

KIRISH

“Oziq-ovqat mikrobiologiyasi va biotexnologiyasi ” fani mikroorganizmlarning tabiatdagi va xalq xo'jaligidagi ahamiyati, morfologiya va fiziologiyasi, modda almashinuvi, kimyoviy tarkibi, oziqlanishi va ularga tashqi muhitning ta'sirini, oziq-ovqat hamda ichimliklar oziq-ovqat mikrobiologiyasi haqida tushuntirib berish va shu bilan birgalikda patogen mikroorganizmlar keltiradigan oziq-ovqat kasalliklari va ularning kelib chiqishini oldini olish yo'llarini tushuntirishni qamrab oladi.

“Oziq-ovqat mikrobiologiyasi va biotexnologiyasi” fanini o'qitishdan maqsad, tabiatda moddalar almashinuvida va oziq-ovqat sanoatining turli tarmoqlarida mikrobiologik jarayonlarning ahamiyatini o'rganish hamda ularni amaliyotda tatbiq etish ko'nikmasini hosil qilishdan iborat. Iste'molchilar uchun oziq-ovqat yaxlitligi va xavfsizligini asrashda mutaxassisning roli to'g'risida tasavvurga ega bo'lishi prokariot va eukariot mikroorganizmlar asosiy guruhiarining morfologiyasi, fiziologiyasi va klassifikatsiyasini zamonaviy uslubiy yondashuvlar asosida; talaba mikrobiologik hodisa va jarayonlarni tahlil qilish usullarini qo'llash, oziq-ovqat mikrobiologiyasi muammolari bo'yicha yechimlar qabul qilish *ko'nikmalariga ega bo'lishi kerak*.

1-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlashning umumiy qoidalari. Mikroskopning tuzilishi va uni ishlatish tartib qoidalari. Mikroskop turlari.

Ishdan maqsad: Talabalarga oziq ovqat mikrobiologiyasi laboratoriyasida texnika xavfsizlik qoidalari bilan tanishtirish va o'rgatish.

Ishning borishi: Laboratoriyaga xavfsiz ishlash qo'llanmasini olgan talabalar ishlash uchun qo'yiladi. Ular maxsus laboratoriya kiyimlarida bo'lishlari shart. Laboratoriya yakunlanganda elektr kuchlanishlarni o'chirib qo'yish, ishlatilgan kimyoviy idishlarni yuvish, yig'ishtirish va suv jo'mraklarini berkitib qo'yish lozim. Laboratoriyada meditsina aptechkasi zaruriy dori-darmonlar bilan bo'lish kerak.

Mikrobiologik tadqiqotlar maxsus jihozlangan mikrobiologik laboratoriyalarda olib boriladi. Ko'pincha mikrobiologik tahlillar steril sharoitlarda o'tkaziladi. Bunga sabab o'rganilayotgan materialning boshqa muhitdagi begona mikroorganizmlar bilan zararlanmasligi, atrof-muhitni va tadqiqotchilarni muhofaza qilishdir.

Mikrobiologik laboratoriya tarkibiga tadqiqotlar xonasi, ozuqa muhitlari tayyorlash, reaktivlar tayyorlash, laboratoriyada ishlatiladigan idishlarni yuvish va sterilizatsiya qilish uchun maxsus xonalar kiradi. Sterillangan sharoitda bajariladigan ishlar uchun bitta xonada laboratoriya stollari, reaktivlar, idishlar va apparatura saqlash uchun maxsus shikaflar qo'yilgan oynaband bokslar tashkil etiladi. Laboratoriyaning asosiy jihozlariga mikroskop, mikroorganizmni o'stirish uchun termostat, avtoklav, sterilizatsiya qilish uchun asbob – anjomlar, sovutgich kiradi. Laboratoriya xonasi har kuni ehtiyoj uchun ozuqa muhitlari, bo'yoqlar va boshqa laboratoriya anjomlari bilan ta'minlanishi zarur.

Mikrobiologik laboratoriyada ishlash qoidalari

Har bir talabaning laboratoriyada o'z ish joyi bo'lishi kerak. Ish joyi mashg'ulot uchun mikroskop, uning yoritkichi, probirkalar uchun shtativlar, turli bo'yoqlar, reaktivlar, suv, preparatlarni bo'yash uchun vannalar, preparat tayyorlash uchun oyna, bakteriologik sirtmoq hamda dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishlar bilan ta'minlangan bo'lishi shart.

Mikrobiologik laboratoriyada quydagilar ta'qiqlanadi:

1. Laboratoriyaga ustki va bosh kiyim bilan kirish;
2. Laboratoriyada xalatsiz ishlash va u yerda bo'lish;
3. Ovqatlanish, chekish, stollarga begona predmetlar, portfel, sumkalar, bosh kiyimlarni qo'yish;
4. Laboratoriyada ortiqcha harakatlanish, keskin harakat qilish va bu bilan o'rganilayotgan materialni boshqa mikroblar bilan ifloslantirish.

Mikrobiologiya laboratoriyasiga qo'yiladigan havfsizlik qoidalari va talablar:

1. Laboratoriyaga kirishda va ishlash davomida oq xalatda bo'lish shart.
2. Tozalik va tartib intizomga qat'iy rioya qilinishi shart.
3. O'qituvchi yoki laborantning ruxsatisiz elektr asbob, mikroskop va boshqa jihozlarni ishga tushirmaslik kerak.
4. Har bir talaba yoki xodim o'ziga birlashtirilgan joyda ishlash, faqat shu stoldagi asbob va reaktivlardan foydalanish kerak.
5. Laboratoriyada ovqat eyish, chekish va keraksiz narsalarni olib kirish man etiladi.
6. Stol ustida faqat ishga kerakli narsalar bo'lishi kerak.
7. Spirt lampalarni bir-biridan yondirmasdan faqat gugurt orqali yondirish kerak.
8. Mikroskop bilan ishlash vaqtida, mikroskop vintlarini burab tashlamaslik va mikroskop bilan ishlash texnik qoidalariga rioya qilish shart.
9. Dars (ish) tugagandan so'ng ish joyini tartibga keltirish, hamda laboratoriyadan chiqib ketish oldidan qo'llarni sovunlab yuvish kerak.

Talabalarni laboratoriyada ishlash paytidagi vazifalari:

1. Navbatchi o'qituvchidan o'quv materialni qabul qiladi va talabaga tarqatadi.
2. Mashg'ulot paytida:
 - a) mikroskop va boshqa laboratoriya anjomlari bilan ehtiyot bo'lib ishlash.
 - b) mashg'ulot jarayonida uzatilayotgan ob'ekt haqida ma'lumotlarni uzluksiz yozib borish va albomga chizib borish.
 - v) probirkalar, Petri idishchalariga guruh raqami, ish joyi va sanalarni qayd qilish.
 - g) mashg'ulotlar tugagach esa pipetkalar, shpatellar va boshqa asboblarni dezinfeksiyalovchi eritmaga solib, zararsizlantirish. Sirtmoqlarni spirt alangasida kuydirib, zararsizlantirish.
 - d) o'quv mashg'ulotlari tugagach, ish joyini va mikroskoplarni o'z holiga keltirib qo'yish, mikroorganizmlar ekilgan probirka va Petri chashkalarini termostatga joylash uchun navbatchiga topshirish va o'qituvchiga topshirishlari zarur.

Eslatma

Hamma bakteriya va mikroorganizm preratlarini immersiya ob'ektivi orqali ko'riladi, albomga suratlari chiziladi, tagiga nomi yoziladi. Ish mikroskopini to'g'ri va ohistalik bilan shkafga joylashtirish va o'z ish joyini tartibga solish bilan tugallanadi. Bu qoidalarga mikrobiologiya darslarida doimo amal qilinadi.

Hujayra, to'qima va organlar strukturasi sindirish yo'li bilan olib boriladigan kimyoviy va biokimyoviy tadqiqot usullaridan farqli ravishda, mikrokimyoviy tadqiqotni tahlil qilinayotgan materialning tashqi strukturasi buzmagani va aniqlanayotgan moddalarning hujayradagi to'planishini deyarli o'zgartirmagan holda o'tkazish mumkin.

Mikroskopik tadqiqot, oddiy ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan ultra-, mikro – zarrachalarni kattalashtirilgan ko'rinishini olish imkoniyatini beruvchi, turli mikroskoplarda tahlil qilinayotgan material moddalarining turli tabiatli nurlanishlariga asoslangan. Oddiy, o'rtacha ko'rish qobiliyatiga ega bo'lgan ko'z bilan, eng yaxshi ko'rish masofasidan, (25 sm) ikkita kichik zarrachaning orasidagi masofa $\geq 0,08$ mm bo'lsagina ularni bir-biridan ajratib ko'rish mumkin. Optik uskunaning ikkita bir-biriga yaqin qismlar yoki ob'ekt nuqtalarini ajratib ko'rsata olish qobiliyati uning **ruxsat berish qobiliyati** deyiladi.

Mikroskopning ruxsat berish qobiliyati tahlil qilinayotgan ob'ektdan (yoki u qaytargan) va mikroskop optik sistemasidan o'tadigan nurlanishning to'lqin uzunligiga bog'liq. Nurlanish tabiati va to'lqin uzunligiga ko'ra mikroskopiya yorug'lik va elektron turlariga bo'linadi. Yorug'lik mikroskopiyasi, o'z navbatida, nurlanishning modda bilan ta'sirlanish xarakterining mikroskopiyaga

ta'siriga ko'ra, fluorestsent va faza-kontrast mikroskopiya turlariga bo'linadi. Yorug'lik va elektron mikroskoplari ruxsat berish qobiliyati ishchi diapazonlari quyidagi jadvalda keltirilgan.

O'simlik materiallarining turli tadqiqot usullarida qo'llaniladigan taxminiy diapazonlar

Tadqiqot ob'ekti	Tadqiqot ob'ektlarining o'lchamlari	Qo'llaniladigan tadqiqot usullari
Organizmlar	1m 10 sm 1 sm 10 mm	Oddiy ko'z bilan kuzatish Yorug'lik mikroskopiya
Organlar	1 mm 100 mkm	
To'qimalar	10 mkm	
Hujayralar	1 mkm	
Organoidlar (organellalar)	100 nm 10 nm 1 nm 0,1 nm 0,01 nm	Elektron mikroskopiya
Biomolekulalar	0,001 nm	Rentgenostruktur tahlil

Yorug'lik mikroskopiya usulining ruxsat chegarasini yorug'likning to'liq uzunligi (binafsha yorug'lik uchun 0,4 mkm dan to'q-qizil rang uchun, 0,7 mkm gacha) va optik sistemadagi yorug'lik nuri konusi qalinligi orqali aniqlanadi.

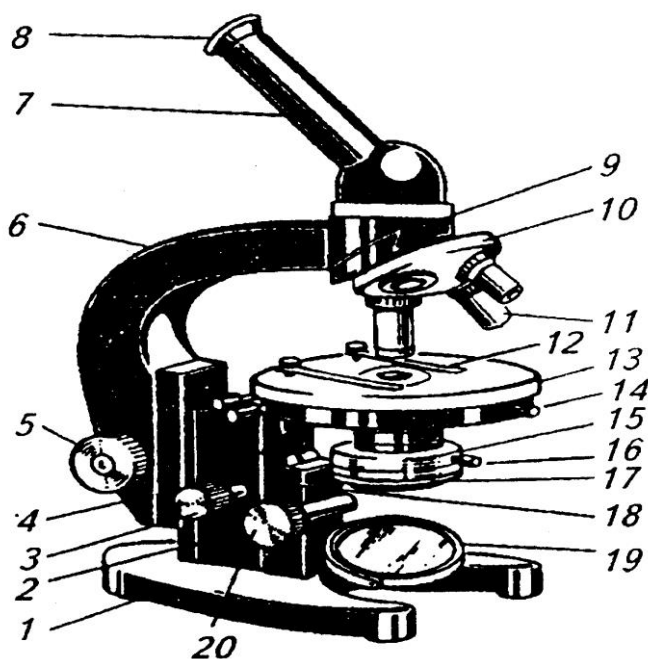
$$Ruxsat = 0,61 \lambda / (n \sin \Theta)$$

bunda: λ - yorug'likning to'liq uzunligi, mkm;

n – muhit refraktsiyasi;

Θ – tahlil qilinayotgan material nuqtasidan ob'ektiv linzalari to'playotgan yorug'lik nurlari konusi qalinligi burchagi.

Yorug'lik mikroskopining tuzilishi. Mikroskop optik va mexanik qismlardan tashkil topgan va quyidagi rasmda va uning bayonida aniq ifodalangan:



1-rasm. MBR-1 mikroskopining umumiy ko'rinishi.

Mikroskopning shtativi uning barcha tarkibiy qismlarining tayanchidir. Taqasimon asos (1) mikroskopning turg'unligini ta'minlaydi. Shu asosga mikrovin (3) bilan harakatga keltiriladigan, tishli burandalar sistemasidan tashkil topgan mikromexanizm qutisi (2) o'rnatilgan. Mikromexanizm tahlil qilinayotgan namuna aksini aniq fokuslash uchun xizmat qiladi. Mikromexanizm qutisiga mikroskop optik qismlarini ma'lum holatda ushlovchi tubus tutuvchi (6) mahkamlangan.

Tubus tutuvchi pastki qismining har ikki tomoniga chiqib turgan makrovintlari (5) yordamida taxminan fokuslovchi mexanizm (4) harakatga keltiriladi. Tubus tutuvchining 50 mm masofaga harakatlanishi turli xil kattalashtiruvchi ob'ektivlarni o'rnatish imkonini beradi.

Tubus tutuvchi (6) o'roqsimon ko'rinishga ega. Uning yuqori qismida revolver sistemasi (10) o'rnatiladigan uyali boshcha (9) joylashgan. Tubus (7) uyada vint yordamida qotirilib, vintni bo'shatib tubusni o'ngga yoki chapga burish mumkin. Ishlatish uchun qulay qilish maqsadida, tubus qiya qilib o'rnatilgan. Revolverning turli ob'ektivlarni o'rnatish uchun moslangan to'rtta teshigi bor. Uning yumaloq qismi aylanganligi uchun ob'ektivlarni tez almashtirish mumkin.

Mikroskopning buyum stolchasi (13) tahlil qilinayotgan namunali buyum shishachasini joylash va mustahkamlashga xizmat qiladi u mikromexanizmlar qutisi ustida joylashgan (revolver tagida). Buyum stolchasi ustki qismi o'ng va chap tomonida joylashgan ikkita vint, hamda oldidagi qismidagi yashiringan prujina yordamida aylantirishi mumkin. Bu namunani ob'ektivga nisbatan 8 mm atrofida surish imkoniyatini berib, kuzatish maydonini ob'ektning qiziqtirgan qismiga yo'naltirishga yordam beradi. Buyum stolchasining markazi ochiq bo'lib, ostki tarafdin yo'naltirilgan yorug'lik nurlari buyum shishachasidagi namunani yoritadi. Stolcha yuzasida ikkita teshikcha bo'lib ularga buyum shishachalari mahkamlanadigan klemmlar (12) o'rnatilgan. Mikroskopning optik qismi yorituvchi va kattalashtiruvchi sistemalardan tashkil topgan. Yorituvchi sistema tarkibiga oyna (19), diafragma kondensori (17) kiradi.

Kondensorning gardishi (gilza) buyum stolchasi tagidagi, mikromexanizm qutichasi ustidagi kronshteynga (18) mustahkamlangan. Eng katta boltcha (16) kondensorni gardish ichida tutib turadi. Vint (20) yordamida kondensorni 20 mm yuqoriga va pastga tushirish mumkin. Kondensori gardishi ostida ko'zgu (19) gardishi mustahkamlangan.

Kondensori yorug'lik nurlarini namuna shishachasiga yo'naltirib to'playdi. U bir biridan burab ajratiladigan ikki qismdan tashkil topgan. Ustki konussimon qismning bir nechta linzasi bo'lib, eng chetkisi mikroskop buyum stolchasi markazidagi ochiqlikga yo'naltirilgan. Pastki tsilindrlik qismning faqat bitta linzasi bor. Uning gardishiga metall parrakchalardan yasalgan diafragma o'rnatilgan. Bu parrakchalarni ular bilan bog'langan dastakcha yordamida surib, diafragma toraytirish yoki kengaytirish mumkin.

