

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА
МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

«ОЗИҚ-ОВҚАТ МАҲСУЛОТЛАРИ ТЕХНОЛОГИЯСИ»
ФАКУЛЬТЕТИ

«КОНСЕРВАЛАНГАН ОЗИҚ-ОВҚАТ МАҲСУЛОТЛАРИ
ТЕХНОЛОГИЯСИ» КАФЕДРАСИ

«КОНСЕРВА МАҲСУЛОТЛАРИ ВА ХОМ АШЁСИ
МИКРОБИОЛОГИЯСИ» фанидан

лаборатория ишларини бажариш бўйича
УСЛУБИЙ ҚЎЛЛАНМА

ТОШКЕНТ – 2007

Мазкур услубий қўлланма Тошкент кимё-технология институти «Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси» факультети магистратура таълим йўналишининг «Консерванган озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси» мутахассислиги I курс магистрант талабалари учун «Консерва маҳсулотлари ва хом ашёси микробиологияси» фанидан лаборатория ишларини бажаришга мўлжалланган.

Тузувчилар:

т.ф.н. Чориев А.Ж.,
инж. Асатуллаева Ф.Х.

Тақризчи:

доц. Ҳакимова Ш.И.

Услубий қўлланма ТКТИ “КООМТ” кафедрасининг мажлисида кўриб чиқилди ва “ООМТ” факультети илмий-услубий кенгашига тавсия этилди.

Баённома №_____ 200__ й.

ТКТИ “ООМТ” факультети илмий-услубий кенгашининг мажлисида тасдиқланган.

Баённома №_____ 200__ й.

К И Р И Ш

Майда (кўзга кўринмайдиган) организмлар – микроблар, уларнинг тузилиши ва ҳаёт фаолиятини ўрганадиган фан микробиология деб аталади. Микробиология грекча сўз бўлиб, микрос-майда, биос-ҳаёт, логос-фан деган маънони билдиради.

Организмларнинг бу бирикмасига оддий бўлиниш йўли билан кўпаядиган бактериялар, энг майда вируслар ва бактериофаглар ва бактерияларга яқин турувчи микроорганизмларнинг айрим вакиллари киради. Морфологик хусусиятлари бирмунча хилма-хил бўлган оддий организмларни битта гуруҳга бирлаштиришга, уларнинг фақат морфологик жиҳатдан яқинлиги эмас, балки ўстириш ва текшириш усулларининг умумийлиги ҳам сабаб қилиб олинган.

Микробиология микроорганизмларнинг морфологиясини, систематикаси ва физиологиясини ўрганади.

Микробиология агрономия фанлари билан мустаҳкам алоқададир. Бунда органик ва минерал ўғитларнинг ўзгаришини ўрганиш мумкин.

Қишлоқ хўжалигида тупроқни ҳолати ва унинг микрофлорасини ўрганаётганди, ундаги микроорганизмларнинг ҳаёт фаолиятини эътиборга олиш керак. бундан кўриниб турибдики, микробиология тупроқшунослик фани билан ҳам алоқадорлиги келиб чиқади.

Микроорганизмлар тиббиётда ҳам муҳим аҳамиятга эга. Энг муҳим антибиотиклар – пенициллин, стрептомицин, биомицин ва бошқаларини ишлаб чиқаришда микроорганизмлардан фойдаланилади.

Бироқ микробиологиянинг ролини чегаралаш мумкин эмас. Микроорганизмлар катта аҳамиятга эга бўлиб, саноатнинг кўпгина тармоқларида: нон ёпишда, пиво пиширишда, вино тайёрлашда, саноатда ацетон, бутил спирти, сут, лимон ва сирка кислоталари ва бошқа бир қанча маҳсулотлар ишлаб чиқариш мумкин.

БИРИНЧИ МАШҒУЛОТ

МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ УГЛЕВОДНИ БИЖҒИТИШИ ВА

ОҚСИЛЛАРНИ ПАРЧАЛАШИ.

МИКРОБЛАРНИНГ ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Ишдан мақсад. Микроблар культурасининг аммонификация ва ёғ кислотали бижғиш жараёнида иштирок этишини ўрганиш, экилган ва униб чиққан микроблар культурасини, тозалигини аниқлаб, Грам усулида бўйаш, униб чиққан тўпламлардан уларнинг ҳаракатини ўрганиш. Микробларнинг турини аниқлаш. Анаэроб микроорганизмларни ундириш усуллари билан танишиб чиқиш.

