

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA MAXSUS
TA‘LIM VAZIRLIGI**

**ABU RAYHON BERUNIY NOMIDAGI
TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI**

SANOAT MIKROBIOLOGIYASI

fanidan amaliy mashg‘ulotlarni bajarish uchun

USLUBIY KO‘RSATMA

Toshkent 2016

“Sanoat mikrobiologiyasi” fanidan amaliy mashg‘ulotlarni bajarish uchun uslubiy ko‘rsatma / M.E. Sattarov – Toshkent.: ToshDTU, 2016.
– 76 b.

“Sanoat mikrobiologiyasi” fanidan amaliy mashg‘ulotlarni bajarish uchun tayyorlangan ushbu uslubiy ko‘rsatma 5320500 –biotexnologiya (biofaol moddalar biotexnologiyasi) yo‘nalishi bo‘yicha tahsil olayotgan talabalar uchun mo‘ljallangan.

Abu Rayhon Beruniy nomidagi Toshkent davlat texnika universiteti ilmiy-uslubiy kengashining qaroriga muvofiq chop etildi.

Taqrizchilar:

Bekmuxamedova N.K. – O‘zR FA Mikrobiologiya instituti ilmiy kotibi, biologiya fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim.

Nazarov K.K. – Toshkent Davlat texnika universiteti “Qishloq xo‘jaligi texnikasi va servisi” kafedrası katta o‘qituvchisi, biologiya fanlari nomzodi.

1 – amaliy mashg‘ulot

Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalar

Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlayotganda xavfsizlik texnikasi va qoidalariga rioya qilinishi lozim. Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida faqat oq xalat, shapkacha yoki durrachada ishlash talab etiladi. Laboratoriyaga begona buyumlarni olib kelishga ruxsat etilmaydi. Ish joyida ortiqcha narsa bo‘lmasligi kerak. Faqat bitta joyda ishlash, o‘ziga birkirilgan asbob-uskunalaridan foydalanish va barcha narsalarni belgilangan joylarga qo‘yish lozim. Ichida mikroorganizmlar kulturasini bo‘lgan kolba va probirkaga siyoh bilan aniq qilib yozilishi, reaktivlar va aralashmalar solingan idishlarga esa yorliqlar yopishtirilishi kerak. Spirtovkalar bilan ishlayotganda spirt bug‘larining alangalanib ketishidan ehtiyot bo‘lish lozim. Spirtovkani yonib turgan boshqa spirtovkada yondirish mumkin emas. Spirtovkani faqat maxsus qalpoqchalar bilangina o‘chirish kerak. Paxtali tiqinlar yona boshlaganda ularni puflab o‘chirishga harakat qilmaslik kerak. Bu yonishni kuchaytiradi, xolos. Yonayotgan tiqinni probirkaga, kolbaga tiqish yoki ustiga mato yopish kerak. Ishni boshlashdan oldin va ish tugagach, tadqiqot o‘tkazilayotgan stol usti yuviladi hamda dezinfeksiya qilinadi. Mikroorganizmassasi qo‘l, stol va atrofdagi narsalarni ifloslantirmasligi zarur. Ilmoqlar, ninalar va pinsetlarni mikroorganizmlarga tekkandan so‘ng spirtovka yoki gaz gorelkasida kuydirish va maxsus shtativga qo‘yish kerak. To‘kilib ketgan mikroorganizmassasi dezinfeksiya vositalari yordamida zararsizlantiriladi. Ish tugagandan keyin mikroblar bilan ifloslangan idishlarni qaynatish yoki avtoklav yo‘li bilan sterillab, tirik hujayralarni o‘ldirish kerak. Shundan keyingina idishlarni yuvish mumkin. Mikroblar qattiq muhitning yuzasiga dezinfeksiya eritmasi quyiladi. Bir sutka o‘tgandan so‘ng muhitni tashlab yuborish, idishni yuvish mumkin. Ishlatilgan pipetkalar 3% li xloramin eritmasiga solib qo‘yiladi va shundan keyingina ular yuviladi va sterillanadi. Buyum va qoplama shishalar ham ish tugagandan so‘ng dezinfeksiya aralashmasiga solib qo‘yiladi va keyin oqar suvda yaxshilab yuviladi. Idishlarni faqat rezina qo‘lqoplar yordamida yuvish

lozim. Mikroorganizmlar bilan pala-partish ishlash natijasida havoda mikrob aerosoli hosil bo'lishi mumkin.

Bakteriotsid chiroqlar bilan ishlayotganda oddiy himoya ko'zoynaklari taqib olish kerak. Chiroq nuriga himoyasiz ko'z bilan qarash mumkin emas. Bu ko'rish qobiliyatining yo'qolishiga olib kelishi mumkin. Yuqori bosim kuchlanish ostida yoki yuqori haroratda ishlaydigan apparatlar bilan ishlayotganda xavfsizlik qoidalariga qat'iy rioya qilinishi talab etiladi. Laboratoriyada chekish, ovqatlanish, suv ichish, ko'p yurish ruxsat etilmaydi. Mikrob kulturalarini laboratoriya xonasidan chetga olib chiqish qat'iy man etiladi. Mashg'ulot tugagandan so'ng ish joyi va uskunalarni tartibga keltirish lozim. Kimyoviy reaktivlar bilan ishlash qoidalariga rioya qilish kerak. Shaxsiy gigiena qoidalariga ham qat'iy rioya qilish lozim. Ish tugagandan so'ng va ovqatlanishdan oldin qo'llarni dezinfeksiya qilish va sovun bilan yaxshilab yuvish kerak. Talabalar va laboratoriya xodimlari instruktaj o'tkazilganligi va laboratoriyada ishlash tartibi bilan tanishtirilganligi to'g'risida maxsus jurnalda qayd qilinadi.

Nazorat savollari:

1. Laboratoriya xonasiga qo'yilgan talablarni sanab bering?
2. Ishni boshlashdan oldin nimalarga e'tibor berish kerak?
3. Himoya ko'zoynaklari nima uchun kerak bo'ladi?
4. Laboratoriya xonasida nimalar ta'qiqlanadi?

2 – amaliy mashg'ulot

Ishlab chiqarish jarayonida sanitariya-gigiena qoidalaridan foydalanish me'yorlari va usullari

Ishdan maqsad: Oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish korxonalarini mikrobiologik nazorat qilish bo'yicha sanitariya-gigiena talab va me'yorlarini o'rganish.

Apparatlar va asbob-uskuna (jihoz)lar yuvilgandan, dezinfeksiyalangandan, bug'latilgandan keyin ish boshlashdan oldin

tezda nazorat qilinadi. Bunda 1 ml yuvindi suvdagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlash maqsadida ajratib olingan namuna ekiladi. Pivo pishirish, sut-qatiq, non pishirish, alkogolsiz ichimliklar, qandolat mahsulotlari tayyorlash, achitqi ishlab chiqarish korxonalaridagi idishlar yuvilgan suvda ichak tayoqchalari bor-yo'qligi aniqlanadi. Buning uchun sterillangan paxta yoki doka tampon, sterillangan 10 ml suv (yoki fiziologik eritma) quyilgan probirkalar va sterillangan pinset tayyorlanadi.

Tamponlarni yog'och o'qqa mahkamlab, har birining ichida 10 ml suv bo'lgan probirkalarga bittadan tushirib, 20-30 minut davomida 0,1 MPa da sterillash kerak.

Katta hajmdagi uskunalardan va apparatlardan namuna olishda o'rtasi o'yiq zanglamaydigan metall trafaretlardan foydalaniladi (o'yig'i 10, 25 yoki 100 sm² teng bo'ladi). Namuna olishdan ilgari trafaretni spirtida ho'llab, qizdiriladi va tekshiriladigan yuzaga qo'yiladi.

Cheklangan maydon ho'l tampon bilan yuviladi, shundan keyin tamponni shu probirkaga solinadi, qolgan suv yoki fiziologik eritmani ham quyib yaxshilab aralashtiriladi. Yuvilgan suvdan 1 ml olib, GPAg ekiladi. 37°C issiqda 48 soat termostatda saqlangandan keyin mikroorganizmlarning umumiy soni aniqlanadi. Suvni maxsus muhitlarga ekib, shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalarni (leykonostokni) aniqlash ham mumkin.

Qolgan suvni tamponi bilan birga naychali va 5 ml Kessler muhiti quyilgan probirkalarga ekib, 42-43°C issiqda termostatda 12 soat saqlanadi. Yaxshilab yuvilgan apparatlarda mikroorganizmlarning umumiy miqdori va ichak tayoqchasi titri ularning yuviladigan, toza suvdagi miqdoridan oshmasligi kerak. Shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar soni 1 ml da 5 tadan oshmasligi kerak.

Quvurlar, ularning tarmoqlari, shlanglar, ba'zi apparatlarning ichki yuzasidan trafaretlarda yuvilgan suv olish qiyin. Bunday hollarda preparatlarni mikroskopda ko'rish va yuvilgan oxirgi suvni ekish yo'li bilan maqsadga erishiladi.

Sterillangan idishga tekshirilayotgan ob'yektdan chiqayotgan suvdan namuna olinadi. Shundan 10 ml olib, 1500-2000 ob/min da 10

minut sentrifugalanadi. Keyin sentrifugani to‘kib, cho‘kma mikroskopda ko‘riladi. 10 ta ko‘rish maydonida ko‘pi bilan 5-6 ta hujayra bo‘lishi kerak. Har bir ko‘rish maydonida mikroorganizmlar bo‘lishi asbob-apparatlar yetarlicha yuvilmaganligini bildiradi.

Mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun GPAGA ekiladi. Membrana filtrlar yoki bijg‘ituvchi namunalar yordamida kolitriti aniqlanadi. Idishlar yuvilgan suvdagi mikroorganizmlarning umumiy miqdori va kolitriti korxonada ishlatiladigan suvning ko‘rsatkichlaridan farq qilmasligi kerak.

Idishlar va har xil boshqa buyumlarni nazorat qilish

Shisha idish. Har qaysi yuvish mashinasidan yuvilgan 5-10 ta butilka ajratib olib, og‘zi sterillangan paxta tiqin bilan berkitiladi.

Laboratoriyada ularni 100 ml sterillangan suv (yoki fiziologik eritma) bilan chayiladi. Bunda chayilgan suyuqlik ketma-ket bir butilkadan ikkinchisiga quyilaveradi. Mikroorganizmlar, shilimshiq hosil qiluvchi bakteriyalar miqdorini va kolitritini aniqlash maqsadida oxirgi butilkadagi suvdan ekiladi. Bitta butilkaga aylantirib hisoblaganda, mikroorganizmlarning umumiy miqdori 300 tadan oshmasligi, 1 ml yuvilgan suvda butilkalar yuviladigan toza suvdagidan ko‘p bo‘lmasligi; shilimshiq bakteriyalar bo‘lmasligi; kolitriti kamida 100 bo‘lishi kerak.

Bochkalar, bidonlar, sisternalar. Oxirgi yuvilgan suv namunasini sentrifugalangandan keyin cho‘kmani mikroskopda ko‘rib yoki uni quyuq oziq muhitiga ekib, idishlarning yuvilishi sifatini aniqlash mumkin. Bunda mikroorganizmlarning umumiy soni va kolitriti korxonada ishlatiladigan suvnikidan uncha farq qilmasligi kerak.

Shkantlar, tiqinlar, kronen-tiqinlar. Namuna uchun 300-500 ml suv olinadi. Ishlash vaqtida unda tiqinlar, shkantlar bo‘lgan bo‘lishi kerak. Mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun GPAGA yoki suslo-agarga ekiladi. Membrana filtr orqali o‘tkazib, ichak tayoqchasi guruhiga mansub bakteriyalar bor-yo‘qligi aniqlanadi.

Mikroorganizmlarning va ichak tayoqchalarining umumiy miqdori korxonaga oqib keladigan – ishlatishdan oldingi suvdagi bilan bir xil bo‘lishi kerak. Kronen tiqindan 10 donasini pinsetda olib, 100 ml

sterillangan suv quyilgan sterillangan likopchaga qo'yiladi va 5 minut davomida silkitiladi. Keyin suvdan olib mikroorganizmlarning umumiy miqdori va koli-titri aniqlanadi.

Sex jihozlari. Sex jihozlarining yuvilishiga baho berish uchun ular ishga tayyorlangan vaqtda namuna olinadi. Mayda jihozlardan (aralashtirgich, namuna oladigan idish, termometr, pichoq, shprits va hokazolardan) sterillangan tamponda butun yuzasidan surtma (mazok) olib, mikroorganizmlarning umumiy miqdori tekshiriladi, shuningdek, ichak tayoqchalari bor-yo'qligini aniqlash uchun Kessler muhitiga ekiladi. Stol, tokcha, lotok, chelak, belkurak va hokazolardan ham sterillangan tamponda surtma olib (qizdirilgan trafaret yordamida), yuqoridagi kabi tahlil (analiz) qilinadi. Ishlab chiqarish binolarining devori, polining tozaligi quyidagicha olingan namunalarni mikroskopda ko'rib nazorat qilinadi: iflos yuzadan ozgina qirqib olib, sterillangan suvli probirkaga solinadi va yaxshilab chayqatiladi. Keyin undan preparat tayyorlab bo'yamasdan yoki metilen ko'ki bilan bo'yab mikroskopda qaraladi. Mikroorganizmlar miqdorini aniqlash uchun trafaretdan va ho'llangan paxta tampondan foydalaniladi; keyin Petri likopchasidagi qattiq muhitga ekiladi.

Qo'llarning tozaligi mahsulot yoki toza asbob-jihozlar bilan bevosita munosabatda bo'ladigan ishlarda ish jarayoni boshlanishi oldidan nazorat qilinadi. Oldindan ogohlantirmay turib nazorat qilinadi. Buning uchun yog'och o'qqa mahkamlangan sterillangan tamponni sterillangan suv (yoki fiziologik eritma) bilan ho'llab (namlab), ikkala qo'lning kafti, usti (orqa yuzasi), tirnoqlar orasi va barmoqlar orasi artiladi. Keyin tamponni o'zi namlangan probirkaga solib, yaxshilab chayqatiladi va 1 ml olib, 1:10 va 1:100 nisbatda suv qo'shiladi. Uning 1 ml dagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini aniqlash uchun suvdan GPAGA ekiladi va termostatda 37°C da 48 soat saqlanadi. Suvning qoldig'i tampon bilan birga 5 ml Kessler muhiti bo'lgan probirkalarga solinadi va 43°C da 24 soat o'stiriladi. Keyin bijg'ituvchi namunalar yordamida ichak tayoqchalari bor-yo'qligi aniqlanadi. Qo'llarning tozaligiga 1 ml yuvilgan suvdagi mikroorganizmlar

miqdoriga qarab baho beriladi. Bunda ichak tayoqchalari bo'lmashligi kerak.

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

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

Nazorat savollari

1. Ishlab chiqarish jarayonida sanitariya-gigiena qoidalari nimalardan iborat?
2. Idishlar va har xil boshqa buyumlarni qanday nazorat qilish mumkun?
3. Mayda jihozlarni sanab bering.
4. Mikroorganizmlarning sonini aniqlash uchun nimalardan foydalaniladi?

3 – amaliy mashg'ulot

Mikroorganizmlarni o'stirish uchun oziq muhitlari tayyorlash usullari

Ishdan maqsad: Mikroorganizmlarni o'stirish uchun qo'llaniladigan oziq muhitlari tarkibini o'rganish hamda oziq muhitini tayyorlash usullarini o'zlashtirishdan iborat.

1. Oziq muhitlarning turlari va ularning tarkibi

Oziq muhitlarning tarkibiga organogen elementlar (C, O, H, N), kulli makroelementlar (Mg, Ca, P, S, K, Fe), ba'zi mikroelementlar (Mn,

Cu, Na, Cl, Zn, Mo va boshqalar) kiradi. Ular mikroorganizmlar oson o'zlashtiradigan shaklda bo'lishi kerak. Uglerodni ko'pincha glyukoza, saxaroza, spirtlar, organik kislotalar va boshqa birikmalar shaklida mikroorganizmlar yaxshi o'zlashtiradilar. Azot manbai sifatida oksil moddalar, peptonlar, aminokislotalar, ammoniy tuzlari, nitratlar bo'lishi mumkin. O'stiruvchi moddalar sifatida achitqi ekstraktlari yoki achitqi avtolizatlari, ba'zan vitaminlar, aminokislotalar, purin va pirimidin asoslarining eritmalari qo'shiladi.

Tarkibi bo'yicha oziq muhitlari 2 turga: tabiiy (natural) va sun'iy (sintetik)ga bo'linadi.

Tarbiy muhitlar o'simlik va hayvon mahsulotlaridan tashkil topib, murakkab va o'zgaruvchan tarkibli bo'ladi. Ularni mikroorganizmlarni o'stirish, biomassasini oshirish, toza kulturalarni saqlash va mikroorganizmlarni aniqlash maqsadida qo'llanadi. Tabiiy oziq muhitlaridan ko'pincha go'sht-peptonli bulyon (GPB), xmel (qulmoq) qo'shilmagan pivo shirasi (suslo), achitqili suv, karamli muhit va boshqalar qo'llanadi.

Sintetik oziq muhitlar tarkibida ma'lum organik va anorganik birikmalar aniq konsentratsiyalarda bo'ladi. Sintetik oziq muhitlarni mikroorganizmlarning modda almashinuvini, o'sish qonuniyatini aniqlash uchun yoki biror metabolitning sintezini o'rganish h.k. 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 oziq muhitlari universal, elektiv va differensial aniqlovchilarga bo'linadi. Universal (yoki asosiy, standart) oziqlarga ko'p turdagi mikroorganizmlar o'sishi uchun qulay oziq muhitlari kiradi: go'sht-peptonli bulyon, xmel qo'shilmagan pivo shirasi va boshqalar. Elektiv yoki tanlab oluvchi muhitlar faqatgina ma'lum mikroorganizmlarni yoki bir biriga yaqin turlar guruhlarining o'sishini ta'minlaydi, boshqalari esa bu muhitda o'smaydi. Differensial – aniqlovchi yoki indikator muhitlar mikroorganizmlarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganib, ularning toza kulturasini indentifikatsiyalash (aniqlash) uchun qo'llanadi.

Konsistensiyasi bo'yicha muhitlar suyuq, qattiq va sochiluvchan bo'ladi. Suyuq oziq muhitini mikroorganizmlarning biomasasini va modda almashinuv mahsulotlarini to'plash uchun, hujayralarni faol holda saqlab turish va ularning fiziologik-biokimyo xususiyatlarini o'rganish uchun qo'llaniladi. Qattiq oziq muhiti mikroorganizmlarning toza kulturasini ajratib olish, alohida joylashgan koloniyalarni olib ularning o'rganish, turli substratlarning mikroflorasini aniqlash, hujayralar sonini hisoblash, muzeylarda toza kulturalarni saqlash va ularni zavodlarga yuborish va hokazo uchun ishlatiladi.

Sochiluvchan muhitlar (kepak, eziltirib pishirilgan donlar, lavlagi turpi, kunjara, tuproq) turli mikroorganizmlarni va ularni sporalarini saqlash va ekiladigan materiallarni tayyorlash uchun qo'llaniladi. Qattiq oziq muhitlarni olish uchun agar va jelatin qo'llanadi. Agar – murakkab polisaxarid. Uni dengiz suvi o'tlaridan ajratib olinadi. Tayyor agar och sariq rangli kukun, plastinka yoki poyastmon shakldadir. Suvda shishib, yumshab 100°C eriydigan gel hosil qiladi va 40°C da qotadi. Muhitni qotirish uchun 1,5-3% gacha agar qo'shilladi, yarimsuyuq muhit tayyorlashda 0,15-0,7%. Jelatin hayvon suyaklari, emirchaklari va paylarini qaynatib olinadigan oqsildir. Jelatin konsentratsiyasiga qarab (5-15%) 22-26,5°C da eriydi. Jelatinli muhitlarni, achitqilarni indentifikatsiyalashda yirik koloniyalarni olish uchun qo'llanadi.

Asosiy elementlar manbasi

Ko'pchilik mikroorganizmlar uglerod manbasi sifatida organik moddalarni assimilyatsiya qiladi. Mikroorganizmlar foydalanadigan uglerod manbalariga bog'liq bo'lmagan holda, genetik apparati fiziologik va turlararo o'ziga xos xususiyatni, muvofiq holda o'zining biopolimerlar tarkibini tuzadi.

Mikroorganizmlar hujayrasida uglerod saqlashi o'rtacha 50% ni tashkil etadi, shuning uchun oziq muhiti tarkibiga kiruvchi moddalar orasida uglerod manbalari asosiy o'rinni egallaydi. Turli xil mikroorganizm turlari uglerodni har xil uglerod manbalaridan o'zlashtiradilar. Avtotrof mikroorganizmlar yagona uglerod manbai sifatida uglerod ikki oksididan foydalanadi.

Geterotrof mikroorganizmlar uchun uglerod manbai sifatida turli xil organik birikmalar: uglevodlar, spirtlar, organik kislotalar, lipidlar, uglevodorodlar va boshqa uglerod saqlovchi mahsulotlar xizmat qilishi mumkin. Mikroorganizmlarda azot elementi uglerodga yaqinroq bo'lib, uning hajmiga nisbatan kamroq bo'ladi. Elementlarning tahlili shuni ko'rsatadiki, mikroorganizmlar tarkibida azot uglerodga nisbatan 5-6 marta kamroq bo'ladi. Mikroorganizmlar o'zlashtirgan uglerodini energetik maqsadlarda sarflaydi. Shuning uchun mikroorganizmlar oziq muhiti tarkibida azotga nisbatan uglerod manbalarini ko'proq saqlashi lozim.