Kondensorning yoritish kuchi diafragma ochilish darajasi orqali boshqariladi. Diafragma toraytirilganda u orqali faqat markazga yaqin nurlar o'tib, aniq ko'rinishga erishiladi. Kondensori ustida harakatlanuvchi yorug'lik filtri o'rnatilgan. Shaffof bo'lmagan yoki ko'k shishali yorug'lik filtri o'ta yorqin nurlarni yumshatish uchun xizmat qiladi. Mikroskopning kattalashtiruvchi sistemasi namunaning kattalashtirilgan ko'rinishini hosil qiladi. Bu sistema tubus ichiga o'rnatilgan ob'ektiv (II) va okulyardan (8) tashkil topgan.

Ob'ektiv tahlil qilinayotgan namuna (ob'ektga) yo'naltirilgan. U kaltagina metall trubka bo'lib, ichiga linzalar sistemasi o'rnatilgan. MBI tipidagi mikroskoplarda uchta ob'ektiv bo'lib, ular kichik (x8), o'rtacha (x40) va katta (x90) kattalashtiruvchi hisoblanadi. x90 ob'ektivi eng kichik ob'ektlarni ko'rishda ishlatiladi.

Ob'ektivlar o'z o'qi atrofida aylanuvchi revolverga mahkamlangan va uni burib, bir ob'ektivni ikkinchisi bilan almashtirish mumkin. Bu narsa ozroq kattalashtirilgan namunadagi bir oz ko'ringan qismni, katta kattalashtirilganda aniq o'rganish (kuzatish) uchun kerak. Ob'ektivlar markazlashtirilgan, ya'ni ob'ektivlar almashtirilganda ham, namuna ko'rish yuzasining markazida qolishi kerak. Buning uchun ob'ektivlar linzalarining optik o'qlari tubus optik o'qiga mos kelishi kerak.

Tubusning yuqori qismiga, metall gardishli ikkita linzadan tashkil topgan, okulyar (8) o'rnatilgan. Tadqiqotchi bevosita okulyarga qaraydi. Okulyarlar ham turlicha kattalashtiruvchi bo'ladilar. Biologik mikroskoplarda 7, 10 va 15 marta kattalashtiruvchi okulyarlar qo'llaniladi. Har bir ob'ektiv va okulyarda uning kattalashtirish darajasi ko'rsatilgan bo'ladi.

Shunday qilib, MBI tipidagi mikroskoplar eng kamida -56 marta (8x7 – ob'ektivning kattalashtirishi va okulyarning kattalashtirishi ko'paytmasi) va eng ko'pi bilan – 1350 marta kattalashtiradi.

Mikroskopik kuzatishlar uchun talabalar urug'lar preparatini tayyorlash kerak. Urug'lardagi to'qimalarning joylashishi, har bir to'qimadagi hujayralar soni, hujayralar haqida ma'lumotlarni uch perpendikulyar tekislikdagi qirqim orqali o'rganiladi.

2-LABORATORIYA ISHI

Pasterizatsiya va sterilizatsiya usullari. Mikrobiologik tahlil o'tkazish uchun buyum va ozuqa muhitlarini tayyorlash va sterilizatsiya qilish.

Ishdan maqsad. Sterilizatsiyalash va pasterizatsiyalash usullarini o'rganib, tayyorlangan oziq muhitini, idishlarni va boshqa narsalarni avtoklavlarda sterilizatsiyalash; sutni pasterizatsiyalash. Avtoklav, Kox apparati, Paster javoni, Zeyts filtrini tuzilishi va prinsipini bilish.

Pasterizatsiyalash usullari. Pasterizatsiyalashni yoki chala sterilizatsiyalashni Lui Paster taklif etgan. Bu usul oziq-ovqat sanoatida keng qo'llanadi. Pasterizatsiyalashda asosan kasal keltiruvchi - patogen mikroorganizmlar va vegetativ hujayralar haloq bo'lib, ozuqa muhitlarni, oziq-ovqatlarni va boshqa mahsulotlarni sifati saqlanib qoladi. Pasterizatsiyalashning 2 turi mavjud: uzoq muddatli va qisqa muddatli.

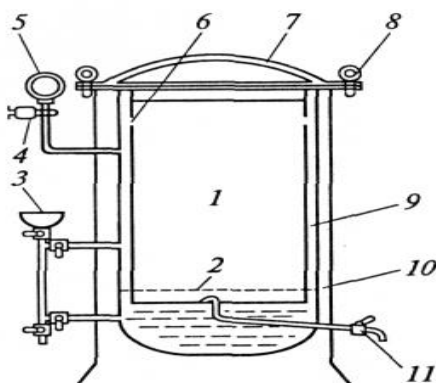
Uzoq muddatli pasterizatsiyalashda mahsulot 60-70 °C haroratda 15-20 min davomida qizdiriladi.

Qisqa muddatli yoki darhol - bir onda pasterizatsiyalash 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. Pasterizatsiyalashda issiqqa chidamli mikroorganizmlarning vegetativ shakllari va sporalar tirik qoladi. Shu sababli pasterizatsiyalangan mahsulotlarni uzoq vaqt saqlab bo'lmaydi.

Ultrasterilizatsiyalashni sutni zararsizlantirish uchun qo'llaniladi. Mahsulot 150 °C da 1 sekund qizdiriladi. Bunda vitamin C-ni parchalaydigan oksidlovchi jarayonlar to'xtaydi va sutning sifati uzoq vaqt saqlanadi.

Sterilizatsiyalash usullari. Sterilizatsiya-hamma mikroorganizmlarni va ularning sporalarini to'liq yo'qotishdir. Sterilis - naslsizlik. Sterilizatsiyalash usullari bir nechta bo'lib, ob'ektning xususiyatiga qarab va maqsadga kerakli usul tanlanadi.

To'yingan par yordamida bosim ta'sirida sterilizatsiyalash 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. Sterilizatsiya qilinadigan ozuqa muhitlari, idishlar va boshqa materiallar avtoklav ichiga - kamerasiga (1) maxsus g'ovakli barkash (2) ustiga qo'yiladi va qopqog'i (7) mahkam yopiladi. Avtoklavga ikkita manometr o'rnatilgan (5), biri kameradagi bosimni ko'rsatadi, ikkinchisi devorlar orasidagisini. 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 sterilizatsiyalash kamerasidan chiqib ketgandan so'ng kuchli par oqimi chiqra boshlaydi. Shunda suv tushiriladigan kran (11) yopiladi, avtoklavda sekin-asta bosim ko'tarila boshlaydi. Manometrlar 1atm. bosimni ko'rsatganda parning haroratsi 120-121 °C ga ko'tariladi. Shu daqiqadan boshlab sterilizatsiyalash vaqti belgilanadi.



1-rasm. Avtoklavning tuzilishi

Manometrlar 1atm. bosimni ko'rsatganda parning haroratsi 120-121 °C ga ko'tariladi. Shu daqiqadan boshlab sterilizatsiyalash vaqti belgilanadi.

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

Agar saqlovchi klapanidan par xushtak bilan chiqra boshlasa, avtoklavni darhol o'chirish lozim. Sterilizatsiyalash vaqti tugagach, qizdirish to'xtatiladi va manometrni strelkasi nolga tushgandagina suv

tushiriladigan kran (11) ochiladi. Agar kran oldinroq ochib yuborilsa, idishlardagi ozuq muhitlari qattiq qaynab, ko‘tarilib tiqinlarni ho‘l qiladi yoki tiqinlar otilib chiqib ketib, idishlardagi suyuqlik to‘kilishi mumkin.

2-jadval

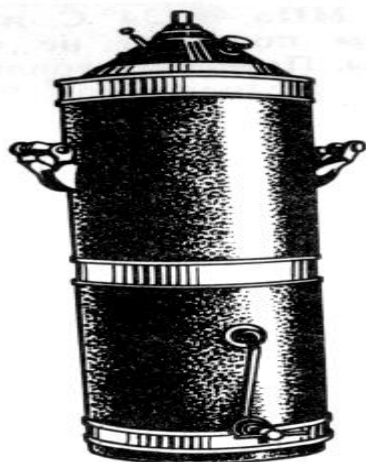
Sterilizatsiya apparatining ko‘rsatkich talablari

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

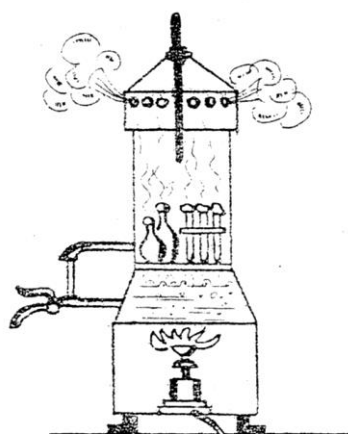
Vaqtan oldin qopg‘og‘ni ochishga ruhsat etilmaydi, chunki chiqa boshlagan par oqimi terini kuydirishi mumkin.

Oquvchan par yordamida Kox apparatida sterilizatsiyalash. Kox apparati metall dan yasalgan silindirdir. Uning tashqi tarafi issiqlikni izolyasiya qiladigan material (asbest, linoleum) bilan qoplangan (4- va 5-rasm).

Silindrning tagligigacha suv quyiladi. Sterilizatsiya qilinadigan materiallarni hamma devorlari teshikchali g‘ovaklardan tuzilgan, Kox apparatining tagligi ustiga qo‘yiladi. Silindrning qopqog‘i konus shaklida bo‘lib, unda par chiqib turishi uchun teshikchalar qilingan. Energiya manbaasi - gaz yoki elektr bo‘lishi mumkin. Kox apparatidagi harorat 100 °C dan oshmaydi.



2-rasm. Kox apparati (oquvchan parli)



3-rasm. Gaz bilan isitiladigan Kox apparati

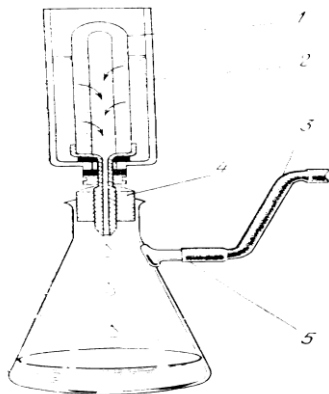
Oquvchan par bilan harorat 100 °C dan oshganda tarkibi o‘zgaradigan ozuqa muhitlarini (masalan qantli muhitlarni) sterilizatsiya qilinadi. Bu usulda sterilizatsiyalash 3 kun davomida ketma-ket 30 minutdan 100 °C da qizdiriladi. Birinchi kun 30 min qaynatganda mikroblarning hamma vegetativ hujayralari o‘lib, sporalari esa saqlanib qoladi. Ertasiga ko‘pchilik sporalar o‘sib vegetativ hujayralarga aylanadi, yana 30 min sterilizatsiya qilinganda ular 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 pechkasida sterilizatsiyalash. Paster pechi ikki devorli shkaf bo‘lib, tashqi devori asbest yoki boshqa issiqqa chidamli, issiqlikni izolyasiya qiladigan boshqa material bilan qoplangan (4-rasm). Elektroenergiya yordamida shkaf qizdiriladi. Sterilizatsiyalash 140 °C dan yuqori haroratda olib boriladi. Bu usulda 160-170 °C da 1,5 - 2 soat davomida shisha idishlar, paxta, qog‘oz, qum va boshqa materiallar sterilizatsiyalanadi. Sterilizatsiya qilinadigan idishlarni tozalab yuvib, qurutib, qog‘ozga o‘raladi. Probirka, kolba, pipetkalar paxta tiqinlar bilan berkitiladi.

Filtrlab sterilizatsiyalash (sovuq sterilizatsiyalash).

Ozgina qizdirishga ham bardosh bermaydigan suyuq ozuqa muhitlarini maxsus mayda g‘ovakli (porali) bakterial filtrlar yordamida sterilizatsiya qilinadi. Bakterial filtrlar yuzasida mexanik aralashmalar bilan birga mikroorganizmlar ham ushlanib qoladi.

Faqat viruslar va faglar undan o'tib ketadi. Filtrlash yo'li bilan tarkibida oqsillar, antibiotiklar, vitaminlar va uchuvchan moddalari bor ozuqa muhitlarni sterilizatsiya qilinadi. Bunda muhit tarkibi va xususiyatlari o'zgarmay saqlanadi. G'ovak filtrlardan Shamberlan, Berkefeld shamlari (4-rasm), Zeytsning asbest filtrlari (5-rasm) va nitrotsellyulozadan yasalgan membrana filtrlari qo'llanadi. Filtrlashni yuqori bosimda yoki filtr tagidagi bo'shliqqa vakuum yaratib olib boriladi.



suv

4-pacm. Keramika shamlari

orqali filtrlash:

1 - sham; 2 –shisha idish; o'ladi.
Filtr oddiy
sterillangan kolbaga quyib, tiqinini berkitib, qog'oz bilan o'rab
qo'yiladi.

Qaynatib sterilizatsiyalashni maxsus ichiga distillangan va 1 foizli natriy gidrokarbonati qo'shilgan sterilizatorlarda olib boriladi. Distillangan suv bo'lmasa, qaynatilgan suv quyish mumkin. Sterilizator tagiga tekislab paxta yoki marlini yoyib, ustiga shprints, nina, pinset, qaychi, skalpel va boshqa narsalar solinadi va 10 minutdan 40 minutgacha qaynatiladi (ifloslangan darajasiga qarab).

Bu sterilizatsiyalashni turmush sharoitida sanatoriya, dam olish uylarida, kasalxonalarda, turli transport vositalarida ham qo'llaniladi.

Olovda cho'g' qilib qizdirib sterilizatsiyalash yoki flanbirovanie qilish. Bu usul mikrobiologik nina ushlovchini, Paster pipetkalarini, pinsetlarni va boshqa olovda buzilmaydigan predmetlarni sterilizatsiyalash uchun qo'llaniladi.

Shisha idishlarni sterilizatsiyalash. Idishlarni sterilizatsiyalashdan oldin tozalab yuvib quritiladi. Probirka va kolbalar paxta tiqinlar bilan yopiladi. 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 tamponlar tiqiladi. Pipetkalarini uzun eni 4-5 sm li qog'ozlarga o'raladi va qopqoqli karton yoki metallardan yasalgan penallarga solinadi. Agar penallar bo'lmasa, qalin qog'ozdan penallar yasash mumkin. Sterilizatsiya qilingan pipetkalarini faqat tamponli tomonidan ushlab mumkin. Petri likobchalarini har birini alohida yoki 2-3 donadan qog'ozga o'rash kerak.

Tayyorlangan idishlarni quritish shkafining reshetkalariga yoki avto-klavga solganda juda zich joylamaslik kerak, chunki quruq havo va quruq to'yingan par bir tekisda idishlarni qizdirishi kerak. Quritish shkafi zich, mahkam yopilishi kerak. Agar quritish shkafida haroratni birdek saqlaydigan moslamasi bo'lmasa, sterilizatsiyada doim haroratga qarab turish kerak. Haroratni 175 °C dan oshirmaslik lozim, chunki qog'oz va tiqinlar buziladi. Idishlar yorilib ketmasligi uchun sterilizatsiya tugagandan keyin shkaf 100-70 °C gacha sovushi kerak, shundagina idishlarni chiqarib olish mumkin. Steril idishlarni o'ragan qog'ozlarni bevosita ishlash oldidan ochish kerak, aksida sterillik buzilishi mumkin.

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

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

Issiqqa bardoshli bo'lmagan plastmassadan yasalgan toza sentrifuga probirkalarini ultrabinafsha nurlar yordamida sterilizatsiya qilinadi.

3-4-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

Bakteriyalar morfologiyasini o'rganish, bakteriyalarning fiksatsiya qilingan preparatlarini tayyorlash va ularni oddiy usullar bilan bo'yash

Ishdan maqsad. Agarli muhitda o'sgan bakteriyalar koloniyasini kattaligini, cheti va yon tomondan ko'rinishini o'rganish va ularga ta'rif berish; bakteriya preparatini tayyorlash, hujayra shaklini, harakatchanligini, sporasi borligini aniqlash.

Asbob va uskunalar: biologik mikroskop, spirt lampasi yoki gaz gorelkasi, buyum oynasi, bakterial ilmoq, bo'yoqlar, suvli idish, bakteriya koloniyasi bor Petri likopchasi.

Laboratoriya ishini bajarish usuli: 1. Quyuq ozuqa muhitli Petri likobchasida o'stirilgan bakteriyalar koloniyasini o'rganish va ta'rif berish; natijalarni 1-jadvalga yozib qo'yish.

Mikroorganizmlar sistematikasida qo'llanadigan belgilar

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

Mikroorganizmlarni 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 ozuq muhitida o'sish hossalari. 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, DNKdagi alohida nukleotidlarning miqdorini ham hisobga olish tavsifa etiladi.

