniqlash. Bakteriyalarning umumiy soni mahsulotning 1 g da yoki 1 ml da, uni Petri likopchasidagi ozuqa agariga ekish yo'li bilan aniqlanadi (6.2-bo'lim).

Ko'pchilik mahsulotlarni tortib idishlarga joylashda sterillashdan oldin ularni 1.100 nisbatda suyuqlashtirish eng maqbul yo'l hisoblanadi. Bolalarga va parhez oziq bo'ladigan pyuresimon konservalar yaxshi sanitariya holatida tayyorlangan bo'lsa, suyuqlashtirmasdan ekiladi. Likopchada tekshiriladigan mahsulotning nomi, suyuqlashtirish darajasi (ekilgani), tekshirish muddati qayd etiladi. Agar sovigandan keyin likopchalarni to'ng'arilgan holatda 37°C issiq termostatga qo'yiladi va tekshirish maqsadiga qarab 24 yoki 48 soat saqlanadi.

Konservalanadigan mahsulotlarning bakteriyalar bilan ifloslanganligi quyidagi formula bo'yicha hisobga olinadi:

Bevosita mahsulotning o'zi ekilganda:

$$V = \frac{a \cdot 10^n}{q}, \quad V' = \frac{a \cdot 10^n}{p};$$

suyuqlashtirganda suv bilan aralashib ketmaydigan konservalar (mahsulot yuvilgan suv) ekilganda:

$$V = \frac{a \cdot 10^n \cdot V_b}{V_n q}, \quad V' = \frac{a \cdot 10^n \cdot V_b}{q P_{np}};$$

suyuqlashtirganda suv bilan aralashib ketadigan konservalar ekilganda:

$$V = \frac{a \cdot 10^n \cdot (V_n + V_b)}{V_n q}, \quad V' = \frac{a \cdot 10^n \cdot (P_n + V_b)}{P_n q}.$$

Bu yerda: V — 1 ml mahsulotdagi mikroorganizmlar soni; V' — 1 g mahsulotdagi mikroorganizmlar soni; a — likopchada o'sgan koloniyalar soni; n — mahsulotni 10 karra suyuqlashtirish soni; V_b — bankadagi suvning hajmi, ml; V_n — bankadagi mahsulotning hajmi, ml; q — likopchadagi tekshi-

riladigan mahsulotning (yuvilgan suv yoki suyultirmaning) hajmi; P_n — tekshiriladigan mahsulotning vazni, g; p — Petri likopchasiga solingan mahsulotning vazni, g.

Sporalar sonini aniqlash. Konservalanadigan mahsulotlardagi sporalar soni mahsulotning isitilgan namunasini gomogenizatsiyadan oldin ekib aniqlanadi. Buning uchun tekshirishga tayyorlab qo'yilgan namunadan sterilangan naycha yoki pipetkada taxminan 10 ml yoki 10 g mahsulot olib, sterillangan probirkaga solinadi. Keyin probirka suv hammomiga qo'yiladi.

Chirituvchi va proteolitik mezofil batsillalar yoki klostridiylar sporasini aniqlash uchun mahsulot solingan probirka 80°C temperaturada (probirka ichida) 20 minut, yog' kislota hosil qiluvchi klostridiylar sporasini topish uchun 60°C da 15 minut isitiladi.

Mahsulotni sterillashdan oldin undagi termofil batsilla va klostridiylar sporalarini aniqlash uchun mahsulot solingan probirka qaynayotgan suv hammomida 98°C da 20 minut isitiladi. Isitilgan bu mahsulotdan 1 ml yoki 1 g olib, batsillalar sporasini sanash uchun Petri likopchasiga solinadi va ustiga mikroorganizmlar guruhiga mos ravishda tanlangan ozuqa muhiti quyiladi. Keyin likopchalar mezofillar rivojlanishi uchun 37°C issiq termostatga 48 soat, termofillar rivojlanishi uchun 60°C ga quyiladi.

Klostridiylar sporasini sanash uchun, isitilgan mahsulot uzun probirkalarga, naychalarga, anaerobiozni ta'minlovchi jihozlar bo'lganda esa Petri likopchasiga ekiladi, keyin xuddi batsillalar sporasini sanashdagi kabi ishlar bajariladi.

16.3. Tayyor konservalarni tekshirish usullari

Mikrobiologik tekshirish uchun mo'ljallangan bankalarning germetikligini aniqlash ularni issiq suvga botirish yoki vakuum-apparatga qo'yishga asoslangan. Bunda bankadan gaz pufakchalari yoki ichidagi mahsulot sizib chiqmasligi kerak.

Konservalarning germetikligi (zich berkitilganligi) ikki usulda tekshiriladi:

I usul. Bankalar etiketkasini (yorlig'ini) olib tashlab, suvga botiriladi va 70—80°C da 3 minut saqlanadi, keyin olib, quruq sochiq bilan artiladi, choklariga paxtaga ho'llangan benzin surkab chiqiladi. So'ngra bankalarni oq filtr qog'ozga o'rab, bo'sh qolgan chekkalariga rezina halqa kiydiriladi, bunda qog'oz bankaning choklariga zich taqaladi. Shunday yo'l bilan tayyorlangan bankalar zich berkitiladigan idishlarga joylanadi va temir idishlar simob ustunining 450—480 mm li bosimida 2—3 minut, shisha bankalar simob ustunining 400 mm li bosimida vakuumda saqlanadi. Agar bankalar yaxshi berkitilmagan bo'lsa, o'ralgan qog'ozda yog', sharbat yoki sardak (zalivka)lardan dog' qoladi.

II usul. Bunda ham bankalar etiketkasi olinib, yuviladi, quritiladi va 5—7 minut davomida qaynayotgan suvli idishga botiriladi. Idishdagi suv miqdori bankaning vaznidan 4 marta ko'p bo'lishi kerak. Banka tushirilgan suvning temperaturasi 85°C dan past bo'lmasligi, sathi esa banka sathidan 2—3 sm yuqori bo'lishi kerak. Havo pufakchalari hosil bo'lishi banka zich berkitilmaganligini bildiradi.

Zich berkitilmagan idishlardagi konservalar mikrobiologik tekshirilmaydi.

Mikrobiologik tekshirish uchun mo'ljallangan konservalarni termostatga qo'yish. Mikroorganizmlar hayot faoliyatini aktivlashtirish uchun konservalar mikroorganizmlarning rivojlanishi va ko'payishi uchun qulay bo'lgan temperaturada termostatda ma'lum vaqt saqlanadi. Aerob va anaerob mezofil bakteriyalarning hayot faoliyatini aniqlash uchun konservalar termostatda 37+1°C da, meva konservalari, meva sharbatlari, marinadlar va pomidor mahsulotlari 28—30°C da saqlanadi. Massasi 1 kg gacha bo'lgan konservalar termostatda 5 kun, 1 kg va undan og'ir bo'lganlari 10 kun saqlanadi.

Termofil bakteriyalar hayot faoliyatini aniqlash uchun sabzavot va pomidor mahsulotlari, idishning hajmidan qat'i nazar, bevosita ekishdan oldin 60°C da 2 kun termostatda saqlanadi. Keyin konservalar 24 soat xona temperaturasida saqlanadi.

Termostatdan olingan konservalarni ko'rib chiqishda bankalar tashqi ko'rinishining o'zgarishi, shu jumladan, temir bankalar qopqog'ining shishishi, shisha bankalar temir qopqog'ining shishishi, germetiklikning buzilishi aniqlanadi.

Bankalar ichidagi mahsulotni ko'rib chiqishda mahsulot tashqi ko'rinishining o'zgarishi, shu jumladan, xiralashishi, koagulyatsiyasi, rangining o'zgarishi, gaz ajratishi, tagida cho'kma hosil bo'lishi, mog'or paydo bo'lishi, bijg'ishi qayd etiladi.

Metall va temir bankalarni ochish uchun (qopqog'i burab ochiladigan bankalardan tashqari) yonayotgan paxta tagidan yoki yonayotgan halqaning alangasi orasidan teshik teshadigan asbobning uchini o'tkazib (asbob oldin qizdirilgan bo'ladi), qopqoqlar sekin teshiladi. So'ngra asbobni sekin-asta chuqurlatib burab, teshik bir oz kattalashtiriladi. Teshikning diametri 1—1,5 sm ga yetishi kerak. Shundan keyin asbobni olib, teshik yonayotgan paxta bilan berkitiladi va ustidan sterillangan qopqoq yopiladi. Petri likopchasining yarmi bilan ham berkitish mumkin.

Qopqog'i buraladigan bankalarni ochish uchun oldin qopqog'ini olovga (alangaga) tutib olib, keyin burab ochiladi, bankaning chetlari alangada kuydiriladi.

Koronkali qopqoq bilan berkitilgan butilkalarni ochish uchun qopqog'ini spirt bilan namlangan paxta tamponda artib, gorelka alangasida kuydiriladi va sterillangan kalitda ochib, butilkaning chetlari alangada kuydiriladi.