Mikroorganizmlar azotni o'zlashtirganda asosiy qismi hujayrada qoladi, shunda o'zlashtirilgan uglerodning kamchilik qismigina hujayrada ushlab qolinadi. Ko'pchilik mikroorganizm-produtsentlar uchun azot manbalari murakkab organik, shuningdek, murakkab noorganik azot saqlovchi mahsulotlar hisoblanadi. Erkin azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar guruhi chegaralangan bo'lib, ular azotfiksatorlar deb ataladi. Hattoki oziq muhitida azotning tanqisligi hujayrada oqsil va aminokislotalar kamayishi hisobiga lipidlar saqlashining oshishiga va yog' miqdorining ortishiga olib keladi. Shuning uchun ishlab chiqarish sanoatida, boyitilgan ozuqa achitqisi olish uchun doimo oziq muhitida azot yetishmasligining oldini olishga alohida e'tibor beriladi.

Oziq muhitida fosfor eng zarur element hisoblanadi. U hujayra energetik almashinuvining mo'tadillashuvini ta'minlaydi, shuningdek, biosintetik jarayonlarda (oqsil va nuklein kislotalar sintezi, glikoliz) bosh omil hisoblanadi.

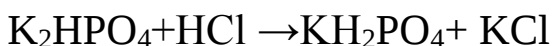
Mikroorganizm hujayralarining o'sish tezligi fosfor saqlovchi oziq muhitidagi fosfor miqdoriga bog'liq bo'ladi. Shuningdek, kulturalarning o'sish tezligi mikroorganizm hujayrasida saqlanadigan fosfor miqdoriga ham bog'liq bo'ladi. Mikroorganizmlar fiziologiyasida fosfor kislotalarining roli hamisha turli tumandir. Oziq muhitida fosfor kislotalari bufer yoki vodorod ionlari miqdorini boshqaruvchi rolini bajaradi, bu kichik buferli sig'imga namoyon qilgan oziqlarda juda zarur hisoblanadi (gidrolizatorlar). Oziq muhitida oksidlanish-qaytarilish

potensialini teskariga aylantiruvchi qobiliyatni fosfor kislota bajaradi va natijada teskari reaksiya ketadi:



Bu tizim fosfatli bufer deb ataladi.

Fosfatli bufer, KH_2PO_4 (kuchsiz asosli tuz) va K_2HPO_4 (kuchsiz kislotali tuz) aralashmasidan iborat bo'ladi. Agarda eritmada tuz ekvimolekulyar miqdorda saqlansa unda bunday eritma neytralga yaqinroq bo'ladi ($\text{pH}=6,8$). Eritmaga ko'p bo'lmagan miqdorda kuchli kislota qo'shilsa, kuchsiz asosli tuz kuchsiz kislotaliga aylanadi:



kuchli asoslar qo'shilganda esa teskari jarayon amalga oshadi:



Shunday qilib, eritma bufer singari ta'sir qiladi va ba'zi hollarda ozuqada kislotalar yoki kuchli pH muhitining kuchli o'zgarishi hosil bo'ladi.

Vitaminlar, makro va mikroelementlar manbalari

Mikroorganizmlar hujayrasida moddalar almashinishi vitaminlar, makro va mikroelementlarsiz amalga oshmaydi. Mikroorganizmlar vitaminlarga bo'lgan talabiga ko'ra ikki guruhga bo'linadi: Auksoavtotroflar – vitamin sintezlovchilar, bular oziq muhitida vitaminlar bo'lishini talab qilmaydi.

Auksoeterotroflar – vitaminlarni sintez qilmaydilar va oziq muhitiga vitaminlar qo'shilishiga muhtoj bo'ladilar.

Mikrobiologik ishlab chiqarishda ko'pchilik mikroorganizm-produtsentlar auksoeterotroflarga ta'luqlidir. Ularning barchasi deyarli tiamin, nikotin kislota, pantoten kislota, piridoksin, inozit va biotinlardan tashkil topgan B guruh vitaminlari kompleksiga talabchan bo'ladi. Mikroorganizmlarda ko'pincha biotinga tanqislik holati uchrab turadi. Mikroorganizmlarning vitaminlarga bo'lgan talabi har bir shtamm uchun tajribalar orqali aniqlanadi. Oziqda vitaminlar miqdori hamisha juda kam miqdorda bo'ladi (1 l oziqda mg ning mingdan bir ulushi). Vitaminlar xom ashyo tarkibida bo'lishi yoki alohida solinishi mumkin.

Mikroorganizmlarda moddalar almashinishini ta'minlaydigan hujayraning nafas olish jarayoni, oksidlanish-qaytarilish reaksiyasi va boshqa jarayonlarini faollashtiradigan fermentlar faol markazi tarkibiga kiruvchi makro va mikroelementlar oziq muhiti tarkibida albatta bo'lishi shart.

Mikroorganizmlar o'sishi va rivojlanishiga bir qadar ta'sir etuvchilarga temir ionlari, simob, marganes, rux, bor, molibden, kobolt va qator elementlar kiradi. Odatda mikroorganizmlar bu elementlarni mikrome'yorda talab qiladi, bu haqda mikroorganizmlar miqdoriy tarkibi ham guvohlik berib turibdi. Ushbu elementlarning miqdori oshib ketishi mikroorganizmlar o'sib rivojlanishida chegaralovchi-to'xtatuvchi ta'sir ko'rsatadi. Shunday qilib, mikroorganizmlarning mo'tadil o'sib rivojlanishi uchun oziq muhitida uglerod, azot, fosfor, vitamin, makro va mikroelementlar miqdori, aniq pH darajasi hamda oksidlanish-qaytarilish reaksiyasi potentsiali bo'lishi zarur. Har bir mikroorganizm uchun mo'tadil oziq muhiti uzoq vaqt, ko'p bosqichli tajribalar olib borish yo'li bilan tanlanadi. Keyingi vaqtlarda mo'tadil oziq muhiti tanlash uchun matematik modellash va oziq komponentlari nisbatini hisoblash usullari qo'llanilmoqda.

Oziq muhiti tayyorlash uchun xom ashyo mahsulotlari

Mikrobiologik ishlab chiqarishda oziq muhiti tayyorlash uchun turli xil mahsulotlar (mineral, o'simlik va hayvonlar ishlab chiqargan) va kimyoviy yo'llar bilan olingan sintetik ko'rinishidagi mahsulotlar qo'llaniladi. Bu mahsulotlar (ular xom ashyo deb ataladi)dan oziq muhiti tarkibi tashkil etiladi, unda turli xil zararli aralashmalar bo'lmasligi, ishlatilishi qulay hamda tannarxi qimmat bo'lmasligi zarur. Barcha turdagi xom ashyolar davlat standarti talablariga mos kelishi shart. Murakkab tabiiy mahsulotlar yoki ishlab chiqarishning qoldiq mahsulot xom ashyolari, oziq muhiti sifatida foydalanilishidan oldin qat'iy ravishda biokimyoviy tekshirishlardan o'tkazilishi lozim. Asosiy xom ashyo turlari bilan tanishib chiqamiz.

Suv

Oziq muhiti tayyorlash uchun suvlar vodoprovod, artezian yoki ochiq suv havzalaridan olinib, qayta ishlangandan so'nggina

foydalaniladi. Suv biologik toza, rangsiz, hidsiz va qoldiqlarsiz bo'lishi lozim. Suvning quruq qoldig'i 1000 mg/l dan, umumiy qattiqligi esa 7 mg-ekv/l dan oshmasligi kerak. Suvning o'ta darajada qattiqligi mikroorganizmlar o'sishini sekinlashtiradi. Suvning tarkibidagi zararli aralashmalar quyida keltirilgan ko'rsatkichlardan oshmasligi lozim, mg/l:

Qo'rg'oshin 0,1

Mishyak 0,05

Ftor 1,5

Rux 5,0

Mis 3,0

Mikroorganizmlarning umumiy soni 1 ml suvda 100 dan oshmasligi shart. Mikrobiologik ishlab chiqarishda suvdan nafaqat oziq muhiti tayyorlashda, balki sovitish va uskunalarni yuvish uchun ham foydalaniladi. Mikrobiologik ishlab chiqarish katta miqdordagi toza suvni talab qiladi. Masalan, non mahsulotlari achitqilari ishlab chiqarishda 1 tonna achitqi olish uchun 150–180 m³ suv sarflanadi.

Uglerod manbalari

Geterotrof mikroorganizmlar uglerod va energiya manbalari sifatida turli xil uglerod saqlovchi birikmalardan foydalanish qobiliyatiga egadirlar. Biroq har bir mikroorganizm turi substratga, ayniqsa birinchi navbatda uglerodga tanlash xususiyati bilan yondashadi. Har bir mikroorganizm turlarining alohida xususiyati, ularning uglerod saqlovchi aralashmadan uglerod saqlovchi molekulalar ketma ketligiga ko'ra assimilyatsiya qilishiga ko'ra xarakterlanadi.

Mikroorganizmlar hujayrasi aniq bir moddalar assimilyatsiyasida ishtirok etuvchi fermentlarni sintez qiladi va shunda assimilyatsiya bo'ladigan uglerod manbalari ular ishtirokida yengil assimilyatsiyalanadi. Mikrobiologik ishlab chiqarishda qadimdan foydalanib kelinadigan va xarakterli uglerodlar manbasi xom ashyosi uglevodlar hisoblanadi. Ularni mikroorganizmlar hujayra strukturaviy tuzilishi sintezi uchun foydalanadi va shu bilan bir vaqtda ular energiya manbai sifatida ham xizmat qiladi. Mikroorganizmlar uchun energiya manbai sifatida uglevodlardan eng qulayi glyukoza hisoblanadi, ammo

ular asosida metabolitlar ishlab chiqarishda foydalanish mahsulotning tannarxini oshirib yuboradi. Ko'p tonnali mikrobiologik ishlab chiqarish uchun boshqa bir qadar arzonroq bo'lgan uglevod saqllovchi manbalardan qishloq xo'jaligi, qog'oz-sellyulozali va oziq-ovqat ishlab chiqarishning turli xil qoldiqlaridan foydalaniladi. Bunda uglerod saqllovchi manbalar orasida asosiy o'rinni yog'ochsozlik mahsulotlari egallaydi.

Glyukoza ($C_6H_{12}O_6$) – kristall holda 9% dan ortiq suv saqlamaydi, kul – 0,07% dan ortiq bo'lmaydi (shundan temir 0,004% gacha bo'ladi). Quruq mahsulotlarda 99,5% dan kam bo'lmagan redutsirlovchi modda bo'lishi zarur.

Saxaroza $C_{12}H_{22}O_{11}$ (lavlagi qandi, shakarqamish) – texnik holatida 99,75% dan kam bo'lmagan saxaroza va 0,03% dan ko'p bo'lmagan kul saqlaydi. Namligi 0,15% gacha bo'ladi.

Laktoza $C_{12}H_{22}O_{11}$ (sut shakari) – sut zardobidan olinadi. Yog'va pishloq tayyorlashda qoldiq mahsulot hisoblanadi. Shakarlar miqdori 50% quyiltirilganda va kristallizatsiyalanganda laktozalar konsentrati olinadi. Laktozali-shakar xom ashyolari 92% shakar, 3% suv, 2% kul va 1% dan kam bo'lmagan miqdorda sut kislotalari saqlaydi. Oqsillar miqdori aniq tavsiya qilinmagan, ammo ular 3% dan ortiq bo'lmaydi.

Kraxmal $C_6H_{10}O_5$ – o'zida polisaxaridlar aralashmasini namoyon qilib, o'simliklarda don ko'rinishida bo'ladi (o'simliklarning zahira uglevodlari). Sanoat asosida kartoshka va makkajo'xoridan olinadi. Mikroorganizmlar fermentlari ta'sirida kraxmal glyukozagacha gidrolizlanadi. Kraxmalda kul saqlashi navga bog'liq holda (oliy I, II, III) 0,35-1,2% gacha o'zgarib turadi.

Gidrol – kraxmal qiyomi ishlab chiqarishning standart bo'lmagan mahsuloti hisoblanadi. O'zida hidli quyuq qoramtir sharbatni mujassamlashtiradi. Quruq modda hisobida 70% atrofida redutsirlovchi mahsulot, shuningdek, texnik mahsulotlari 50% gacha shakar saqlaydi. Hidrol shakarlari asosan glyukozadan iborat. Glyukozadan tashqari, quruq modda mahsuloti massasiga nisbatan 18% o'zlashtirilmaydigan shakarlar saqlaydi. Shuningdek, o'zida parchalanmagan kraxmal va

glyukoza polimerizatsiyasini namoyon etadi. Hidrolning boshqa uglevodlari to'liq identifikatsiya qilinmagan. Kraxmal gidrolizida uglevodlardan tashqari ba'zi bir organik kislotalar miqdorini ham hosil qiladi. Hidrol pH ko'rsatkichi (faol kislotalik) taxminan 4,0 ga teng, kul 6% dan ko'proq bo'ladi. Kullarning asosiy qismini – natriy xlorid, fosfor, magniy, temir tashkil etib, boshqa elementlar gidrolda minimal miqdorda bo'ladi.

Melassa – shakar ishlab chiqarishda, shakarning ikkinchi kristallizatsiyalanishidan qolgan standart bo'lmagan qoldiq mahsulotdir. Rangi – qoramtir jigarrangda bo'lib, zichligi 1,35-1,40 g/sm³ ni tashkil etadi. Melassa 61-68% quruq mahsulot, 40-55% saxarozalar saqlaydi. Bundan tashqari, unda 0,5-2,0% invertli shakar va 0,5-2,5% rafinozalar mavjud. Shuningdek, melassa mikroorganizmlar foydalana olmaydigan uchinchi qismi betayin shaklda bo'lgan 1,1-1,5% azot saqlaydi. Melassa tarkibidan ko'pgina aminokislotalar (asparagin, glutamin kislotalar, leytsin, izoleytsin, tirozin) va B guruhi vitaminlari (biotin, tiamin, riboflavin, inozit, nikotin va pantoten kislotalar) chiqadi. Asosan biotin yuqori darajada bo'ladi (80 mg/t). Melassa kullarida kaliy (30-40%), magniy (1,5-4,5%), kalsiy (14% gacha), temir va boshqa elementlari ko'proq, bularga nisbatan fosfor kamroq bo'ladi.

Makkajo'xori uni – tarkibi, unning navi, o'stirilish va saqlanish sharoitlariga bog'liq holda sezilarli darajada o'zgarib turadi. U o'rtacha 67-70% kraxmal, 10% atrofida boshqa uglevodlar (kletchatka, pentazonlar, dekstrinlar, erigan uglevodorodlar), 12% atrofida oqsillar (30% glyutelin va 45-50% kozein) saqlaydi. Namligi 15% dan oshmasligi zarur. Taxminan 0,9% zollar saqlaydi. Makkajo'xori uni kullari 45% gacha fosforli angidrid, 30% kaliy oksidi va 15% magniy oksidi saqlaydi. Makkajo'xori uni, fermentlar va antibiotiklar sintezi uchun oziq muhitida uglerod manbai bo'lib xizmat qiladi. U donlilar ichida eng arzon mahsulot hisoblanib, maydalanish darajasiga ko'ra baholanadi.

Melassa quyqasi – shakar ishlab chiqarishda standart bo'lmagan chiqindi mahsulot hisoblanadi. Tabiiy quyqada quruq mahsulot 6-10% saqlanadi. Quyqa tarkibida achitqilar massasidan tashqari

aminokislotlar, glikol, sut, qahrabo kislotalari, kalsiy, kaliy natriy tuzlari, marganes, kobolt, mis va qator B guruhi vitaminlarini saqlaydi. **Atsetonbutil quyqasi** – organik eritmalar atseton va butil spirtining mikrobiologik ishlab chiqarilishidagi standart bo‘lmagan chiqindi mahsulot hisoblanadi. Mikrobiologik sintez uchun quyqadan shlamlar (maydalanganida hosil bo‘ladigan kukunsimon mahsulot) ajratilgandan so‘ng foydalaniladi. Quyqa tarkibida uglevodlar, kletchatka, azot saqlovchi va kulsimon mahsulotlar mavjud bo‘ladi.

Yog‘och xom ashyolari – o‘zida o‘simlik to‘qimasi hujayra matriksini hosil qiladigan, sellyuloza, lignin, pentozanlar, gemitsellyulozalar va boshqa mahsulotlar saqlovchi ko‘p yillik o‘simlik to‘qimalarini namoyon qiladi. Bu xom ashyoda geksozalar, pentozalar va organik kislotalar uglerod manbasi bo‘lishi mumkin. Xom ashyoda ular amalda erkin holatda bo‘lmaydi, shuning uchun maxsus qayta ishlashni talab qiladi: maydalanadi va gidroliz uskunalarda yuqori haroratda gidrolizlanadi (suv yordamida ajratiladi). Yog‘ochning polisaxaridlari gidrolizlash jarayonida mikroorganizmlar yengil o‘zlashtiradigan suvda erigan monosaxaridlar holatiga o‘tadi. Sanoat asosida ishlab chiqarishda mikrobiologik sintez uchun substratlar daraxtning yaxlit holati emas, balki uning qayta ishlashdagi qoldiqlari: qipiq, tarashalar, egri-bugri shoxlari va hokazolar qo‘llaniladi. Yog‘ochni gidrolizlash jarayonidan olingan eritma “gidrolizat” deb nomlanib, mikroorganizmlarni o‘stirishda substrat sifatida qo‘llaniladi va monosaxaridlar saqlashi bo‘yicha baholanadi. Gidrolizatning turli xil qandlarni saqlashi daraxtning turiga, gidrolizlash usuli va boshqa omillarga bog‘liq bo‘ladi. Ozuqa achitqisi olish uchun sellyuloza ishlab chiqarishning qoldig‘i – sulfitli kul va dastlabki gidrolizatlar keng qo‘llaniladi. Sulfitli kul, yog‘ochni qaynatish jarayonida muhitda kalsiy gidrosulfid va sulfat kislota hosil qiladi. Bu jarayonda sellyuloza saqlanib qoladi, sulfit kuli eritmasiga esa lignin, gemitsellyulozalar, smolalar, yog‘lar va mineral tuzlar o‘tadi. Sulfit kuli muvofiq qayta ishlangandan so‘ng etil spirti va ozuqa achitqisini mikrobiologik ishlab chiqarishda qo‘llaniladi. Old yoki dastlabki gidrolizatlar esa suvli yoki kislotali gidrolizda yog‘och gemitsellyulozasi hosil qiladi va ular shakar

hamda dekstrinlardan tuzilgan bo‘ladi. Fikrimcha qayta ishlanuvchi yog‘ochlar va sellyuloza qog‘oz ishlab chiqarishning sellyuloza saqlovchi manbalarining asosiy xom ashyosini qishloq xo‘jalik o‘simliklari qoldiqlari (chigit kunjarasi, makkajo‘xori so‘tasi, kungaboqar poyasi, sholi kunjarasi, somonlar), shuningdek, ba’zi bir o‘simliklar (qamish, g‘o‘zapoya) tashkil etadi. Bunday xom ashyolarni mikrobiologik sintez uchun tayyorlash, sellyulozalarni erigan shakarlargacha gidrolizlash bilan yakunlanadi. O‘simlik xom ashyolari mikrobiologik ishlab chiqarishda juda katta qiziqish uyg‘otmoqda.

Torf – kimyoviy tarkibiga ko‘ra u o‘simlik kimyoviy tarkibiga yaqin turadi. Torflarda kam miqdorda bor-yo‘g‘i 50% gacha polisaxaridlar mavjud bo‘ladi. Torf ma’lum sharoitda kislotali gidrolizlanishdan so‘ng, mikroorganizmlar yengil o‘zlashtiradigan monosaxaridlar manbasiga aylanadi. Torf hamisha mikroorganizmlar yaxshi o‘zlashtiradigan shakldagi fosfor va azot saqlaydi.

Uglevodorodlar – ozuqa achitqilarini olish uchun mikrobiologik ishlab chiqarishda suyuq parafinlar deb ataluvchi, mo‘tadil tuzilgan molekulasida uglevodorodlar soni 10 dan 27 gacha (C_{10} – C_{27}) bo‘lgan n-parafinlardan foydalanadi. Ular neftning muvofiq fraksiyalaridan ajratib olinadi va qaynashining dastlabki hamda oxirgi haroratlari (280 – $320^{\circ}C$) shuningdek, asosiy komponentlar saqlashi bilan xarakterlanadi (99% dan kam bo‘lmagan). Mikroorganizmlar uglevodorodlarning oxirgi gazsimon C_1 – C_4 uglerodini o‘zlashtiradilar: CH_4 – metan, C_2H_6 – etan, C_3H_8 – propan, C_4H_{10} – butan.

Ishlab chiqarishda metan alohida o‘rin tutadi. Tabiiy gazda metan olinish joyiga bog‘liq holda 94–98% gacha saqlanadi.

Metil spirti (metanol) CH_3OH – rangsiz, tez aralashadigan suyuqlik bo‘lib, etil spirtinikiga o‘xshash hidi bor. Suvda juda yaxshi eriydi va ko‘pchilik mikroorganizmlar yengil o‘zlashtiradi. Metil spirti qo‘llanilishining istiqbollari uning olinish usulining samaradorligiga bog‘liqdir. Esda tutish lozimki, metil spirti inson uchun kuchli zahar hisoblanadi. 30 ml metil spirti ichga tushganda hattoki, nobud qilishi mumkin.