Binobarin, mikroorganizmlarning sistematik holatini aniqlash uzoq vaqt kuzatiladigan, juda ko'p o'ziga hos 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 laboratoriyalarida va sanoatdagi mikrobiologik laboratoriyalarida bemalol bajarish mumkin.

Bakteriyalarning morfologik belgilari

Ko'pchilik bir hujayrali mikroorganizmlar 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. O'z navbatida ular ham shakli bo'yicha xil turlarga bo'linadi. Yana bakteriyalarning bir hujayrali va ko'p hujayrali ipsimon, shoxlangan hamda yon o'simtali turlari ham mavjud. So'nggi yillarda turli substratlardan yana halqasimon, yulduzsimon, chuvalchangsimon va boshqa shakllari ham ajratib olingan.

Bakteriyalar o'lchami. Kokk shaklli bakteriyalarning o'rtacha diametri 1-25 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. Vibrionlarning o'lchami 1,5-3 x 0,5; spirillalarniki - 2-60 x 0,2-1,7; spiroxetalarniki -5-500 x 0,2-0,75 mkm ni tashkil qiladi.

Bakteriyalar sporasi va ularni bo'yash usullari

Ba'zi tayoqchasimon bakteriyalarda - batsillalarda spora hosil bo'ladi. Spora tinch holatidagi 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 kurash 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 kulturalarda 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), hujayrada sporasining joylashuvini (markazda, terminal yoki qutiblarda, subterminal yoki ekssentral), erkin sporalar shaklini (yumaloq,aval, silindsimon) va o‘lchamni aniqlash zarur. Bular ikki yoki uch kunlik kulturalar 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 surtmalar 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 kulturalaridan tayyorlangan yupqa surtma gorelka alangasida yoki 5 qism 40 foizli shakllin bilan 95 qism 96 foizli 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 ob‘ektivda kuzatiladi. Bunda sporalar havorang yoki ko‘k rangda, yosh sporalar to‘q-qoramtir, vegetativ hujayralar sitoplazmasi pushti yoki qizil rangda bo‘lib ko‘rinadi.

Zlatogorov usulida bo‘yash. Bunda spora hosil qiluvchi bakteriyalardan tayyorlangan surtma ochiq havoda quritiladi. Sporalarini fiksatsiyalash va qobig‘ini yumshatish uchun surtma 10 marta gorelka alangasidan o‘tkaziladi. So‘ng preparat ustiga filtr qog‘oz lentchasini 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 6-10 sekund davomida sulfat kislotaning 5 foizli eritmasi bilan rangsizlantiriladi va suv bilan yuviladi. Natijada vegetativ hujayralar rangsizlanadi, keyin ular Lyofflarning metilen ko‘ki bilan 2 minut davomida qo‘shimcha bo‘yaladi. Surtmani yana qaytadan yuvib, filtr qog‘oz bilan quritiladi va mikroskopning immersion ob‘ektivida kuzatiladi. Preparat tayyorlashda bo‘yash ishlari to‘g‘ri bajarilsa, sporalar och qizil rangga kiradi va sitoplazmaning havorang fonida aniq ko‘rinib turadi.

Kapsulalarni bo‘yash

Uglevodlarga boy bo‘lgan va azot kam bo‘lgan muhitda ayrim bakteriyalar o‘sayotganda shilimshiq kapsula hosil qiladi. 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. Kapsulalarni aniqlash uchun negativ kontrastlash usuli, Olt va Mixin usullari qo‘llanadi.

Olt usuli. Bunda surtma safranining 2-3 foizli eritmasi bilan bo‘yaladi. Bo‘yovchi eritma bevosita ishlatishdan oldin tayyorlanadi. Buning uchun bo‘yoq moddani issiq suvda eritib, keyin filtrlanadi. Surtma bir oz isitib turib, 1-3 minut davomida bo‘yaladi va tezda suv bilan yuviladi. Preparat quritilmaydi, unda suv bo‘lishi kerak. Keyin ustiga qoplag‘ich oyna yopib, mikroskopning immersion ob‘ektivida ko‘riladi. Bunda yorug‘lik nuri suv qatlamidan o‘tib, kapsula va mikroob hujayrasining tanasida nur sinishining farqini ko‘paytiradi. Mikroskopda qaralganda, mikroob hujayralari tanasi qizil rangga, kapsulalar sariq rangga bo‘yalgani yaqqol ko‘rinadi.

Mixin usuli. Fiksatsiyalangan surtma 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 hujayralarining tanasi qoramtir, kapsulalar och-pushti rangda ko‘rinadi.

Bakteriyalarning harakatchanligi o‘rganish va xivchinlarini bo‘yash

Bakteriyalar orasida harakatlanadigan va harakatlanmaydigan turlari mavjud, Ko‘pincha, bakteriyalar xivchinlari yordamida harakatlanadi. Faqat spiroxetalar tanasini bukib harakatlanadi. Xivchinlar sitoplazmadan ip shaklida o‘sib chiqqan o‘simta bo‘lib, yo‘g‘onligi 0,02-0,05 mkm ga teng, ammo hujayraga nisbatan ancha uzun, ba‘zan 10 va undan ham ko‘proq marta uzun bo‘ladi. Xivchinlarning joylashuvi va soni turli bakteriyalarda har xildir (7-rasm).

Bakteriyalarning harakatlanishini “muallaq” yoki “osilgan tomchi” preparatida kuzatish qulay. Buning uchun bulon yoki agarda 6-12-18 soat davomida o‘stirilgan yosh kulturalardan foydalaniladi. Mikroskopda qaraganda hujayralar har xil yo‘nalishda va turlicha tezlikda harakatlanayotgani yaxshi ko‘rinadi. Hujayralarning mustaqil harakatidan farq qilib, muallaq zarrachalar va harakatlanmaydigan hujayralarning broun harakati mavjud bo‘lib, u bir joyda tartibsiz tebranishdan iborat.

Peshkov modifikatsiyasi bo‘yicha Lyoffler usulida bo‘yash. Bunda bakteriyalar kulturasida 2-3 kun davomida har kuni tarkibida 1,5 foizgacha agar bo‘lgan qattiq yoki suyuq muhitga ekiladi. Hujayralar ehtiyotlik bilan ilmoqda olib, ichiga sterillangan suv quyilgan, harorati kultura o‘stirilgan muhitniki bilan bir hil bo‘lgan probirkaga solinadi. Hosil bo‘lgan suspenziya tomchisi mikroskopda qaralganda, hujayralarning serharakatligiga va suspenziyaning zichligi ko‘rish maydonida 5-10 ta hujayrani tashkil etishga ishonch hosil qilinadi. Surtma tayyorlashdan oldin buyum oyna 3-4 marta gorelka alangasi ustidan o‘tkaziladi, keyin sovitilib 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 bakteriyalarning xivchinlari tushib ketadi. Quritilgan surtma ustiga yumshatkich (protrava) quyiladi, isitmasdan 15 minut davomida saqlanadi, keyin distillangan suv bilan yuviladi. So‘ng preparat 5 minut davomida Silning suvga aralastirilgan (1:1) fuksini bilan bo‘yaladi. Bunda surtma bo‘yoqqa botirib qo‘yiladi. Keyin suv bilan yaxshilab yuvib, quritiladi va mikroskopning immersion ob‘ektivida qaraladi. Bunda bakteriyalar xivchinining joylashuviga, ularning soniga va uzunligiga e‘tibor beriladi.

Hujayradagi kiritmalarni bo‘yash

Glikogeni bo‘yash. Mikroblar hujayrasi sitoplazmasida ko‘pincha hayvon kraxmali - glikogen uchraydi. U polisaxarid hisoblanadi. Bir tomchi kulturaga bir tomchi Lyugol eritmasi tomizib, uning borligini bilish mumkin. Bunda glikogen Lyugol eritmasi bilan birikib, qizil-qo‘ng‘ir rangga kiradi. Agar muhitda etarli 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 granulyoza ko‘p miqdorda bo‘ladi. Kartoshkali muhitda o‘stirilgan yog‘larni bijg‘ituvchi batsillalar kulturasidan bir tomchi olib, tarkibidagi granulyozani aniqlash uchun ustiga bir tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi va qoplovchi oyna bilan yopiladi. Mikroskopning immersion sistemasida ko‘rilgan, ko‘k rangga bo‘yalgan urchuqsimon hujayralari ko‘rinadi. Bunday hujayralarning bir uchida bo‘yalmagan sporalar joylashgan bo‘ladi.

Bakteriyalarning qattiq muhitda o‘sishi. Mikroorganizmlarni tasniflash maqsadida Petri likopchasidagi quyuq muhitga va probirkadagi qiya agarga toza kultura ekiladi. Petri likopchasida bakteriyalar yuzada, chuqurda va tubida o‘sayotgani farq qilinadi.

3-jadval

Bakteriyalar koloniyasining kultural belgilari

Aniqlanadigan koloniya belgilari	Koloniyalar tartib raqami				
	1	2	3	4	5
Kattaligi					
Rangi					
Tuzilishi					
Qirg‘oqlari					
Yuzasi					
Tiniqligi					
Strukturasi					
Yonidan ko‘rinishi					
Konsistensiyasi					

Yuzada bir-biridan nari o‘sayotgan koloniyalar o‘rganiladi, ta’riflanadi va quyidagi belgilari aniqlanadi:

kattaligi (diametr) – millimetrli lineykalarda o‘lchanadi: maydalari – 1...2 mm; o‘rtanchasi - 2...4mm; yiriklari – 4mm va undan katta; juda maydalari, nuqtalari, katta nuqtalari – 1 mm dan kichik;

koloniya va koloniya osti substratining rangi (oqdan qoragacha) - oq, sariq, limon rang, to‘q sariq, qizil;

shakli – dumaloq, oval va h.zo. bo‘ladi (1-rasm);

koloniyalar qirg‘og‘i – kerak bo‘lsa lupa yordamida ko‘riladi (2-rasm);

yuzasi – silliq, donador, bujmaygan, do‘ngli, xira, yaltiroq, nam, quruq va b.q.bo‘ladi;

tiniqligi – shaffof, yarim shaffof, shaffof emas bo‘ladi;

koloniya strukturasi – bir tekis, mayda donador, tolali bo‘ladi;

yonidan ko‘rinishi – bukilgan, tomchisimon, tekis, do‘ngli, botiq bo‘ladi (3-rasm);

konsistensiyasi (uni bakterial ilmoq yordamida aniqlanadi) – quyuv, yumshoq, shilmshiq, cho‘ziluvchan, xamirsimon va b.q. bo‘ladi.

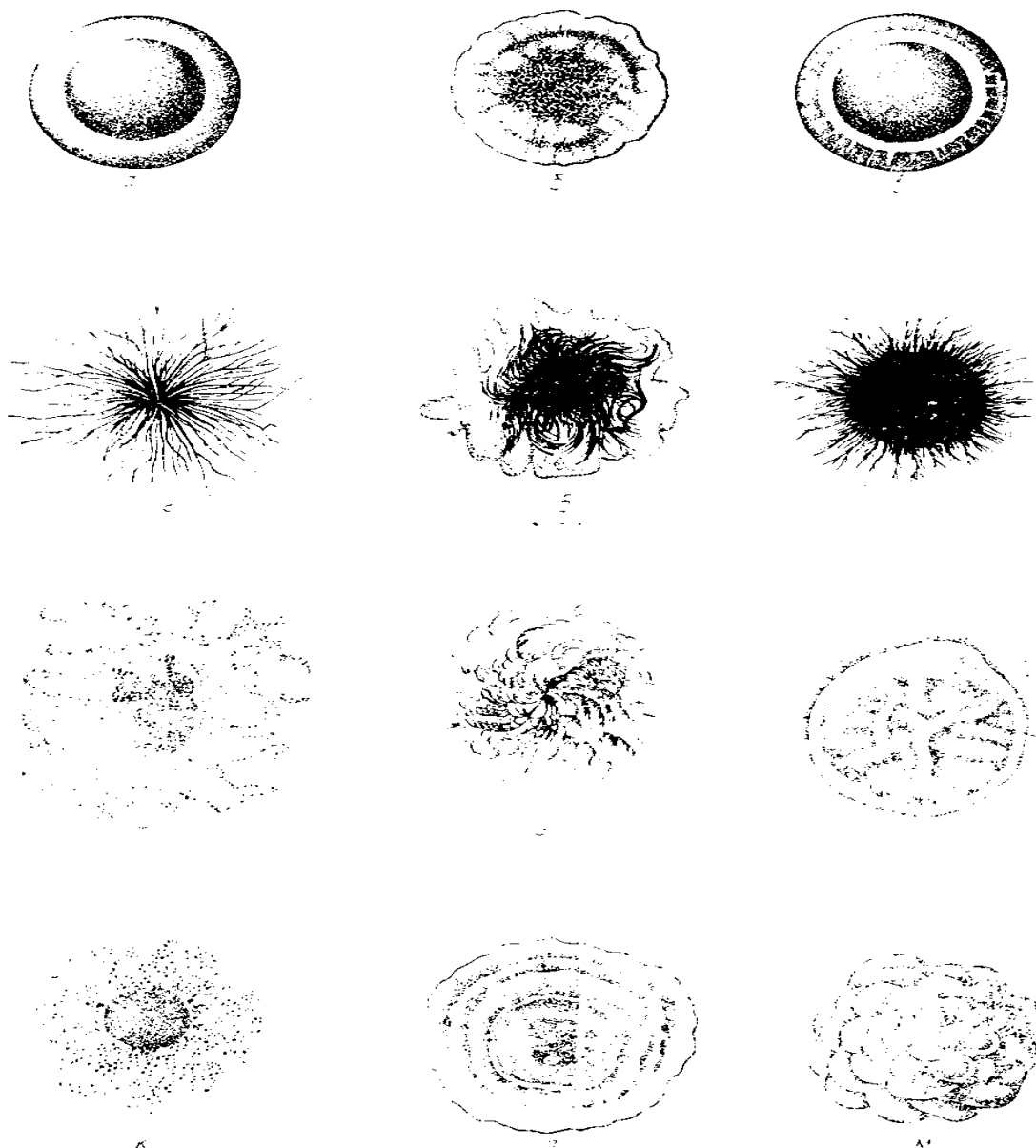
Tashqi ko‘rinishidan bitta belgisi bilan ham ajralib turadigan koloniyalarni har xil deb qarash kerak. Har bir turdagi bakteriya o‘ziga xos belgilarga ega koloniyalardan iborat bo‘ladi, shuning uchun Petri likopchasidagi koloniyalar soniga qarab tekshirilayotgan oziq-ovqat mahsulotini qandayligiga baho berish mumkin.

2. Bakteriyalar shaklini va spora hosil qilishini aniqlash. Buning uchun bakteriya preparati tayyorlanadi, oddiy bo‘yaladi va uni mikroskop ostida ko‘riladi. Natijalarni 2- jadvalga yozib qo‘yiladi va sxematik rasmi chiziladi.