Rezina qalpoqchali shisha ballonlarni ochish uchun qalpoqchalarni spirt bilan namlangan tamponda artib, sekin ochiladi (kuydirilmaydi).

Konservalarni ikkilamchi infeksiyadan himoya qilish uchun teshik sterillangan qopqoq bilan yoki Petri likopchasining yarmi bilan berkitiladi.

O'rtacha namuna olish. Faqat suyuq bo'lgan konservalardan ularni yaxshilab aralashtirib turib, pipetkada o'rtacha namuna olinadi; buning uchun idish ichidagi mahsulot 10 marta aylantiriladi va yuqorida bayon etilgan usulda qopqog'i ochiladi.

Quyuc va suyuq fazadan iborat konservalar (ko'k no'xot, kompot va hokazolar) dan o'rtacha namuna olib, gomogenlashtirmay yoki oldin gomogenlashtirib ekish uchun tayyorlanadi.

Gomogenlashtirilmagan konservalarni tekshirishda mahsulot aralashtiriladi, bankani ochib, naychada ichida munchoqlari bor sterillangan idishga bir necha marta 50 ml dan mahsulot olinadi; bunda naycha idishning ichiga (tubigacha) tushiriladi va suyuq-qattiq fazadan aralash olinadi. Munchoqlar solingan kolbadagi namunani 3 minut yaxshilab silkitib, keyin tindiriladi; qattiq zarrachalari cho'kkandan keyin yuzidagi suyuq fazadan analizga (tekshirishga) olinadi. Mahsulotni oldin gomogenlab, keyin tekshirishda konservalarni aralashtirib, bankalar ochilgandan keyin metall yoki shisha naychada 20—30 g namuna olib, sterillangan gomogenizatorga solinadi. Unga teng miqdorda fiziologik eritma qo'shib, bir minutda 15000—20000 marta aylantirib, 2 minut davomida gomogenlashtiriladi. 15 minut tindirilgandan keyin gomogenatdan suyuqlik olib, undan keyingi tekshirishlarda foydalaniladi.

Ishqalab ezilgan yoki gomogenlashtirilgan konservalardan idish ochilgandan keyin, mahsulotning konsistensiyasiga qarab, uchi qirqilgan pipetkada yoki qo'l nasosda mahsulotning tubigacha botirib o'rtacha namuna olinadi. 50 g namunani munchoqli sterillangan kolbaga solinadi va unga 20 ml fiziologik eritma qo'shiladi. Uch minut qattiq silkitib turil-

gandan keyin, ichidagi qattiq zarrachalar cho'kkuncha kolba tinch qo'yiladi, so'ngra ekish uchun namuna olinadi.

Ishqalab ezilgan konservalarni ekishdan oldin yuqorida aytilganidek, gomogenlashtirish mumkin. Undan oldin konservalangan mahsulotning bir qismiga 4 qism miqdorda fiziologik eritma qo'shiladi.

Qattiq fazadan iborat konservalardan o'rtacha namuna olish tekshirish maqsadiga va usullariga bog'liq.

Mahsulotni bevosita ozuqa muhitiga ekish uchun banka ochilgandan keyin ichidagi mahsulotning o'rtasidan steril-langan skalpel va pinsetda bo'lakchalar kesib olib, Petri likopchasiga solinadi. Tamg'a — iz tushirish usulida tekshirishda bo'lakchalar kattaligi kamida 4 sm² bo'lishi kerak. Suyuq ozuqa muhiti solingan probirkalarga mahsulot ekishda taxminan 1 g ga teng bo'lishi kerak.

Mahsulotlar yuvilgan suv ekiladigan bo'lsa, metall yoki shisha naychada (ingichka pichoq bo'lishi ham mumkin) banka qopqog'ining o'rtasidagi teshikdan namuna olinadi, bunda naycha bankaning tubigacha tushiriladi. Kamida 50 g hajmda olingan namuna Petri likopchasiga solinadi. Keyin uni maydalab, aseptik sharoitda aralashtiriladi. Undan 10 g olib, munchoqli sterillangan idishga solinadi va ustiga 90 ml fiziologik eritma quyiladi. Keyin 3 minut yaxshilab silkitib, so'ngra tindiriladi. Ana shunda qattiq zarrachalar idish tubiga cho'kadi. Ekish uchun suyuqlik olinadi, bunda shartli ravishda, 1 ml olingan suyuqlik 1 g mahsulot yuvilgan suvga teng deb qabul qilinadi.

Qattiq mahsulotning gomogenatini ekish uchun u yuqorida aytilgan usulda tayyorlanadi, unga 10 karra miqdorda fiziologik eritma qo'shiladi. Shunday qilib, boshlang'ich mahsulot 10 marta suyultiriladi.

Konservalardagi mikroorganizmlarning umumiy soni mahsulotni va suyultirmalarini Petri likopchasidagi qattiq muhitga ekish yo'li bilan aniqlanadi (6.2-bo'lim).

Mikroorganizmlar sonini mikroskopda sanash yo'li bilan aniqlashda ma'lum miqdorda mahsulot olib, buyum oynasining ma'lum maydoniga yoyib tayyorlangan preparatlardagi zamburug'lar, achitqilar va bakteriyalar hisobga olinadi. Bir nechta ko'rish maydonida topilgan mikroorganizmlar soni tekshiriladigan mahsulotning 1 g yoki 1 ml ga nisbatan aylantirib hisoblanadi (6.1-bo'lim).

16.4. Ovqatdan zaharlanish qo'zg'atuvchilarini aniqlash usullari

Ishlab chiqarishda *Cl. botulinum* sporalari bor-yo'qligini aniqlash uchun profilaktak tekshirish. Xom ashyo, yarim tayyor mahsulotlar, suvda botulizmni qo'zg'atuvchilar sporasi bor-yo'qligini aniqlash maqsadida profilaktik bakteriologik tekshirish mahsulotdan yuvib olinadigan mikroorganizmlarni membrana filtrlariga yoki sentrifugalash yo'li bilan to'plash (yig'ish) dan va shu materialni ekib, botulizm qo'zg'atuvchisini aniqlashdan iborat. Botulizm qo'zg'atuvchisi sanitariya-epidemiologiya laboratoriyalarida hayvonlarda tajriba o'tkazib aniqlanadi; bu tajriba botulinus toksinlarni neytrallash reaksiyasiga asoslangan.

Konservalarda botulizm qo'zg'atuvchisi bor-yo'qligini tekshirish. Konservlardan olingan gomogenat yoki maydalangan va fizologik eritma qo'shilgan mahsulotdan 5-10 ml olib, oldindan tayyorlab qo'yilgan ozuqa muhitli shisha idishlarga solinadi. 100—200 ml li shisha idishlarga ozuqa muhiti solib, ustiga vazelin moyi quyilgandan keyin ekiladi. Ekishdan oldin ozuqa muhiti qaynab turgan suv hammomida 20 minut isitiladi, keyin tezda sovitiladi. Tekshiriladigan material (5—10 ml) parallel ravishda pepsin-peptonli ikkita va Xottinger bulyoni quyilgan ikkita idishga ekiladi. Pepsin-peptonli idishga ekilgandan keyin, bittasi 80°C li suv hammomida 30 minut, Xottinger muhitiga ekilgan idishlarning

bittasi 60°C da 15 minut saqlanadi. Xottinger muhitiga ekilganlar termostatda 30°C da, pepsin-pentonli muhitdagilari 35°C da saqlanadi. Namunalarning barcha boshlang'ichlarini tekshirish tugaguncha 2°C da saqlash kerak. 48 soatdan keyin ekilgan namunalar botulizm qo'zg'atuvchisi bor-yo'qligini bilish uchun tekshiriladi. Agar tekshirilayotgan materialda botulizm qo'zg'atuvchisi asosan vegetativ shaklda bo'lsa, ular asosan isitilmagan idishlarda o'sadi. Agar sporal shaklda bo'lsa, ular isitilgan idishlarda o'sadi va ayrim hollarda toza to'plam holida ajralishi mumkin.

Cl. botulinum o'sayotganda muhit loyqalanadi, gaz hosil bo'ladi va ba'zan jigar yoki qiyma bo'lakchasi proteolizga uchraydi. Bunday idishlardan steril holatda olingan (10—15 ml) namunalar tekshiriladi. Buning uchun avval mazok tayyorlab, Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi.

Konserva ishlab chiqarishda *Cl. perfringens* bor-yo'qligini bilish uchun tekshirish. Xom ashyoda, qo'shimcha materiallarda, yarim tayyor mahsulotlarda, konservalarda *Cl. perfringens* bor-yo'qligi sisteinli lakmus sutiga ekish, hujayralarning harakatchanligini va nitratlardan nitritlar hosil qilish xossasini tekshirish yo'li bilan aniqlanadi. Mahsulot namunasi lakmus sutli va sisteinli probirkaga ekiladi. 80°C da 10 minut isitilgan xom ashyo namunasidan kamida 30 karra suyultirilgan suyultirma, yuvilgandan keyin texnologik liniya bo'yicha olingan namunadan kamida 20 karra suyultirilgan, konservalanadigan mahsulotdan esa sterillashdan oldin kamida bitta suyultirma tayyorlanadi va ekiladi, konservalar suyultirmay ekiladi.