Etil spirti (etanol) C_2H_5OH – mikroorganizmlarni o‘stirishda istiqbolli xom ashyolardan biri hisoblanadi. Etil spirti suvda juda yaxshi aralashadi, zaharli emas, uning yordamida biomassa olish uchun maxsus tozalash talab qilinmaydi. Uglerod manbai sifatida, mikrobiologik va kimyoviy yo‘llar bilan olingan barcha markadagi etil spirtlaridan foydalanish mumkin. Etil spirtida juda kam miqdorda izopropil spirti, oltingugurt saqlovchi birikmalar, organik kislota, murakkab efirlar, dietil efir va suvda erimaydigan moddalar bo‘lishi mumkin.

Sirka kislota CH_3COOH – 60% dan ko‘p bo‘lmagan asosiy modda saqlaydi, formaldegid ($HCHO$) va chumoli kislotasi ($HCOOH$) esa 1% dan ko‘p bo‘lmaydi. Yuqorida ko‘rsatib o‘tilgan modda va mahsulotlar mikroorganizmlarni o‘stirishda uglerod manbai sifatida qo‘llanilishi mumkin.

Azot manbalari

Ishlab chiqarish oziq muhitlarida azot manbalari sifatida oqsil, peptidlar va erkin aminokislotalar xizmat qilishi mumkin. Mikrobiologik ishlab chiqarish bilan bog‘liq bo‘lgan fermentatsiyalarning deyarli barchasida makkajo‘xori ekstrakti, soya uni yoki achitqi gidrolizatlari qo‘llaniladi. Shu maqsadda azot kislotalari, ammoniyli sulfat tuzi kabi mineral azot saqlovchi moddalardan ba’zi hollardagina foydalaniladi. **Makkajo‘xori ekstrakti** – o‘zining tashqi ko‘rinishidan quyuq suyuqlik bo‘lib, rangi ochiq sariqdan qoramtir-jigarranggacha bo‘lgan pag‘a-pag‘a suspenziyadir. Kimyoviy tarkibi, makkajo‘xorining navi, o‘stirish sharoiti, saqlanish va quritilishiga, shuningdek, makkajo‘xorini namlash jarayonlariga bog‘liq holda keng ko‘lamda o‘zgarib turadi. Ekstraktda quruq modda 48% dan kam bo‘lmasligi zarur. Quruq ekstrakt hisobida azot saqlovchi moddalarning umumiy saqlanishi 40 dan 50% gacha bo‘ladi (umumiy azot 6,4–8%). Namlash jarayonida makkajo‘xori oqsillarining fermentativ gidrolizlanishi boshlanib ketadi, bunda deyarli azot saqlovchi moddalarning yarmi o‘zida aminokislotalar, polipeptidlar va oqsillar namoyon qiladi. Mahsulotda kulning miqdori 24% dan oshmasligi lozim. Asosiy kul elementlari fosfor, kaliy va magniy hisoblanadi.

Ekstraktda umumiy fosfor saqlashi 5% ni tashkil etadi. Bundan tashqari ekstrakt ba'zi o'stirish moddalari va biostimulyatorlar, B guruhi vitaminlari (biotin) saqlaydi. Shunday qilib, makkajo'xori ekstraktining oziq muhiti komponenti sifatida ahamiyati juda yaxshi assimilyatsiya bo'ladigan organik azot, uglerod hamda mikroelementlar va ballastli moddalar saqlashi bilan aniqlanadi.

Soya uni – soya donining yanchilganidan, shuningdek, soya yog'i olingandan so'ng qoladigan soya kunjarasi va shrotidan olinadi. Foydalaniladigan soya uni xom ashyolari, yog'siz yarim yog'langan va juda yog'li shakllarga ajratiladi. Bundan tashqari soya uni dezodarirlangan (bug' bilan ishlov berilgan) va dezodarirlanmagan bo'lishi mumkin. Dezodarirlangan soya unini bir yilgacha saqlash mumkin, bunda fermentlar inaktivatsiyasi sodir bo'ladi, dezodarirlanmagan soya unini esa bir yarim, uch oy saqlash mumkin. Fermentatsiya uchun soya unining asosiy ahamiyati uning tarkibidagi azot saqlovchi moddalar, birinchi navbatda oqsillardir. Asosiy oqsil, deyarli barcha aminokislotalarni saqlovchi glitsinin hisoblanadi, bunda glutamin miqdori ko'proq bo'ladi (20%). Soya uni 25% gacha uglevodlar saqlaydi, shuning uchun undan ko'pincha uglevodlar manbai sifatida foydalaniladi. Kullar esa 4,5-6,5% bo'ladi.

Kullar tarkibida 45% atrofida kaliy oksidi, 30% fosforli angidrid, 7% magniy va kalsiy oksidlari, shuningdek, qator mikroelementlar uchraydi. Fosfor fitinda organik bog'langan holatida bo'ladi (75% atrofida).

Ammoniy nitrat NH_4NO_3 (ammiakli selitra) – rangsiz kristall, issiqlik yutilishi bilan suvda yaxshi eriydi. Suvli eritmasi nordon reaksiyali bo'ladi. Azot manbasi va oziqni nordonlashtirish uchun qo'llaniladi.

Ammoniy sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – suvda issiqlik yutib yaxshi eriydi. Azotni 20-21% saqlaydi.

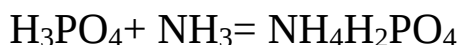
Karbamid $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (mochevina) – yuqori miqdorli azot manbaidir (azot 46,5%).

Foydalanilayotganda e'tibor berish lozimki, karbamid termik sterilizatsiyada parchalanib ketadi.

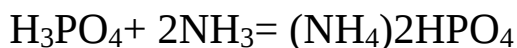
Ammiakli suv NH_4OH (ammoniy gidroksid) – o‘tkir o‘ziga xos hidli, rangsiz suyuqlik va yengil bug‘lanadigan zahardir. Oziqning azot manbai va pH regulyatori sifatida foydalaniladi. Ammiakli suvning I-navi 25% dan kam bo‘lmagan, II -navi esa 20% dan kam bo‘lmagan azot saqlaydi.

Fosfor manbalari

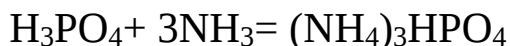
Ammofos. Fosfor manbai sifatida ammiakning fosforli kislotalarini neytralizatsiyalashdan olinadigan ammoniy fosfat keng qo‘llaniladi:



monoammoniy fosfat



diammoniy fosfat



triammoniy fosfat

Ko‘pincha mono- va diammoniy fosfatlar aralashmasini namoyon qiladigan ammosfos, shuningdek, erimagan qorishmasi (shlam) qo‘llaniladi. Ammosfosda shlamning saqlanishi (tarkibida temir fosfatlar, gips va boshqalar tutuvchi) quruq modda massasining 6-7% iga to‘g‘ri keladi. Suvda erigan fosforli angidrid P_2O_5 saqlashi ammosfosning naviga bog‘liq holda 36-48% ni tashkil etadi. Oziq muhiti tarkibiga ammosfos eritmasini qo‘shishdan oldin albatta filtrlab olish lozim. Ammosfos nafaqat fosfor, balki azot manbai ham hisoblanadi. Ortofosforli kislota (fosforli) H_3PO_4 – oziq muhitini nordonlashtirish va fosfor manbai sifatida qo‘llaniladi. Tarkibidi 50,7% P_2O_5 saqlaydi.

Makro- va mikroelement manbalari

Kaliy karbonat K_2CO_3 – tarkibida asosiy moddani 97,5-98% (I-nav) va 92,5-93% (II-nav) saqlaydi. Tuzlar juda gigroskopik shaklda bo‘ladi.

Kaliy sulfat K_2SO_4 – sulfat kaliyli ma’dandan qayta kristallizatsiya va eritish yo‘li bilan olinadi. Xom ashyo mahsuloti, tarkibida asosiy moddani navlarga bog‘liq holda 46-50% gacha saqlaydi. Shuningdek, aralashma ko‘rinishida KCl , MgSO_4 va boshqa tuzlar saqlaydi.

Kaliy xlorid KCl – iqtisodiy qulay kaliy manba hisoblanadi. Kaliyli ma'danlarni qayta ishlash yo'li bilan olinadi. Olinish usullariga ko'ra K (eritmadan kristallizatsiyalash orqali olinganda) va F (flotatsiyada olinganda) markalariga bo'linadi. Tarkibida navlariga bog'liq holda 95–98% asosiy modda saqlaydi.

Marganets sulfat $MnSO_4$ – suvsiz marganes sulfat – rangsiz, kristall modda bo'lib, suvda kristallogidratlar hosil qiladi. Ishlab chiqarishda, odatda, suvda yaxshi eruvchi, oqish-qizish rangli, kristall kukun – $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ qo'llaniladi.

Temir sulfat $FeSO_4$ – suvli eritmada $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ kristallogidrat shaklida kristallanadigan, temir kuporosi deb nomlanuvchi moddadir. Standart temir sulfat yuqori sifatli, toza mahsulot hisoblanadi va tarkibida minimal miqdorda aralashmalar saqlaydi. Suvli eritmada saqlanganda ikki valentli temir Fe^{2+} , erimaydigan qoldiq $Fe(OH)_3$ hosil qiluvchi uch valentli Fe^{3+} gacha oksidlanadi. Temir qoldiqqa tushishdan oldin eritmani pH 2-2,5 gacha nordonlashtiradi. Texnik tuzlarda asosiy modda saqlashi 47-53% ni tashkil etadi.

Rux sulfat $ZnSO_4$ – suvli eritmalarda, rangsiz rombsimon kristallar ko'rinishli, kristallanganda $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ va rux kuporosi deb nomlanuvchi moddadir. Tuzlarda rux saqlanishi 36-39% ni tashkil etadi. Magniy sulfat $MgSO_4$ – texnik nomi epsomit $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ oq rang bilan nozik sariq rangdagi kristall moddadir. Suvda yaxshi eriydi. Yog'sizlantirilgan epsomitdan qizdirish yo'li orqali kizerit ($MgSO_4 \cdot H_2O$) olinadi. Epsomit tarkibida 5–12% NaCl, 0,5–1,0% MgCl va qator boshqa tuzlar bo'ladi.

Yordamchi materiallar

Olein kislota $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$ – tabiatda keng tarqalgan kislotalardan biridir. Amalda barcha o'simlik va hayvon yog'larida uchraydi. Ko'piksizlantiruvchi (penogasitel) sifatida qo'llaniladi. Olein kislota yog' va moylarni gidrolizlab parchalash orqali olinadi. Texnik olein kislota o'zida 95% asosiy modda saqlovchi A va asosiy moddani 92% saqlovchi B markasi aralashmalarini namoyon qiladi. Qaynash harorati 360°C bo'lib, erish harorati 10°C dan ortiq

emas. Tabiiy ko'pirishning oldini oluvchi mahsulotlar sifatida o'simlik yog'i va moylari ham qo'llaniladi.

Sintetik penogasitel sifatida sirt faol moddalar (SFM): kremniy organik polimerlar (siloksanlar), murakkab efirlar, spirtlar, to'rt bo'sh o'rinli ammoniy asoslari va boshqalar qo'llaniladi. Hozirgi vaqtda ishlab chiqarishda sintetik penogasitelning PMS-1-54A markasi qo'llaniladi. Sintetik penogasitellarga ketadigan xarajatlar tabiiylarga nisbatan o'n marotaba kamligi bilan xarakterlanadi.

Xlorid kislota HCl dan mikrobiologik ishlab chiqarishda dastlabki miqdorining 31% idan kam bo'lmagan miqdorida foydalaniladi.

Sulfat kislota H₂SO₄ – oziq muhitlarini nordonlashtirishda keng qo'llaniladi. Zavodlarda H₂SO₄ni 92,5–94% saqlovchi texnik sulfat kislotasi qo'llaniladi.

Kaustik soda NaOH (natriy gidroksid, o'yuvchi natriy) – oziq muhitini ishqorlashtirish va uskunalarni yuvishda qo'llaniladi. Qattiq kaustik soda (o'yuvchi natriy) 92–96% dan kam bo'lmagan NaOH, suyuq kaustik soda esa 42–50% dan kam bo'lmagan NaOH saqlashi kerak.

Bo'r – zich ohaktosh bo'lib, tarkibida 99% gacha CaCO₃ saqlaydi. Oziq pHini mo'tadillashtirish uchun qo'llaniladi, agarda fermentatsiyada qo'llanilsa kislotalar hosil qiladi. Mikrobiologik ishlab chiqarishda, karbonat ангидрид gazi chiqarib yuborilgan ohaktoshdan ajratilgan, shuningdek, tabiiy maydalangan bo'rlardan foydalaniladi. Bo'r tarkibida 1-2% suv, 96-98% kalsiy va magniy karbonatlari saqlagan oq rangli, sochiluvchan ko'rinishda qo'llaniladi. Ta'kidlash lozimki, bo'r tarkibida Mg, Al, Fe va Mn aralashmalarining bo'lishi biosintez jarayoniga salbiy ta'sir ko'rsatadi.

Formalin – o'zida suvda erigan aldegid HCHO shaklida 37-37,3% eritmani namoyon qiladi. Tarkibida 6-6,5% metil spirti va 0,02-0,04% chumoli kislota saqlaydi. Dezinfeksiyalovchi vosita sifatida qo'llaniladi.

Antiformin – o'zida aralashtirilgan dezinfeksiyalovchi vositalar namoyon qiladi: 1 m³ eritmada 100 kg xlor maydasi, 75 kg kalsinirlangan soda (NaCO₃) va 10 kg kaustik soda (NaOH) saqlaydi.

3. Oziq muhitlarni tayyorlash usullari

Oziq muhitlarni toza shisha idishlarda (kolba, flakon, probirka va boshqalarda) 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 oziq muhitlarni qog'oz yoki qalin gazlama filtr yordamida filtrlab, idishlarga quyiladi. Suyuq muhitlarni qotirish uchun agarining kerakli miqdorini qo'shib, suv hammomida, agar to'la eriguncha qizdiriladi. So'ng muhitni paxta-marlili filtdan o'tkazib, idishlarga erib turgan holatida quyiladi. Probirka va kolbalarni sterilizatsiyalash oldidan paxtali tiqin bilan yopiladi. Qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkalarning yarmigacha agarli muhit quyiladi, keyin sterilizatsiya qilinadi.

Petri likopchalariga quyiladigan agarli muhit bilan katta probirkalarning 2/3 hajmiga to'ldiriladi. Muhitni yana kolbalarga quyib ham sterillash mumkin. Har bir oziq muhiti solingan kolbaga etiketka qilib, unga oziq muhitining nomi, tarkibi va sana yoziladi. Sterilizatsiyani qilib bo'lib, qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkaning tiqin o'rnatilgan tomonini bir oz balandroq qilib sovitish uchun qoldiriladi. Bunda oziq muhiti paxta tiqingacha 5-6 sm yetmasligi kerak.

Sterillangan oziq muhitlarni salqin, quruq, nur tushmaydigan joylarda, yaxshi berkiladigan shkaflarda saqlanadi. Nam joylarda paxta tiqinlar o'ziga namni tortib, mog'or zamburug'lari rivojlanishiga olib keladi. Mog'or ko'payib, o'sib kolba va probirkalarning ichiga ham tushishi mumkin.

Go'sht-peptonli agarni tayyorlash. Odatda mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash uchun standart oziq muhiti go'sht-peptonli agar qo'llanadi (GPA).

Uni tayyorlash uchun avvalom bor go'sht-peptonli bulyon qilinadi (GPB). Uning uchun 1 kg mol go'shtini suyak, yog' va chandirlardan ajratib, go'sht qiymalagichdan o'tkaziladi. Olingan 0,5 kg qiymaga 1 l suv qo'shib 1 soat davomida qaynatiladi, ko'pigi olib tashlanadi. Go'sht suvini sovutib, ustidagi yog' olib tashlanadi va uni paxta-marlili filtrdan o'tkaziladi. So'ng dastlabki hajmigacha vodoprovod suvi quyiladi.

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

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

Oziq muhitlarning pH ini aniqlash. Oziq muhitlarning pH i ko'pincha Mixaelis bo'yicha kalorimetrik usul bilan aniqlanadi.

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

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

gammadinitrofenolniki (pH 4,0-5,4) va to'rtinchi qatorda alfadinitrofenol indikatorlari standartlari (pH 2,8-4,4) joylashtirilgan.

Ko'rib chiqilgan usulda tashqari pH ni aniqlash uchun universal pH indikatorlari ham qo'llaniladi.

Elektrometriya usuli. pH ni aniqlash uchun turli markadagi potensiometrlardan (laboratoriya pH-metrlari) foydalaniladi. Bunday asboblarning yordamida pH ni aniqlash metodikasi fizik-kimyoviy tadqiqot usullarida va asboblarning tavsiflarida aytib o'tilgan.

Nazorat savollari

1. Go'sht – pepton agar-agarli oziq muhiti qanday tayyorlanadi?
2. Oziq muhitini tayyorlashning qanday usullari bor?
3. Oziq muhiti tayyorlash uchun xom ashyo mahsulotlari nimalardan iborat?
4. Azot manbalariga nimalar kiradi?

4 – amaliy mashg'ulot

Mikroorganizmlar oziq muhitlarini sterillash uskunalari bilan ishlash usullari

Ishdan maqsad: Mikroorganizmlar oziq muhitlarini sterillash uskunalari bilan foydalanish hamda texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari bilan tanishish.

1. Oziq muhitini sterillash uskunalari

Belgilangan maqsadga qarab (o'quv, ilmiy-tadqiqot, ishlab chiqarish) mikrobiologiya laboratoriyasi bir necha xonalardan tashkil topadi: mikroskopda ko'rish ishlari uchun mo'ljallangan xonalar, biokimyolaboratoriyasi, sterillash xonasi, yuvish xonasi, oziq moddalarni pishirish xonasi va termostat xonasi.

Barcha xonalar quruq, yorug', yaxshi shamollatilgan, gaz, sovuq va issiq suv hamda ularni chetga chiqarish qurilmasi bilan ta'minlangan bo'lishi kerak.

Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida talabalar o'quv va ilmiy-tadqiqot ishlarini amalga oshiradilar. Stollar deraza yaqinida, imkon

qadar ko‘proq yorug‘lik tushishiga mo‘ljallab joylashtiriladi. Mikroskopda ko‘rish ishlari uchun yorug‘lik bir tekisda taqsimlangan bo‘lishi kerak. To‘g‘ri tushayotgan quyosh nurlari ko‘zni charchatadi, ko‘rish qobiliyatiga, optik asboblarga va mikroorganizmlarga zarar yetkazadi. Xona devorlari och rangli moyli bo‘yoqlar bilan bo‘yaladi. Pol esa linoleum yoki oson yuviladigan plitalar bilan qoplanadi. Stollarning balandligi 0,7 m dan oshmasligi kerak. Stollarning yuza qismi yuvish va dezinfeksiya qilish oson bo‘lishi uchun plastik yoki linoleum bilan qoplanishi lozim. Ish jarayonida foydalaniladigan stul va taburetkalar vintli bo‘lishi kerak.

Texnik mikrobiologiya laboratoriyasi xonasi bir kunda ikki marta nam latta bilan artib chiqiladi. Pol, devorlar va mebel vaqti-vaqti bilan changyutkich bilan ishlanadi va 2-3% li soda aralashmasi (natriy bikarbonat), 3-5% li fenol yoki lizol aralashmasi (yashil sovun qo‘shilgan fenol preparati), 0,5-3% li xloramin aralashmasi bilan artib chiqiladi. Bundan tashqari, bir oyda ikki-uch marta, ayniqsa mitselial zamburug‘lar bilan ishlagandan keyin, laboratoriya xonalarida havodagi va turli yuzalardagi mikroorganizmlarni yo‘q qilish uchun ultrabinafsha nurlanishli bakteriosid chiroqlar bilan 30 minutdan bir necha soatgacha ishlov beriladi. Shuni unutmaslik kerakki, ultrabinafsha nurlar ko‘z shox pardasining o‘tkir yallig‘lanishiga olib kelishi mumkin. Bunda, nur ta’sir qilgandan so‘ng, ko‘p o‘tmasdan ko‘zdan yosh kelishi va yorug‘likdan qo‘rqish kabi belgilar yuzaga keladi. Shu boisdan ham himoya ko‘zoynaklaridan foydalanish lozim. Bakteriosid chiroq yoqilgan kichik xonalarda o‘tirish mumkin emas.

Mutlaq sterillikni talab etuvchi ba’zi ishlar (toza kulturalarni qayta ekish, mikroorganizm kulturalarini ajratish, ekish, ilmiy-tadqiqot ishlari) izolyatsiya qilingan maxsus xonalar – bokslarda amalga oshiriladi. Boks oldida maxsus dahliz (tambur) bo‘lib, tashqaridan havo va u bilan birga mikroorganizmlar kirmaydigan qilib oynalangan bo‘lishi kerak. Boks devorlari plitalar bilan qoplanishi yoki moyli oq bo‘yoq bilan bo‘yalishi, poli esa linoleum bilan qoplanishi kerak. Boksdagi stol, stullar, gaz gorelkalari joylashtiriladi, bakteriosid chiroqlar osib qo‘yiladi yoki qo‘zg‘aluvchan kronshteynga mahkamlanadi. Boks xonalari vaqti-vaqti

bilan yuvib turiladi va disenfeksiya qilinadi. Xona yig'ishtirilgandan keyin, ish boshlashdan oldin, poldan 2 m balandlikda joylashtirilgan bakteriosid chiroqlar bilan nurlantiriladi. Biokimyo laboratoriyasi kimyo stollari, havosi almashinadigan shkaflar, idish va reaktivlar uchun shkaflar, shuningdek zaruriy asboblari – fotoelektrokolorimetrlar (FEK), spektrofotometr, pH-metr, texnik va analitik tarozilar, sovutgichlar, vakuum nasoslar va shu kabilar bilan jihozlanadi. Preparatlar xonasida ish stollari, turli asboblari, idishlar va reaktivlar joylashtiriladigan shkaflar, sentrifuga va boshqa vibratsiya apparatlari, preparat va toza to'plamlarni saqlash uchun sovutgichlar, termostatlar joylashtiriladi.