4-jadval

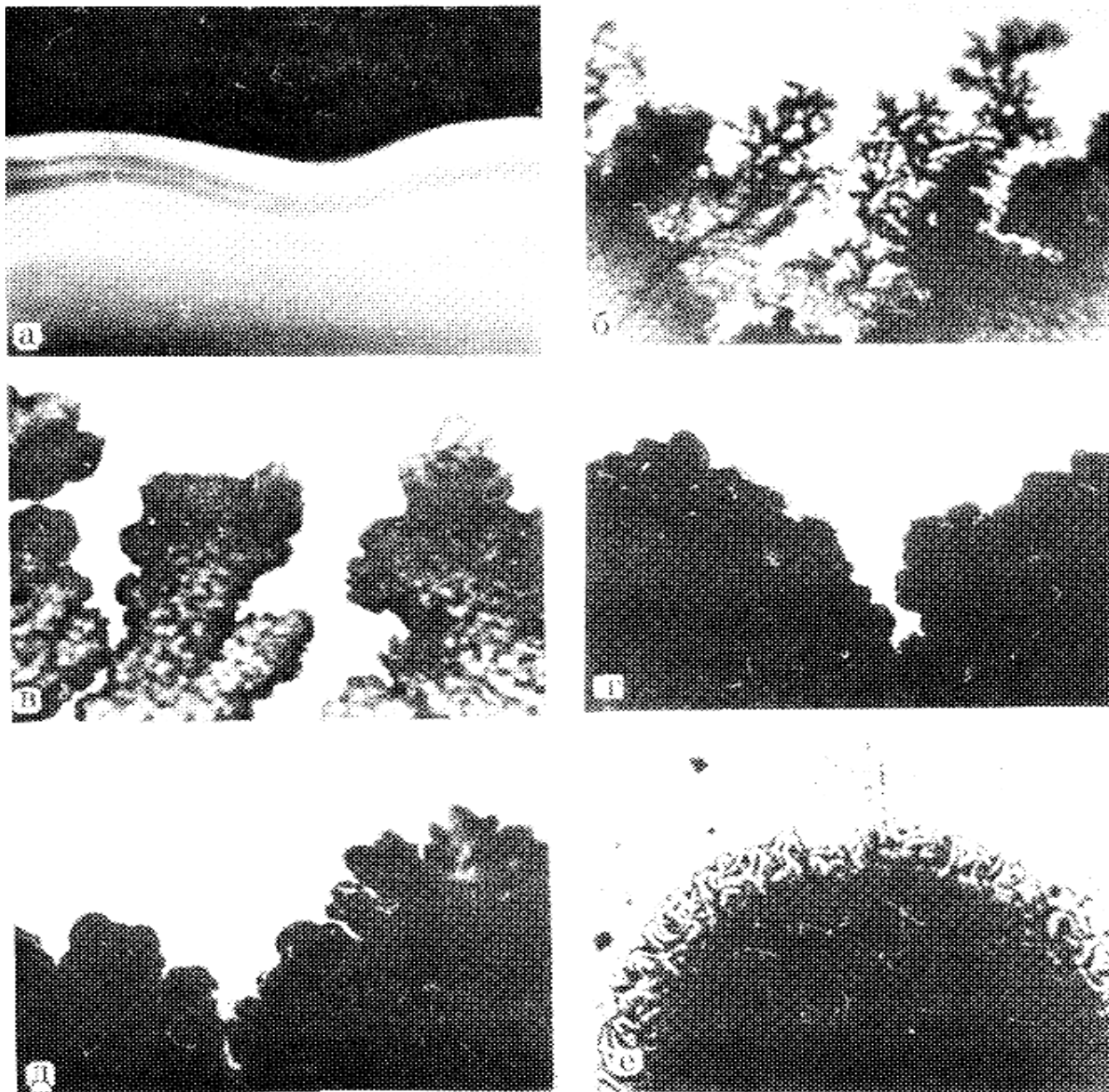
Bakteriya hujayrasining shakli va spora hosil bo‘lishi

Koloniya tartib raqami	Hujayraning shakli	Hujayraning o‘zaro joylashishi	Spora hosil bo‘lishi

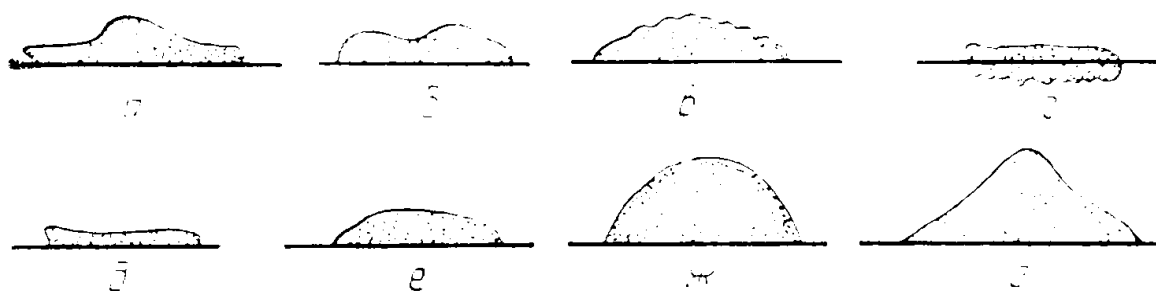


7-rasm. Bakteriya koloniyalarining shakli:

a - yumaloq; *b* - yumaloq, qirg'oqlari festonli; *v* - yumaloq, qirg'oqlari dolg'achali; *g* va *d* - rizoidli; *e* - yumaloq, qirg'oqlari rizoidli; *j* - amyobasimon; *z* - ipsimon; *i* - burmali; *k* - noto'g'ri; *l* - konsentrik; *m* - murakkab



8-rasm Mikroblar koloniyalarining qirg'og'i



9-

rasm Koloniyalarning yon tomonidan ko'rinishi:

a - bukiq, qayrilgan; *b* - kratersimon; *v* - g'adir-budir; *g* - agarga o'sib kirgan; *d* - tekis; *e* - bo'rtma; *j* - tomchisimon; *z* - konussimon

5-LABORATORIYA MASHG'ULOTI
Mog'or zamburug'lari morfologiyasini o'rganish

Ishdan maqsad. Agarli muhitda o‘sgan mog‘or zamburug‘larini ko‘rinishini o‘rganish va kultural belgilariga ta‘rif berish; mog‘or zamburug‘i preparatini tayyorlash. Ularning qaysi turkumga taalluqligini aniqlash.

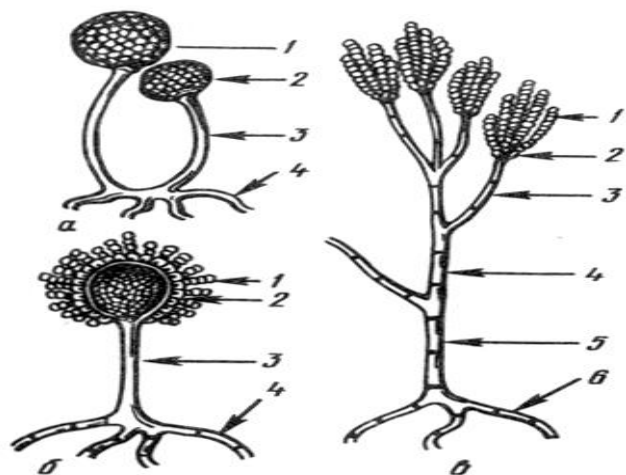
Zamburug‘lar (mikromitsetlar) eukariot organizmlarning katta gruppasini o‘z ichiga oladi. Eng sodda zamburug‘larning vegetativ tanasi qobiqsiz bitta hujayradan iborat bo‘ladi. Mitseliyli turlarining ko‘pchiligida bu hujayra shoxlanuvchi ingichka ipchalar - **gifalar** chigalidan iborat bo‘lib, **mitseliy**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

Mog‘or zamburug‘lari xlorofilsiz mikroorganizmlardir. Shuning uchun ular faqat organik birikmalar uglerodidan foydalanib oziqlanadi, ya‘ni ular geterotroflardir. Aerob zamburug‘lar turli substratlar yuzasida, faqat kislorod mavjudligida yashaydi. Hujayralarida differensiyalangan yadrosi bor. Mog‘or zamburug‘lari oziqa muhitiga talabchan emas, ya‘ni muhit tanlamaydi, past temperaturaga yaxshi chidaydi, muzlatkich kameralarda ham yashab, ko‘paya oladi. Ular orasida saprofitlar ham, parazitlar ham uchraydi. Zamburug‘lar olti sinfga bo‘linadi: xitridiylar (*Chytridiomycetes*), oomitsetlar (*Oomycetes*), zigomitsetlar (*Zygomycetes*) - bular tuban zamburug‘lardir; askomitsetlar (*Ascomycetes*), bazidiomitsetlar (*Bazidiomycetes*) va deysteromitsetlar - takomillashmagan zamburug‘lar (*Deuteromycetes*, *Fungi imperfecti*)dir; bular - yuksak zamburug‘lardir.

Morfologik belgilari. Mitseliy gifalarning haddan tashqari shoxlangan yopiq sistemasi 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 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 (1-rasm).

Vegetativ mitseliy hosil qiluvchi gifalarining diametri 5 dan 50 mkm gacha va undan katta bo‘ladi. Gifalari juda uzun bo‘lib, ko‘pincha ko‘zga ko‘ri-nadi. Mitseliysi ozuq muhitida o‘sganda yuzada (ochiq) va substratga botib o‘sgan holda, uning ichida o‘sadigan bo‘ladi. Ba‘zan mitseliy ildizga o‘xshash o‘simtalar-rizoidlar hosil qiladi. U ana shu o‘simtalari 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 ozuq moddalar shimmaydi va asta-sekin o‘z-o‘zidan erib ketadi.

1-rasm: tuzilish sxemasi



a – muko (zigomitsetlar sinfi):

- 1 - endosporalar;
- 2 - sporangiy (mevali tana);
- 3 – sporangiy tashuvchi;
- 4 - mitseliy;

b – aspergill (deytorimitsetlar sinfi):

- 1 - konidiyalar (ekzosporalar);
- 2 - sterigmalar;

Asbob va uskunalar: biologik mikroskop, s

1 oynasi,

yopqich oyna, ignalar, bo‘yoqlar, suvli idish, mog‘or zamburug‘i bor Petri likopchasi, lupa.

Ishning borishi:

Petri likopchasidagi quyuq oziqa 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. Chamalab kuzatib boriladi. Har gal kuzatilganda: koloniyaning o‘lchami (yirik-maydaligi), shakli, zich yoki siyrakligi, tashqi chetining tuzilishi, o‘rtasining tuzilishi, yuzasi, koloniyalarning, mitseliyning va ko‘paytish organlarining rangi, substratning va koloniya tubining rangi, tomchi suyuqlik ajralishi

aniqlanadi. Mitseliy hosil qiluvchi zamburug‘lar quyuc 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‘yalmagan. 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 mog‘orning 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, ochiq mitseliylar borligi, ularning xarakteri, xlamidosporalar va sklerotsiyalar hosil bo‘lishi, sporangiyaband va konidiyabandlarning, boshchalari sporalari 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 preparat oval ignada tayyorlanadi. Ignalarda mitseliyni meva hosil qiluvchi gifalari va yupqa oziqa muhiti bilan birga kichik bo‘lakcha shaklida olib, 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 ob‘ektivda qaraladi. Meva hosil qiluvchi gifalarning tuzilishi, sporalari (konidiyalar)ning o‘lchami, shakli va tuzilishi 600-800 marta kattalashtirib o‘rganiladi. Zamburug‘lar tirikligida har xil buyoqlar bilan bo‘yaladi, biroq ularning konsentratsiyasi 0,5-1 foizdan oshmasligi kerak. Zamburug‘lar hujayrasini kimyoviy o‘rganish, hujayralari strukturasi, turli qo‘shilmalarni aniqlash, yosh xususiyatlarini aniqlash, yadrolarni topishda achitqilarni o‘rganishdagi usullar qo‘llanadi.

O‘rganilayotgan zamburug‘ning avlodini va turini aniqlash uchun N.M.Pidoplichkoning “Грибы-паразиты культурных растений” (I va II tomi, Kiev: Naukova dumka, 1977), «Определитель грибов Украины» (1-5 t., Kiev: Naukova dumka, 1972), «Определитель нищих растений» (L.I.Kursanov taxriri ostida, M., Nauka, 1954, 1956) aniqlagichlaridan foydalaniladi.

6-LABORATORIYA MASHG‘ULOTI **Achitqilarning morfologiyasini o‘rganish**

Ishdan maqsad. Agarli muhitda o‘sgan achitqilarni ko‘rinishini o‘rganish va kultural belgilariga ta’rif berish; achitqi zamburug‘i preparatini tayyorlash. Ularning qaysi turkumga taalluqligini aniqlash.

Achitqilar askomitsetlar - xaltali zamburug‘lar (*ask-xalta*) sinfiga kiradi. Achitqilar bir hujayrali harakatsiz organizmlar bo‘lib, tabiatda keng tarqalgan. Hozirda ularning taxminan 1500 turi mavjud. Ular tuproqda, o‘simliklarda va tarkibida qand bor turli substratlarda uchraydilar.

Achitqilar qishloq xo‘jaligi va sanoatda keng qo‘llanadi. Ularning asosiy xususiyati spirtli bijg‘ishni keltirish bo‘lib, bunda qand etil spirti va karbonat angidridga aylanadi. Ozuqa achitqilaridan parranda va hayvonlar uchun vitamin va oqsilga boy em tayyorlanadi. Ayniqsa ular nonvoychilik va pivo sanoatida katta amaliy ahamiyatga ega.

Achitqilar zarar ham keltiradi, oziq-ovqatlarda rivojlanib, ularni aynitib, ta’mi va hidini buzadi.

Achitqi hujayralarining shakli va tuzilishi. Ko‘pchilik achitqilarning shakli yumaloq, tuxumsimon uzunchoq yoki ellipsga o‘xshash bo‘ladi. Silindrsimon va limonsimon shakldagilari kamroq uchraydi. Boshqacharoq shakldagi achitqilar ham bo‘ladi: o‘roqsimon, nayzasimon va uchburchak. Achitqi hujayralarining kattaligi 10-15 mkm ga, diametri esa 3-7 mkm ga teng. Ba’zilar 40 mkm gacha ham kattalashib ketishi mumkin. Achitqilarning shakli va kattaligi, o‘sish sharoiti va yoshiga qarab o‘zgarib turadi. Yosh hujayralarda doimiy shakl bo‘lib, qarilarida shakl o‘zgarib turadi.

Achitqilar eukariot organizmlar tarkibiga kiradi (yadrosi ajralib chiqqan). Ularning hujayrasini tuzilishi mog‘or zamburug‘larinikiga o‘xshaydi. Achitqilarning yadrosi ikki qatlamli membrana bilan qoplangan bo‘lib, sitoplazmadan ajralib turadi.

Achitqi hujayrasining qobig‘i asosan gemitsellyuloza va kam miqdorda oqsillar, lipidlar va xitindan tashkil topgan. Ba’zi achitqilarning qobig‘i shilliqlanadi va natijada hujayralar bir-biri bilan

yopishib qoladi. Ular suyuq muhitda rivojlanganda idishning tagiga pag‘a-pag‘a cho‘kma bo‘lib tushadi. Bunday achitqilar **pag‘a-pag‘asimon**, cho‘kmaga tushmaydigan muallaq holda bo‘ladigan achitqilar esa **changsimon** deb nomlanadilar. Changsimon achitqilarning qobig‘lari shilliqanmaydi.

Asbob va uskunalar: biologik mikroskop, spirt lampasi yoki gaz gorelkasi, buyum oynasi, yopqich oyna, ignalar, bo‘yoqlar, suvli idish, achitqi zamburug‘i bor Petri likopchasi, lupa.

Ishning borishi:

Petri likopchasidagi quyuq oziqa muhitiga achitqi sporasi shtrix usulda ekiladi. 5-8 kun davomida har 8-10 soatda ko‘z bilan chamalab kuzatib boriladi. Chamalab kuzatib boriladi. Har gal kuzatilganda: koloniyaning o‘lchami (yirik-maydaligi), shakli, zich yoki siyrakligi, tashqi chetining tuzilishi, o‘rtasining tuzilishi, yuzasi, koloniyalarning, substratning va koloniya tubining rangi, tomchi suyuqlik ajralishi aniqlanadi.

Shundan keyin achitqilar 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, vegetativ ko‘payish organlari, ya‘ni kurtaklari borligi, ularning hosil bo‘lishi xarakteri va joylashuvi aniqlanadi.

Mikroskopda ko‘riladigan preparatlar qizdirib, so‘ngra sovutilgan ikkita preparat oval ignada tayyorlanadi. Ignalarda mitseliyni meva hosil qiluvchi gifalari va yupqa oziqa muhiti bilan birga kichik bo‘lakcha shaklida olib, yaxshilab yog‘sizlantirilgan buyum oynasidagi 1:1 nisbatda olingan bir tomchi glitserin va etanol aralashmasiga qo‘yiladi. Ehtiyotlik bilan, ustiga qoplagich oyna yopiladi va sekin bosiladi. Preparat dastlab 8x yoki 10x, keyin 40x ob‘ektivda qaraladi. Achitqilar tirikligida har xil buyoqlar bilan bo‘yaladi, biroq ularning konsentratsiyasi 0,5-1 foizdan oshmasligi kerak. Achitqilar hujayrasini kimyoviy o‘rganish, hujayralari strukturasi, turli qo‘shilmalarni aniqlash, yosh xususiyatlarini aniqlash, yadrolarni topishda achitqilarni o‘rganishdagi usullar qo‘llanadi.

O‘rganilayotgan achitqilarning avlodini va turini aniqlash uchun N.M.Pidoplichkoning “Грибы-паразиты культурных растений” (I va II tomi, Kiev: Naukova dumka, 1977), «Определитель грибов Украины» (1-5 t., Kiev: Naukova dumka, 1972), «Определитель нищих растений» (L.I.Kursanov tahriri ostida, M., Nauka, 1954, 1956) aniqlagichlaridan foydalaniladi.

7-LABORATORIYA ISHI

Havoning mikroflorasini tekshirish, mikrob hujayrasi sonini hisoblash

Ishdan maqsad: Havo tarkibidagi mikroorganizmlar sonini turli xil usullar bilan aniqlashni o‘rganish.