Keyin ular 47°C da termostatda saqlanadi. Bir kundan keyin yuqori qismida qizil-binafsha rang g'ovak quyqa va oqargan zardob hosil bo'lgandan keyin, zardob lakmus sutli Veyon naychasiga ekiladi. Keyin termostatga 47°C issiqqa qo'yiladi. Birinchi koloniyalar hosil bo'lgandan keyin lakmus sutida olingan to'plam harakatchanligi va nitratlardan nitritlar hosil qilish xossasini aniqlash uchun qo'shimcha tekshiriladi.

Cl. perfringens 47°C da rivojlanib, lakmus sutida qizg'ish-binafsha rang quyqa hosil qiladi va sut zardobini butunlay oqartirib yuboradi.

Konserva ishlab chiqarishda *Bac. cereus* bor-yo'qligini tekshirish. *Bac. cereus* ni boshqa mezofil batsillalardan ajratish ular hujayralarining harakatchanligiga, letsitinaza, atsetilmetilkarbinol hosil qilish xossasiga va mannitga ta'sir etmasligiga asoslangan.

Xom ashyo, qo'shimcha materiallar, yarim tayyor mahsulotlar yoki tayyor konservalar namunasi yuqorida bayon etilgan usullarning biriga asoslanib tayyorlanadi va Petri likopchasiga 1 ml dan yoki 0,1 ml dan yo bo'lmasa tegishli suyultirmasi ekiladi. Ustiga Mossel yoki Pivovarov muhitini quyib, termostatga 30°C issiqqa qo'yiladi. 48 soatdan keyin qizil muhit fonida oq pretsipitat zonasi (letsitinaza aktivligi) bilan chegaralangan g'adir-budir quruq koloniyalar hosil bo'lganligi hisobga olinadi. Mossel yoki Pivovarov muhiti bo'lmagan taqdirda mahsulotlar Nikodemus muhitiga ekiladi. *Bac. cereus* bilan birga uchraydigan mikroflora Nikodemus muhitiga spirt qo'shish bilan rivojlanishdan to'xtatiladi, lekin spirt *Bac. cereus* hujayralarining rivojlanishini ham sekinlatadi, shuning uchun bu muhitga ekilgan to'plam termostatda 30°C da uzoqroq (45-96 soat) saqlanadi. Bu muhitda *Bac. cereus* chetlari qirqilgan, oq zona bilan chegaralangan, ba'zan chetlari oqargan yoyiq oqish koloniyalar hosil qiladi. Mossel, Pivovarov va Nikodemus muhitidagi *Bac. cereus* koloniyalarini aniq tasniqlash uchun mazok tayyorlanadi, Gram usulida bo'yaladi, shuningdek, muallaq (osma) tomchi yoki yarim suyug agarli preparatdagi hujayralarning harakatchanligi tekshiriladi.

Bac. cereus harakatchan, kalta, grammusbat sporali tayoqchalar bo'lib, uchi to'g'ri burchakli, kalta-uzun zanjir hosil qiladi. Sporalari ellipsimon, markaziy yoki subterminal, po'sti yupqa, hujayrani shishirib yubormaydigan bo'ladi.

Mossel muhitidan koloniyalarning bir qismini ilmoqda olib, Klark muhitiga quyiladi. Keyin uni 24 soat 30°C issiq

termostatda saqlab, tarkibida atsetilmetilkarbinol mavjudligi aniqlanadi. Metilkarbinolni tekshirish uchun Klark muhitidan 1 ml to'plam olib, bo'sh probirkaga solinadi, ustiga naftolning oldindan tayyorlab qo'yilgan spirtli eritmasidan (100 ml absolyut etil spirtida eritilgan 5 g naftoldan) 0,6 ml, 40% li ishqordan 0,2 ml quyib, bir necha dona kreatin kristalchasi qo'shiladi. Har bir reagent qo'shilgandan keyin probirka chayqatiladi, uy temperaturasida saqlanadi va 4 soatdan keyin rangining o'zgarishi qayd etiladi. Pushti rang paydo bo'lishi *Bac. cereus* ishlab chiqaradigan atsetilmetilkarbinol mavjudligidan darak beradi.

Shuni e'tiborga olish kerakki, *Bac. cereus* ning ko'p shtammlari glukoza, saxaroza, glitserin va salitsinga fermenti bilan ta'sir etib, kislota hosil qiladi (gaz hosil qilmaydi), kraxmalni gidrolizlaydi, jelatinani tez suyultirib yuboradi, sutni peptonlashtiradi va nitratlarni qaytaradi.

BA'ZI BO'YOQ VA ERITMALARNI TAYYORLASH

Asosiy fuksin (spirtli to'yingan eritma). 10 g asosiy fuksinni 100 ml 96% li etanolda eritiladi.

Karbolli asosiy fuksin (Silniki). 100 ml yangi haydalgan (peregona qilingan) 5% li fenolning suvli eritmasini uzluksiz aralashtirib turgan holda 10 ml spirtli to'yingan asosiy fuksin eritmasiga quyiladi (ammo aksincha emas). Tayyorlangan aralashmani 48 soatdan so'ng qog'oz filtrdan filtrlab, qora shisha idishga quyib berkitib saqlanadi.

Asosiy fuksin, suvli (Pfeffer fuksini). Karbolli Sil fuksini distillangan suv bilan suyultirib (1:10) tayyorlanadi. Suvli fuksin tez aynishi sababli, uni bevosita ishlatish oldidan tayyorlanadi.

Metilen ko'ki (to'yingan spirtli eritma). 3 g metilen ko'kini 100 ml 96% li etanolda eritiladi. Eritmani 2—3 minut davomida vaqt-vaqti bilan aralashtirib turiladi. So'ng qog'oz filtrda filtrlanadi.

Metilen ko'ki 1:40. 1 ml metilen ko'kinging to'yingan spirtli eritmasi 40 ml distillangan suv bilan aralashtiriladi.

Metilen ko'ki Lyofflerniki. 100 ml distillangan suvga 30 ml metilen ko'kinging to'yingan spirtli eritmasi va 1 ml kaliy gidroksidning 1% li suvli eritmasi qo'shiladi.

Karbolli gensianviolet (gensian binafsha karbolli). 1 g gensianvioletni 10 ml 96% li etanolda to'liq eritib turib, 100 ml yangi haydalgan fenolni 5% li suvli eritmasi bilan aralashtiriladi, 2—3 kun termostatda saqlab, qog'oz filtrdan filtrlanadi.

Safranin (suvli). 10 ml 96% li etanoldagi 2,5% li safranin eritmasini 100 ml distillangan suv bilan aralashtiriladi.

Gram modifikatsiyasidagi Lyugol eritmasi. 30—50 ml hajmdagi hovonchaga 1 g yod kristali va 2 g kaliy yodit solib, aralashma hovonchada eziladi va ustiga 1 ml distillangan suv qo'shiladi, kristallar yana eziladi va 5 ml suv qo'shiladi. Bunda yod kaliy yoditda eriydi. Eritmani 500 ml li o'lchov kolbaga o'tkazib,

umumiy hajmini 300 ml gacha yetkaziladi. Eritmani salqin, qorong'i joyda 30 kundan ortiq saqlash mumkin emas.

Glikogen va granulyozani aniqlash uchun Lyugol eritmasi. 1 g yod kristali, 3 g kaliy yodit, 300 ml distillangan suv. Bu eritma avvalgi eritmadek tayyorlanadi.

Neytral qizil. Fiksirlangan preparatlarni bo'yash uchun 1-1,5% li suvli eritmalari qo'llanadi. Tirik preparatlarni bo'yash uchun 1:10000 dan 1:150000 gacha konsentratsiyali eritmalar tayyorlanadi. Eritma uzoq muddat saqlanmaydi.

Tush eritmasi. Suyuq oddiy tushni vodoprovod suvi bilan 1:3 nisbatda suyultiriladi va probirkalarga quyib sterillanadi. Eritma 2 hafta tindirilgandan so'ng tush ishlatishga tayyor bo'ladi.

Sudan III. 0,5 g sudan III ni 100 ml 96% li etanolda yoki konsentrlangan sut kislotasida eritiladi.

Eozin (yadro uchun). 1 g eozinni 100 ml 60% li etanolda eritib, 20 ml 10% li formalin qo'shiladi.