Sterillash xonasida oziq muhitni va idishlarni sterillash uchun avtoklavlar, ishlatilgan laboratoriya idishlariga (tirik mikroorganizmlar, qolgan kolbalar, probirkalar, pipetkalar) issiqlik bilan ishlov berish uchun alohida avtoklav, Kox qaynatgichi, quritish shkaflari, asboblari sterilizatori va stol joylashtirilishi kerak.

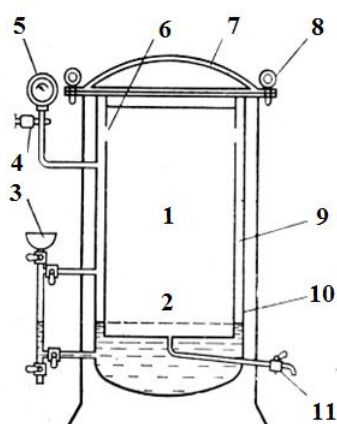
Sterillash xonasi sterilizatorni ochgandan keyin chiqadigan bug' qoldiqlarini chiqarib yuborish uchun yaxshi ventilyatsiya moslamasi bilan jihozlangan bo'lishi lozim. Sterilizatordan chiqayotgan bug', bosim ko'tarilmasdan avval rezina naycha bilan tashqariga yoki suvli chelakka yo'naltiriladi. Eshik (oynalanmagan) va deraza tashqariga ochilishi kerak.

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

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

O'quv laboratoriyasida har qaysi talabaga doimiy ish joyi va asboblari biriktirib qo'yiladi. Laboratoriya stolida mikroskop uchun

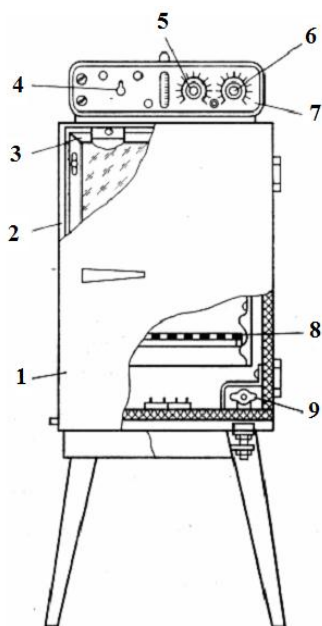
yoritgich, spirt yoki gaz gorelkasi, bo'yoqlar to'plami, bakteriologik ilmoq va ignalar, probirkalar uchun shtativ, pipetkalar, shisha shpatellar, oddiy va chuqurchali buyum shishalar, qopqoq shishalar, shisha ko'prikcha va preparatlarni bo'yash uchun vannacha, doka salfetka, shishaga chizadigan qalam, immersion yog', qum soat, buyum shisha o'lchamida kesilgan filtr qog'oz, gugurt, dezinfeksiya qilish uchun suyuqlik, paxtali banka bo'lishi kerak. Mikroskop stolga joylashtiriladi va shisha qalpoq yoki polietilen yopqich bilan berkitib qo'yiladi. Ish joyi juda toza holda saqlanishi kerak. Stolning usti lizol, 70% li (hajmi bo'yicha) etanolli xloramin shimdirilgan paxtali tampon bilan artiladi.



1 – rasm. Avtoklavning tuzilish sxemasi:

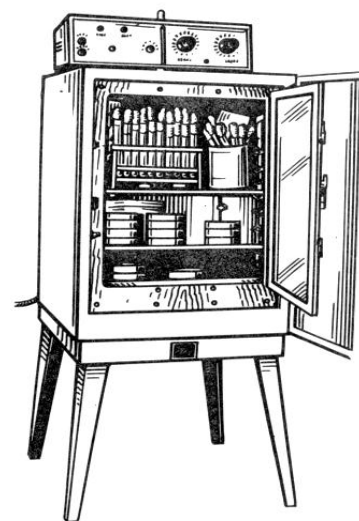
1 – sterilizatsiyalash kamerasi; 2 – sterilizatsiya qilinadigan materiallarni qo'yadigan taglik; 3 – avtoklavga suv quyish uchun voronka; 4 – saqlovchi klapan; 5 – manometr; 6 – sterilizatsiyalash kamerasiga par o'tadigan teshik; 7 – qopqoq; 8 – vintli qisqich; 9 – suv-bug'li kamera; 10 – qozon; 11 –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

Termostatlar (2, 3-rasm – havoli, suvli) berilgan doimiy haroratda oziq muhitida mikroorganizmlarni o'stirish uchun mo'ljallangan.



2 – rasm. Quruq havoli elektr termostat:

1 – tashqi eshik; 2 – korpus; 3 – ichki eshik; 4 – termostatni elektr tarmog'iga ulaydigan tumbalar; 5 – haroratni aniq o'rnatish uchun potensiometr; 6 – haroratni taxminiy o'rnatish uchun potensiometr; 7 – boshqarish bloki; 8 – tokchalar; 9 – isituvchi element.



3 – rasm. Termostat.

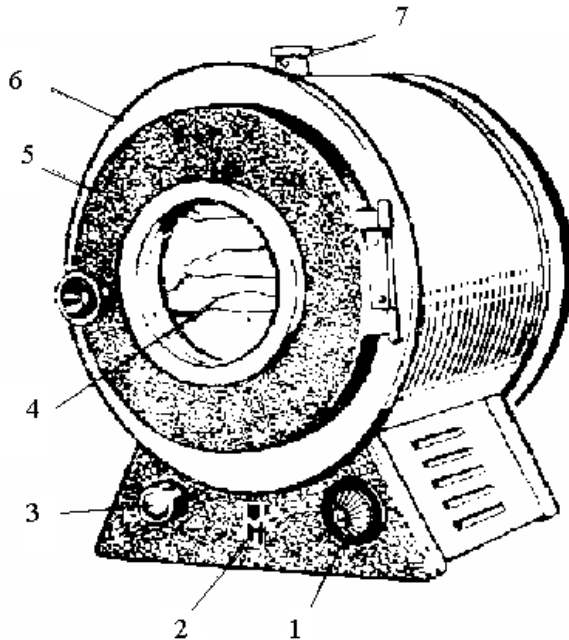
Tokchalarda mikroorganizmlar ekilgan probirkalar va Petri likopchalari.

Laboratoriyada alohida guruh mikroorganizmlarni rivojlantirish uchun talab etiladigan turli haroratli bir nechta termostat: mezofillar uchun – 28-30°C, termofillar uchun – 43-55°C, patogen turdofillar uchun – 37°C li termostatlari oʻrnatiladi. Termostatlari har xil shaklda, oʻlchamda va tuzilmali boʻladi. Ular unchalik katta boʻlmagan shkaf koʻrinishidan bir nechta boʻlimlardan tashkil topgan politermostat yoki alohida termostat xonasigacha boʻlishi mumkin.

Termoregulyatorli quritish shkafi (4-rasm) laboratoriya idishlarini quritish va sterillash, turli materiallarni doimiy massasigacha quritish uchun moʻljallangan.

Quritish shkafi issiqlikka chidamli materiallardan (metall va asbest) tayyorlanadi va ishchi kamerasi 200°C gacha boʻlgan haroratga moʻljallanadi. Shkafning ichi teshikli metall listlardan tayyorlangan polkalar bilan jihozlangan boʻlib, ularning ustiga quritiladigan idishlar yoki materiallar joylashtiriladi.

Sovitkichlar ishlatiladigan yoki muzeyga oid mikroorganizmlar kulturasi, oziq muhitlari, baʼzi bir reaktivlar va aralashmalarni +4°C atrofidagi haroratda saqlash uchun ishlatiladi.



4 – rasm. Quritish shkafi:

1 – shkalali termoregulyatorning dastasi; 2 – asbobni oʻchiruvchi murruvat; 3 – signal beruvchi lampa; 4 – taglik; 5 – eshikcha; 6 – korpus; 7 – termometr uchun teshik va ventilyatsiya qalpoqchasi.

Sentrifuga suspenziya va aralashmalarning suyuq va qattiq fazalarini ajratish uchun xizmat qiladi. Sentrifuga ikkita rotor bilan jihozlangan bo'lib, ular elektr dvigatelining valiga ketma-ket o'rnatiladi: to'rtta stakanli rotor-prestavina va shisha yoki polietilen probirkalar uchun uyachalari bo'lgan burchakli rotor. Rotorlarning aylanish tezligi – 2000 dan 6000 gacha ob/min.

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

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

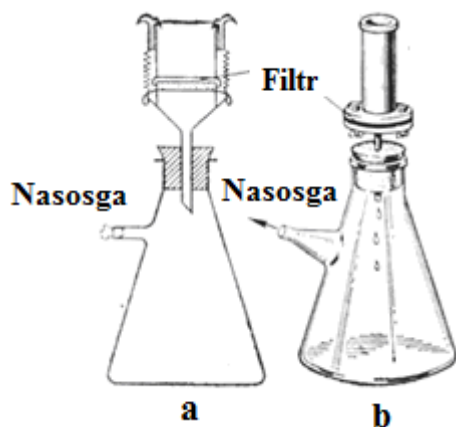
Fotoelektrokolorimetr bo'yalgan va kolloid aralashmalarning optik zichligi hamda o'tkazuvchanlik koeffitsiyentlarini o'lchash uchun qo'llaniladi. Asbob 315-630 nm spektr doirasida ensiz tasmali yorug'lik filtrlari to'plami bilan jihozlanadi.

Kolorimetr – nefelometr aralashmalarining loyqalanish darajasi bo'yicha mikroorganizm hujayralari konsentratsiyasini baholash imkonini beradi.

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

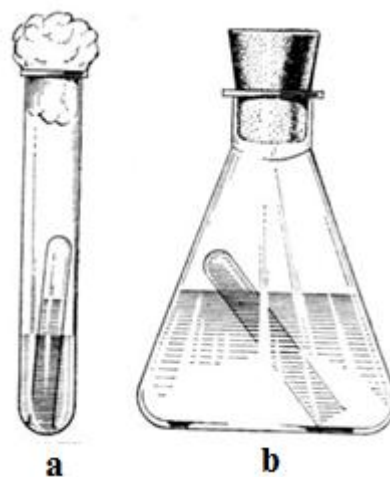
Zeyts filtrlari asbest va sellyuloza aralashmasidan tayyorlangan, qalinligi 3-5 mm va diametri 33-140 mm bo'lgan disklardan tashkil topgan bo'lib, sellyuloza miqdori ortib borgan sari filtrning g'ovakligi oshadi. Filtrlar, odatda nikellangan metallardan tayyorlangan voronkaga (5-rasm) o'rnatiladi.

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



5 – rasm. Zeyts filtrlari:

a - shisha tutqichli; *b* – metall tutqichli



6 – rasm. Paxta tiqinlarni tayyorlash:

a - to'g'ri; *b* - noto'g'ri

Har bir aniq mikrobiologik jarayonlar o'ziga xos oziq muhiti tayyorlash bosqichlariga ega va bu mazkur ishlab chiqarishda qo'llaniladigan uglevod manbalariga bog'liq bo'ladi.

Eruvchan uglerod manbai (masalan, shakar) dastlab suvda, unchalik katta bo'lmagan ochiq reaktorlarda aralashtirgich yordamida eritiladi, eritmalar aniq miqdorgacha olib boriladi, keyin esa bug' kirib turadigan barbotajli uskuna bilan ta'minlangan yopiq yassi tagli aralashtiruvchi – reaktorga quyiladi.

Erimagan uglerod manbalari suvda yaxshilab reaktorda aralashtirgich bilan suyultiriladi va suspenziya aralashtirgich – reaktorga solinadi. Kraxmal saqllovchi xom ashyolar dastlab yelimdan tozalanadi. Mineral tuzlar reaktorda aralashtirgich bilan eritiladi, aralashtirgich-reaktorga solinishdan oldin shamlarni (gips va boshqa xil erimagan qoldiqlar) yo'qotish uchun filtrlab olinadi. Mikroelementlar eritmasi odatda, alohida tayyorlanadi.

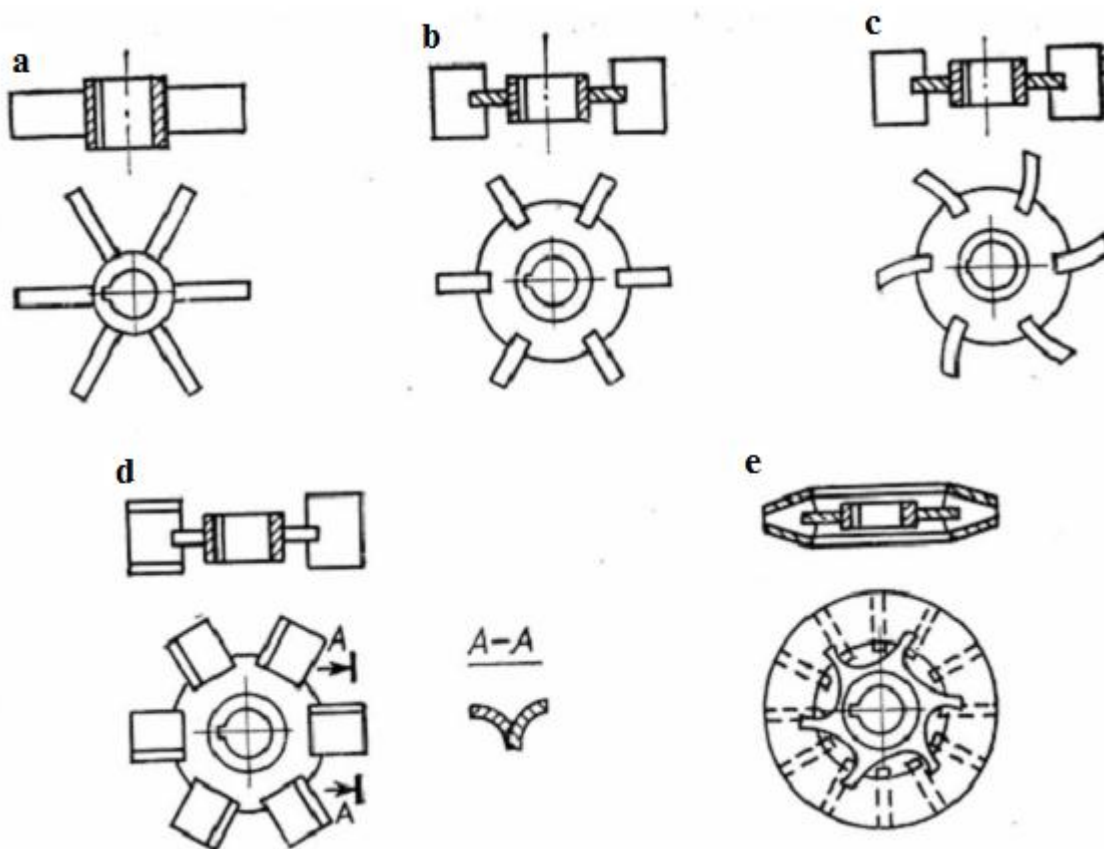
Aralashtirgich – reaktorga barcha zarur miqdordagi komponentlar solingandan so'ng diqqat bilan aralashtiriladi, oziq pH ko'rsatkichi zarur darajagacha ammiakli suv yoki kislota qo'shish orqali keltirib olinadi. Oziq muhitini tayyorlash uchun reaktorlar yetarli darajada yaxshi aralashtirgich, shuningdek, suyuqlikning aylanishi va sachrashidan suyuqlikni o'tkazmasligining oldini oluvchi parda devori bilan ta'minlangan bo'lishi zarur. Foydalaniladigan oziq muhiti tarkibiga

bogʻliq holda turli xil uglerod manbalarini tayyorlash uchun (shakarlar eritish, melassalar qoʻshish, kraxmalni yelimdan sterillash va h.k.) aralashtirgich uskuna tiplari, shunga muvofiq holda oziq muhiti tayyorlash uchun aralashtirgich – reaktor tanlanadi. 8-rasmda baʼzi bir turbinali aralashtirgich tiplari aks ettirilgan.

Aralashtirgich – reaktordagi oziq muhiti sterillangan boʻlishi lozim. Oziq muhitini sterillashning ikki xil usuli mavjud:

Davriy oʻstirish uchun siklik sterillash;

Uzluksiz oʻstirish uchun uzluksiz sterillash.

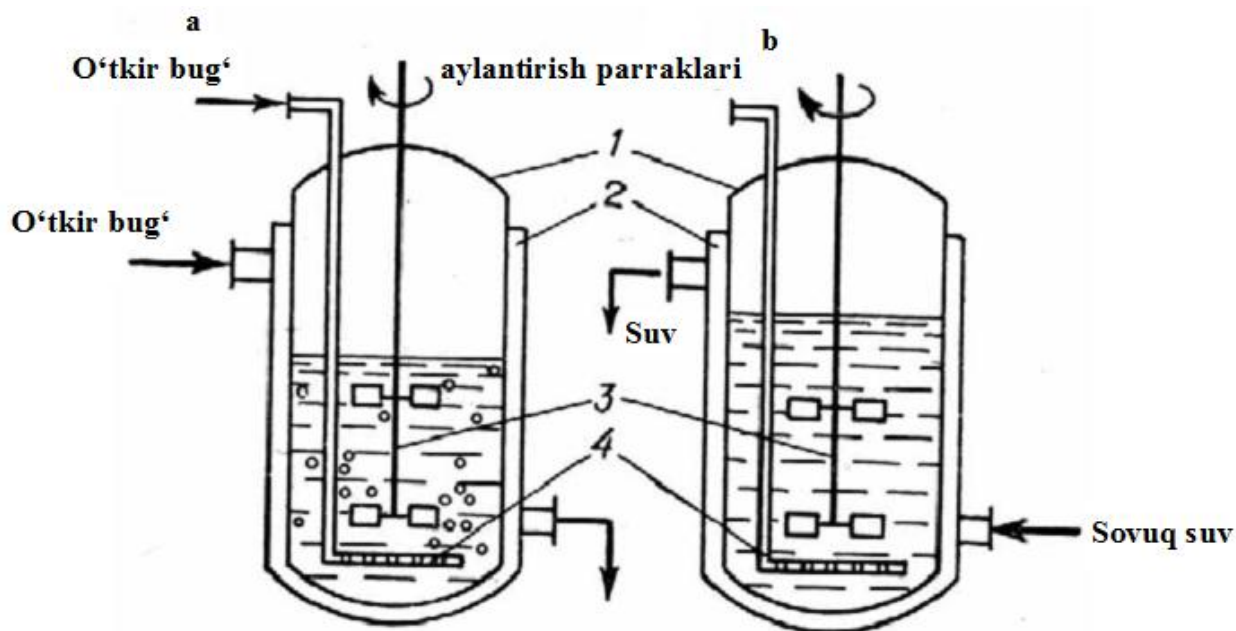


7-rasm. Turbinali aralashtirgichlar

a- toʻgʻri kurakli; b-ochiq toʻgʻri kurakli;c-ochiq egil kurakli;d-
“qaldirgʻoch dumi”simon kurakli; e-yopiq.

Siklik usulda oziq muhitini sterillash juda oddiydir. Bu operatsiyada bevosita fermentyor ham ishtirok etishi mumkin. Bunda oziq va uskunalar bir vaqtning oʻzida sterilizatsiyalanadi. 9–rasmda fermentyorning qizdirilishi va sovitilish holati aks ettirilgan. Koʻpincha oʻtkir va sekin bugʻ bilan kombinirlangan qizdirish orqali olib boriladi. Oʻtkir bugʻ oziq muhitiga, sekin bugʻ esa qoplamga kiradi. Oʻtkir bugʻ

fermentatorga ekish materiali uzatishda, havo va namunalar olishda maxsus uzatgich teshiklar (shtutserlar) orqali kiradi. Mana shuning uchun barcha armatura, fermentatorning birikmalari o'tkir bug' bilan sterillanadi. E'tiborga olish lozimki, o'tkir bug' bilan oziq muhiti sterillanganda kondensatning o'zgarishiga olib keladi. Shu bilan bog'liq holda oldindan oziq uchun zarur kondensati hisoblanib oziq tayyorlash retsepti asosiga muvofiq keluvchi miqdorda qo'shiladi.



8-rasm. Oziq muhitini sterilizatsiyalashda fermentyorning qizdirilish (a) va sovutilish (b) chizmasi

1-fermentyorning korpusi; 2-qoplami; 3-aralashtirgich; 4-barboter.

Shunda oziq muhiti sterilizatsiyadan so'ng zarur bo'lgan oziq komponentlar miqdoriga ega bo'ladi.