Reaktiv va asboblari: 1. Agarli oziqa muhiti; 2. Petri likopchalari; 3. Spirt lampa; 4. 20 litrli 2 ta shisha idish; 5. Mikel naychasi; 6. Sterillangan paxta; 7. natriy sulfat yoki shakar kukuni; 8. Suv hammomi; 9. Spirt lampa.

Havoni tekshirishning bir nechta mikrobiologik usullari bor, eng oddiysi mikroblarni cho‘ktirish yoki Kox usulidir.

Ishning borishi:

Kox usuli (sedimentatsion usul). Buning uchun agarli oziqa muhiti quyilgan Petri likopchasi tekshirilayotgan bino ichida 5 daqiqa ochib qo‘yiladi. Bundan keyin Petri likopchasi yopilib, yozib belgilanadi va 30-35°C li termostatga 2-3 sutka qo‘yiladi. Termostatda turishning uzoq muddati 5 sutka. Chunki har xil mikroblar turli xil vaqtda unib chiqadi. Petri likopchasidagi oziqa muhiti yuzasiga tushgan har bir mikrobdan bittadan koloniya hosil bo‘ladi. Taxminiy hisobga ko‘ra 5 daqiqa davomida Petri likopchasi yuzasiga o‘tirgan 10 litr (0,01 m³) havoda qancha mikroblar bo‘lsa, 100 sm² maydonga shuncha mikroblar cho‘kadi. Petri likopchasi yuzasini hisoblab, 1 m³ havodagi mikroblar soni aniqlanadi. Bunda **V.A.Omelyanskiy** taklif etgan formuladan foydalanish mumkin. Masalan, 10 sm diametrlil Petri likopchasi yuzasida 15 ta koloniya unib chiqqan. Petri likopchasi maydoni 3,14 * 25 = 78,5 sm² (25 – Petri likopchasi radiusi (5) ning kvadrati).

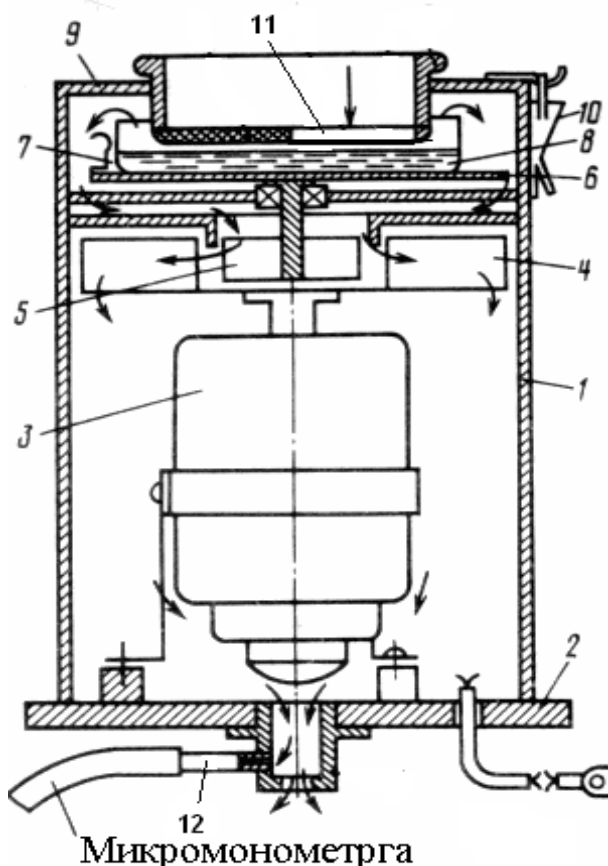
$$X = \frac{100 \cdot 15}{78,5} = 19$$

Proporsiya bilan chiqarsak 10 l havoda 19 ta koloniya. 1m³ havoda esa bundan yuz barobar ko'p, ya'ni 1900 dona mikroob 1 m³ havoda mavjud.

Mikel naychasi orqali hisoblash usuli. Buning uchun 2 ta 20 litrli shisha idish va Mikel naychasi kerak. Birinchi 20 litrli idishga suv to'ldirib, Mikel naychasi shishaning og'ziga probka bilan berkitiladi. Mikel naychasining bir uchiga yaqin toraytirilgan joydan naychaning ichiga sterillangan natriy sulfat yoki shakar kukuni solinadi. Kukun katta shishaning ichiga o'tib ketmasligi uchun naychaning toraygan joyiga paxta tiqin tiqiladi. Shunda kukun toraygan joydan o'tmasdan naychada saqlanib qoladi. Mikel naychadan o'tgan havoni aniqlash uchun yuqoridagi (birinchi 20 litrli) shisha idishning jo'mragi ochilib, suv ikkinchi 20 litrli idishga boshqa shisha naycha orqali o'tkaziladi. Birinchi idishdan ikkinchi idishga suv o'tishi bilan, birinchi shishada bo'shliq hosil bo'ladi va bu bo'shliqqa havo Mikel naychadan o'tadi. Havodagi mikroblar natriy sulfat yoki shakar kukuniga o'tirib qoladi va havo filtrlanadi.

So'ng Mikel naychadagi kukun 10 ml sterillangan suvda suyultirib, suyuq go'sht-pepton agarga aralashtirib Petri likopchalariga quyiladi. 22-25°S li termostatda 3-5 sutka saqlanadi. So'ng qattiq oziqa muhiti yuzasida unib chiqqan mikroob koloniyalari sanalib, 20 litrdagi havoning mikroblar soni hisoblab chiqiladi

Aspiratsion usul. Yu. A. Krotov konstruksiyasidagi teshikli apparatdan foydalanishga asoslangan (1-rasm). Ventilyatori 4000-5000 ay/min. aylanadi, apparatning ponasimon tirqishi (teshigi) dan kirayotgan havoni tez so'rib olib, Petri likopchasidagi ozuq muhiti yuzasiga uriladi. Havo elektrodvigatelni aylanib o'tib, l/min ga rostlangan asbobdan rotometr orqali chiqadi. Mikroorganizmlar muhit yuzasiga bir tekis taqsimlanishi uchun Petri likopchasi qo'yilgan disk ham 60-100 ay/min da aylantiriladi. 1 minutda apparatdan 25-50 l havo o'tadi.



1-rasm. Krotov asbobining tuzilish sxemasi:

1-silindr; 2-silindr asosi; 3-elektromotor; 4-markazdan qochma ventilyator; 5 - krilchatka; 6 -disk; 7 - prujinalar; 8 - Petri chashkasi; 9 - asbobning qopqog'i; 10 - yopib berkitadigan ilgaklar; 11 - ponasimon tirqish; 12- chiqarish trubkasi.

Havoda mikroorganizmlar 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 kulturalar o'sishi uchun 37°C haroratli termostatga 24 soatga qo'yiladi. Shundan keyin ular 48 soat xona temperaturasida qoldiriladi va o'sib chiqqan koloniyalar hisobga olinadi. Havoning so'rilishi tezligi va davomiyligiga qarab, umumiy hajm hisoblanadi va 1 m³ havodagi mikroorganizmlar miqdori hisoblanadi.

A.F. Voytkevich ma'lumotlariga ko'ra 1 m³ havoda Arktikada 1 ta dan 10 ta gacha, dengiz havosida 1-2 dona, shahar parki havosida 200 ta gacha, shahar ko'chasida 5000 ta gacha, aholi yashash binolarida 20 000 ta gacha va molxonalarda 1-2 mln. ta gacha mikroblar uchraydi.

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

8-LABORATORIYA ISHI

Sut va sut mahsulotlari mikroflorasi o'rganish

Ishdan maqsad: Sut mikrobiologiyasi bilan tanishish va sutning mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlashni o'rganish.

Reaktiv va asboblari: 1. Yangi sog'ilgan sut va eskirgan sun namunalari; 2. Metilen ko'king shchi eritmasi; 3. Suv hammomi; 4. Probirkalar.

Sut mikroorganizmlar uchun qulay oziqa muhiti hisoblanadi. Yangi sog'ilgan sutning 1 ml da mingdan to millionlargacha mikroblarni uchratish mumkin. Sut tarkibida asosan sut kislotasi va yog' kislotasi hosil qiluvchi tayoqchalar, ichak tayoqchasi gruppasi, chirituvchi bakteriyalar, achitqilar va zamburug'larni uchratish mumkin.

Yangi sog'ilgan sut tarkibida *laktenin* degan modda borligi uchun mikroorganizmlar rivojlanmaydi, chunki bu modda mikroorganizmlarning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi. Sutda bu moddaning faol turish muddati **bakteriotsid faza** deb ataladi. Sutni har xil haroratda turli muddatgacha (bakteriotsid faza) saqlash mumkin. Masalan, 25°C da 3 soat, 10°C da 6 soat, 5°C da 24 soat va 0°C da 36-48 soat. Sutning bakteriotsid fazasi qancha uzoq bo'lsa, sutni shuncha vaqt saqlash mumkin. Shuning uchun yangi sog'ilgan sutni tezda sovutish zarur. Birinchi bakteriotsid faza tugashi bilan sutda turli xil mikroblarning rivojlanishi boshlanadi. Dastlab sut tarkibida sut kislotasi hosil qiluvchi streptokokklar rivojlanadi va sut kislotasi hosil qiladi. Sut kislotasi miqdorining ortishi bilan streptokokklar nobud bo'lib, o'rnini asta sekin tayoqchasimon sut kislotasi hosil qiluvchi bakteriyalar egallaydi. Sutda kislotasi miqdori ortishi bilan rN ham pasayadi va sut kislotali tayoqchasimon bakteriyalar ham nobud bo'lib, o'rnini achitqilar va mog'or zamburug'lar egallaydi. Sut kislotalarining kamayishi bilan sutda yana chirituvchi bakteriyalar rivojlanadi.

Sut kislotasi hosil qiladigan mikroorganizmlar ikki guruhga bo'linadi.

1. **Tipik (gomofermentativ) sut kislotasi hosil qiluvchi streptokokklar.** Asosiy vakili *Streptococcus lactis*. Asosan shakarni bijg'itib 85-95% gacha sut kislotasi va oz miqdorda uchuvchan kislotalar hosil qiladi.

2. **Atipik (getofermentativ) sut kislotasi hosil qiluvchi streptokokklar.** Asosiy vakili *Streptococcus citrovorus*, *Streptococcus paracitrovorus*. Sut kislotadan tashqari, uchuvchan kislotalar, xushbo'y moddalar va CO₂ gazisi hosil qiladi.

Tayoqchasimon sut kislotali bakteriyalar ham ikkiga bo'linadi.

1. **Gomofermentativ sut kislotali bakteriyalar** (termofill va mezofilllar) . Asosan shakarni bijg'itib, 3-3,5% gacha sut kislotasi hosil qiladi. Sutni 6-12 soatda ivotadi.

2. **Getofermentativ sut kislotali bakteriyalar.** Shakarni bijg'itib, ko'p miqdorda spirt va CO₂ gazisi hosil qiladi.

Yog' kislotali mikroblar. Asosan tuproq va o'simliklarda bo'lib, sutga tushganda anaerob sharoitda sut shakarini parchalab, yog' kislotalar va gaz hosil qiladi. Bunda sut badbo'y hidli va achchiq ta'mli bo'lib qoladi.

Achitqi va mog'or zamburug'lar. Sutning sirtida rivojlanadi va sut kislotalarning bir qismini istemol qiladi. Shuningdek, sut yog'larini parchalab, achchiq ta'm va dag'al xashak hidini paydo qiladi.

Ichak tayyoqchasi (E.coli). Sutga atrof-muhitdan tushadi va laktozani parchalab, kislota va gaz hosil qiladi. Sut tezda iviydi va suyuqlashib ketadi. Ichak tayyoqchasi bilan zararlangan sutdan pishloq va boshqa sut mahsulotlari tayyorlab bo'lmaydi.

Sut tarkibidagi mikroorganizmlar gruppasini aniqlash uchun quyidagi oziq muhitlardan foydalaniladi:

1. Go'sht-pepton agar - chirituvchi mikroorganizmlar gruppasini;
2. Suslo agar - mog'or zamburug'lar va achitqilarni;
3. Probirkadagi steril sut - sut kislota hosil qiluvchi mikroorganizmlar gruppasini;
4. Bo'r bilan suslo agar - sut kislota hosil qiluvchi streptokokklarni aniqlash uchun.

Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlash

Sutda turli xil fermentlar mavjud bo'ladi. Shu jumladan reduktaza fermenti ham. Mikroorganizmlar faoliyati natijasida sutda reduktaza fermenti to'planadi. Reduktaza ferment metilin ko'kini rangsizlantirish xususiyatiga. Yangi sog'ilgan sutda mikroblar va reduktaza fermenti kam bo'ladi va metilen ko'ki sekin rangsizlanadi. Agar sut eskirgan bo'lsa mikroblar va reduktaza fermenti ko'p bo'ladi va metilen ko'ki tezda rangsizlanadi. Reduktaza namunasini qo'yish bilan sutning mikroblar bilan ifloslanganligini taxminiy aniqlash mumkin.

Metilen ko'king ishchi eritmasini tayyorlash. Avval spirtli to'yingan metilen ko'kini olib, unga 100 ml 96 % li etil spirti aralashtiriladi va 1 sutkaga termostatda 37°C da qoldiriladi. So'ngra bu aralashma filtirlanadi va to'yingan metilen ko'ki eritmasidan ishchi eritma tayyorlanadi. Ishchi eritmani tayyorlash uchun 5 ml to'yingan metilen ko'ki eritmasiga 195 ml distellangan suv qo'shib aralashtiriladi.

Ishning borishi

Reduktaza namunasini qo'yish va metilen ko'ki bilan sinash. Buning uchun katta probirkalarga 1 ml metilen ko'king ishchi eritmasi (*ishchi eritma murabbiy yoki laborant tomonidan ta'minlanadi*) va 20 ml sut solinadi. Probirkaning og'zini rezina probirka bilan berkitiladi. Sut va metilen ko'kini sekin (*silkitmasdan*) aralashtiradi va 38-40°C suv hammomida 20 minut qoldiriladi. 2 soat va 5,5 soatdan so'ng rangi o'zgarishini aniqlanadi va rangining o'zgarishiga ko'ra 4 ta sinfga bo'linadi.

Sutni metilen ko'ki orqali tekshirishning tezlashtirilgan usuli. Buning uchun metilen ko'king ishchi eritmasini tayyorlashda to'yingan eritma 10 marta suyultiriladi va tekshirilayotgan sut 2 marta kam olinadi. Toza probirkalarga 1 ml suyultirilgan metilen ko'ki eritmasi va 10 ml sut solib, probirkaning og'zi rezina probirka bilan berkitiladi. Probirka silkitmasdan aralashtiriladi va 38-40°C li suv hammomiga qo'yiladi. Metilen ko'king rangsizlanishi 5-10-15 minutlar davomida tekshirib turiladi. Shu vaqt davomida metilen ko'king rangsizlanishi tekshirilayotgan sutning 1 ml da gaz hosil qiladigan mikroorganizmlarning soni milliondan ko'proq ekanligini ko'rsatadi.

6-jadval.

Sinf	Sutning sifat bahosi	Sut rangining o'zgarishi	Sutning rangi	1 ml sutdagi mikroorganizmlar soni
I	Yaxshi	1 soatdan so'ng	Ko'k-kul rang	500 mingdan ortiq
II	Qoniqarli	1 soatdan so'ng	Och binafsha yoki ko'k binafsha rang	500 mingdan 4 mln. gacha
III	Yomon	1 soatdan so'ng	Pushti yoki oq rang	4 mln. dan 20 mln. gacha
IV	Juda yomon	20 minutgacha	Oq rang	20 mln. dan ortiq

9-LABORATORIYA ISHI

Go'shtning yangiligini bakterioskopik usulda aniqlash

Ishdan maqsad: Go'shtning yangiligini bakterioskopik usulda aniqlashni o'rganish.

Reaktiv va asboblari: 1. Mikroskop; 2. Bo'yoqlar; 3. Buyum oynasi; 4. Go'sht namunalari; 5. Qaychi; 6. Skalpel; 7. Shpatel; 8. Pinset; 9. Spirt lampa.

Go'sht mikroorganizmlar uchun yaxshi oziqa hisoblanadi. Chunki go'sht tarkibida mikroorganizmlar uchun kerakli moddalar, oqsillar, uglevodlar, azot, vitaminlar, va mineral tuzlar ko'p. Shuning uchun go'sht mikroblar ta'sirida tez buziladi. Yangi go'shtning yuza qismida 1 sm² da bir necha ming saprofit mikroorganizmlar bo'ladi. Shu jumladan, kokksimonlar, tayyoqchasimonlar, achitqi va zamburug' sporolari mavjud bo'ladi. Bundan tashqari go'sht zaharli moddalar hosil qiladigan mikroblar (bats. perfringens va salmonella) bilan ham ifloslanishi mumkin.