Qivchinlarni bo'yash uchun qo'llanadigan reaktivlar. Yumshatgich (protrava). 12 g taninni 48 ml distillangan suvda isitib turib eritiladi va eritmaga 30 ml temir kuporosining to'yingan suvli eritmasi hamda 6 ml fuksinning to'yingan spirtli eritmasi qo'shiladi. Eritmani filtrlab, uni tiqini zich berkitiladigan sklyankada saqlanadi. Yumshatgichni tayyorlagandan so'ng, bir necha kun o'tgandan keyin ishlatish mumkin. Uni bir necha oy saqlash mumkin.

Bo'yoq. Silning karbolli fuksini va distillangan suv 1:1 nisbat miqdorida ishlatishdan bir oz oldin tayyorlanadi.

Ishlatishdan oldin yumshatgichni va bo'yoqni qog'oz filtdan filtrlash kerak.

Kristallviolet (kristall binafsha Xuker modifikatsiyasida Gram usulida bo'yash uchun). 1 - e r i t m a. 2 g kristallviolet 20 ml 96% li etanolda eritiladi. 2 - e r i t m a. 0,8 g ammoniy oksalat 20 ml distillangan suvda eritiladi. Ikkala eritma aralashtiriladi.

Erlix reaktivi. 1 g para-dimetilaminobenzaldegidni 95 ml 96% li etanolda eritib, 20 ml konsentrlangan HCl qo'shiladi.

Erlix reaktivi Kovach modifikatsiyasida. 1 g para-dimetilaminobenzaldegidni 10 ml ammi yoki izoamil spirtiga qo'shib, 10 ml HCl bilan aralashtiriladi.

Nitritlarni aniqlashga kraxmal-yodli proba uchun reaktivlar. 2 g $ZnCl_2$ ni 10 ml suvda eritib, qaynatiladi va 0,4 g kraxmal qo'shiladi. Aralashmaga suv qo'shib, hajmi 100 ml ga

yetkaziladi va bir hafta qoldiriladi. So'ng eritmani filtrlab 100 ml 0,2% li KJ eritmasi qo'shiladi. Xlorid kislota eritmasini tayyorlashda 16 ml konsentrlangan HCl ga 84 ml suv qo'shiladi.

Griss reaktivi. 1 - e r i t m a. Sulfanil kislota reaktivi: 0,5% sulfanil kislota 30 ml konsentrlangan sirka kislotada eritiladi, 100 ml distillangan suv qo'shib, filtrlanadi. Eritma 1 oy saqlanadi.

2 - e r i t m a. α -naftilamin eritmasi: 0,1 g α -naftilaminni 100 ml qaynab turgan distillangan suvda eritiladi. Uni sovitib, 30 ml konsentrlangan sirka kislota qo'shiladi. Eritma filtrlanadi va bir haftadan uzoq saqlanmaydi.

Bevosita ishlatish oldidan eritmalar teng hajmda aralashtiriladi.

Yanus-gryun. 50 mg yanus-gryun 1 l distillangan suvda eritiladi.

Karnua fiksatori. Absolyut spirt, xloroform va konsentrlangan sirka kislota 6:3:1 nisbatda aralashtiriladi.

Qo'rg'oshin atsetat eritmasiga shimdirilgan qog'oz. Tilimtilim qilib kesilgan filtr qog'ozni 5% li qo'rg'oshin atsetat eritmasiga tushiriladi, 5—10 minutdan keyin olib havoda quritiladi va Petri likopchalariga solib avtoklavda 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

1% li kraxmal eritmasi. 1 g eruvchan kraxmalga 20 ml sovuq suv qo'shiladi, uni uzluksiz aralashtirib turib 80 ml qaynab turgan suv qo'shiladi.

2-ILOVA

STANDART OZUQA MUHITLARI

Go'sht-peptonli bulyon. Suyak, yog' va chandirlardan ajratilgan 1 kg mol go'shtini go'shtqiyomalagichdan o'tkazib, ustiga 2l vodoprovod suvi quyiladi. Qiyma 24 soat sovuqda (uy temperaturasida 12 soat, 30°C da termostatda — 6 soat, 37°C da—2 soat) suvda bo'kib (ivib) turadi. Bu vaqtda go'shtdan suvda eriydigan oqsillar, aminokislotalar, vitaminlar, uglevodlar, mineral va boshqa moddalar ekstraksiya bo'ladi. Suyuqlik reaksiyasi kislotali. Qiymani suyuqlikdan ajratish uchun ikki qavat marli yoki boshqa mato (chit, surp) orqali filtrlab, go'sht suvi yaxshilab siqib chiqariladi. Filtrat 30 minut qaynatiladi, bunda oqsillar koagulyatsiya bo'ladi. Yog'ini ajratib tashlab, suyuqlikni paxta-marlili filtrda filtrlanadi va dastlabki hajmgacha suv quyiladi. Go'shtli suvni kolba yoki butilkalarga quyib, avtoklavda 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Go'sht-peptonli bulyonni tayyorlash uchun go'shtli suvga 1% pepton va 0,5% kimyoviy toza natriy xlorid qo'shib, 10 minut qaynatib, qog'oz filtrda filtrlanadi. Natriy gidroksidning titrlangan eritmasi yordamida 7,2—7,4 pH o'rnatiladi. Bulyon yana 10 minut qaynatiladi.

Go'sht-peptonli bulyon butunlay tiniq, somon rangli bo'lishi kerak. Uni kolbalar va probirkalarga quyib, paxta tiqinlar bilan berkitib, 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Glyukozali go'sht-peptonli bulyon. Go'sht-peptonli bulyonga 0,5—2% glukoza qo'shib, 3 kun davomida 15—20 minutdan oquvchan bug' yordamida sterillanadi.

Go'sht-peptonli agar. Go'sht-peptonli bulyonga 2—3% agar qo'shib oquvchan bug'da to'liq erib ketgunicha qizdiriladi. Uni 50°C gacha sovitib, tiniqlashtirish uchun 1 l muhitga 1 ta tuxumning oqiga 30 ml suv qo'shib ko'pirtirib qo'shiladi va yana 20 minut oquvchan bug'da qizdiriladi. Issiq agarni paxta-marlili filtrdan o'tkazib, pH ni 7,2—7,4 gacha olib boriladi, probirka yoki kolbalarga quyib 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Peptonli suv. 1 l distillangan suvda 30 g peptonni eritib 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Bu muhitni yana 1 l distillangan suvda isitib turib 10 g pepton, 5 g natriy xlorid va 0,1 g kaliy nitrat qo'shib tayyorlash mumkin. Muhit qog'oz filtrdan filtrlanadi va 7,6—7,8 pH o'rnatiladi. Probirkalarga quyib 3 kun 30 minutdan oquvchan parda sterillanadi.

Solod suslosi (o'stirib yanchilgan arpa shirasi). 250—300 g quruq o'stirib yirik yanchilgan arpaga 1 l vodoprovod suvini qo'shib 48-50°C gacha qizdirib, yarim soat davomida shu temperaturada uzluksiz aralashiriladi. Keyin temperaturani 55—58°C gacha ko'tarib, 30 minutdan so'ng 62,5—63°C gacha ko'tariladi, kraxmal to'liq qandga aylangunicha aralashma shu darajada ushlab turiladi (sovitilgan aralashmaga yod eritmasini qo'shganda ko'k rang hosil bo'lmasligi kerak). Aralashmani surp matoga solib, quyuyq qismi siqib ajratib tashlanadi. Suyuq qismi qog'oz filtrdan o'tkaziladi. Filtrda quruq moddalar (QM) miqdori odatda 18—20% ni tashkil qiladi. Kerakli konsentratsiyagacha vodoprovod suvi qo'shib suyultiriladi. Achitqilarni o'stirish uchun solod suslosida QM konsentratsiyasi 6—8%, sut achituvchi bakteriyalar uchun QM — 8-12%, mitselial zamburug'lar uchun — 3—4% bo'lishi kerak. Muhit pH 5,6—6,0.

Solod suslosini kerakli idishlarga quyib 0,05 MPa bosimda 30 minut yoki 3 kun davomida 30 minutdan oquvchan bug'da sterillanadi.

Bu muhitni tayyorlash uchun zavoddan xmel (qulmoq) qo'shilmagan pivo suslosini olib, QM va pHni kerakli darajaga olib boriladi. Yana 20 g quruq solod ekstrakti poroshogini 400 ml distillangan qaynoq suvda eritib, 0,05 MPa bosimda 15 minut sterillab shu muhitni tayyorlash mumkin.

Suslo-agar. Kerakli konsentratsiya va pH dagi solod suslosiga 2% agar qo'shiladi. Muhitni 0,05 MPa bosimda 30 minut sterillanadi. Muhit achitqi, mitseliyli zamburug'lar, sut achituvchi va sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarni ajratib olish, o'stirish va saqlashda ishlatiladi.