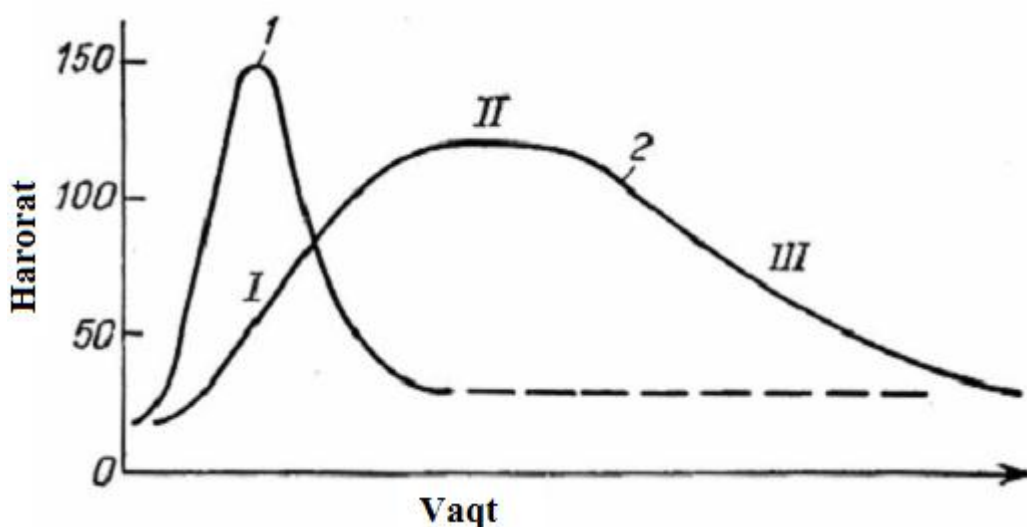
Siklik sterillashda harorat 121°C , shunga muvofiq bug' bosimi 100 kPa bo'lishi lozim. Odatda, oziq muhitlari bunday haroratda 30 minutdan 40 minutgacha ushlanadi. To'liq qizitish sikli, saqlash va sovitish katta hajmli fermentatorlar uchun bir necha soat vaqt talab qiladi.

Uzoq vaqt issiqda sterilizatsiya qilish oziq muhiti kimyoviy tarkibining o'zgarishiga olib keladi. Bu o'zgarishda oziq muhitidagi mikroorganizmlar uchun zarur bo'lgan issiqqa chidamsiz birikmalar yo'qotilishi mumkin.

Boshqa birikmalar ham o‘zaro ta’sirlashishlari natijasida mikroorganizmlar o‘shishini chegaralab yoki to‘xtatib qo‘yadigan mahsulotlar hosil qilishi mumkin.

Oziq muhitining kimyoviy tarkibi ko‘pincha sterilizatsiya holatiga nisbatan yuqoriroq harorat ta’sirida o‘zgaradi. Oziq muhiti kimyoviy tarkibining minimal darajada o‘zgarishiga juda tez qizitish va sovitish orqali erishish mumkin. Shuning uchun ayni vaqtda oziqni sterillash uchun siklik usul faqatgina kichik hajmli uskunalarda qo‘llanilmoqda.

Yuqori haroratda uzluksiz sterilizatsiyalash usuli ko‘pgina zavodlarda qo‘llaniladi, bunda oziq muhiti tarkibi buzilishi kam bo‘ladi va sterillashda samaradorlikka erishishi mumkin. 9-rasmda davriy va uzluksiz sterilizatsiya davomiyligiga bog‘liq holda suyuqlik hajmining elementar harorati o‘zgarishi ko‘rsatilgan. Rasmdan ko‘rinib turibdiki, uzluksiz sterilizatsiyada bug‘ni kam ishlatib sterilizatsiya vaqtini keskin qisqartirish mumkin. Bundan tashqari, uzluksiz sterilizatsiyada avtomatizatsiyalashni oson kuchaytirish mumkin.



9-rasm. Uzluksiz (2) va davriy (1) sterilizatsiyalashda suyuqlik hajmining elementar harorati o‘zgarishi

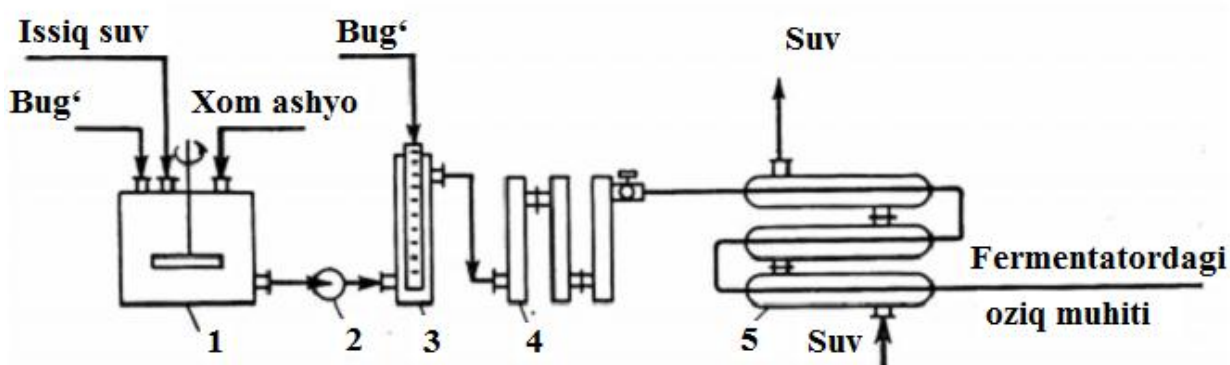
I- qizish; II- turg‘unlik; III-sovishi.

10-rasmda esa oqimda uzluksiz sterilizatsiyalash chizmasi tasvirlangan. Avvaldan sterillangan fermentatorga alohida tayyorlangan oziq muhiti hajmidan uzluksiz sterilizatsiyalash uskunasi orqali so‘rib

uzatiladi. Siklik sterillashga nisbatan bunda bir qadar yuqori harorat qo‘llanilishi oziqni maksimal haroratda davomiy ushlab turishni keskin kamaytiradi, qizitish va sovitish bosqichlari esa bir necha sekundni tashkil etadi (10-rasm).

Agarda oziq muhiti suspenziyalanmagan oziq qismlarini saqlamasa 150-160°C harorat yetarli sterilizatsiyani ta’minlaydi. Oziqda suspenziyalanmagan qattiq qismlar bo‘lishi, sterilizatsiyani pastroq haroratda uzoqroq vaqt davomida olib borishni talab qiladi, shunda qattiq qismlar ham sterillanadi. Bunda harorat 135°C ni tashkil etib, 5 minutdan 15 minutgacha davom ettiriladi.

Sterilizatsiyalash uchun asbob uskunalar. Uzluksiz sterillash uskunasi qizitgich, saqllovchi va sovutish uskunalari ketma ketligidan tuzilgan bo‘ladi.



10-rasm. Oziq muhitini sterillash uchun uskuna chizmasi

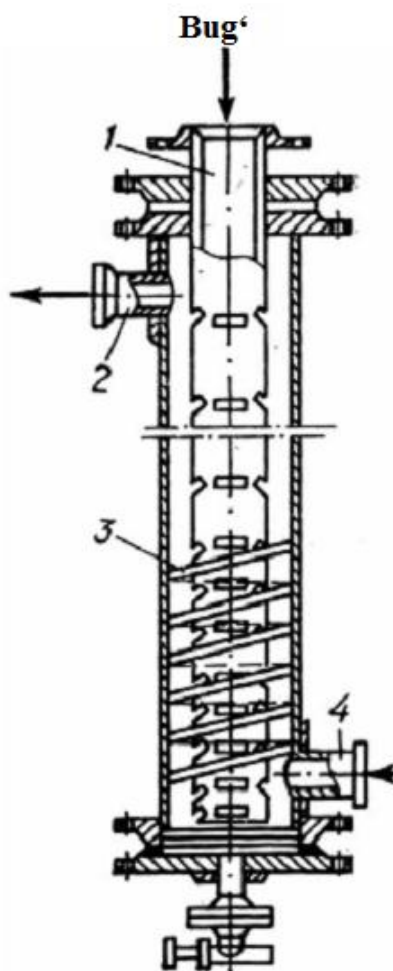
1-idish; 2-nasos; 3- qizituvchi; 4- saqllovchi; 5- sovutkich.

Qizitgich – uskuna oziqni kam bug‘ sarflab, muvofiq haroratda juda tez qizitishga mo‘ljallangan. Qizitgichlar konstruksiyasi ishlash rejimiga bog‘liq holda turli xil bo‘lishi mumkin. Bir qadar kengroq tarqalgan qizitgichlarga ustunsimon bug‘li injektor, qo‘sh trubali (trubadan-trubaga) va plastinkasimon qizitgichlar misol bo‘ladi. 12-rasmda oziq muhitini sterillash uchun ustunsimon qizitgichning chizmasi aks ettirilgan. Ichida kesim-kesim tirqishli truba joylashtirilgan ustun truba tayanch va korpus vazifasini bajaradi.

Bug‘ ustki qismidan truba orqali beriladi va kesim-kesim tirqishlar orqali oziqqa tushadi. Oziq muhiti pastdan beriladi va yuqoriga qarab spiral holda parrakli yo‘naltiruvchi yordamida harakatlanadi. Oziqni

qizitish 10-15 sekund davom ettiriladi. Uskuna kichik hajmli bo'lib, oddiyligi bilan ajralib turadi, ammo uning ishlashi bug' kondensatsiyasida gidravlik kuch bilan olib boriladi.

Saqlovchi – uskuna oziqni ma'lum haroratda sterilizatsiyalash uchun ushlab turish vazifasini bajaradi. Oziqning har bir sig'imini saqlovchi uskuna ma'lum haroratda, aniq vaqt oralig'ida ushlab turish uchun maxsus o'rin almashtirib turish mexanizmi asosida ishlashi lozim. 11-rasmda trubasimon saqlovchi uskuna (sterilizator) aks ettirilgan. U oxirlari shtutser bilan ketma-ket ulangan uch trubadan tashkil topgan. Trubadan chiqish joyida sterilizatsiya harakatiga muvofiq holda bosimni boshqarib turuvchi uskuna manometer va termometrlar bilan ta'minlangan.



11-pacm. Oziq muhitini sterilizatsiyalash uchun ustunsimon qizitgich uskunasi:

1 - bug' uzatuvchi quvur; 2 – qizdirilgan oziq muhiti chiquvchi teshik; 3 – parrakli yo'naltiruvchi; 4 – oziq muhitini uzatuvchi teshik.

Sovitgich – uskunasini oziq sterilizatsiyalanganidan keyin sovitish vazifasini bajaradi. Qoplam atrofida vodoprovod suvining devor bo‘ylab sirkulyasiyasi yordamida sovitish amalga oshiriladi. Sovitgichlarning plastinkasimon va qo‘sh trubali issiqlik almashtirish tiplari (trubadan-trubaga) mavjud. Oziq muhiti truba ichida aylansa, uning ustki qismida qobiqda sovituvchi suv harakatlanadi.

Issiqlik almashtiruvchi yetarli darajada germetik bo‘lishi ya’ni steril oziqqa suv o‘tmasligi kerak, aks holda oziqqa infeksiya tushishi mumkin. Uzlaksiz sterilizatsiyada sovitgichlar bir qadar yirik va qimmat turuvchi uskunalari hisoblanadi.

Nazorat savollari

1. Avtoklavning ishlash prinsipi qanday amalga oshadi?
2. Quritish shkafida qancha gradusgacha quritish mumkin?
3. Filtrning turlarini sanang va izoh bering?
4. Turbinali aralashtirgichlar qanday vazifani bajaradi?

5 – amaliy mashg‘ulot

Mikroorganizmlarni o‘stirishda foydalaniladigan uskunalari bilan ishlash

Ishdan maqsad: mikroorganizmlarni o‘stirish usullari va uskunalari bilan ishlashni o‘rganishdan iborat.

Mikroorganizmlarni aerob va anaerob sharoitda o‘stirish

Mikroorganizmlarni oziq muhitida o‘stirish kultivirlash deb ataladi (lotincha cultus – o‘stirish degani). Ularni yuza, chuqur ekib, davriy yoki to‘xtovsiz usullarda, aerob yoki anaerob sharoitda o‘stirish mumkin. O‘stirish usuli qo‘llanadigan laboratoriya modellari va usullariga tubdan ta’sir qiladi. O‘stirishdagi oxirgi natija: biomassa to‘planishi yoki ma’lum metabolit (spirt, kislotalar, antibiotik, ferment, aminokislotalar va hokazolar) olinishi katta ahamiyatga ega.

Aerob mikroorganizmlarni o‘stirish

Yuza kultura usuli. Aeroblar quyuq yoki sochiluvchan muhitda, shuningdek, tubi keng shisha idishdagi yupqa suyuqlik qavatida: Petri likopchalarida, kolbalarda, matras, kyuvetalarda o‘stiriladi. Mikroorganizmlar ekilgan idishlar termostatda yoki termokamerada doimiy haroratda saqlanadi. Ular muhit yuzasida rivojlanib, bevosita havodan kislorod o‘zlashtiradi. Suyuq muhitda obligat aeroblar juda qalin parda shaklida o‘sadi. Fakultativ anaeroblar suspenziya, parcha-parcha, cho‘kma hosil qilib suyuq muhit ichida ham, yupqa parda shaklida yoki yoppasiga chim hosil qilib o‘sadi.

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

Chuqur holda o‘stirish. Bu usul davriy va to‘xtovsiz bo‘lishi mumkin. Davriy jarayonda oziq muhitining hammasiga kultura ekiladi va zarur miqdordagi biomassa yoki mahsulot to‘planguncha optimal sharoitda ma’lum vaqt oralig‘ida o‘stiriladi.

Suyuqlikning chuqur qatlamida aeroblar o‘shini ta’minlash uchun kislorod bo‘lishi zarur. Mikroblar hujayrasi faqat erigan kisloroddan foydalanadi, uning eruvchanligi esa past (4-7 mg/l). Suyuq kulturalar aeratsiyasida sterillangan oddiy havodan yoki kislorod, azot va uglerod dioksid aralashmasidan foydalaniladi. Aeratsiya bilan birga ko‘pincha mexanik aralashtirish usuli birga qo‘llanadi.

Aerob kulturalarni suspenziya holatidagi suyuq muhitni ozginadan probirkalarga yoki har xil hajmdagi kolbalarga quyib ekib, keyin termokameraga qo‘yiladi. Muhitning kislorod bilan qanchalik to‘yinganligi ma’lum xatolik bilan sulfit usulida aniqlash mumkin. Buning uchun sulfitning oziq muhitiga teng bo‘lgan hajmdagi suvli eritmasini kolbalarga quyib, tebratma uskunaga qo‘yiladi va ma’lum vaqtda oksidlangan sulfit miqdori aniqlanadi.

To‘xtovsiz chuqur o‘stirishlari laboratoriya fermentlarida olib boriladi. Bular hajmi 1 dan 10 litrgacha bo‘lgan shisha apparatlardir, Ularda to‘xtovsiz ravishda oziq muhiti berib turiladi, sterillangan havo yuboriladi, harorat, pH tartibga solinadi, ko‘pik yo‘qotiladi va hokazo.

Apparatdan to'xtovsiz ravishda tayyor kultural suyuqlik oqib turadi. Bu jarayon xemostat yoki turbidostat tipda amalga oshadi. Bular kulturani dinamik muvozanat holatida saqlash usullari bilan farq qiladi.

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

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

Bu holda to'xtovsiz ravishda oziq muhiti kelib turadi, lekin hujayralar doimiy o'sish sharoiti bilan ta'minlanmaydi (nechta apparat bo'lsa, shuncha o'stirish sharoiti mavjud). Kulturani bunday sharoitda o'stirish jarayoni fiziologik jihatdan emas, balki texnologik jihatdan to'xtovsiz hisoblanadi. Bu usul spirt va achitqilar olishda keng qo'llaniladi.

Anaerob mikroorganizmlarni o'stirish usullari. Anaeroblar oddiy yoki maxsus probirkalarda, naychalarda, Petri likopchalaridagi oziq muhitida kislorodsiz o'stiriladi. Muhitga ko'p miqdorda kultura

qo'shilsa va atrof-muhit atmosferasida birmuncha uglerod dioksid bo'lsa, anaeroblar faol o'sadi.

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

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

Anaeroblar Petri likopchasidagi yoki probirkalardagi oziqli agarda o'stirilgan idishlar anaerostatlarga quyiladi. Anaerostatlar metall yoki shishadan yasalgan vakuum eksikatorlar bo'lgan, ularda anaeroblar normal o'sadi.

Kimyoviy usullar. Anaeroblar o'stiriladigan muhit yoki idishdagi erkin kislorodning bog'lanish uchun kimyoviy moddalardan foydalaniladi. Ularning ayrimlari muhitdan tashqarida bo'ladi, boshqalari esa qaytaruvchi sifatida bevosita muhitga qo'shiladi. Pirogallolning Na_2CO_3 li eritmasi, natriy gidrosulfat (ditiolit)ning ishqoriy eritmasi, metall, temir va boshqa reaktivlar kislorodni kimyoviy yutuvchilar (o'zlashtiruvchilardir). Kislorodni bog'lab oluvchi moddalarning o'zlashtirish xossasi yuqori bo'lishi kerak. Masalan, 1ml 20% li pirogallol Na_2CO_3 ning to'yingan eritmasi bilan aralashgan holda 220 sm havoni kisloroddan tozalaydi.

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

Kultural belgilar. Bakteriyalarning qattiq muhitda o'sishi. Mikroorganizmlarni tasniflash maqsadida Petri likopchasidagi quyuv muhitga va probirkadagi qiya agarga toza kultura ekiladi. Petri

likopchasida bakteriyalar yuzada, chuqurda va tubida o'sayotgani farq qiladi. Yuzada bir-biridan nari o'sayotgan koloniyalar o'rganiladi va ta'riflanadi va quyidagi belgilari aniqlanadi: koloniyasining shakli; o'lchami diametrini chizg'ichda o'lchab, millimetrda ifodalanadi: maydalari 1-2, o'rtachalari 2-4, yiriklari 4 mm, nihoyatda maydalari, nuqtasimonlari, yirik nuqtasimonlari, 1 mm dan mayda bo'ladigan yirik nuqtasimonlari; yuzasi silliq, g'adir-budur, burmali, bo'rtiqchali, shaffof, yarim shaffof, shaffof emas, yaltiroq, xira, unsimon, fluoressirlovchi, nam, quruq; rangi – koloniyalar ular ostidagi substratning pigmentatsiyasi – oq, kulrang – oq, sariq, limon rang, to'q sariq, qizil va hokazo; profili; strukturasi (mikroskopning kichik ob'yektivida aniqlanadi) – bir xil, mayda donador, yirik donador, tolali va hokazo; chekkasi (mikroskopning kichik ob'yektivida aniqlanadi); konsistensiyasi – zich, yumshoq, shilimshiq, cho'ziluvchan, xamirsimon, mo'rt; emulsiyalanishga moyilligi – suvda bir tekis yoki donador suspenziya hosil qiladi, plyonkalar bo'lakchasi shaklida qalqib yuradi. Probirkadagi qiya agarda uzuq-uzuq chiziqli (shtrix) shaklida rivojlanayotgan mikroorganizmlarning o'sishini ta'riflashda quyidagilar aniqlanadi: o'sish tezligi – tez, o'rtacha, kuchsiz; uzuq chiziqlar xossasi – chetlari tekis yaxlit, chetlari to'lqinsimon yaxlit, aniq ko'rinadigan, diffuz, patsimon, rizoidsimon; rangli, optik xossalari, yuzasi, konsistensiyasi. Koloniyalarni va shtrixlar (uzuq chiziqlar)ni tekshirishda muhitning tarkibi va kulturaning yoshi hisobga olinadi, chunki aniqlagichlarda GPA da va go'sht-peptonli jelatinda o'sgan kulturalar ta'riflangan bo'ladi.

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

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

Nazorat savollari

1. Mikroorganizmlarning kislorodga bo'lgan munosabatini qanday aniqlash mumkin?
1. Qaysi mikroorganizmlarga aerob mikroorganizmlar deyiladi?
2. Kimyoviy va biologik usul deganda qanday usullarni tushunasiz?
3. Bakteriyalarni o'stirish uchun qanday kulturadan foydalaniladi?

6 – amaliy mashg'ulot

Mikroorganizmlardan mahsulotlarni ajratish usullari

Ishdan maqsad: Mikroorganizmlardan mahsulotlarni ajratish usullari va uskunalari bilan ishlash tartiblarini o'rganish.

Fermentatsiya jarayoni tugagandan so'ng kultural suyuqlikda mikroorganizmlar, ular hayotlari davomida hosil qilgan mahsulotlari, oziq muhitining qoldiqlari, penogasitel va boshqa xil erigan va erimagan mahsulotlar mavjud bo'ladi.