Go'shtning sifatini aniqlashda mikroblarning tarqalishi va ularning turlarini bilish katta ahamiyatga ega.

Go'shtning chirishi. Go'sht yuza qatlamlaridan ichki qatlamlariga tomon chiriy boshlaydi. Chirishning boshlang'ich stadiyalarida kokksimon aeroblar, keyingi stadiyalarida esa tayyoqchasimon aeroblar ishtirok etadi. Go'shtning chirishida asosan anaeroblardan *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericum*; fakultativ anaeroblardan *Bac. bulgarys*; anaeroblardan *Clostridium sporagenum*, *Clostridium putrificum* va boshqa mikroblar aktiv ishtirok etadi.

Go'shtning mog'orlanishi. Bu buzilish go'shtning sirtiga tushgan mog'or zamburug'lari, *kladosporium* va *Penitsillum* zamburug'larining qulay sharoitda rivojlanishi bilan ifodalanadi.

Go'shtning kislotali bijg'ishi. Bunda go'shtdan achchiq hid keladi, yumshab qoladi va kul rang tusga kiradi. Bu jarayonda anaerob *Klostridium putrifatsiens* va ba'zan sut kislotali achitqilar ishtirok etadi.

Pigment hosil bo'lishi. Bu jarayonda pigment hosil qiluvchi aeroblar *Serratia marseensis* ishtirokida qizil dog', achitqilar ishtirokida esa oq rangli dog'lar hosil bo'ladi.

Go'shtning yuqimli kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlar va saprofit mikroorganizmlar bilan ifloslanganligi laboratoriyada tekshiriladi. Go'shtni dastlab organoleptik usul bilan tekshiriladi, so'ngra go'shtdan surtma-tamg'a tayyorlanib mikroskopda kuzatiladi. Ular go'sht pepton agarga va go'sht pepton bulonga ekilib mikroblarning soni va sifati aniqlanadi.

Ishning borishi

Go'shtdan 1- va 2- namunalari olish va surtma-tamg'a tayyorlash.

Go'shtdan birinchi namuna yuza qatlamdan, ikkinchi namuna esa chuqur qatlamdan olinadi. Yuza qatlamdan namuna olish va surtma-tamg'a tayyorlash uchun yuqoridagi qatlamni pinset bilan ushlab turib, steril qaychi bilan bir parcha qirqib olib, buyum oynaga bosib, tamg'a qilib surtma tayyorlanadi.

Ichki qismlardan namuna olish uchun tekshirilayotgan go'shtning sirtini qizdirilgan shpatel bilan kuydiriladi. So'ng go'sht steril skalpel orqali kesilib, ochilgan ichki qavatdan pinsetda ushlab, steril qaychi bilan bir parcha kesib olinadi va surtma-tamg'a tayyorlanadi. Tayyor surtma havoda quritiladi. Alangada fiksatsiya qilinadi va Gram usulida bo'yalib, mikroskopda kuzatiladi. Mikroskopning kamida 5 ta ko'rish maydonchasidagi mikroblar soni hisoblab chiqiladi. Bunda kokksimon va tayyoqchasimon bakteriyalarni alohida hisoblash kerak.

Agar go'sht yangi so'yilgan yoki to'g'ri sovitilgan bo'lsa surtma-tamg'a tayyorlab bo'lmaydi. Chunki oynada dog' qolmaydi va ko'zga tashlanmaydi.

Agar go'sht buzila boshlagan bo'lsa surtma-tamg'a yaxshi tayyorlanadi va yaxshi bo'yaladi. Chunki buzila boshlagan go'sht hujayralarining suvi chiqadi va oynaga go'sht bo'lakchalari yaxshi yopishadi. Agar go'sht buzilmagan bo'lsa yuza qatlamdan tayyorlangan surtmada bir necha kokksimon va tayyoqchasimon bakteriyalarni uchratish mumkin. Ichki qatlamlardan tayyorlangan surtmada esa mikroblar umuman bo'lmaydi.

Agar go'sht nihoyatda buzilgan bo'lsa, kokksimon mikroblar yo'qolib, o'rnini asosan tayyoqchasimon mikroblar egallagan bo'ladi.

Bug'doy mikroflorasini o'rganish

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

Don boshqoqli 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'allada) *Pseudomonas* turkumiga mansub chirituvchi bakteriyalar son jihatdan ko'p bo'ladi. Bu turkumning asosiy vakili *P. herbicola* bug'doy, javdar va boshqa g'allalar dondagi 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 chanh donni saqlashda spora hosil qiluvchi *Bacillus subtilis*, *B. mycodies*, *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 qizishib 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 hosil pishishi davrida ular bakterioz va mikoz kasalligini qo'zg'atadi. Bug'doy, arpa, javdar, 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. Kasallik kuchayib ketsa don qorayib burishib qoladi va 60-70% gacha vaznini yo'qotadi. Zamburug' kasalliklari don mikroblari orasida toshkuya va qorakuya eng ko'p tarqalgan. Toshkuyani *Ascomucetes* sinfiga 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 hosil bo'ladi. Hosil o'rim-yig'im davrida ular yerga to'kilib qolib bahorda bo'rtib unib chiqadi va ipsimon bandli boshqoqcha shaklidagi meva tana hosil qiladi. Boshqa ichida xaltachalar har qaysi xaltachada 8 tadan ipsimon sporalar hosil bo'ladi. Sporalar tugunchada tushib o'sadi va mitseliy hosil qiladi. Mitseliyda biroz shirinroq suyuqlik bilan o'ralgan konidiyali koniyabandlar shakllanadi. Suyuqlik hasharotlarni o'ziga jalb qiladi, ular esa konidialarni sog'lom o'simliklarga yuqtiradi. Zararlangan tugunchada javdar pishishi davrida mitseliy zichlashadi va don o'rnida shoxchalar shakllanadi. Ularda zaharli modular alkaloidlar bo'ladi. Toshkuya alkaloidlari odamlar hayvonlar va qushlar uchun zararlidir. Tarkibida toshkuya shoxchalari bo'lgan undan pishirilgan non is'temol qilinsa odam bo'shashadi, bosh aylanadi, tomir tortishadi.

Dondagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash. O'rtacha namunadan 10 g tortib olinib 90 ml sterillangan suvga aralastiriladi va qo'lda yoki maxsus laboratoriya apparatida yaxshilab silkitib yuvundi 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 yoki yuza usulda ekiladi. Har bir suyultirmadan kamida 2 ta parallel likopchaga ekiladi. Bakteriyalar ekilgan likopchalar $25-30^{\circ}\text{C}$ da zamburug' ekilganlari $22-25^{\circ}$

C da termostatda saqlanadi. 48 soatdan keyin o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi. Agar koloniyalar 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.

11-LABORATORIYA ISHI

Biotexnologiya laboratoriyasida ishlash qonun qoidalarini o'rganish va biotexnologik asbob-uskunalar bilan ta'minlash

Ishdan maqsad: Talabalarni oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasiga qo'yiladigan asosiy talablar, laboratoriya jihozlari va reaktivlar bilan tanishtirish.

Asosiy tushuncha: Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasi, laboratoriya xonasiga qo'yiladigan asosiy talablarga javob berishi kerak va talabalar biotexnologiya laboratoriyasida ishlash ko'nikmasiga ega bo'lishlari va reaktivlar bilan tanishishlari lozim.

Buning uchun talabalar biotexnologik laboratoriyasini tashkil etish va unda ishlash qoidalari bilan tanishtiriladi.

Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasiga qo'yiladigan talablar:

Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasi uchun ajratilgan xona yorug', keng. uning tabiiy yoritilganligi 110 lk dan kam bo'lmasligi kerak. Laboratoriya xonasining poli kafellangan, stollarning sirtqi plastik materiallar bilan qoplangan bo'lishi kerak. Xona devorlari yerdan 170 sm dan balandlikgacha kafel bilan qoplash yoki moy bilan bo'yash zarur. Oziq-ovqat biotexnologiyasi xonasidagi stollar laboratoriya tipida va u yerda reaktiv hamda idishlarni qo'yish uchun shkaf va peshtaxtalar bo'lishi kerak. Stellar elektr va gaz tarmog'iga ulangan manbaga ega bo'lishlari talab etiladi.

Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasi asosiy xonadan tashqari avtoklav va qurutish shkafi qo'yiladigan xona, sterilizatsiya xonasi, boks, idish yuvadigan xona, sovutkich va termostat qo'yiladigan, kulturalarni saqlaydigan xonalardan iborat bolishi kerak. Boks –kulturalar ekiladigan unchalik katta bo'lmagan xona bo'lib, u ikkiga ajratilgan bo'lishi kerak. Boksdagi asosiy ishlash xonasiga kichik xona, ya'ni tamburdan eshik orqali kiritiladi. Bu holat eshik ochilganda tashqaridagi havo orqali mikroorganizmlarni to'g'ridan –to'g'ri kirib kelishini ma'lum darajada oldini oladi. Hozirgi vaqtda stolga joylashtiriladigan turli kattalikdagi, ichida steril havosi almashib turadigan laminar bokslar ham keng ishlatilmoqda.

Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyalarida o'simlik kulturalari va mikroorganizmlar bilan ish olib boriladi. Oziq-ovqat biotexnologiyasi mikroorganizmlar orasida kasallik qo'zg'atuvchi turlari ham bo'lishi mumkin. Shuning uchun laboratoriyada xodim va talabalar o'zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmasligi uchun ichki tartib qoidalarga qat'iy rioya qilishlari zarur.

Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasida ishlaydigan xodimga qo'yiladigan talablar:

1. Sterillangan oq xalatda ishlash.
2. Bakteritsid lampa yoqilgan xonaga lampa o'chirilgach 2 soatdan keyin kirish.
3. Ish jarayonida faqat sterillangan idish va asboblardan foydalanish.
4. Manipulyatsiya jarayonida spirt bilan bilan ishlashda ehtiyot bo'lish.
5. O'simlik materiallarini sterillash jarayonida sterillovchi moddalar (zaharli, masalan temurosol) bilan ishlashda juda ehtiyot bo'lish.
6. Yaroqliylik muddati o'tib ketgan reaktivlardan foydalanmaslik.
7. Katta kuchlanish bilan ishlaydigan asbob-uskunalar, jihozlar bilan ishlashda qoidalarga rioya qilish.

Man etiladigan holatlar:

1. Biotexnologiya laboratoriyasiga begonalarini kiritish.
2. Laboratoriyada oziq-ovqat mahsulotlarini saqlash, ovqatlanish.
3. Kimyoviy moddalarni laboratoriyadan tashqariga chiqarish, boshqalarga berish.
4. Reaktiv saqlanadigan idish og'zini ochiq qoldirish.
5. Sterillangan idish, asbob-uskunalardan foydalanish.

Oziq-ovqat biotexnologiyasi laboratoriyasida qo'llaniladigan asboblari:

Laminar-boks. Laminar boks ajratilgan to'qima, hujayralarni o'stirish va boshqa steril sharoitni talab etuvchi ishlarni bajarish uchun mo'ljallangan. Bu yerdagi steril sharoit laminar boksga o'rnatilgan havo o'tkazadigan bakterial filtrlar yordamida amalga oshiriladi.



Termostat. Bu jihozda issiq harorat bir xil darajada saqlanib turiladi. Ko'p mikroorganizmlarning ko'payishi uchun qulay harorat 25-27 °C hisoblanadi. Termostatlar quruq, havoli va suvli bo'ladi. Bulardan mikroorganizmlarni o'stirish uchun foydalaniladi.



Quritish shkafi (Paster pechi). Shisha, chinni va metallardan yasalgan laboratoriya idishlari sterillash uchun mo'ljallangan.

Avtoklav. Mazkur jihoz bug' va bosim bilan sterillashga mo'ljallangan. Biotexnologik laboratoriyalarida avtoklavlarning turli xillari (gorizontal, vertikal shakldagi, ko'chirib bo'lmaydigan va ko'chirish mumkin bo'lgan turlari) ishlatiladi.

Sovutgichlar. Oziqa muhitlarini, zardob va boshqa biologik jihatdan faol preparatlarni 4 °C atrofida saqlash uchun foydalaniladi. Biopreparatlarni 0 °C dan past haroratda saqlash uchun past haroratli sovutkichlardan foydalaniladi. Bularda harorat 20 °C va undan ham past bo'lishi mumkin.

Tsentrifuga. Markazdan qochuvchi aylanma kuchdan foydalanib suyuqlikdagi turli solishtirma og'irlikka ega moddalarni va qattiq moddalardan suyuq moddalarni ajratishda ishlatiladi. Tsentrifuga dagi aylanma harakat tufayli solishtirma og'irligi nisbatan yuqori bo'lakchalar chetga va aksincha kichik solishtirma og'irlikdagi bo'lakchalar o'rtasida o'q atrofida yig'iladi.

Ultratsentrifuga biotexnologiya laboratoriya amaliyotida keyingi tadqiqotlar uchun hujayra fraksiyalari, membrana, oqsil, nuklein kislotalar va boshqa makromolekulalarni ajratishda ishlatiladi. Ultratsentrifuganing rotorini aylanishi bir daqiqa davomida 80 ming va tezligi 106 ga teng. Ultratsentrifugani birinchi bo'lib 1923 yil T. Svedberg kashf qilgan.

Avtomatik mikropipetkalar. Kichik hajmadagi suyuqliklarni aniq va sifatli o'lchash uchun ishlatiladigan asboblardir. Ular biologik va kimyoviy tadqiqotlarda keng qo'llaniladi.

Mikropipetkalar konsentrlangan kislotalar yoki yemiruvchi eritmalarini o'lchash uchun ishlatilgandan keyin ularning bo'laklarini distillangan suv bilan yaxshilab yuvilishi va qurutilishi kerak. To'liq quritilgan mikropipetka bo'laklari yana o'z holidek qilib yig'ib qo'yiladi. Yemiruvchi eritmalarining parlarini uzoq ta'sirda mikropipetka bo'laklari ishdan chiqishi mumkin. Bu esa ularda suyuqliklarni hajmini noto'g'ri o'lchashga sababchi bo'ladi.



Petri likopchasi. Ikkita bir-biriga qopqoq bo'lib yopiladigan yassi, dimetri 8-10 sm bo'lgan yumaloq idish. Petri likopchasi shisha yoki tiniq plastmassadan tayyorlanadi va unda agarli ozuqa muhitida mikroorganizmlar yoki o'simlik to'qimasi o'stiriladi.

12-LABORATORIYA ISHI

Mikroorganizmlarni ekish uchun ozuqa muhiti tayyorlash va stelizatsiya qilish hamda produtsent suyuq ozuqa muhitida o'stirish

Ishdan maqsad. Paxta tiqinlar yasashni o'rganish, idishlarni yuvib sterillashga tayyorlash, har xil ozuqa muhitlarini turini, tarkibini o'rganib, go'sht-peptonli agarni tayyorlash va uning pH-ini aniqlash. Sterillash va pasterlash usullarini o'rganib, tayyorlangan ozuqa muhitini, idishlarni va boshqa narsalarni avtoklavda sterillash, sutni pasterlash. Avtoklav, Kox apparati, Paster javoni, Zeyts filtrining tuzilishi va ishlash printsiplarini bilish.

Ozuqa muhitlarining turlari va ularning tarkibi

Ozuqa muhitlarning tarkibidagi organogen elementlar (C, O, H, N), kulli makroelementlar (Mg, Ca, P, S, K, Fe), ba'zi mikroelementlar (Mn, Cu, Na, Ci, Zn, Mo, va boshqalar) kiradi. Ular mikroorganizmlar oson o'zlashtirgan shaklda bo'lishi kerak. Uglerodni ko'pincha glyukoza, saxoroza, spirtlar, organik kislotalar va boshqa birikmalar shaklida mikroorganizmlar yaxshi o'zlashtiradilar. Oqsil moddalar, peptonlar, aminokislotalar ammoniy tuzlari, nitratlar azot manbasi vazifasini bajarish mumkin. O'stiruvchi moddalar sifatida achitqi ekstraktlari yoki achitqi avtolizatlari, ba'zan vitaminlar, aminokislotalar, purin va pirimidin asoslarining eritmaları 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 bo'ladi. Mikroorganizmlarni o'stirish, biomassasini oshirish, toza to'plamlarni saqlash va mikroorhanizmlarni 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'llaniladi.