Achitqili suv. 70—100 g yangi presslangan yoki 7—10 g quruq achitqilarga 1 l distillangan suv qo'shib, 20-30 minut qaynatiladi va baland silindrga quyiladi, so'ngra sovuqda 12 soat qoldiriladi. Tindirilgan suyuqlik quyib olinadi, unga yana 1 l suv qo'shiladi, 30 minut qaynatiladi, filtrlanadi va kerakli pH o'rnatiladi.

Tayyor muhitni 3 kun 20 minutdan sterillanadi. Zaruriyat bo'lsa, achitqili suvga kerakli uglevod va tuzlar qo'shiladi.

Achitqi avtolizati. 1 - u s u l. 1 kg presslangan xamirturishga 1 l qaynatilgan vodoprovod suvini qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi, bir necha tomchi toluol qo'shiladi va termostatda 50°C da 72 soat saqlanadi. Vaqt-vaqti bilan tayyorlangan gomogen massa aralash-tirib turiladi. Achitqilar avtolizi tugagach, massa avtoklavda 0,02 MPa bosimda 30 minut qizdiriladi. Sovigan massa tiniq bo'lguncha ikki qavat qog'oz filtrdan filtrlanadi. Tiniq filtratda 0,9% azot bo'ladi. Filtrat (pH 6,8-7,0) 0,1-0,05 MPa bosimda 10—20 minut sterillanadi.

2 - u s u l. 1 kg xamirturishni 4 l suvda aralash-tirib, termostatda 55°C da 24 soat saqlanadi. Avtolizatni filtrlab, 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Achitqili ekstrakt. 1 l qaynab turgan distillangan suvga 250 g presslangan xamirturish maydalab solinadi. Kolbani ochiq olov ustiga o'rnatib, undagi massani to ko'piklashi to'xtaguncha (taxminan 5 minut) uzluksiz aralash-tiriladi. Ekstrakti filtrlab CHCl_3 ga to'yintirib, aralash-tirib, qorong'ida saqlanadi. Sterillashdan oldin uni ozuqa muhiti bilan 1:10 nisbatda suyultiriladi.

Kartoshkali muhit. Yirik kartoshka tugunaklarini vodoprovod suvida tozalab yuvib, po'sti archiladi, so'ngra yana yuvib kislotasini neytrallash uchun 2—3 soatga 1% li natriy gidrokarbonat (soda) eritmasiga solib qo'yiladi. Tugunaklardan maxsus moslama bilan probirka eniga mos ustunsimon kartoshka bo'lakchalari kesib

olinadi. Ustunchalarni suvli likopchalarga qo'yib, diametri bo'yicha ikkiga bo'linadi. Bo'lakchalarni filtr qog'oz bilan quritib maxsus probirkalarga solinadi. Oddiy probirka ishlatilganda uning tubiga paxta yoki shisha tayoqcha solib, ustiga kartoshka bo'lakchasi tushiriladi va 0,1 MPa bosimda 20—25 minut sterillanadi.

Gissning "rangli qatori". 100 ml peptonli suvga 1—1,5 ml bromtimol ko'kning 1% li spirtli eritmasi yoki 1 ml Andrede indikatorini qo'shib, 7,0—7,2 pH o'rnatiladi.

Andrede indikator: 100 ml distillangan suvga 0,5 g nordon fuksin va 16 ml 4% li natriy gidroksid eritmasidan qo'shib, qaynab turgan suv hammomida 10 minut ushlanadi va qorong'i joyda saqlanadi.

Indikatorli muhitga 0,5—1,0% dan kerakli uglevod yoki ko'p atomli spirtlar qo'shiladi. Gaz hosil bo'lishini kuzatish uchun naycha solingan probirkalarga quyib, 3 kun 20 minutdan oquvchan bug'da yoki 0,05 MPa bosimda 15 minut sterillanadi. Andrede indikatorli muhit somon-sariq, bromtimol ko'kligi ko'k-yashil rangda bo'ladi.

Kraxmalli muhit. 100 ml distillangan suvga 1 g pepton, 0,5 g KH_2PO_4 , 0,2 g eruvchan kraxmal, 1,5 g agar qo'shiladi. Muhit pH 6,8—7,0, avtoklavda 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Bu muhit kraxmalning gidrolizini aniqlashda qo'llanadi.

3-ILOVA

MAXSUS (ELEKTIV) OZUQA MUHITLARI

Achitqilarni o'stirish uchun ishlatiladigan ozuqa muhitlar

Ridderning sintetik muhiti. Muhit tarkibi (g/l ga): 3 ammoniy sulfat, 0,7 magniy sulfat, 0,04 kalsiy nitrat, 0,5 natriy xlorid, 1 kaliy digidrofosfat, 0,1 kaliy gidrofosfat. Muhit pH 6,6. Achitqilar ko'payishini o'rganish uchun yana 2%, bijg'ishini tekshirishda 5—10% qand qo'shiladi. To'liq sintetik muhitda vitaminlar bor (mkg/ml): 5 inozit, 0,25 pantoten kislota, 0,25 piridoksin, 0,5 nikotin kislota. Muhit avtoklavda 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Glukoza-ammoniyli muhit. 1 l vodoprovod suviga quyidagi moddalar (g da) qo'shiladi: 5 ammoniy sulfat, 0,85 kaliy digidrofosfat, 0,15 kaliy gidrofosfat, 0,5 magniy sulfat, 0,1 natriy xlorid, 0,1 kalsiy xlorid, 20 glukoza, 20 agar. O'stiruvchi omillar sifatida achitqilar avtolizati (0,2%) yoki go'shtli (0,3%) ekstrakt va uzum sharbati qo'shiladi.

Mukammallashmagan (notakomil) achitqilarni aniqlash uchun atsetatli muhit. 1 l vodoprovod suviga 10 g natriy atsetat, 10 g ammoniy xlorid, 5 g glukoza, 3 ml achitqi avtolizatini qo'shib, probirkalarga 5 ml dan quyiladi va 0,05 MPa bosimda 30 min davomida sterillanadi.

Asosiy to'plamga morfologik o'xshash begona achitqilarni aniqlash uchun muhit. 10 g pepton, 2 g kaliy gidrofosfatni 500 ml distillangan suvda eritib, filtrlanadi. Filtratda 15 g agarni eritib, unga 10 g glukoza, 0,4 g eozin va 0,065 ml metilen ko'kining 90 % li spirtli eritmasini qo'shib, hajmni distillangan issiq suv bilan 1000 ml ga yetkaziladi va kerakli idishlarga quyib 0,1 MPa bosimda 15 minut sterillanadi. Sterillanganda rang yo'qoladi, soviganda yana paydo bo'ladi. Muhit 2 oydan ortiq saqlanmaydi.

Uglevodlar qo'shilgan achitqili suv ("rangli qator"). Achitqilarning bijg'itish xususiyati 2% qand (glukoza, maltoza, saxaroza, laktoza, rafinoza va boshqalar) qo'shilgan achitqili suvda aniqlanadi. Muhitni naycha solingan probirkalarga, Dunbar trubkalariga quyib oquvchan bug'da 3 kun 30 minutdan sterillanadi. Ekinlar natijasini 2 kun (ba'zan 7 kundan keyin) termostatda 30°C da o'stirilgandan so'ng tekshiriladi.

Achitqilarning uglevodlarni o'zlashtirish xususiyati quyidagi muhitda aniqlanadi: (g/l da): 5 ammoniy sulfat, 1 kaliy digidrofosfat, 0,5 magniy sulfat, 1 avtolizat, 10 tekshirilayotgan shakar, 20 agar. Muhitni probirkalarga quyib 0,05 MPa bosimda 30 min sterillab, qiya agar tayyorlanadi. To'plamlar o'sishi 3—4 sutkadan keyin baholanadi.

Antibiotikli agarlar. Asosan achitqilarni o'stirib bakteriyalarni sustlashtirish uchun muhitga ta'sir spektri keng bo'lgan antibiotiklar qo'shiladi: streptomitsin (100 birlik/ml), penitsillin (20—100 birlik/ml), levomitsetin (50 mg/l), neomitsin (20 birlik/ml) va boshqalar. Ularni muhitga alohida yoki birgalikda kiritish mumkin.

Askosporalar hosil qilish uchun muhitlar. Gorodkova muhiti. 1 l vodoprovod suviga (g da): 10 pepton, 5 natriy xlorid, 1 (yoki 2,5) glukoza, 20 agar qo'shiladi. Muhit pH 7,3. Probirkalarga quyib 0,1 MPa bosimda 15 min sterillanadi.

Mak-Klarining atsetatli agari. 1 l distillangan suvga (g da): 8,2 natriy atsetat, 1,8 kaliy xlorid, 1 glukoza, 2,5 achitqili ekstrakt, 15 agar qo'shiladi. 0,1 MPa bosimda 15 min sterillanadi.

Starki muhiti. 1 l vodoprovod suvida (g da): 1 kaliy gidrofosfat, 0,25 kaliy digidrofosfat, 0,25 magniy sulfat, 0,05 kalsiy xlorid, 20 agar eritiladi. 0,05 MPa bosimda 15 min sterillanadi.