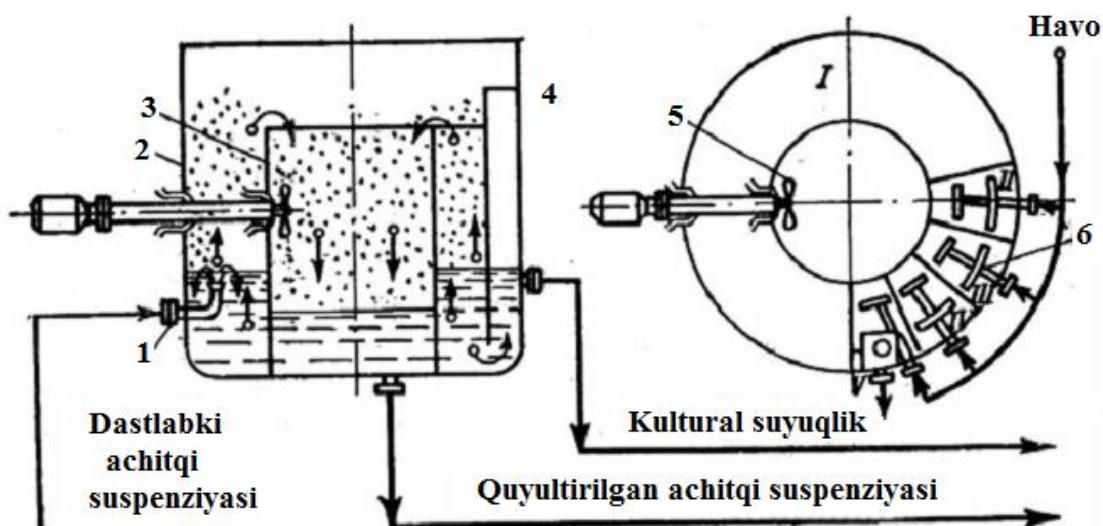
Maqsaddagi mahsulotlarni mikroorganizmlar bevosita o'zlari kultural suyuqlikka chiqarishlari yoki ularning metabolitlari kultural suyuqlikda erigan holatda bo'lishi yoki mikroorganizm hujayrasi ichida joylashgan bo'lishi mumkin. Deyarli barcha holatlarda maqsaddagi mahsulotlarni olish uchun kultural suyuqlikdan mikroorganizmlar

biomassasini ajratish zarur bo'ladi. Kultural suyuqlikda mikroorganizmlar qonuniyatdagidek, juda kam saqlanadi. 1 l kultural suyuqlikda odatda 5–10 g QB (quruq biomassa) saqlanadi. Bunday kam miqdorli fazadagi biomassalarni ajratib olish ko'p mehnat talab qiladigan texnologik vazifalarni keltirib chiqaradi. Bularni yechish uchun bosqichma-bosqich biomassalarni turli xil usullarda quyuqlashtirish yo'li bilan ish olib boriladi (flotatsiyalash, separatsiyalash va bug'lantirish). Ishlab chiqarish jarayonlarida energiyaning ko'pgina qismi ko'p hajmli qiyin filtrlanuvchi suspenziyalarni qayta ishlashga sarflanadi. Kultural suyuqlikdan mikroorganizmlar hujayra biomassasini ajratishni mexanik (tindirish, filtrlash, separatsiyalash) va texnik issiqlikka (quritgichlar) ajratish mumkin. Oxirgi maqsaddan kelib chiqib bu usullardan biri tanlanadi. Tanlashda kultural suyuqlikdan biomassa ajratish, ularni quyultirish, mahsulot shaklida biopreparatlar tayyorlashda mikroorganizmlar miqdori va boshqa ko'rsatkichlari iqtisodiy jihatdan hisoblab chiqilib qulay bo'lgan usulni tanlash maqsadga muvofiqdir.

Flotatsiyalash

Oziq oqsili ishlab chiqarish jarayonida achitqi hujayralarini quyuqlashtirish uchun flotatsiyalash usuli qabul qilingan.

Uning ishlash prinsipi quyidagicha bo'ladi: havo oqimi natijasida kultural suyuqlikda ko'piklanish hosil bo'ladi va achitqilar masasining asosiy qismi kultural suyuqlikdan ajralgan ko'piklarga o'tadi. Achitqilarning ko'pikka o'tishi ularning adsorbsiyalash qobiliyati bilan izohlanadi. Flotatsiyalash jarayoni maxsus uskunalar flotatorlarning turli xil konstruksiyalarini o'zida mujassamlashtiradi. Mikrobiologik ishlab chiqarishda flotatsiyalovchi uskunalarning bir necha variantlari tafovut qilinadi: gorizontal tubli, vertikal silindrsimon, bir bosqichli ichki stakanli yoki ikki bosqichli. 12-rasmda bir qadar oddiy tuzilishga ega bo'lgan bir bosqichli flotator rasmi aks ettirilgan.



12-rasm. Bir bosqichli flotator:

1- achitqi suspenziyasini etkazib beruvchi truba; 2- korpus; 3- ichki stakan; 4- ichkarida joylashtirilgan “cho’ntak”; 5- mexanik penogasitel; 6- aeratorlar.

Flotator yassi tubli silindrsimon korpus va ko‘pik yig‘uvchi hisoblanadigan ichki stakandan tashkil topgan. Korpus va ko‘pik yig‘uvchi oralig‘ida vertikal holda to‘siqlar seksiyalarga joylashtirilgan (I–V). Birinchi va oxirgi seksiyalardagi to‘siqlardan tashqari barcha to‘siqlar uzunligi tubgacha yetib bormaydi. II–V-seksiyalarda esa aeratorlar joylashtirilgan.

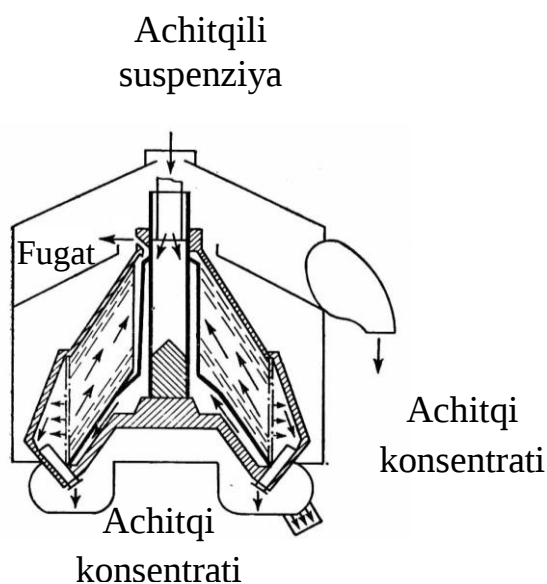
Achitqilar o‘stirilgan uskunadan achitqi suspenziyasi birinchi bo‘lib flotatorda uzunligi bo‘yicha eng katta seksiyaga, ya’ni achitqi massasining asosiy qismi gazli suspenziya hisobiga flotirlanadigan seksiyaga beriladi. Hosil bo‘ladigan ko‘piklar yuqori bort orqali ichki stakanga tushadi va ko‘piklar yiviladi. Boshqa seksiyalarda flotirlanish aeratorlar orqali beriladigan havo hisobiga amalga oshadi. Hosil bo‘ladigan ko‘piklar yana ko‘pik yig‘uvchida to‘planadi.

Ko‘piklar ko‘pik yig‘uvchida mexanik penogasitelda yoriladi. Achitqilar konsentrati ko‘pik yig‘uvchidan separatsiyaga uzatiladi. Qayta ishlangan kultural suyuqlik oxirgi seksiya – gidrolizatlovchi ichkarida joylashtirilgan “cho’ntak” orqali chiqarib yuboriladi. Flotatorning ishlab chiqarish hajmi dastlabki achitqi suspenziyasi 40-70 m³/s ni tashkil etadi. Flotatsiyalash usuli faqat achitqilarni quyuglashtirish uchun qo‘llaniladi.

Separatsiyalash

Mikroorganizmlar biomassasini quyuglashtirishda separatsiyalash usulidan foydalanish juda katta hajmdagi qiyin filtrlanadigan suspenziyalarni yuqori tezlikda qayta ishlash imkonini beradi. Separatsiyalash jarayoni flotatsiyalash jarayoniga nisbatan ko'proq energiya talab qiladi, shuning uchun ba'zi hollarda imkoni bo'lsa dastlab flotatsiyalash ishlarini olib borish separatsiyalash bosqichlarini qisqartirish imkonini beradi. Kultural suyuqlik separatsiyalash jarayonidan oldin kultural suyuqlikning mo'tadil chayqalanishi va tozalanishini ta'minlash uchun deemulgirlangan yoki degazatsiyalangan bo'lishi lozim.

Deemulgirlanish turli xil usullarda bo'lishi mumkin: mexanik (flotatorda mexanik ko'piklantirish), kimyoviy (kimyoviy ko'piklantiruvchi vositalardan foydalanish) yoki tabiiy (maxsus deemulgatorlarda). Separatsiyalash jarayoni yaxlit va yuqori ishlab chiqarish uskunasi – separatorda amalga oshiriladi. Separatorada biomassalarni ajratish markazdan qochuvchi kuch ta'siri ostida olib boriladi. Separatorning ishchi organi ichida mustahkamlangan aylanasiimon tarelkalardan tashkil topgan baraban hisoblanadi. Tarelkalar tashqi ko'rinishidan qovurg'alar ko'rinishida bo'lib ularning orasida 0,8 mm qalinlikda tirqishlar bo'ladi. Baraban val-o'q atrofida erkin aylanadi (13-rasm).



13-rasm. Ashitqi separatori

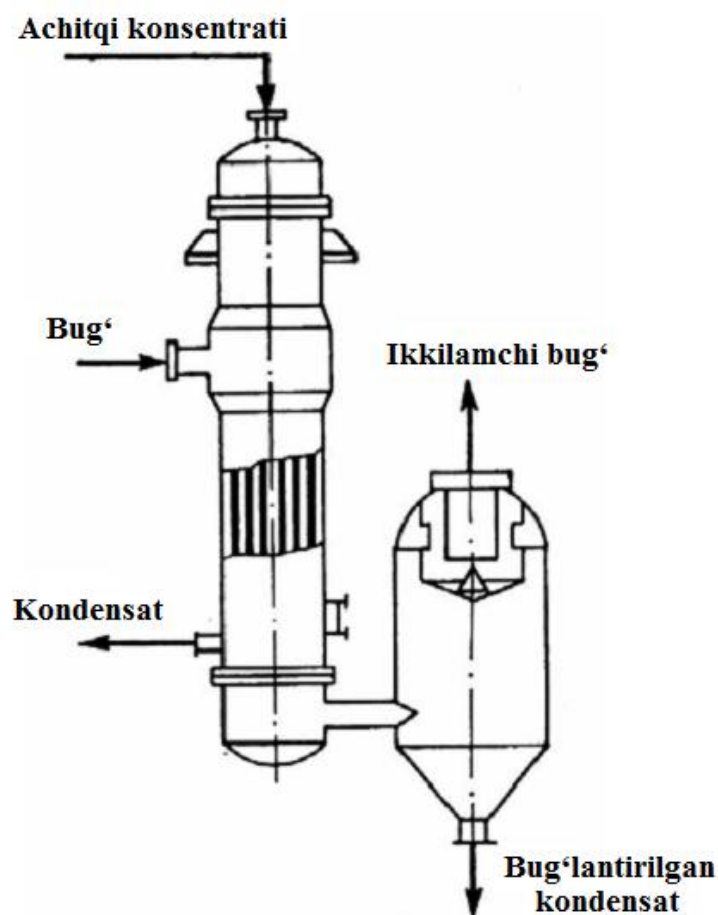
Separatorlarning konstruktiv kamchiligi uning tarelkalari orasidagi tirqishlariga biomassa qoldiqlari va mexanik naychalardan chiqadigan ajratmalarga tez to'lib qolishi hisoblanadi. Separatorlarda ishlash davomida 12 soatdan 24 saotgacha tozalamasdan ishlash mumkin, shundan keyin baraban ochilib yuvib tozalanishi zarur.

Issiqlik bilanishlov berish va bug'lantirish

Mikrobiologik ishlab chiqarishda keng tarqalgan bug'lantirish usullaridan biri maqsaddagi mahsulotlarni dastlabki suyultirish hisoblanadi. Kultural suyuqlikni bug'lantirishda olingan quruq mahsulot miqdori 20–40 foizgacha bo'lishi mumkin.

Issiqlikka chidamsiz (termolobil) maqsaddagi mahsulotlar biosintezda 5–15 minut 50–60°C haroratda odatda, inaktivatsiyaga uchraydi. Shu boisdan bug'lantirish jarayonida oxirgi mahsulot biologik faolligini yo'qotmasligi uchun maxsus rejimda amalga oshirilishi lozim. Har bir aniq mahsulot uchun quritish va bug'lantirish uskunolari va muvofiq harorat hamda vaqt tajribalar orqali aniqlanadi.

Kultural suyuqlikni bug'lantirish uchun 70–80°C harorat qabul qilingan. Bunday haroratda qizdirish, bug'lantirish uskunasi muvofiq suyuqlikni kamaytirishni yaratish imkonini beradi. Bug'lantirish bir yoki ko'p korpusli vakuum-bug'lantirish uskunasi olib boriladi. Ko'p korpusli vakuum-bug'lantirish uskunasi kultural suyuqlik bir uskunadan boshqa uskunaga uzatilib ko'p marotaba bug'lantirish orqali amalga oshiriladi. 14-rasmda kamayib boruvchi qiyom mexanizmi bilan ishlovchi bug'lantirish uskunasi chizmasi aks ettirilgan.



14-rasm. Qatlamli oqib keluvchi bug‘lantirish uskunas

Maxsus bakka to‘plangan kultural suyuqlik nasos orqali bug‘lantiruvchining yuqori qismiga ya’ni yuqori truba bo‘ylab bir tekis tarqalgan panjaralarga uzatiladi va u yerdan qatlam-qatlam bo‘lib trubaning ichki yuzasiga tushadi. Bu trubalar orasida birinchi bug‘lantiruvchi toza issiq bug‘ beriladi. Kultural suyuqlik bug‘lanishi natijasida ikkinchi bug‘ deb ataladigan bug‘ hosil bo‘ladi, u ham yuqoridagi yo‘nalish bo‘ylab tarqaladi, suyuq qatlam truba bo‘ylab harakatlanadi, keyin esa suyuqlik ajratgichga tushadi. Bu yerda bug‘lantirilgan suyuqlikni ikkilamchi bug‘dan ajratish amalga oshiriladi.

Ikkilamchi bug‘ 80-87°C harorat bilan trubalar orasida joylashgan ikkinchi bug‘lantiruvchiga yo‘naltiriladi.

Birinchi bug‘lantirgichning pastki qismidan quyultirilgan kultural suyuqlik ajratuvchi nasosda bug‘lantirish bosqichining ikkinchisiga va keyin uchinchisiga uzatiladi (15-rasm).

$$W = \frac{dV}{Fd\tau},$$

Bunda, V-filtrat hajmi, m³; F-filtrlovchining yuza maydoni, m²; τ-vaqt, s.

Filtrlanish tezligi bosim, qoldiq qatlam qalinligiga, uning tarkibi, suyuq faza yopishqoqligiga va shu kabi boshqa omillarga bogʻliq boʻladi. Filtrlovchi suyuqlik ikki teshikli qatlam orqali oʻtadi: qoldiq qatlam va filtrlovchi parda devor. Filtrlash jarayonini hisoblash uchun suspenziya, qoldiq va filtrlovchi toʻqimalar tavsifini bilish lozim. Filtrlovchi parda devor va qoldiqning qarshilik birligi tajribalar orqali aniqlanadi.

Kultural suyuqliklarni filtrlash mikroorganizm – produtsent turiga, oziq muhitining miqdoriy va sifatiy tarkibiga hamda fermentatsiya sharoitiga bevosita bogʻliq boʻladi.

Produtsentlar oʻlchami va hosil boʻladigan hujayraviy tarkibiga koʻra turli xil boʻladi. Masalan, penitsillin produtsenti qalin ipli, diametri 5–50 mkm boʻlgan qalin ip bilan uzun toʻlqinsimon mitseliy hosil qiladi, ularni kultural suyuqlikdan ajratib olish qiyinchilik tugʻdirmaydi.

Aktinomitset mitseliysi esa yupqa (0,2–1 mkm) shoxlangan iplar boʻlib chatishib ketgan boʻladi. Fermentatsiya oxirida lizis boʻlgan hujayralar soni keskin oshib ketishi kuzatilib, natijada kultural suyuqlikda mitselial hujayralar parchalaridan tuzilgan yupqa dispers fraksiya suspenziyasi hosil qiladi.

Mitseliy amorfli, yopishqoq, shilimshiq xarakterga ega boʻlib filtrlovchi material teshiklari tezda toʻlib qoladi. Bu filtrlanuvchi kultural suyuqlikning dastlab filtrlanish darajasini oshirmasak amalda filtrlab boʻlmaydi.

Kultural suyuqlikning filtrlanish darajasiga katta taʼsir koʻrsatadigan omillardan biri fermentatsiya sharoitidir: xom ashyo tarkibi, miqdori va sifati, oziq muhiti suyuqligi tarkibidagi moddalar saqlanishi, yogʻlar, fermentatsiya davomiligi va h.k.

Masalan, soya uni bilan makkajoʻxori ekstrakti birgalikda foydalanilsa, qoldiqning qarshiligi kamayib, filtrlanish tezligi oshadi.

Mabodo kultural suyuqlikda foydalanilmay qolgan oziq muhiti moddolari mavjud bo'lsa, filtrlanish sekinlashadi. Fermentatsiya davomiyligi cho'zilib ketsa ham filtrlanish darajasiga salbiy ta'sir ko'rsatadi.

Ko'pchilik antibiotiklar kultural suyuqligining filtrlanish darajasini oshirish uchun mitseliylarni ajratishdan avval maxsus ishlov beriladi. Kultural suyuqlikning filtrlanishini oshirish uchun issiq koagulyatsiya, kislotali koagulyatsiya, elektrolit suyuqligi va polielektrolitlar bilan ishlov berish, suyuqlikda bevosita to'ldirgich koagulyantlar hosil bo'lishi uchun filtrlash kukunlari qo'shiladi. Odatda maqsaddagi mahsulotni bitta usul yordamida ajratib olishning amalda imkoniyati yo'q. Shu boisdan bir necha usullar kombinatsiyasidan foydalaniladi.

Nazorat savollari

1. Mikroorganizmlardan mahsulotlarni ajratish usullariga nimalar kiradi?
2. Flotatsiyalash nima?
3. Achitqi separatori qanday vazifani bajaradi?
4. Filtrlash turlarini sanab bering.

7 – amaliy mashg'ulot

Mikroorganizmlar kultural suyuqligidan oqsil moddalarini ajratib olish

Ishdan maqsad: mikroorganizmlarni ekish uchun oziq muhiti tayyorlash va sterilizatsiya qilish, o'stirish va hosil bo'lgan oqsilli moddalarni ajratib olishni o'rganishdan iborat.

Mikroorganizmlar uchun oziq muhiti tayyorlash, uni sterilizatsiyalash va unga produtsentlarni ekish usullari bilan mikrobiologiya fanining laboratoriya mashg'ulotlarida yetarli darajada tanishganligi sababli talabalar ushbu laboratoriya ishini quyidagi tavsiyalar asosida bajarishadi:

Produtsent: *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi shtammi laboratoriya muzeyidan texnik laborant tomonidan maxsus kosyaklarga ekilgan holda beriladi.

Produtsentni o‘stirish. Kultura agar-agar qo‘shilgan kartoshkali suyuq va qattiq oziq muhitlarida 28-30°C haroratda 5 kun davomida o‘stirib (suyuq oziq muhiti uchun mikrobiologik kachalkada; qattiq oziq muhiti uchun termostatda) olinadi.

Oziq muhitlari. Bakteriyalarni o‘stirish va saqlashda quyidagi oziq muhitlaridan foydalanish mumkin: go‘sht peptonli agar (GPA), go‘sht peptonli sho‘rva (GPSH), Xottinger ozuqasi, kartoshkali agar va suslo-agar (ma‘qul oziq muhiti murabbiy tomonidan tavsiya etiladi).

Dastlabki ekuv materialini tayyorlash. Ekish materialini o‘stirish uchun agarli kartoshka oziq muhiti kosyakda 2 kun davomida 28-30°C haroratda o‘stirilgan kulturadan foydalaniladi (texnik laborant tomonidan ta‘minlanadi);

Shundan keyin, kultura sig‘imi 750 ml bo‘lgan kolbalarda 100 ml oziq muhitiga ekilib, chayqalatgichda (200 tez/min) 48 soat davomida 28-30°C haroratda o‘stiriladi (100 ml oziq muhitiga 100 mln/hujayra). Ushbu kultura biomassasi oziq muhitidan sentrifugalash usulida (5000 tez/min) yoki Zaytsev filtrida ajratib olinadi (ma‘qul usul murabbiy tomonidan tavsiya etiladi).