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 diffenersial-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** muhitlarga faqatgina ma'lum mikroorganizmlarning yoki bir-biriga yaqin turlar guruhlarning o'sishini ta'minlaydi, boshqalari esa bu muhitda o'smaydi.

Diffenersial-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'linadi. **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 100^0 C da eriydigan gel hosil qiladi va 40^0 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 kontsentratsiyasiga qarab (5-15%) $22-26.5^0$ C da eriydi. Jelatinli muhitlarni achitqilarni identifikatsiyalashda yirik koloniyalarni olish uchun qo'llanadi.

Ozuqa muhitlarni tayyorlash. Ozuqa muhitlarni toza shisha idishlarda tayyorlash kerak. Yangi shisha idishlarni yuvib 8-10 soatga 1-2% li HCl yoki H_2SO_4 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 yordamida filtrlab idishlarga quyiladi. Suyuq muhitlarni qotirish uchun agardan kerakli miqdorda qo'shib suv hammomida agar to'la eriguncha qisdiriladi. So'ng muhitni paxta marlili filtrdan o'tkazib erib turgan holatida idishlarga quyiladi. Probirka va kolbalarni sterillashdan oldin ularning og'zi paxta tiqinlar bilan yopiladi. Qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkalarning yarmigacha agarli muhit quyiladi keyin sterillanadi. Petri likopchalariga quyiladigan agarli muhit bilan katta probirkalarning 2/3 hajmiga to'ldiriladi. Muhitni yana kolbalarga quyib ham sterillash mumkin. Har bir oziqa muhiti solingan kolbaga etiketka qilib unga ozuqa muhitining nomi, tarkibi va sana yoziladi. Sterillab bo'lingandan so'ng qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkaning tiqin tomonini biroz balandroq qilib sovitishga qoldiriladi. Bunda ozuqa muhiti paxta tiqinigacha 5-6 sm yetmasligi.

Sterillangan ozuqa muhitlarni salqin, quruq, nur tushmaydigan joylarda, yaxshia 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 tushishi mumkin.

Go'sht-peptonli agarni tayyorlash. Odatda mikroorganizmlarning 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 1l suv qo'shib 1soat 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.

1l 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 davomi 120 C da sterillanadi.

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

Sterillash –hamma mikroorganizmlarni va ularning sporalarini to'liq yo'q qilishdir. Sterilis – naslsizlik. Sterillashning bir nechta usullari mavjud bo'lib, ob'ektning xususiyatlariga va maqsadiga qarab kerakli usul tanlanadi.

To'yingan par yordamida bosim ta'sirida sterillash avtiklavlarda olib boriladi. Avtoklav qopqog'i germetik yopiladigan ikki devorli metall qozondir. Uning suv-par kamerasiga voronka orqali yuqori belgisigacha suv quyib kran yopiladi. Sterillangan ozuqa muhitlari, idishlar va boshqa materiallar avtoklav ichiga- kamerasiga maxsus reshetkalar ustiga qo'yiladi va qopqog'i mahkam yopiladi.

Kox apparatida oquvchan yordamida sterillash. Kox apparati metall dan yasalgan silindrdir. Uning tashqi tarafi issiqlikni izolyatsiya qiladigan material bilan qoplangan.

Quruq issiqlik bilan Paster pechida sterillash. Paster pechi ikki devorli shkaf bo'lib, tashqi devojir asbest yoki issiqqa chidamli, issiqlikni izolyatsiya qiladigan boshqa material bilan qoplangan.

Filtrlab sterillash (sovuq sterillash). Ozgina qizdirishga ham bardosh bermaydigan suyuq ozuqa muhitlarini maxsus mayda g'ovakli bacterial filtrlar yordamida sterillanadi. Bacterial filtrlar yuzasida mexanik aralashmalar bilan birga mikroorganizmlar ushlab qolinadi. Faqat viruslar va faglar undan o'tib ketadi.

Qaynatib sterillashni ichiga distillangan suv va 0.1% li natriy gidrokarbonat qo'shilgan maxsus sterilazatorlarda olib boriladi. Distillangan suv bo'lmasa qaynatilgan suv quyish mumkin.

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

Har xil substratlardan mikroorganizmlarni ajratib olish ularning toza to'plamlarini ko'paytirish va aktiv holatda saqlash uchun ular laboratoriya sharoitida ekiladi va qayta ekiladi. Tekshirilayotgan materialdan ozgina olib ozuqa muhitida ekish inokulyatsiya (ekish)deb, boshqa yangi ozuqa muhitiga ekish qayta ekish deb ataladi.

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

13-LABORATORIYA ISHI

Mikroorganizmlardan oqsil moddalarini ajratib olish usullari

Oqsillar tirik organizm hujayralarida sintezlanadigan biologik polimerlardir. Oqsil tirik organizmning hayotiy mahsuloti bo'lib, uning yashashi, rivojlanishi, yetilishi va o'ziga o'xshash nasl hosil qilishda imkon yaratadi. Oqsilning 1 sutkalik normasi 80—100 g, 1 g oqsil 4,1 kkal energiya beradi. Oqsillar (tuxum, sut, pishloq va boshqalar) xomashyolarida mavjud. Barcha oqsil molekullari uglerod, vodorod, azot, kislorod va oz miqdorda oltingugurtdan tashkil topgan oqsil molekullari zanjiridagi bo'g'inlar aminokislotalardan iborat. Ovqatlanishda oqsilni yetishmaganligi inson salomatligiga ta'sir ko'rsatib, jismoniy va aqliy ish qobiliyatini pasaytiradi. Yosh bolalarda esa jismoniy rivojlanishini susaytiradi, ba'zan aqliy zaiflikka olib keladi.

Oqsil tarkibidagi aminokislotalarni balanslashda butun dunyo sog'liqni saqlash tashkilotlari oqsil aminokislotalari tarkibi etaloni sifatida parranda tuxumi yoki ona sutini qabul qilishni tavsiya etadi. Ularda aminokislotalar tarkibi juda yaqin va inson uchun zarur hisoblanadi. Oqsilning organizm hayot faoliyatidagi ahamiyati nihoyatda xilma-xil, oqsil elastik qon tomirlar devori tarkibiga kiradi. Teri, pay, tog'ay, suyak tarkibida poliogen oqsil boladi. Peratin soch, tuxum oqi, pat, shoxsimon tizimlarning asosiy tarkibiy qismi hisoblanadi. Garmoniya oqsili organizmning barcha hayotiy 143 jarayonlarning o'sish va ko'payishini bajarib turadi. Muskullarda qisqartiradigan oqsil meozin hamda aksin borligi tufayli ular qisqaradi va yoriladi. Ayni shu oqsil tufayli barcha hayvonlar ko'rish qobiliyatiga ega bo'ladi. Ba'zi hayvonlar (ilon, hasharot va boshqalardan tashqari) hamda o'simliklarning kuchli zaharli moddalari, shuningdek bakteriyalar toksini ham oqsildir. Shuning uchun ular tuxum oqida va o'simliklar urug'ida to'planadi.

Ba'zi oqsil zahira oziq moddalar hisoblanadi. Fermentlar oqsilning muhit va turli guruhini tashkil etadi. Organizmdagi barcha kimyoviy jarayonlar fermentlar ishtirokida o'tadi. Masalan, ovqat hazm bo'lish, kislorodni o'zlashtirishi, moddalarning o'zaro bir-biriga aylanishi, almashinuv mahsulotning hosil bo'lish va organizmdan chiqarilib yuborilishi, energiya to'planishi, qon ivishi va boshqalar fermentlar ishtirokisiz amalga oshmaydi. Ba'zi oqsil guruhlari tashuvchilik funksiyasini bajaradi. Masalan, eritrositlardagi gemoglobin kislorodni o'pkadan organizmning turli to'qimalariga elitadi va to'qimalarda hosil bo'lgan karbonat angidridni o'pkaga olib keladi, nafas chiqarganda uning o'pkadan tashqariga chiqib ketishiga imkon yaratadi. Oqsil organizmni himoya qilish vazifasini ham o'taydi. Qonga kasallik paydo qiluvchi bakteriyalar yoki ularning organizm hayot - faoliyati uchun xavf tug'diradigan mahsulotlar tushganda organizmda antitelolar-immunoglobulin oqsili ishlab chiqariladi. Ular organizm uchun yot bo'lgan kasallik paydo qiluvchi mikroorganizmlar hayot-faoliyati mahsulotlarini neytrallashtirishda ishtirok etadi. Oqsilning organizmni himoyalash vazifasiga qonning ivishini ham misol qilib keltirishimiz mumkin. Qon plazmasida fibrinogen oqsil eriydi. U rangsiz va ko'rinmaydi, lekin qon tomirining shikastlangan joyida fibrinogen tez polimerlanib, oq fibrin ipiga aylanadi va cho'kmaga tushib, jarohatlangan joyni paxta yanlig' to'sib qo'yadi. Suvda erimaydigan, kimyoviy jihatdan inert oqsildan tortib, suvda eriydigan, biologik jihatdan faol, barcha oqsil peptid bog'i bilan bog'langan ayni bir xil aminokislotalardan tashkil topgan.

Tabiatda 20 xilga yaqin aminokislotalar mavjud, oqsil shu aminokislotalardan, ya'ni oqsilga mos bo'lgan aminokislotalardan tuzilgan. Aminokislotalar tuzilishi bir xilda yoki bir-biriga yaqin bo'lgan, lekin aminokislota qoldiqlari turlicha ketma-ketlikda joylashgan ikkita oqsilning xossasi kimyoviy jihatdangina emas, balki biologik jihatdan ham deyarli turlicha bo'ladi. Oqsil molekulasida aminokislota zanjiridagi bittagina aminokislota qoldig'i o'zining almashtirilishi ham ayni oqsil xossasining anchagina o'zgarishiga sabab bo'ladi. Aksari oqsil tarkibiga kiradigan aminokislota qoldiqlarining soni 100 dan kam emas. Ular oqsil tarkibida qat'iy tartibda birin-ketin joylashib, oqsil molekulasining polipeptid zanjirining, ya'ni barqaror birlamchi strukturasi tashkil qiladi. Juda ko'p aminokislotalardan tuzilgan uzun polipeptid zanjirining turli qismlari o'zaro bog'lanishi tufayli oqsil molekulasining yuksak tashkiliy shakllari ikkilamchi, uchlamchi va to'rtlamchi strukturalari hosil bo'ladi. Tirik organizmda oqsil paydo bo'lishi nuklein kislotalari va ko'p sonli maxsus fermentlar ishtirokida o'tadigan murakkab jarayondir.

Odam organizmining oqsilga yo'lchimasligiga quyidagi omillar sabab bo'lishi mumkin:

1. Oqsilning organizmga oziq-ovqatlar bilan yetarli miqdorda kirmasligi
2. Oziqli oqsilning chala hazm bo'lish va yaxshi so'rilmisligi (kuchli ich ketish, dizenteriya, ovqat hazm qilish bezlari funksiyasining buzilishi).
3. Oqsilning organizmda juda kuchli almashinishi, fiziologik holatlarda (homiladorlik), kuyganda, suyak singanda, jarrohlik operatsiyalarda, infeksiyon kasallarda va boshqa sodir bo'ladigan stress holatlarida unga bo'lgan ehtiyojning yuqoriligi.
4. Turli kasalliklarda, masalan nevroz, qon yo'qotish.
5. To'qimalarda, qon zardobida oqsil sintezining buzilishi.
6. Bir qator kasalliklarda (gastrit, yarali kolit) oqsilning ichakdan o'tib yo'qolishi.

Gipofizda ishlanib chiqadigan o'sish gormoni ta'sirida oqsilning hosil bo'lish va sintezlanishi tezlashadi, bu oqsil miqdorining ko'payishiga va organizmning o'sishiga imkon yaratadi. Ovqat bilan me'da-ichak yo'llariga kirgan oqsil ovqat hazm qilish shiralaridagi fermentlar ta'sirida parchalanadi. Oziq-ovqat oqsili aminokislotalagacha parchalanib, ichak orqali qonga o'tadi. Shunday qilib, oziq-

ovqatdagi oqsil o'ziga xos ko'rinishni yo'qotadi, undan hosil bo'lgan aminokislotalardan organizm o'ziga mos-strukturali, fermentli oqsilni vujudga keltiradi. Ba'zi oqsil masalan, gliadinning me'da-ichak yo'lida chala parchalanishi ancha og'ir kasallarga sabab bo'lishi mumkin. Organizmga singimagan oqsil va polipeptidlar ichakda so'rilib, qonga o'tadi va organizmga allergen singari ta'sir etadi. Shuningdek, organizmga ko'proq oqsil kirganida allergik holatni yuzaga keltiradi.

Har- xil tabiatli oqsillarni eruvchanligi bilan fraksiyaga ajratish.

Ishning maqsadi: O'simlik va hayvon oqsillarini eruvchanligi asosida ekstraksiya qilish va ularning tahlili.

Kerakli reaktivlar:

1. Bug'doy va no'xot uni
2. 10% li va to'yingan ammoniy sulfat $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ eritmasi
3. Ammoniy sulfatning maydalangan quruq tuzi
4. 0,2%, 1% va 10% li natriy gidroksidi (NaOH)
5. 0,1 n va 3% li sirka kislotasi eritmasi.
6. Biuret reaktivi
7. Na Cl ni to'yingan eritmasi
8. Quruq NaCl (maydalangan)tuzi
9. 70% li etil spirti eritmasi

Idish va asboblari: Shisha voronkalar, chinni xovoncha, filtr qog'ozi, doka, texnik tarozi, termostat, 100 ml li yassi tagli kolba, pipetkalar, probirkalar, suv hammomi.

Oqsillar.

Oqsillar-hayotda muhim polimerlar hisoblanadi. Ular aminokislotalar qoldig'idan tashkil topgan bo'lib, o'zaro peptid bog'lari bilan bog'langan bo'ladi. Har bir oqsil turi polipeptid bog'idagi (birlamchi oqsil strukturasi) aminokislotalar ketma-ketligi bilan tavsiflanadi. Oqsillar tarkibida azot tutuvchi yuqori molekulyar biologik polimer bo'lib, ular asosan 20 xil aminokislotalardan tashkil topgan. Ularning proteinlarini grekcha "protos" – (birlamchi, muhim) deb atalishi ham bu gramma moddalari birinchi darajali biologik ahamiyatga ega ekanligini ko'rsatadi. Hayot jarayonlarining qariyb barchasi oqsil moddalarga va ularning biologik funksiyasiga bog'liq.

Oqsillar protein va proteidlarga bo'linadi.

Protein – oddiy oqsil

Proteid – murakkab oqsil

Ular barcha tirik organizmlar, bir hujayrali suv o'simliklari va bakteriyalar, ko'p hujayrali hayvonlar hamda odam organizmi, tirik organizmlar bilan jonsiz tabiat chegarasida turuvchi viruslar tarkibining ajralmas qismini tashkil qiladi.

1. Albuminlar. Suvda eruvchi oqsillar bo'lib, qizdirilganda cho'kmaga tushadi. Ular barcha hujayralar tarkibida uchraydigan eng ko'p tarqalgan oqsillardir. Eritma ammoniy sulfatni to'yingan eritmasi bilan to'yintirilganda cho'kmaga tushadi. Bunday oqsillar boshqali, dukkakkilar unidan, sut, go'sht, tuxum, zardob va boshqa biomateriallardan ajratib olinadi.

2. Globulin. Tuzlarning 10% li eritmalarida eriydi, hujayra va to'qimalar tarkibida doim albuminlar bilan birgalikda uchraydi, suvda erimaydi, qizdirilganda koagulyasiyalanadi, suyultirilgan tuz eritmalarida eriydi, tuz konsentratsiyasi ortishi bilan darhol cho'kmaga tushadi.

1. Protaminlar. Oqsillarni eng soddasi bo'lib, ishqoriy oqsillar qatoriga kiradi. Bu oqsillar tarkibida **arginin** va **lizin** miqdori ko'proq (80% gacha) bo'lib, kuchli ishqoriy xossaga ega. Protaminlar suvda eriydi, qizdirilganda cho'kmaydi, lekin boshqa oqsillar ta'sirida cho'kmaga tushadi.

2. Gistonlar. Suvda eriydi, lekin suyultirilgan ammiakda erimaydi. Boshqa oqsillar eritmasi gistonlarni cho'ktiradi. Ular qizdirilganda paydo bo'lgan cho'kmalar suyultirilgan kislotalarda eriydi. Gistonlar kuchsiz ishqor tabiatga ega ekanligi bilan boshqa oqsillardan keskin farq qiladi. Bu xususiyat gistonlar tarkibida diaminomonokarbon aminokislotarining haddan tashqari ko'p ekanligini bildiradi. Ularning izoelektrika nuqtalari ham ishqoriy muhitga to'g'ri keladi.