Osmofil achitqilarni o'stirish uchun muhit. 1 l glukoza siropiga (50—60 % QM) 5 g pepton va 20 g agar qo'shiladi. Pepton o'rniga 50 ml achitqili suv qo'shish ham mumkin. 0,05 MPa bosimda 20 min sterillanadi.

Melassali suslo. 200—300 g quyuq melassaga 1:3 nisbatda suv qo'shib, 95°C gacha qizdirib, 2 soat tindirishga qo'yiladi. Bunda koagulyatsiya bo'lgan kolloidlar cho'kib, muhit tiniqlashadi. Eritmaga 3% diammoniyfosfat qo'shib, 5—8% QM bo'lguncha suv bilan suyultirib idishlarga quyiladi.

Qattiq muhit tayyorlash uchun 1,5—2 % agar qo'shiladi. 0,05 MPa bosimda 30 minut sterillanadi.

Mitseliyli zamburug'larni o'stirish uchun muhitlar

Lavlagili agar. Qandlavlagini yaxshilab yuvib, mayda qirqiladi va ustiga suv quyib (20 g lavlagiga 1 l suv) 30 minut qaynatiladi. Filtratni suv bilan dastlabki hajmga yetkazib, 2% agar qo'shiladi va 0,1 MPa bosimda 30 minut sterillanadi.

Lavlagi mezgasi. Toza lavlagini qirg'ichdan o'tkazib Petri likopchalariga solinadi, uni to'ntarmay 0,1 MPa bosimda 30 minut sterillanadi.

Chapek muhiti. 1 l suvga (g da): 30 glukoza yoki saxaroza, 1 kaliy digidrofosfat, 2 natriy nitrat, 0,5 magniy sulfat, 0,05 kaliy xlorid, 0,1 temir sulfat, 20 agar qo'shiladi, oquvchan bug'da qizdirib 10% li limon kislotasi eritmasi yordamida 4,0—4,5 pH qilinadi. Muhitni filtrlab, idishlarga quyib oquvchan bug' bilan 3 kun 30 minutdan sterillanadi.

Kraxmal-ammoniyli muhit. Muhit tarkibi (g/1 ga): 10 eruvchan kraxmal, 3 kalsiy karbonat, 1 kaliy gidrofosfat, 1 magniy sulfat, 1 natriy xlorid, 1 ammoniy sulfat, 20 agar 0,05 MPa bosimda 30 minut sterillanadi.

Saburo muhiti. 100 ml achitqili suvga (g da): 5 pepton, 4 glukoza, 1,8—2 agar qo'shiladi, 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Sut achituvchi bakteriyalarni o'stirish uchun muhitlar

Bogdanovning gidrolizlangan sutli muhiti. Yog'sizlantirilgan sut (obrat) ni (pH 7,6-7,8) 5 minut qaynatib, 45°C gacha sovitiladi.

Uning 1 l ga 1 g pankreatin va 5 ml xloroform qo'shib termostatda 40°C da 18—20 soat qoldiriladi. Pankreatin poroshogini dastlab ozgina iliq suvda eritib olinadi. Birinchi soatlarda sutni bir necha marta, idish tiqinini ochgan holda, aralashtirib turiladi. Hidrolizlangan sutni qog'oz filtrdan filtrlab 2—3 marta ko'proq suv bilan suyultiriladi, pH ni 7,0—7,2 ga olib borib, 0,1 MPa bosimda 15 minut sterillanadi. Yangi yog'sizlantirilgan sutni qaynatib, issig'ida sut och binafsha rang bo'lgunicha Lakmus damlama (nastoyka) si qo'shiladi. Oquvchan bug'da 3 kun 30 minutdan yoki 0,1 MPa bosimda 10 minut sterillanadi.

Saxarozali achitqili agar. Achitqili suvga 0,5% natriy xlorid, 10% saxaroza va 2% agar qo'shilgan muhit (pH 6,0—6,5) *Lactobacillus* va *Leuconostoc* larni aniqlash uchun ishlatiladi.

Karamli muhit. 200 g oqkaram boshini maydalab, ustiga 1 l suv quyib, 10 minut qaynatib, ikki qavat marliga solib, siqib olinadi. Chiqqan suyuqlikni qog'oz filtrda filtrlab, ikki barobar suv bilan suyultiriladi, unga 2% glukoza va 1% pepton qo'shiladi. Qattiq muhit tayyorlash uchun esa 2% agar qo'shiladi. 0,05 MPa bosimda sterillanadi.

MRS muhiti (de Man muhiti). Muhit tarkibi (g/l da): 0,05 marganes sulfat, 0,2 magniy sulfat, 2 kaliy gidrofosfat, 2 ammonyak sitrat, 5 natriy atsetat, 10 pepton, 1 ml twin-80, 5 achitqili Difko ekstrakti, 10 go'sht ekstrakti, 20 glukoza. Muhit pH 6—6,5. Muhitni filtrlab 3 kun 30 minutdan oquvchan bug'da yoki 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Uni suyuq, yarim suyuq va qattiq holda *Leuconostoc* va *Lactobacillus* turkumlari uchun ishlatiladi.

Jigarli ekstrakt. Yangi so'yilgan mol jigarini mayda qilib to'g'rab ustiga suv quyiladi (1 kg jigarga 1 l suv). 30 min. qaynatib, filtrlab, 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalarni o'stirish uchun muhitlar. I variant. Go'sht-peptonli agar va 10% saxaroza. II variant. Muhit tarkibi (g/l): xom shakar 40, natriy gidrofosfat 2, natriy xlorid 0,5, magniy sulfat 0,1, temir sulfat 0,01, kalsiy karbonat 10, agar 20, 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Chirituvchi asporogen (sporasiz) bakteriyalarni o'stirish uchun muhitlar

Sutli agar. Yog'sizlantirilgan sutni 5 ml dan probirkalarga quyib 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Alohida 3% li

suvli agarni 5 ml dan probirkalarga quyib, 0,1 MPa bosimda 30 minut sterillanadi. Agarni eritib steril ravishda sut bilan qo'shib, tekshirilayotgan namuna solingan Petri likopchasiga quyiladi.

Yog' parchalovchi bakteriyalarni o'stirish uchun muhitlar. I v a r i a n t. 1 l suvga 5 g pepton va 3 ml achitqili avtolizat qo'shiladi. pH ni 7,2-7,4 ga yetkazib, 1,5 g agar qo'shiladi. Agarni eritib, muhitni filtrlab 1% issiq sut yog'i yoki zaytun yog'i qo'shiladi. Aralastirib, probirkalarga quyib 0,1 MPa bosimda 15 minut sterillanadi. II v a r i a n t. Go'sht-peptonli agarga 2—4% sut yog'i yoki zaytun yog'i qo'shib aralastirib, 10 ml dan probirkalarga quyib 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Likopchalarga quyishdan oldin probirkalarni yaxshilab silkitish kerak.

Proteolitik xususiyatni aniqlash uchun muhit. Hidrolizlangan sutli jelatina. Hidrolizlangan sutga (gidrolizlangan kazein yoki go'sht-peptonli bulyonni ham ishlatish mumkin) 10% jelatina qo'shiladi, shishganidan keyin uni aralastirib turib 50°C gacha isitiladi. Muhit pH 7,0—7,2. Muhitni filtrlab 0,075 MPa bosimda 20 minut sterillanadi.

Sirka achituvchi bakteriyalarni o'stirish uchun muhit. Solod suslosiga yoki karamli muhitga 4 hajm % etil spirti va sut achituvchi bakteriyalarning o'sishini to'xtatish uchun 20 birlik/ml ga monomitsin antibiotigi qo'shiladi.

Anaeroblarni o'stirish uchun muhitlar. Vinogradskiy muhiti. 1 l distillangan suvda (g da): kaliy gidrofosfat 1, magniy sulfat 0,5, marganes sulfat 20, glukoza 20, natriy xlorid va temir xloridning izlari qo'shiladi.

Kitt-Tarossi muhiti. Pishirilgan hamda suvda yuvilgan go'sht va jigar bo'lakchalari probirkaga solinadi (ular probirka tubini qoplab turishi kerak). Probirkaning 1/2 hajmigacha glukozali go'sht-peptonli bulyon (pH 7,2—7,4) quyib, unga naycha solinadi. Ustidan 1 sm qalinlikda vazelin yog'i quyiladi. Ikki marta 0,1 MPa bosimda 15 minutdan sterillanadi.

Vodorod sulfid hosil qiluvchi termofil anaeroblarni o'stirish uchun muhit. Muhit tarkibi (g/l ga): pepton 10, temir sulfat 1, agar 20. Probirkaga toza mix solib, ustiga muhit quyiladi va 0,1 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Probirkadagi muhitga shakarni ekib, ustidan steril vazelin yog'i quyiladi. Qandda vodorod sulfidni hosil qiladigan bakteriyalar bo'lsa, agarda qora koloniyalar hosil bo'ladi.