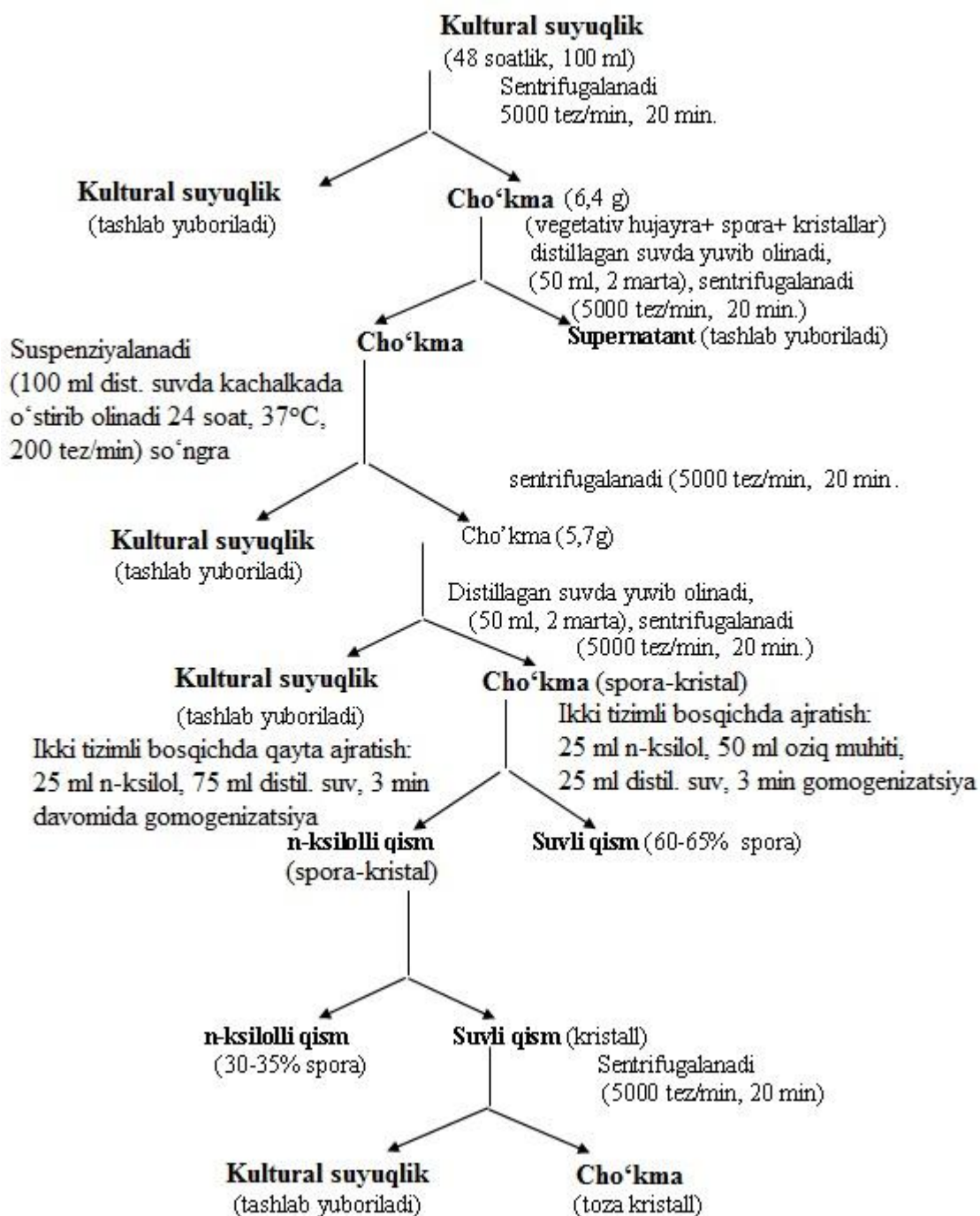
Sterilizatsiyalash sharoiti. Oziq muhiti 105-110°C haroratda 1 atmosfera bosimda 20 min. davomida sterillanadi. Oziq muhitining pH ko‘rsatkichi: sterilizatsiyagacha 7,0-7,2 va sterilizatsiyadan keyin 6,8-7,0 ga teng bo‘lishi lozim (zarur bo‘lganda pH ko‘rsatkichi mo‘tadillashtirilishi kerak, kulturaning mo‘tadil o‘sib rivojlanishi uchun oziq muhiti pH ko‘rsatkichini 7,4 da ushlab turish maqsadga muvofiqdir).

pH ko‘rsatkichi (suyuq oziq muhiti uchun). pH ko‘rsatkichi fermentatsiya jarayonigacha 6,8-7,0 bo‘lishi kerak; fermentatsiya jarayoni oxirida pH ko‘rsatkichi ko‘tarilib ketadi (8,0). Tabiiyki oziq muhitining ishqoriy holatga o‘tishi kristallarning kichik bo‘laklarga bo‘linib ketishiga olib keladi va bu keyingi kristall oqsillarni ajratib olishda qiyinchilik tug‘diradi. Shu boisdan fermentatsiya jarayoni

tugagandan so'ng, biomassani ajratib olishda kultural suyuqlikning pH ko'rsatkichini 6,2-6,4 darajasigacha keltirib olamiz. Bunda maqsadga muvofiq bo'lgan barcha kristall oqsillarni sentrifugalash (5000 tez/min. 20 min) orqali ajratib olishga erishiladi.

Buning uchun HCl ning kuchsiz eritmalaridan foydalanish mumkin.

Talabalarga quyidagi chizma asosida ishlash tavsiya etiladi:



16-rasm. Bakteriyalardan oqsil ajratib olish sxemasi

Nazorat savollari:

1. Oqsilni ajratib olish usullariga nimalar kiradi?
2. Dastlabki ekuv materiali qanday tayyorlanadi?
3. Sterilizatsiyalash sharoiti qanday bo'lishi kerak?
4. pH ko'rsatkichi nima uchun kerak?

8 – amaliy mashg'ulot

Mikrobiologik tahlil uchun namunalar olish

Ishdan maqsad: oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan amalda muhim ahamiyatga ega bo'lgan ayrim mikroorganizmlarning, shuningdek, oziq-ovqat mahsulotlarini buzadigan ko'p tarqalgan qo'zg'atuvchilarning elektiv kulturasidan namunalar olish usullari bilan tanishish.

1. Mikroorganizmlarning yig'ma (elektiv) kulturasini olish usullari

Tarkibida mikroorganizmlar yaqin turlarining yoki hatto bir turining vakillari ko'pchilikni tashkil etgan kulturalar yig'ma yoki elektiv deb ataladi (lotincha *eletus* – tanlangan degani). Oziq-ovqat mahsuloti (yoki boshqa ob'yekt)ning mikroflorasi tarkibini o'rganishda yig'ma kulturadan toza kultura ajratib olinadi. Yig'ma kultura olish uchun tekshiruvchini qiziqtiruvchi mikroorganizmlar ko'plab rivojlanishini ta'minlovchi sharoit yaratiladi. Buning uchun eng avvalo o'ziga xos tanlama muhitdan foydalaniladi; ular mikroorganizmlar muayyan guruhlarining oziq muhitiga bo'lgan fiziologik talabini eng to'liq ta'minlaydi. Bu muhitlar birga uchraydigan boshqa mikroorganizmlar uchun kam foydali yoki ular uchun umuman yaroqsiz bo'lishi kerak.

Muhit reaksiyasi (pH), harorat, kislorod bor-yo'qligi, antibiotiklarga va boshqa birikmalarga chidamliligi yig'ma kultura olishga ta'sir etadigan muhim omillardir. Masalan, muhitning kislotaliligini oshirib, bakteriyalarning rivojlanish imkoniyati yo'qotiladi va achitqi hamda mitseliyli zamburug'larning o'sishi uchun qulay sharoit yaratiladi. Termofil organizmlarning yig'ma kulturasini 45-65°C, ba'zan hatto 70-75°C haroratda olinadi. Muhitga ma'lum

konsentratsiyada penitsillin qo‘shilsa, grammanfiy bakteriyalarning yoki achitqilarning rivojlanishiga ta‘sir etadi. Neomitsin yoki penitsillin streptomitsin bilan birgalikda bakterial mikroflorani nobud qiladi va achitqilarning rivojlanishiga sharoit yaratadi. Nistatin esa aksincha, bakteriyalarga ta‘sir etmay, achitqilarning hayot faoliyatiga to‘sqinlik qiladi.

Aeroblarning yig‘ma kulturasini olish uchun oziq muhitni kolbalarga yupqa qilib (1,5-2 sm) quyib, tebratma uskunada (kachalkada) o‘stiriladi. Anaerob mikroorganizmlar bilan boyitish uchun muhit uzun probirkalarga yoki flakonchalarga to‘ldirib quyiladi.

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

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

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

Sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig‘ma kulturasini olish. Bunda qattiq, tuzlangan sabzavot va mevalar, o‘simliklar guli yoki bargi va boshqa ob‘yektlar sut kislota hosil qiladigan bakteriyalarni ajratib olish uchun boshlang‘ich material bo‘lib xizmat qiladi. E.I. Kvasnikov sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning spirtga chidamliligini hisobga olib, sut kislota hosil qiluvchi mezofil bakteriyalarning yig‘ma kulturasini olishning quyidagi usulini taklif etdi: tekshiriladigan material optimal muhitga ekiladi va 18-24 soatdan keyin unga etil spirt qo‘shiladi. Sut kislota hosil qiluvchi kokklarni ajratib olish uchun muhitdagi spirt konsentratsiyasini 8-10 hajm %, sut kislota hosil qiluvchi tayoqchalar uchun 12-14 hajm % darajada saqlash

mumkin. Spirtli manbalar (sharob, brajka, pivo) dan ajratib olingan ba'zi turlar (*Lactobacillus buchneri*, *L. brevis*, *L. vermentii*) uchun spirt konsentratsiyasi 16-18 hajm % gacha oshiriladi. Sut kislota hosil qiluvchi termofil bakteriyalarning yig'ma kulturasini olish uchun solod sharbati bo'lgan kolbaga ozgina yanchilgan arpa yoki arpa solodi qo'shib, termostatda 48-50°C da saqlash mumkin. 1-2 kundan keyin muhit qavatida tovlanadigan kuchsiz to'liqinsimon loyqa paydo bo'ladi; mikroskopda tekshirilganda ingichka uzun, harakatlanmaydigan sporasiz tayoqchalar ko'rinadi.

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

Spora hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma kulturasini olish. Bu kulturalar dastlab pasterizatsiya qilingan substratlardan olinadi. *Bacillus subtilis* ning yig'ma kulturasini uchun maydalab qirg'ilgan pichan ustiga 40°C gacha isitilgan suv quyib, keyin 10-15 minut qaynatiladi. 2-3 kundan keyin substrat yuzasida akatsiya hidi anqib turadigan kulrang-ko'k plyonka hosil bo'ladi. U *B. subtilis* tayoqchalaridan tashkil topgan bo'ladi.

Moy kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma kulturasini olish. Buning uchun bo'r (mel) qo'shilgan va sterillangan kartoshkali

muhitdan foydalaniladi. Muhitni probirkalarga 10 ml dan yoki 100 ml li kolbachalarga 80 ml dan quyib oquvchan bug‘da yoki avtoklavda 0,05 Mpa da sterillanadi. Ekishdan oldin muhitni albatta 20-30 minut qaynatib, keyin tezda suv bilan sovutiladi. Boshlang‘ich materialni sterillangan suvda ishqalab, probirkalarga 1-2 ml dan yoki kolbalarga 8-10 ml dan ekiladi. Bulardan tashqari, shakarning 10% li eritmasi to‘latilgan va tubida bo‘r cho‘kmasi bo‘lgan ingichka uzun bo‘yinli kolbaga ham ekish mumkin. Muhitga kichik bo‘lak aynigan pishloq qo‘shiladi. Moy kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig‘ma kulturasini olishning oddiy (sodda) usuli quyidagicha: uzun bo‘yinli kolbaga po‘chog‘i archilmagan kartoshkadan bir necha bo‘lak solib, ustiga suv quyiladi va 80°C da 10 minut pasterillanadi, shundan keyin termostatga 37°C issiqqa qo‘yiladi. 1-2 kundan keyin mikroskopda qaralganda suyuqlikda spora hosil qiluvchi juda ko‘p tayoqchalar borligini ko‘rish mumkin.

Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig‘ma kulturasini olish. Buning uchun 50 ml hajmli konussimon kolbaga oziq muhiti – pasterlangan pivodan yupqa qatlam qilib, (1-1,5 sm) quyib, yana 1 mm 15% li sirka kislota qo‘shiladi. Muhitga kislota qo‘shish sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning rivojlanishiga to‘siqlik qilmaydi, lekin begona mikrofloraning o‘rishini cheklab qo‘yadi. Kolba termostatga 25-30°C issiqqa qo‘yiladi. 2-3 kundan keyin pivo yuzasida sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar plyonkasi paydo bo‘ladi. Spora hosil qilmaydigan bu bakteriyalar mayda tayoqchalardir, ular harakatchan yoki harakatlanmaydigan bo‘ladi. Sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig‘ma kulturasini solodli yoki karamli muhitda ularga 4 hajm % etil spirt va 20 birlik/ml monomitsin antibiotigi qo‘shib va bu muhitlarga achigan sharob, pivo yoki boshqa materiallarni ekish yo‘li bilan olinadi.

Chirituvchi bakteriyalarning elektiv kulturasini olish. Protey (*Proteus vulgaris*) va kartoshka tayoqchasi (*Bas. mesentericus*) chirituvchi bakteriyalarning tipik vakillari hisoblanadi. Bularning yig‘ma kulturasini olish uchun ichida sterillangan GPB bo‘lgan probirkaga ozgina tuproq solinadi. Probirkani og‘zi paxta tiqin bilan

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

Proteylarning yig'ma kulturasini olish. Protey nihoyatda harakatchanligi bilan xarakterlanadi, mayda tayoqcha shaklida bo'lib, spora hosil qilmaydi, Gram usulida bo'yalmaydi. Ayrim tur xillari toksin ishlab chiqaradi. Bu bakteriyalar ko'paygan mahsulot iste'mol qilinsa, zaharlanish mumkin. Yig'ma kultura olish uchun qiya go'sht-pepton agarli probirkaga bug'doy donidek aynigan go'sht tashlab, og'zi paxta tiqin bilan berkitiladi va termostatda 30°C issiqda 1-2 kun saqlanadi. Protey faol harakatlanadigan bo'lgani uchun boshqalardan oldin qiya agar yuzasida chirmashib o'sib, uning yuqori qismida o'ziga xos och havorang-kulrang mayin g'ubor hosil qiladi. Ana shu g'ubor (nalyot)ning eng yuqori qismidan olib "ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi va mikroskopda qaraladi. Bunda hujayralarning shakli va harakatchanligi qayd etiladi.

Kartoshka tayoqchasining yig'ma kulturasini olish. *Bacillus mesentericus* spora hosil qiluvchi harakatchan tayoqcha. Uning yig'ma kulturasini olish sporalarining issiqqa chidamligiga va ishlatiladigan oziq muhitining o'ziga xosligiga (spetsifikligiga) bog'liq. 1 sm qalinlikdagi 1-2 bo'lak kartoshkani olib, hujayra shirasining kislotalarini neytrallash

uchun har tomoni bo‘r bilan ishqalanadi. Keyin shu kartoshka bo‘lakchalarini Petri likopchasiga qo‘yiladi. So‘ngra likopchani Kox apparatiga qo‘yib, oquvchan bug‘da 100°C da 10 minut qizdiriladi. Sovitilgandan keyin termostatga qo‘yib, 30°C da 2-3 kun saqlanadi. Kartoshka bo‘lakchalari ustida *B. mesentericus* jigarrang mayda yoki yirik burmali g‘ubor shaklida o‘sadi. G‘uborni mikroskopda ko‘riladi, “ezilgan tomchi” va oddiy usulda bo‘yalgan preparat tayyorlanadi.

2. Toza kultura ajratib olish usullari

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

Bitta koloniyadan toza kultura ajratib olish. Bu usulni mikrobiologiya hammomida eritiladi, so‘ngra 45-50°C gacha sovitiladi va Petri likopchasiga quyiladi. Buning uchun muhitli idishni o‘ng qo‘lda qiya ushlab, paxta tiqini olinadi. Keyin idishning og‘zi gorelka alangasida qizdirib olinadi, chap qo‘lning bosh va ko‘rsatkich barmoq bilan likopchaning qopqog‘ini ochib, eritilgan muhit tezda quyiladi (15-20 ml); bunda likopchaning tubi to‘liq qoplanishi kerak. Keyin likopcha qopqog‘ini tezda berkitib, muhit soviguncha tinch qoldiriladi.

Aerob mikroorganizmlar yuza usulda ajratib olinadigan bo‘lsa, bir tomchi yig‘ma kultura yoki uning suyultirmasi ilmoqda yoki pipetkada sovigan muhit o‘rtasiga tomiziladi (likopcha qopqog‘ini qiya ochib turib). Keyin uni sterillangan shisha shpatelda likopchadagi muhit yuzasiga yoyiladi. Shundan so‘ng material qoldig‘i bo‘lgan shu shpatel ikkinchi, uchinchi, kamdan-kam holda to‘rtinchi Petri likopchasidagi muhit yuzasiga surkab chiqiladi. Bunda likopchalar qopqog‘i faqat shpatel dezinfeksiyalovchi eritmaga botirib qo‘yiladi. Sanoatda ishlab chiqarilgan achitqilardan, brajka, sut, suv, pivo, sharob, kvas, qimiz, xamir, tuproq, xom ashyo yuvindi suvlari, jihozlar va hokazolardan ham

ana shu yo'l bilan toza kultura olish mumkin. Buning uchun oldin sterillangan suvda yoki fiziologik eritmada suyultirma tayyorlab olinadi.

Yig'ma kulturani qattiq oziq muhiti yuzasiga shtrix usulida ekish ham mumkin. Buning uchun ekish materialidan ilmiqda bir tomchi olib, 2-3 ta Petri likopchasidagi agar plastinkasi bo'ylab parallel yoki zigzagsimon shtrix bo'ylab ekiladi. Suyultirilgan yig'ma kultura bitta likopchaga shtrix usulida ekiladi.

Nazorat savollari:

1. Mikroorganizmlarning yig'ma kulturasini olish usullarini sanab bering.
2. Sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalarning yig'ma kulturasini olish qanday amalga oshiriladi?
3. Proteylarning yig'ma kulturasini olish usulini izohlang.
4. Toza kultura ajratib olish usullarini ko'rsatib bering?

9-amaliy mashg'ulot

Mikroorganizmlar sonini aniqlash

Ishdan maqsad: hisoblash kameralarida, fiksirlab bo'yalgan mazoklarda mikroorganizmlar hujayrasini sanash usullarini o'zlashtirish. Quyuq muhitda o'stirish yo'li bilan hujayralar sonini hisoblash. Mikrob biomassasini aniqlash, aerob va anaerob mikroorganizmlarni o'stirish yo'llarini o'rganish. Tashqi muhit omillarining mikroorganizmlarga ta'sirini bilib olish.

1. Mikroorganizmlar hujayrasini bevosita sanash

Hujayralarni hisoblash kamerasida sanash. Goryaev, Tom-Seys, Byuker va boshqalar kamerasida yirik mikrob hujayralarini – achitqilarni, bir hujayrali suv o'tlari, sporalar, zamburug'lar, ayrim bakteriyalarni sanash mumkin. Goryaevning hisoblash kamerasi qalin buyum oynasi bo'lib, to'rtta chuqur chiziq bilan ko'ndalang joylashgan uchta maydonchaga bo'lingan. O'rtadagi maydoncha ko'ndalang chiziq bilan ikkiga bo'lingan. Har qaysi yarmi to'rsimon bo'lingan. Yon

tomondagi maydonchalar o'rtadagidan 0,1 mm balandroq (kamera chuqurligi) bo'lib, uning ustiga qoplag'ich oyna zich yopiladi.

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

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

Non pishirish sanoati yarim fabrikatlar namunasini tayyorlashda G.M. Smirnova ishlab chiqqan usulga asoslanish mumkin: bunda 1 g namunani xovonchada 3-5 ml spirt bilan ezib (spirt oz-ozdan qo'shiladi), keyin 100 ml hajmli kolbachaga solinadi va 40-50 ml ga yetguncha suv qo'shiladi; to'xtovsiz chayqatib turib 1 ml 30% li natriy gidroksid (yoki kaliy gidroksid) eritmasi qo'shiladi. Keyin kolbacha 10 minut 70°C issiq bo'lgan suv hammomiga botirib qo'yiladi. Hidroliz tugagandan keyin belgigacha suv qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi. Suspenziyadan 10 ml olib, probirkaga solinadi va 5 tomchi metilen ko'ki hamda 3-4 tomchi karbolli fuksin qo'shiladi. Achitqilar hujayrasi to'q binafsha rangga, bakteriyalar hujayrasi havo rangga bo'yaladi.

Kamera va maxsus silliqqlangan qoplagich oynani yaxshilab yuvib quritiladi. Setkalar yuzasiga tayyorlangan kultura aralashmasidan kichik tomchi tomizib, qoplagich oyna bilan yopiladi. Oyna tagidagi suyuqlik kataklar bo'ylab bir tekis tarqalishi, pufakchalar hosil bo'lmasligi kerak. Suyuqlikning hajmi kameraning hisoblanadigan hajmiga mos kelishi uchun to Nyuton halqalari deb ataladigan halqalar paydo bo'lguncha qoplagich oyna kameraning yon maydonchasiga ishqalanaveradi.

Qoplagich oynani oldin ishqalab, keyin pipetkada kamerani mikroorganizmlar suspenziyasi bilan to'ldirish ham mumkin. Hujayralar cho'kishi va bir tekisda (bir sathda) ko'rinishi uchun kamera to'ldirilgandan 3-5 minutdan keyin hisoblash boshlanadi. Mikroorganizmlarning harakatchan formalarini kataklarga tushirishdan oldin ularni isitib yoki suspenziyaga 0,5% formalin qo'shib nobud qilinadi.

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

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

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

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

Preparat tayyorlash. Tekshiriladigan suspenziyadan aniq hajmda (odatda, 0,02 dan 0,05 ml gacha) olib, mikropipetkada yaxshilab yog'sizlantirilgan va quritilgan buyum oynasiga tomiziladi; bu buyum oynasi maydoni 6 yoki 4 sm² qilib chizilgan millimetr qog'ozga joylashtirilgan bo'ladi. Keyin suspenziya tomchisiga agar-agarining sterillangan 0,03% li suvli eritmasidan bir tomchi qo'shib, sterillangan biologik ilmoq bilan tez aralashtiriladi va qog'ozda belgilangan maydonga bir tekis taqsimlanadi. Mazokni havoda quritib, 96% li spirt

bilan 20-30 minut fiksirlanadi va ma'lum vaqt davomida u yoki bu bo'yoq bilan bo'yaladi. Keyin preparat ehtiyotlik bilan kristallizatorida suvda yuviladi. Preparat suv tiniq bo'lib qolguncha bir necha marta yuviladi. Tayyor bo'lgan preparat havoda quritiladi.