3. Prolaminlar va gliadinlar. Bular 70-80% li etil spirtida eruvchi oqsillar bo'lib, suvda, tuz eritmalarida va sof spirtlarda erimaydi. Ularning asosiy vakili – **gliadin** bug'doy donining

endospermasida uchraydi. Prolaminlar qatoriga yana arpa tarkibidagi yog‘ va makkajo‘xori doni tarkibidagi **zein** oqsillari kiradi. Ular tarkibida nisbatan ko‘p miqdorda **prolin** aminokislota bo‘ladi.

6. Glyutelin. Bular kuchsiz ishqoriy muhitda eruvchi oqsillar (0,2 % NaOH) bo‘lib, neytral erituvchilarda erimaydi.

Ishning bajarilishi: Bug‘doy unidan suvda eruvchi oqsillarni ajratish.

1g bug‘doy unini chinni hovonchada maydalab 10 ml distillangan suv qo‘shiladi. Hosil bo‘lgan aralashma 2-3 minut davomida tindiriladi va filtdan o‘tkaziladi. Filtr qog‘ozda qolgan un qoldig‘ini 2 marta oz-ozdan distillangan suv qo‘shib yuviladi, buni bug‘doydan globulinlarni ajratish uchun qoldiriladi. Qolgan filtrat albumin oqsillarini eruvchanligini tekshirish uchun ishlatiladi.

Albuminli oqsil fraksiyasi filtratga maydalangan ammoniy sulfat kukunidan qo‘shib, to‘liq to‘yinguncha 40°C dan yuqori bo‘lmagan haroratda qizdiramiz. Tushgan cho‘kmani filtdan o‘tkazamiz. Filtr qog‘ozda qolgan cho‘kmani 1 ml distillangan suvda eritamiz. Hosil bo‘lgan eritmada oqsil bor-yo‘qligini 1 ml biuret reaktivi qo‘shib tekshiramiz.

Bug‘doy unidan tuzda eruvchi oqsillarni ajratish.

Suv bilan yuvilgan un qoldig‘ini (albuminli oqsil fraksiyalarini ajratilgandan so‘ng) chinni hovonchaga 10 ml 10% li NaCl eritmasiga qo‘shib 2-3 min tindiriladi va fitrlanadi.

Filtr qog‘ozda qolgan un qoldig‘ini 2 marotaba yangi tayyorlangan NaCl eritmasi bilan yuvib, keyingi bajariladigan ish uchun olib qo‘yiladi.

Bug‘doy unidan ishqorda eruvchi oqsillarni ajratish.

Filtr qog‘ozda qolgan un qoldig‘i (albumin va globulin oqsil fraksiyalar ajratilgandan so‘ng) chinni hovonchada maydalab 10 ml 0,2% NaOH eritmasi qo‘shib 2-3 min tindirib qo‘yamiz va filtrlaymiz. Olingan filtratga 1 tomchidan 0.1n sirka kislotasi eritmasi qo‘shiladi. Hosil bo‘lgan cho‘kmada glyutelin hosil bo‘ladi.

Bug‘doy unidan spirtida eruvchi oqsillarni ajratish.

1g bug‘doy unini chinni xovonchada maydalab unga 5 ml 70% li etil spirti qo‘shamiz. Hosil bo‘lgan suspenziyani tindirib, so‘ngra filtrlaymiz. Hosil bo‘lgan cho‘kmada prolamin bo‘ladi.

14-LABORATORIYA ISHI

Sut kislotasi bakteriyalarni ajratish

Kerakli jihozlar: mikroskop, buyum oynalari, bakterial ilmoq, qatiq, tuzlangan bodring va karam namakoblari, 1% li fenol eritmasi, GeSh ning 1% li eritmasi, Lyoffler sinbkasi va fuksin bo‘yoqlari.

Sut kislotali bijg‘ish. Insoniyat tajribasida sut kislotali bijg‘ish jarayoni qadimdan qo‘llanilib kelingan bo‘lsada, uning biologik jarayon ekanligini va unda tirik organizmlar qatnashishini faqat 1860 yilda Lui Paster isbotlab berdi. Bu jarayon monosaxaridlar parchalanib, ikki molekula sut kislotasi hosil bo‘lishi bilan xarakterlanadi. Bu reaksiya quyidagicha boradi:



Yuqorida ko‘rsatilgan ekzotermik reaksiya vaqtida hosil bo‘lgan energiya bu jarayonni qo‘zg‘ovchi bakteriyalar tomonidan sarflanadi. Bijg‘ish jarayonida vujudga kelgan sut kislotasi ko‘p bakteriyalar uchun antiseptik modda (zahar) hisoblanadi. Shunga ko‘ra, sutni chirituvchi bakteriyalar ta‘siridan saqlab qolish maqsadida, qatiq va boshqa mahsulotlar tayyorlashda sut kislotali bijg‘ish jarayonidan foydalaniladi.

Sut tarkibida oziq moddalar ko‘p bo‘lganligi sababli unda turli-tuman bakteriyalar ham tobora ko‘payaveradi. Shuning uchun qatiq ivitiladigan bo‘lsa, sut pasterlanadi, ya‘ni yarim soat davomida 70-75 °C gacha isitiladi. U sovutilgandan so‘ng unga sutni bijg‘ituvchi bakteriyalar achitqisi qo‘shib aralastiriladi. Pasterlangan sutdan ivitilgan qatiq juda shirin va qimizak mazali bo‘ladi. Kefir va qimiz tayyorlash ishlari ham sut kislotali bijg‘ish asosida bajariladi. Kefir va qimiz tayyorlashda sut kislotali va spirtli bijg‘ish jarayonlarini qo‘zg‘ovchi tirik mikroorganizmlardan foydalaniladi. Qimiz tarkibida 2% spirt va 1% sut kislotasi bo‘lgani holda, kefir tarkibida ularning har qaysisi 1% ni tashkil qiladi. Qimiz va kefir tarkibida spirt ko‘proq to‘planishini ta‘minlash maqsadida ular past (15°) haroratli joyda saqlanadi. Agar harorat 20 °C dan oshib ketsa, u holda sut kislotasi spirtga nisbatan ko‘p hosil bo‘ladi.

Sut kislotaning ko'p yoki oz to'planishi sut tarkibidagi neytrallovchi moddaga bog'liq. Sut kislotani kazein neytrallaydi. Kazein tarkibidagi kalbsiy elementi sut kislota bilan qo'shib tuz hosil qiladi. Kazein esa erib suzma (tvorog) shaklida pastga cho'kadi. Bijg'iyotgan muhitga oq bo'r qo'shilsa, tuz ko'p (60-70% gacha) to'planadi.

Sut kislotali bijgish jarayonini qo'zg'ovchi bakteriyalar tabiatda keng tarqalgan bo'lib, ular sabzavot tuzlashda va em-xashakni siloslashda ishlatiladi. Yem-xashakni siloslash vaqtida sut kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'ovchi bakteriyalarning faol shtammlari em-xashak orasiga sepiladi.

Sut kislotali bijg'ish jarayonida quyidagi bakteriyalar ishtirok etadi:

1. Streptokokkus laktis (*Streptococcus lactis*) sporasiz tayoqchalardir. Bu bakteriyalar zanjir halqalari shaklida bir-biriga ulanib turadi va 30—38° issiqda yaxshi rivojlanadi. Ular mono va disaxaridlarni osonlik bilan parchalab, 1 % gacha sut kislota hosil qiladi.

2. Laktobakterium bulgarikum (*Lactobacterium bulgaricum*) 15 dan 20 mkm gacha kattalikdagi sporasiz tayoqchalardir. Bu bakteriyalar glyukoza, galaktoza va laktozani bijg'itib, 3,2% gacha sut kislota hosil qiladi. 40-48° haroratda yaxshi rivojlanadi.

3. Bakterium delbryukki (*Bacterium delbriickii*) bolgar tayoqchasiga o'xshaydi. Bu bakteriyalar sanoatda sut kislota hosil qilish uchun ishlatiladi. Ularning oziqlanish muhitiga oq bo'r qo'shilsa, to'plangan sut kislota miqdori 10% ga etib qoladi.

4. Bakterium brassika (*Bacterium brassicae*) va bakterium kukkumeris fermentati (*Bacterium cucumeris fermentate*). Bu bakteriyalarning birinchisi karam, ikkinchisi esa bodring tuzlashda ishtirok etadi.

Bulardan tashqari, tabiatda bakterium koli (*Bacterium coli*) nomli bakteriyalar ham keng tarqalgan bo'lib, ular odam va hayvonlar ichagida yashaydi. Bu bakteriyalar shakarni parchalagan vaqtida sut kislotadan tashqari, sirka kislota, CO₂ va vodorod hosil bo'ladi.

Ishning borishi: Sut kislota hosil bo'lganligini aniqlash uchun Uffelman reaksiyasi o'tkaziladi. Buning uchun probirkaga fenolning 1%li eritmasidan 3 ml quyib, unga bir necha tomchi G'eS eritmasi qo'shilsa, aralashma ko'k rangga kiradi. Shu probirkaga tuzlangan bodring yoki karam namakobi qo'shilgandan keyin eritmaning rangi sarg'aysa, bu hodisa sut kislota borligini ko'rsatadi. Qatiq tarkibida sut kislota borligini aniqlashda ham shu hodisa yuz beradi.

Sut kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'ovchi bakteriyalarni aniqlash uchun tuzlangan bodring va karam namakobidan bakteriyali preparat tayyorlanadi.

Qatiqdan quyidagi usulda preparat tayyorlanadi: oddiy buyum oynasida qatiqdan mazok tayyorlanib, quritiladi. Fiksasiya qilish uchun mazok ustiga 10 tomchi spirt - efir aralashmasi tomizilib, so'ngra 5-10 minut tinch qoldiriladi. Spirt- efir aralashmasi ta'sirida qatiq tarkibidagi yog' zarrachalari yo'qoladi, bakteriyalar esa nobud bo'lib, oynaga yopishib qoladi.

Ma'lum vaqtdan so'ng mazok Lyoffler sinbkasi bilan bo'yaladi va mikroskopda qaraladi.

Mikroskopda qaralganda bu preparatda oval shaklli va bir-biriga zanjir halqalariga o'xshab ulangan streptokokkus laktis hamda uzun tayoqcha shaklidagi bakterium bulgarikum ko'rinadi. Bodring namakobida bakterium kukkumeris fermentati, karam namakobida esa bakterium brassika nomli bakteriyalar mayda tayoqcha shaklida ko'rinadi.

15-LABORATORIYA ISHI

Tuproqdan gidrolitik fermentlar sintelovchi mikroorganizmlarni ajratib olish

Ishdan maqsad: oziq-ovqat mahsulotlarini begona mikroorganizmlar kontamitsiyasi manbai bo'lgan tuproqni mikrobiologik jihatdan o'rganib chiqish.

Tayanch so'z va iboralar: bakteriyalar, viruslar, aktinomitsetlar, achitqilar, zamburug'lar, autotroflar, geterotorf, GPA va kartoshka-glukoza agari, koli-titr, perfingens-titr, termofill bakteriyalar miqdori

Tuproqda mikroorganizmlar juda ko'p miqdorda bo'ladi. Unda yerda uchraydigan barcha shakldagi mikroorganizmlar mavjud: bakteriyalar, viruslar, aktinomitsetlar, achitqilar, zamburug'lar. 1 g tuproqdagi umumiy mikroblar soni 1.0 dan 10 mlrd gacha bo'lishi mumkin. Tuproqning turli qatlamlarida mikroorganizmlar miqdori turlicha. Eng yuqori qatlamida 0.5 sm mikroorganizmlar juda kam. 1-5 sm chuqurlikdan 30-40 sm gacha mikroorganizmlar soni maksimal bo'ladi. 1 g da o'rtacha 10 mln dan 50 mln gacha 30-40 sm dan keyin umumiy mikroblar soni sekin asta kamayadi va chuqurroq qismlarda minimal bo'ladi.

Tuproqning mikroflorasi 2 guruhga bo'linadi:

- 1) Autotrof- mineral moddalar bilan oziqlanadi.
- 2) Geterotrof- organik moddalar bilan oziqlanadi.

Ikkala guruh mikroflora ham tuproqning o'zini-o'zi tozalash jarayonida uning mineralizatsiyasida qatnashadi. Ammo geterotrof mikroorganizmlar guruhida patogen mikroflora mavjud bo'lishi mumkin. Tuproqning ichak tayoqchalari bilan zararlangan inson chiqindilari bilan ifloslanishida o'simliklar dizenteriya, vabo, qorin tifi, salmonellyoz, enteroviruslar qo'zg'atuvchi mikroblar bilan kontaminatsiya qilishi mumkin.

Inson va hayvonlarning ichak infeksiyalari bilan kasallanish darajasi va tuproq sanitar holatining yomonligi orasida bevosita bog'lanish mavjud. Tuproq orqali o'lat gazli gangrene qoqshol va boshqa kasalliklarning qo'zg'atuvchilari tarqalishi mumkin.

Tuproqning sanitar-mikrobiologik tekshiruvda umumiy mikroblar soni, koli-titr, perfingens-titr, nitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalar titri va proteylar termofil bakteriyalar miqdori hisoblanadi. Mikroblar soni tuproqning organik moddalar bilan zararlanganini ifodalaydi. Tuproqda ichak tayoqchalarining mavjudligi uning chiqindilari bilan ifloslanganidan darak beradi.

Tuproqdan namuna olish. Tuproqning yuqori qatlamlarini mikrobiologik tekshirishlarda namunalar 15-20 sm chuqurlikdan olinadi. Bunga yuqoridagi 2 sm qalinlikdagi qatlam olib tashlanadi. Namunalar kichkina temir kurakcha yoki hokandoz bilan steril qog'ozga o'ralgan yorlig'i mavjud bo'lgan og'zi katta bankalarga solinadi. Har bir olingan namuna 200-300 g og'irlikda bo'lishi kerak, aralashgan namuna esa 1 kg daan kam bo'lmasligi kerak.

Tuproqni tekshirishga tayyorlash. Tuproq namunalari katta bo'laklardan ajratiladi, maydalaniladi, steril 3 mm li elakdan o'tkaziladi. Keyin namuna steril qog'ozga solib yaxshilab aralastiriladi va 10 g miqdori tarozida tortiladi. Tarozida tortilgan tuproq 90 sm³ steril vodorod suvi solingan 250 sm³ hajmga ega kolbaga solinadi. 1:10 miqdordagi aralashma olinadi. Bu teksirilayotgan tuproqning 0.1 g miqdoriga mos keladi. Kolba 10 daqiqa davomida silkitilib tuproqning yirik zarrachalari 30 sek davomida joylashadi va tuproqning ifloslanganlik darajasiga qarab 3 tadan 6 tagacha o'n karrali aralashmalar tayyorlanadi.

Tuproqdagi mikroblar sonini aniqlash. Ikkita steril Petri likopchasiga qopqog'ini ozgina ochib q'oyib 1 sm³ dan 10⁻⁴ va 10⁻⁵ miqdorda aralastirilgan tuproq suspenziyasi solinadi va uning ustiga erigan 45⁰ C gacha sovitilgan oziqa agari solinadi. Agar qotganidan keyin likopchalar termostatda 37⁰ C haroratda 24-28 soatga qo'yiladi. Keyin shuncha vaqt davomida xona haroratida saqlanadi. Likopchalarda o'sib chiqqan koloniyalar soni va ekilgan aralashmani hisobga olgan holda tuproqning 1 grammidagi mikroblar soni hisoblanadi.

Tuproqning koli-titrini aniqlash. Ichak tayoqchalari guruhidagi bakteriyalarning mavjudligi tuproqning inson chiqindilari bilan ifloslanganidan darak beradi. Ichak tayoqchasining titri (koli-titr) deb ichak tayoqchalari topilgan tuproqning eng kichik miqdoriga aytiladi. Bir gramm tuproqdagi ichak tayoqchalarining miqdori koli-titr deyiladi.

Koli titrni aniqlash uchun 1 sm³ eritilgan tuproq suspenziyasining 10⁻¹ dan 10⁻⁵ miqdorini Kessler muhiti solingan va poplavoklari bor bo'lgan probirkalarga ekiladi. Ekilgan namunalar termostatda 37⁰ C haroratda 18-24 soat davomida ushlanadi. Shundan so'ng poplavoklarda gazning yig'ilganligi aniqlanadi.