ICHAK TAYOQCHALARI GURUHI BAKTERIYALARNI O'STIRISH UCHUN MUHITLAR

Endo muhiti (fuksin — sulfitli agar). 5 ml steril suvda 1 g laktozani eritib suv hammomida 5 min 100°C da qizdiriladi. Sterillikka rioya qilgan holda uni 100 ml eritilgan 2% li go'sht-peptonli agarga (pH 7,6—7,8) qo'shiladi. 10% li filtrlangan asosiy fuksin eritmasining 0,5 ml ni alohida steril probirkaga solib oldindan tayyorlab qo'yiladi. Unga och pushti rang hosil bo'lguncha yangi tayyorlangan 10% li natriy sulfit qo'shiladi. Tayyorlangan aralashmani eritilgan laktozali agarga qo'shib, yaxshilab aralashiriladi va steril Petri likopchalariga quyiladi. Endo muhiti doim yangi tayyorlangan bo'lishi kerak.

Kessler muhiti. 1 l vodoprovod suviga 50 ml yangi mol safrosi (o'ti) va 10 g pepton qo'shiladi. Aralashmani suv hammomida 30 minut aralashirib qaynatiladi, so'ng paxtadan filtrlab, 2,5 g glukoza qo'shib hajmini 1 l ga yetkaziladi. Muhit pH ni 7,4—7,6 qilib, 2 ml 1% li kristall binafshaning suvli eritmasi qo'shiladi. Muhit naycha solingan probirkaga va kolbalarga quyiladi va 0,05 MPa bosimda 20 minut sterillanadi. Muhit rangi to'q binafsha rang bo'lishi kerak.

Eykmaning glukoza-peptonli muhiti. Konsentrlangan muhit. 1 l vodoprovod suviga 100 g pepton va 50 g natriy xloridi qo'shiladi. Uni qaynaguncha qizdirib, filtrlab 50 g glukoza qo'shiladi (pH 7,4—7,6). Muhitni 250—500 ml li kolbalarga 10 ml dan va naycha solingan probirkalarga 1 ml dan quyiladi. 3 kun 30 minutdan oquvchan bug'da sterillanadi.

Suyultirilgan muhit. Konsentrlangan muhitni 10 marotaba suv bilan suyultiriladi, naycha solingan probirkalarga 10 ml dan quyiladi. 3 kun 30 minutdan oquvchan bug'da sterillanadi.

Bulir muhiti. 1 ml go'sht-peptonli bulyonga 15 g mannit yoki laktoza qo'shiladi. U eriguncha qizdirib filtrlanadi. Filtratga 6 ml 1% li neytral qizilning suvli eritmasi qo'shiladi. Muhitni naycha solingan probirkalarga quyib, 0,05 MPa bosimda 30 minut sterillanadi.

Kozero muhiti. 1 l vodoprovod suviga (g da): natriy-ammoniy gidrofosfat 1,5, kaliy gidrofosfat 1, magniy sulfat 0,2, natriy sitrat 2,5-3 qo'shiladi. Muhit 0,1 MPa bosimda 15 minut sterillanadi. 10 ml 0,5% li bromtimol ko'kning spirtli eritmasini qo'shib, steril probirkalarga quyiladi. Muhit sitratmusbat ichak tayoqchalari guruhidagi bakteriyalarni aniqlashda ishlatiladi.

1. **Агульник М. А., Корнеев И. П.** Микробиология мяса, мясо-продуктов и птицепродуктов. — М.: Пищевая промышленность, 1972.
2. **Азаров Н.В.** Основы микробиологии и пищевой гигиены. — М.: Экономика, 1981.
3. Анализ и оценка качества консервированных продуктов по микробиологическим показателям /Под ред. Мазохиной-Поршняковой Н.Н. — М.: Пищевая промышленность, 1877
4. **Асонов Н.Р.** Практикум по микробиологии. — М.: Агропромиздат, 1988.
5. **Афанасьева О.В.** Микробиологический контроль хлебопекарного производства. — М.: Пищевая промышленность, 1976.
6. **Афанасьева О.В.** Микроорганизмы — вредители хлебопекарного производства. — М.: Пищевая промышленность, 1976.
7. **Бабаева И.П., Голубев В.И.** Методы выделения и идентификации дрожжей. — М.: Пищевая промышленность, 1979.
8. **Балашов В.Е., Рудольф В.В.** Техника и технология производства пива и безалкогольных напитков. — М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1981.
9. **Богданов В.М., Баширова Р.С., Кирова К.А. и др.** Техническая микробиология пищевых продуктов. — М.: Пищевая промышленность, 1968.
10. **Бурьян Н.И.** Микробиология виноделия. — Ялта: Ин-т винограда и вина "Магарач" Украинской академии аграрных наук.
11. **Витавская А.В., Матвеев А.И., Ельцова О.П.** Биологический способ предотвращения картофельной болезни хлеба. — М.: ЦНИИТЭИ пищепром, 1976.
12. **Воробьёва Л.И.** Промышленная микробиология. — М.: Московский университет, 1989.
13. **Гриневич А.Г., Босенко А.М.** Техническая микробиология. — Минск: Выш. школа, 1986.
14. **Жвibrлянская А.Ю., Бакушинская О.А.** Микробиология в пищевой промышленности. — М.: Пищевая промышленность, 1975.
15. **Жвibrлянская А.Ю., Бакушинская О.А.** Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности. — М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1983.

16. **Жвибрянская А.Ю., Исаева В.С.** Дрожжи в пивоварении. — М.: Пищевая промышленность, 1979.
17. **Квасников Е.И., Нестеренко О.А.** Молочнокислые бактерии и пути их использования. — М.: Наука, 1975.
18. **Королёва Н.С., Семенихина В.Ф.** Санитарная микробиология молока и молочных продуктов. — М.: Пищевая промышленность, 1980.
19. **Краткий определитель бактерий Берги** /Под ред. Дж. Хоулжа/ — М.: Мир, 1980.
20. **Кудрявцев В.И.** Систематика дрожжей. М. Изд-во АН СССР, 1954.
21. **Лоддер Ж.** The yeast. A taxonotic studi. Amsterdam — London, 1970.
22. **Мазохина-Поршнякова Н.Н., Найдёнова Л.П.** Современные методы организации бактериологического контроля консервного производства. — М.: Пищевая промышленность, 1972.
23. **Мюллер, Г., Литц П., Мюнх Г.Д.** Микробиология пищевых продуктов растительного происхождения. Пер. с нем. Калашниковой А.М. Под ред. Грачевой И.М. — М.: Пищевая промышленность, 1977
24. **Мюнх Г.Д., Заупе Х. и др.** Пер. с нем. **Токаря Е.Г.** Под ред. Королёвой Н.С., Билетовой Н.В., Корнелаевой Ф.П. Микробиология продуктов животного происхождения. — М.: Агропромиздат, 1985.
25. **Находкина В.З.** Микробиология и микробиологический контроль в свеклосахарном производстве. — М.: Пищевая промышленность, 1975.
26. **Никитин Г.А.** Биохимические основы микробиологических производств. — Киев: Виш. шк., Головн. Изд-во, 1981.
27. **Нэш М. Дж.** Консервирование и хранение сельскохозяйственных продуктов. — М.: Колос, 1981.
28. **Слюсаренко Т.П.** Лабораторный практикум по микробиологии пищевых производств. — М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1984.
29. **Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.** Практикум по микробиологии. — М.: Агропромиздат, 1987
30. **Утевский Н.Л.** Микробиология с техникой микробиологических исследований. — М.: Медицина, 1975.
31. **Флауменбаум Б.Л., Танчев С.С., Гришин М.А.** Основы консервирования пищевых продуктов. — М.: Агропромиздат, 1986.
32. **Широков Е.П., Полегаев В.И.** Хранение и переработка плодов и овощей. — М.: Колос, 1982.
33. **Шлеенкова В.А.** Микробиологические основы консервирования продуктов растениеводства и животноводства. — Воронеж: Изд-во Воронежского СХИ, 1984.
34. **Черепанова Н.П.** Морфология и размножение грибов. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1981.