Mikroorganizmlar hujayrasi immersion ob'yektivda okulyarga o'rnatilgan okulyar to'ridagi kvadratlardan sanaladi. Preparatni diagonal bo'yicha u yoq bu yoqqa surib, to'rdagi 50-100 ta kvadratdagi (kamida 10 ko'rish maydonidagi) mikroorganizmlar hisobga olinadi. Okulyar setkasi bo'lmasa, mikroskopning butun ko'rish maydonidagi hujayralarni sanash mumkin. Amaliy maqsadga muvofiqlik nuqtai nazaridan qaralganda hisoblangan hujayralarning umumiy soni (Σx) 600-1000 birlikka teng bo'lganda maksimal aniqlikka erishiladi.

Olingan ma'lumotlarga asoslanib, setkaning kvadratidagi hujayralarning o'rtacha soni aniqlanadi;

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n};$$

bu yerda: n - setkadagi hujayralar soni sanalgan kvadratlar (ko'rish maydoni). Ishonchli intervalni aniqlashda variant uchun o'rta kvadratli o'zgarish ushbu formula bo'yicha hisoblanadi:

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

95% ga teng darajali ko'rsatkichda ($R_{0,95}$) to'ring kvadratidagi (ko'rish maydonidagi) ehtimolga yaqin bo'lgan hujayralar soni ushbu formuladan foydalanib hisoblanadi: $x \pm 2 \sigma X$.

$R_{0,99}$ da ishonchli interval $\pm 2,7 \sigma X$ ga muvofiqdir.

O'rganilayotgan substratning 1 g (1 ml) dagi hujayralarning ehtimolga eng yaqin sonini aniqlash uchun suyultirilganligini, suspenziyaning hajmini, surtmadagi okulyar setkasi kvadrati maydonini (ko'rish maydonini) hisobga olish zarur. Okulyar to'ri kvadratining maydoni (ko'rish maydoni) ob'yektiv mikrometr yordamida aniqlanadi. Ob'yekt-mikrometrni mikroskop stolchasiga preparat o'rniga qo'yib,

hujayralar sanalgan kattalashtirishda to‘r kvadratining tomoni (yoki ko‘rish maydonining diametri) o‘lchanadi. Kvadratning tomonini bilgandan keyin, uning maydoni – S aniqlanadi. Ko‘rish maydoni $S=\pi R^2$ formula bo‘yicha hisoblab topiladi.

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

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

Bu yerda: S – to‘r kvadratining maydoni (mkm^2), 0,05 – olingan suspenziyaning miqdori, $6*10^8$ – surtmaning maydoni, K – suspenziyaning suyultirilganligi.

2. Qattiq oziq moddali muhitga ekish usuli bilan mikroorganizmlar miqdorini aniqlash (Kox usuli)

Tabiiy va ishlab chiqarishdagi substratlardagi (suv, tuproq, xom ashyo, yarim tayyorlangan mahsulotlar va tayyor mahsulotlardagi) mikroorganizmlar miqdorini aniqlashda mazkur usul keng qo‘llaniladi. Har qanday tirik hujayra qattiq muhitga ekilganda koloniya hosil qiladi, deb hisoblaymiz.

Buni tahlil qilish uch bosqichda bajariladi: namunali suyultirish, Petri likopchasidagi qattiq muhitga ekish va o‘sib chiqqan koloniyalarni hisobga olish (sanash).

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

Birinchi suyultirishda hosil qilingan suspenziya sterillangan pipetka bilan yaxshilab aralashtiriladi. Buning uchun suspenziya bir necha marta pipetkaga tortib, yana chiqarilaveradi. So‘ngra shu

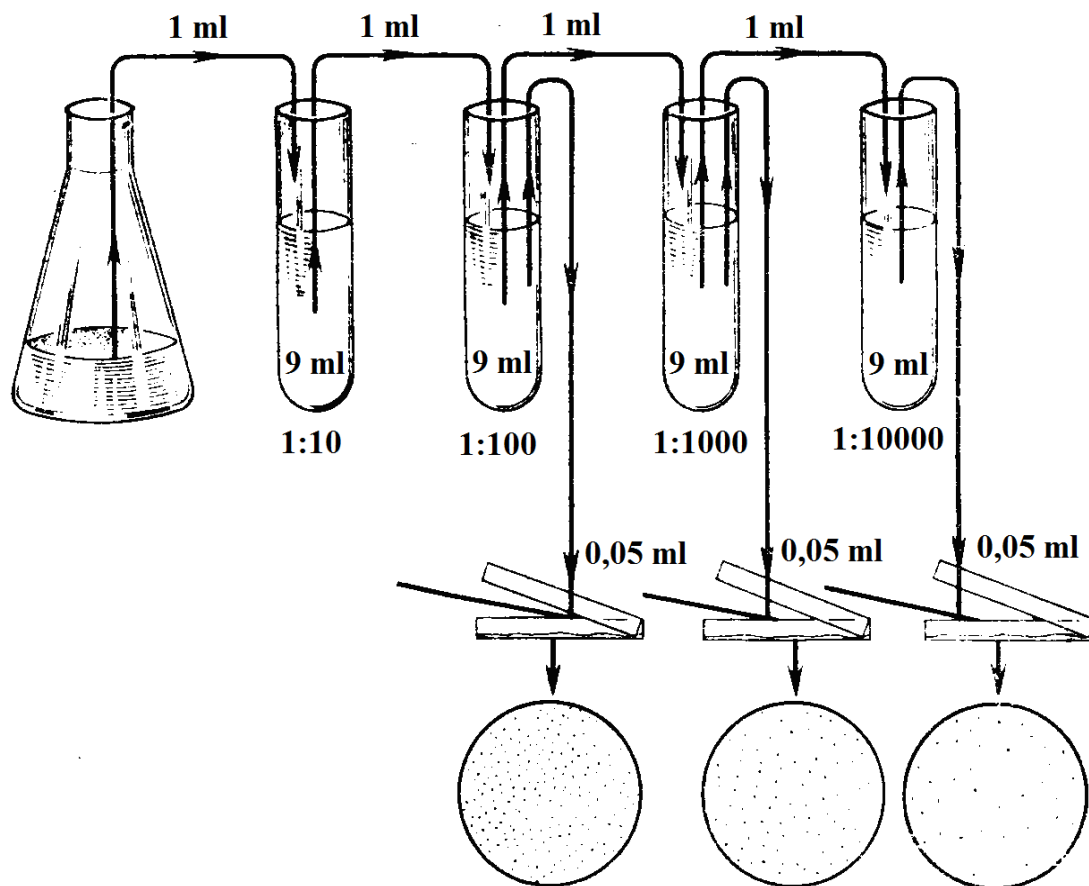
pipetkada 1 ml suspenziya olib, ichiga 9 ml suv quyilgan ikkinchi probirkaga qo‘shiladi – bu ikkinchi suyultirish – $1:10^2$. Yana boshqa pipetka olib, xuddi yuqoridagi usulda uchinchi marta suyultiriladi – $1:10^3$, so‘ngra dastlabki (boshlang‘ich) materialdagi mikroorganizmlar miqdoriga qarab, 10 martagacha suyultirilaveradi.

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

Ekish uchun sterillangan o‘lchov pipetkasidan foydalaniladi. Unda suyultirilgan tegishli suspenziyadan ma’lum hajmda: 0,05; 0,1 yoki 0,2 ml (0,5 ml dan oshmasligi kerak) olib, likopchalardagi muhitga qo‘shiladi. Keyin sterillangan shpatel bilan qattiq muhit yuzasiga bir tekis yoyiladi. Agar suyultirilgan suspenziyada mikroorganizmlar konsentratsyasi yuqori bo‘lsa, shu shpatel bilan ikkinchi, ba’zan uchinchi likopchadagi oziq muhitning yuzasiga ham surkaladi. Agar konsentratsyasi past bo‘lsa (ya’ni hujayralar kam bo‘lsa), faqat bitta likopchaga shpatelda suyultirilgan suyuqlik yuqtiriladi. Ketma-ket suyultirilgan kamida uchta suspenziyadan olib ekiladi. Parallel ekishda bitta pipetkadan foydalanilaveradi. Boshqa suyultirilgan suspenziyadan foydalanishda sterillangan yangi pipetka ishlatiladi. Har xil darajada suyultirilgan suspenziyalardan olib ekishda bitta pipetkadan foydalanish mumkin, lekin ekishni eng ko‘p suyultirilgan suspenziyadan boshlash kerak. Har qaysi suyultirilgan suspenziya uchun albatta sterillangan yangi shpatel olinadi.

Chuqur qilib ekishda sterillangan pipetkada tegishli suspenziyadan 1 ml dan olib, sterillangan 2-4 ta parallel Petri likopchasidagi muhitga

quyiladi. Soʻngra eritib, 46-48°C gacha sovutilgan agarli muhitdan 15-20 ml olib, ehtiyotlik bilan likopchaga qoʻshiladi.



17-rasm. Aralashtirib suyultirishlarni tayyorlash sxemasi va ularni Petri likopchalariga ekish

Keyin qopqogʻini yopib, tezda likopchani sekin-sekin aylantirib, ichidagi oziq muhiti bilan ekilgan material yaxshilab aralashtiriladi. Shundan soʻng muhit sovishi uchun gorizontol holatda saqlanadi. Ekilgan va tegishli yozuvlar yozilgan likopchanning tubini yuqoriga qaratib termostatga qoʻyiladi; bunda harorat mikroorganizmlarning oʻsishi uchun qulay boʻlishi kerak. Anaeroblar hujayrasini hisoblash uchun ichida tekshiriladigan material boʻlgan likopchalar anaerostatga joylashtiriladi.

Koloniylarni sanash. Mikroorganizmlarning turli guruhleri bir xil tezlikda oʻsmaydi. Baʼzilari tez, boshqalari sekin oʻsadi. Shuning uchun bakteriyalar koloniyasi 2-3, zamburugʻlar bilan achitqilar koloniyasi 5-7, aktinomitsetlarniki 7-15 kundan keyin sanaladi. Koloniylarni sanash uchun bir-biridan narida oʻsgan va kamida 50-300

ta koloniya bo'lgan likopchalar tanlab olinadi. Likopchalarni qora fonga to'ntarib qo'yib, 8-10 marta kattalashtirib ko'rsatadigan lupada koloniyalar sanaladi. Har gal koloniyani sanab bo'lib, likopchaning ustiga siyohda yoki qalam bilan belgi qo'yiladi. O'sib chiqqan koloniyalar nihoyatda ko'p bo'lsa, Petri likopchasining tubi 4, 8 yoki 16 ta bir xil (teng) qismga bo'linib, har bir qismdagi koloniyalar sanaladi va natijasi umumlashtiriladi. Bir nechta qismdagi (lekin likopchadagi muhit maydonining kamida 1/3 qismidagi) koloniyalarni sanab, o'rtacha arifmetik qiymatini topish va butun likopchadagi qismlarning umumiy soniga ko'paytirish mumkin.

3. Mikrob biomassasini aniqlash

Biomassani tortib ko'rish yo'li bilan aniqlash. Bu usul ishlab chiqarish va ilmiy tadqiqot laboratoriyalarida quruq yoki nam biomassa holdagi mikroorganizmlar sonini bilvosita aniqlash maqsadida qo'llanadi. Odatda, biomassa miqdorini aniqlashda 1 l muhitga nisbatan gramm yoki milligrammlardan ifodalanadi.

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

Mikroorganizmlar hujayrasini sentrifugalash. Kultural suyuqlikdagi bakteriyalar va achitqilar hujayrasi sentrifugalash yo'li bilan ajratib olinadi. Buning uchun yaxshilab aralashtirilgan kulturadan pipetkada aniq miqdorda olib, quritilgan sentrifugalash probirkalariga solinadi. Sentrifugalash vaqti (qancha davom etishi) va aylanish soni hujayralarning yirik-maydaligiga bog'liq. Bakteriyalar minutiga 5-7

ming oborotda (aylanishda) 15-20 minut, achitqilar 3,5-4,0 ming aylanishda 5-10 minut sentrifugalanadi. Choʻkma yuzasidagi suyuqlikni ehtiyotlik bilan quyib olib, choʻkma fiziologik eritma yoki kuchsiz kislotali distillangan suv (1 l suvga 1 ml konsentrlangan HCl hisobidan) bilan yuviladi va yuqorida aytilgan aylanishda yana sentrifugalanadi. Yuvib boʻlgandan keyin suvni toʻkib, choʻkma probirkada qoldiriladi (agar u shishadan yasalgan boʻlsa). Agar probirkalar polietilendan yasalgan boʻlsa, choʻkma miqdoriy ravishda distillangan suv bilan oldindan quritilgan shisha byukslarga quyib olinadi.

Mitseliyli zamburugʻlar va aktinomitsetlarning, shuningdek, achitqichlar va bakteriyalarning hujayralarini kultural suyuqlikdan ajratib olishda kulsizlantirilgan qogʻoz filtrlardan va membrana filtrlardan foydalanish mumkin. Buning uchun shisha voronkaga yoki Byuxner voronkasiga ikki qavat qogʻoz filtr qoʻyib, aniq miqdorda olingan kultura filtrlanadi. Jarayonni tezlashtirish maqsadida vakuum ostida filtrlash mumkin. Filtrda qolgan choʻkma bir oz kislotalangan distillangan suv bilan yuviladi. Bakteriyalar hujayrasini ajratib olishda membrana filtrlardan foydalaniladi; filtrlarni shunday tanlash kerakki, ularning teshiklari bakteriya hujayrasidan mayda boʻlishi kerak.

Hujayralar massasini aniqlash. Ichida mikroorganizmlar hujayrasining choʻkmasi boʻlgan sentrifugalash probirkalari (byukslar) yoki filtrlar quritish shkafiga qoʻyib, 30 da, soʻngra 100-105°C da 2 soat quritiladi. 4 soatdan keyin birinchi marta, soʻngra har 1 soatda tortib koʻriladi. Har gal tortishdan oldin probirkalar, byukslar va filtrlar eksikatorida sovutiladi. Qurish protsessini tezlashtirish maqsadida majburiy ventilyatsiyali vakuum-quritish shkaflaridan, infraqizil nurli lampalardan foydalaniladi. Filtrlardagi biomassani K.N. Chijova asbobida tez quritish mumkin. U tekshirilayotgan namunani suvsizlantirish prinsipiga asoslanagan, isitilgan qoramtir jismdan tarqalayotgan infraqizil nurlar bilan 5-7 minut davomida 160°C gacha isitish orqali amalga oshiriladi.

Quruq biomassa miqdori (g/l hisobida).

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

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

Biomassani tortish usulida aniqlashda ikkita parallel namuna olinadi.

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

Yorug'likning tarqalishi miqdori fotoelektrokolorimetrlarda, nefelometrlarda (FEKN-57, FEKN-56M va boshqalarda) o'lchanadi. Ularning ishlash prinsipi va yorug'likning tarqalishini o'lchash tartibi fizik-kimyoviy usullarga doir qo'llanmalarda va instruksiyalarda (priborlarga ilova etilgan) ta'riflangan bo'lib, eritmalarining optik zichligini o'lchashdan farq qilmaydi.

GPB da yoki solod sharbatida suspenziya hosil qilingan bakteriya va achitqilar hujayrasini tekshirishda qizil filtrda o'lchash, ko'k-yashil suvo'tlarni yashil filtrda o'lchash eng qulaydir. Kultural muhitda hujayralar konsentratsiyasi yuqori (hujayralar nihoyatda ko'p) bo'lsa, yorug'lik tarqalishi kuchayadi, bu esa past natija olinishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun hujayralar nihoyatda ko'p bo'lgan bunday suspenziyaning oziq muhitini yoki suv bilan suyultirish kerak. Bitta kulturaning namunasini har xil suyuqliklar bilan suyultirish mumkin emas, chunki hujayralarning bo'rtib qolishi va qisilishi yorug'lik tarqalishi darajasiga ta'sir etadi.

Hujayralar soni (biomassa) yo bevosita nefelometrning ko'rsatishi bo'yicha, yoki yorug'lik tarqalishi miqdori bilan hujayralar soni yoki hajm birligidagi quruq biomassa orasidagi o'zaro bog'liqlik egri chizig'i bilan ifodalanadi.

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

O'lchov egri chizig'i bo'yicha hujayralar soni quyidagicha aniqlanadi. Analiz qilinayotgan namunaning yorug'lik tarqatishi o'lchanadi, ordinatalar o'qidan olingan songa mos nuqta topiladi. Ana shu nuqta orqali o'lchash egri chizig'i bilan kesishguncha absissalar o'qiga parallel chiziq o'tkaziladi.

Perpendikulyarning absissalar o'qi bilan kesishish nuqtasi tekshirilayotgan namunadagi hujayralar soniga (biomassasiga) mos keladi.

Nazorat savollari:

1. Qattiq oziq moddali muhitga ekish usuli bilan qanday mikroorganizmlar miqdorini aniqlash mumkun?
2. Hujayralarni hisoblash kamerasida sanash qanday amalga oshiriladi?
3. Mikrob biomassasini qanday aniqlash mumkun?
4. Preparat qanday tayyorlanadi?

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati

1. Давранов Қ.Д., Хўжамшукуров Н.А. Умумий ва техник микробиология. Тошкент. Ўзбекистон энциклопедияси. 2004. - 279 б.
2. Егорова, Т.А. Основы биотехнологии. / Т.А. Егоровой, С.М. Клуновой, Е.А. Живухиной. М.: Академия. 2003. – 208 с.
3. Рогов И.А. Антипова Л.В., Шиваева Г.П. Пищевая биотехнология. В 4 книгах книга 1: Основы пищевой биотехнологии. – Колос, 2004. – 440 с. ИСБН: 5-9532-0104-4. Давранов К.Д. Микроблар дунёси. Тошкент. ТошДАУ нашриёти, 2002 йил. 298 б.
4. Давранов К.Д., Хўжамшукуров Н.А. Умумий ва техник микробиология. Тошкент. ТошДАУ нашриёти, 2004 йил. 279 бет.
5. Хо'jamshukurov N.A. Sanoat mikrobiologiyasi fanidan ma'ruza matnlari. T.: TKTI, 2013. – 126 b.
6. Хо'jamshukurov N.A., Nurmammedova V.Z. Sanoat mikrobiologiyasi fanidan amaliy mashg'ulotlar uchun uslubiy qo'llanma. T.: TKTI, 2013. – 100 b.
7. Прунтова О.В., Сахно О.Н. Лабораторный практикум по общей микробиологии. Владимир 2005. -77 с.
8. Иноғомова М., Ваҳобов А. Ҳ. Микробиология ва вирусология асослари. Ўзбекистон Миллий Университети – 2008. -181 б.
9. Ферментационные аппараты для процессов микробиологического синтеза / А.Ю. Винаров, Л.С. Гордеев, А.А. Кухаренко, В.И. панфилов: под ред. В.А. Быкова. – М: ДеЛи Принт, 2005. – 278 с.

Qo'shimcha adabiyotlar

1. Vahobov A. Mikrobiologiya va virusologiya. Ma'ruza matni. T., 2001.
2. Саломов Х.Т. Ахмедова З.Р., Саломов Ш.Ш. Микробиология асослари. Т. Меҳнат, 2002.

3. Yusupova I.M. Umumiy mikrobiologiya. Ma'ruza matni. Qo'qon, 2003.
4. Yusupova I.M. Umumiy mikrobiologiya fanidan mashg'ulotlar. Qo'qon, 2003.
5. Шевелуха В.С. Биотехнология и безопасность (научно-учебное обзор). Россия, РАСХН, Журнал Биология, 3-том. 2002, с.16.
6. Saxena S. Applied Microbiology. Springer India, 2015.
7. Jacquelyn G. Black. Microbiology, 8th Edition International Student Version. Wiley. United States of America, 2012.
8. Didier Montet, Ramesh C. Ray. Fermented Foods, Part I: Biochemistry and Biotechnology. Taylor & Francis Group: CRC Press. United States of America, 2015.
9. Barredo, José-Luis. Microbial Processes and Products. Springer. United States of America, 2016.

Mundarija

№	Amaliy mashg‘ulot nomlari	Betlar
1.	1 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari.....	3
2.	2 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Ishlab chiqarish jarayonida sanitariya-gigiena qoidalaridan foydalanish me‘yorlari va usullari.....	4
3.	3 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikroorganizmlarni o‘stirish uchun oziq muhitlari tayyorlash usullari.....	8
4.	4 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikroorganizmlar oziq muhitlarini sterillash uskunalari bilan ishlash usullari.....	26
5.	5 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikroorganizmlarni o‘stirishda foydalaniladigan uskunalar bilan ishlash.....	38
6.	6 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikroorganizmlardan mahsulotlarni ajratish usullari.....	43
7.	7 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikroorganizmlar kultural suyuqligidan oqsil moddalarini ajratib olish.....	51
8.	8 – <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikrobiologik tahlil uchun namunalar olish.....	54
9.	9- <i>amaliy mashg‘ulot</i> . Mikroorganizmlar sonini aniqlash.....	60
10.	Foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati.....	71

Qaydlar uchun

Qaydlar uchun

Tuzuvchi: Sattorov M.E.

“Sanoat mikrobiologiyasi” fanidan amaliy mashg‘ulotlarni bajarish uchun uslubiy ko‘rsatma.

Muharrir: Sidikova K.A.

Musahhih: Miryusupova Z.M.