MUNDARIJA

So'z boshi	3
UMUMIY QISM	5
1. Mikrobiologiya laboratoriyasi	5
1.1. Laboratoriyaning joylashishi va jihozlanishi	5
1.2. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari	13
2. Mikroskoplar. Mikroorganizmlarning preparatlarini tayyorlash	15
2.1. Mikroskop va mikroskoplarda ko'rish	15
2.1.1. Yorug'lik mikroskopida ko'rish	15
2.1.2. Ko'ruv maydonini qorong'i qilib ko'rish, faza-tafovutli, lyuminessent va elektron mikroskoplarda ko'rish	24
2.2. Tirik va fiksatsiya qilingan mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash	30
2.2.1. Tirik mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash	30
2.2.2. Fiksatsiya qilingan mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash	35
3. Ozuqa moddali muhitlarni tayyorlash, ularni, asbob-uskunalarni sterillash va pasterlash usullari	38
3.1. Ozuqa muhitlarning turlari va ularning tarkibi	38
3.2. Ozuqa muhitlarni tayyorlash	40
3.3. Sterillash usullari	43
3.4. Pasterlash usullari	47
4. Mikroorganizmlarni o'stirish va toza to'plam olish	48
4.1. Mikroorganizmlarni ekish va qayta ekish usullari	48
4.2. Mikroorganizmlarning yig'ma (elektiv) to'plamini olish usullari	51
4.3. Toza to'plam ajratib olish usullari	57

5. Mikroorganizmlarning morfologik, kultural, fiziologik, biokimyoviy xossalari o'rganish	61
5.1. Mikroorganizmlarni tasniflashda qo'llanadigan belgilar	61
5.2. Bakteriyalarning asosiy xossalari va belgilari	62
5.2.1. Bakteriyalarning morfologik belgilari	62
5.2.2. Bakteriyalar sporasi va ularni bo'yash usullari	63
5.2.3. Kapsulalarni bo'yash	65
5.2.4. Bakteriyalarning harakatchanligini o'rganish va xivchinlarini bo'yash	66
5.2.5. Bakteriyalarni Gram usulida bo'yash	69
5.2.6. Hujayradagi kiritmalarni bo'yash	71
5.2.7. Kultural belgilar	73
5.2.8. Fiziologik-biokimyoviy belgilar	75
5.3. Aktinomitsetlarning asosiy xossalari va belgilari	82
5.4. Mog'or zamburug'larining asosiy xossalari va belgilari	84
5.5. Achitqilarning asosiy xossalari va belgilari	96
5.6. Mikroorganizmlar hujayrasining o'lchamini aniqlash	104
6. Mikroorganizmlar miqdorini (sonini) hisobga olish va ularni o'stirish usullari	106
6.1. Mikroorganizmlar hujayrasini bevosita sanash	107
6.2. Qattiq ozuqa moddali muhitga ekish usuli bilan mikroorganizmlar miqdorini aniqlash (Kox usuli)	111
6.3. Mikroob biomassasini aniqlash	114
6.4. Mikroorganizmlarni aerob va anaerob sharoitda o'stirish	117
6.5. Tashqi muhit omillarining mikroorganizmlar hayot faoliyatiga ta'siri	121
MAXSUS QISM	
7 Oziq-ovqat korxonalarini havosini, suvni va jihozlarni (asbob-uskunalarini) mikrobiologik nazorat qilish	124
7.1. Havoni va suvni analiz qilish	124
7.2. Oziq-ovqat sanoati korxonalaridagi sanitariya-gigiyena nazorati	135
8. Spirt ishlab chiqarilishini mikrobiologik nazorat qilish	139
8.1. Xom ashyoni, shakar hosil qiluvchi materiallarni va yarim tayyor mahsulotlarni nazorat qilish	139
8.2. Achitqilarni tekshirish	150
8.3. Toza to'plamdan ekilgan achitqilarni ko'paytirish	153
8.4. Brajkaning mikroflorasini o'rganish	156

9.	Don, yorma, un va nonni mikrobiologik tekshirish	159
9.1.	Don, yorma va un mikroflorasi	159
9.2.	Non pishirishda ishtirok etadigan mikroorganizmlar	167
9.2.1.	Xamirni ko'pchitadigan mikroorganizmlar	167
9.2.2.	Achitqilarning va sut achituvchi bakteriyalarning toza to'plamini saqlash va ko'paytirish	168
9.2.3.	Xamirturush ishlab chiqarishni mikrobiologik nazorat qilish	171
9.2.4.	Yarim tayyor mahsulot va tayyor mahsulotlarni mikrobiologik tekshirish	177
9.2.5.	Nonning mikroorganizmlar keltirib chiqaradigan kasalliklari va ularga qarshi kurash choralari	179
10.	Makaron va qandolatchilik mahsulotlari ishlab chiqarishni mikrobiologik tekshirish	181
10.1.	Makaron ishlab chiqarish mikroflorasi	181
10.1.1.	Xom ashyoni va yarim tayyor mahsulotlarni nazorat qilish	181
10.1.2.	Tayyor mahsulotni nazorat qilish	182
10.2.	Qandolatchilik mahsulotlari ishlab chiqarish mikroflorasi ...	183
10.2.1.	Xom ashyoni va yarim tayyor mahsulotlarni nazorat qilish	183
10.2.2.	Tayyor mahsulotni nazorat qilish	191
11.	Shakar ishlab chiqarishni mikrobiologik tekshirish	194
11.1.	Zararli mikroorganizmlar ta'sirida lavlagining kasallanishi	194
11.2.	Yarim tayyor mahsulotlar va shakar mikroflorasi	199
12.	Pivo, alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishni mikrobiologik tekshirish	204
12.1.	Pivo ishlab chiqarish mikroflorasi	204
12.1.1.	Pivo ishlab chiqarishdagi zararli mikroorganizmlar	205
12.1.2.	Pivo ishlab chiqarishda foydalaniladigan achitqilar va ularni ko'paytirish usuli	210
12.1.3.	Bijg'itish va lager bo'limlarida mikrobiologik tekshirish ...	212
12.2.	Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarish mikroflorasi	220
12.2.1.	Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishda foydalaniladigan mikroorganizmlar	220

12.2.2.	Alkogolsiz ichimliklarda zararli mikroorganizmlarning rivojlanishi	221
12.2.3.	Ishlab chiqarishni mikrobiologik nazorat qilish	222
13.	Vino ishlab chiqarishni mikrobiologik tekshirish	225
13.1.	Vino ishlab chiqarish jarayoni va vinochilikda foydalaniladigan achitqilar	225
13.2.	Zararli mikroorganizmlar va vino kasalliklari	230
13.3.	Vinochilikda mikrobiologik tekshirish	237
13.4.	Vino va vino materiallarining mikrobiologik chidamliligiga baho berish usullari	239
14.	Go'sht, go'sht mahsulotlari va baliqni mikrobiologik tekshirish	246
14.1.	Go'sht va go'sht mahsulotlari mikroflorasi	246
14.2.	Go'shtning sifatini bakterioskopik usulda aniqlash	248
14.3.	Go'shtdagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlash	250
14.4.	Kolbasalarni mikrobiologik tekshirish	252
14.5.	Baliqni mikrobiologik tekshirish	254
14.6.	Parranda go'shti mikroflorasi	256
15.	Sut, sut mahsulotlari va yog'larni mikrobiologik tekshirish	257
15.1.	Sut va sut mahsulotlari mikroflorasini o'rganish	257
15.2.	Sut va sut mahsulotlaridan mikrobiologik tekshiruv uchun namunalar olish	264
15.3.	Sut va sut mahsulotlaridagi mikroorganizmlarning umumiy sonini va ichak tayoqchalarining titrini aniqlash ..	266
15.4.	Qatiq mahsulotlarini bakterioskopik analiz qilish	268
15.5.	Yog'larning lipolitik mikroorganizmlar ta'sirida parchalanishi	269
16.	Konserva ishlab chiqarishni mikrobiologik tekshirish	274
16.1.	Bankali konservalarning ahamiyati va ular aynishining sabablari	274
16.2.	Konservalanadigan mahsulotlarni tekshirish (analiz qilish) usullari	276
16.3.	Tayyor konservalarni tekshirish usullari	278
16.4.	Ovqatdan zaharlanish qo'zg'atuvchilarini aniqlash usullari	283
	Ilovalar	287
	Adabiyot	298

Hakimova SH.I.

X31 Oziq-ovqat mikrobiologiyasi. — (Oliy o'quv yurtlari talabalari uchun o'quv qo'llanma) — T.: «O'zbekiston» nashriyot-matbaa ijodiy uyi, 2005. —304 bet.

ISBN 5-640-2209-7

BBK 28.4

H 4001010000 - 91 2005
M351(04)2004

Sharifa Ismoilovna Hakimova

OZIQ-OVQAT MIKROBIOLOGIYASI

Oliy o'quv yurtlari talabalari uchun o'quv qo'llanma

Badiiy muharrir *M. Kalinin*

Texn. muharrir *T. Xaritonova*

Musahhihlar *M. Rahimbekova, Sh. Oripova*

Komputerda tayyorlovchi *G. Qulnazarova*

Bosishga ruhsat etildi 28.12.2004. Bichimi 84x108^{1/32}.

Ofset bosma usulida bosildi. Shartli b.t. 15,96

Nashr t. 15,70. Nusxasi 1000.

Buyurtma № 0011

O'zbekiston matbuot va axborot agentligining
«O'zbekiston» nashriyot-matbaa ijodiy uyida bosildi.

700129. Toshkent, Navoiy ko'chasi, 30.

Nashr № 91-2004.