Асбоб ва материаллар: гўшт-пептон бульон (ГПБ) ва гўшт-пептон агар (ГПА) билан тўрттадан пробирка. Бактериологик ҳалқа, пинцет, буюм ва қоплагич ойналар, физиологик эритма, генциан виолет билан шимдирилган ва қуритилган фильтр қоғоз парчалари, Люголь эритмаси, спирт, Пфейффер фуксин бўёқ эритмаси, қум соат, спирт лампа ва гугурт.

Микроблар культурасини аммонификация реакциясига кнритпш учун иккп талабага ҚОПҚОРИ яхши беркиладиган .Эрленмейер колбалар (ҳажми 150 мл) берилади. Ҳар бир колбага 50 мл 3% ли пептон билан гўшт-пептон бульон қуйилади. Пушти лакмус қоғози, кўрғошин ацетат эритмаси, пергамент қоғози, пергамент қоғозларни ушлаб туриш учун ҳалқачалар.

Ёғ кислотали бижғиш реакциясига микроблар культураларини қуйиш учун ҳар иккита талаба учун биттадан, оғзи яхши беркитиладиган ҳажми 100 мл бўлган колба ёки катта пробирка берилади. Пўсти арчилмаган хом картошка, скальпель, бактериологик косача қопқоғи билан, бўр, газли ёки электр плитка, сув ҳаммоми, 100°С гача ўлчайдиган термометр.

Мой кислотали бижғиш. Микробларнинг ундирилиши.

Мой кислотали бижғиш қўзғатувчилари

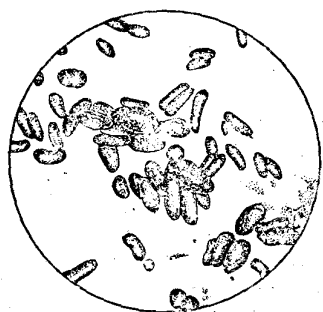
Мой кислотали бижғишга олиб борадиглн микроорганизмлар: *c.l. butyricum*, *c.l. pasterianum*, *c.l. pectinovogum* ва бошқалар.

Булар йирик, ҳаракатчан таёқчалар, спора ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлиб, споралари 1—2 соат қайнатилганда ҳам ўз ҳаёт фаолиятини сақлаб қолади. Споралар бациллаларнинг марказида, баъзи вақтларда учига яқин жойлашади. Споралар учига яқин жойлашганда бациллалар дук шакли олади. Мой кислотали бижғишга олиб борадиган бациллаларнинг характерли белгиларидан бири шуки, уларнинг хужайраси таркибида крахмалсимон моддалар бўлади. Булар гранулёзалар дейилади (шакли донга ўхшаган).

Крахмалсимон моддалар йод билан реакцияга киришиб зангори рангга бўялади.

Бациллалар қатъий анаэроблар ва кислородли муҳитда яшай олмайди. Булар оптимал ҳарорат ($30—40^{\circ}\text{C}$) да яшашга мослашган, иссиқлик, кислотали озиқ муҳитига ниҳоятда сезгир бўлиб, $\text{pH}—6,9—7,3$ да яхши ривожланади, $\text{pH}—4,9$ дан паст бўлиши билан улар ривожланмайди.

Мой кислотали бациллалар *Clostridium* (кlostридиум) авлодига мансуб. Унинг кўп учрайдиган вакили *C. Butyricum* (кlostридиум бутирикум)дир (1-расм).



1-расм.
кlostридиум бутирикум.

Булар тупроқ, гўнг ва бошқа жойларда учрайди. Табиий шароитда мой кислота ҳосил бўлишини 1814 йилда немис олими Шеврель аниқлаган. 1861 йилда Луи Пастер биринчи бўлиб мой кислота ҳосил қилувчи микроорганизмларни текширди. Турли мой кислота микроблари таъсирида шакар парчаланиб мой кислота ва газ ҳосил бўлади. Бу жараён қуйидаги реакция асосида боради;



Мой кислотали бижғишни кўзғатувчи. микроблар учун кўп сунъий озиқ муҳити тавсия этилган, аммо энг оддий ва тайёрлашга осон

бўлган муҳит бу картошкали муҳитдир.

Катта микробиологик пробирканинг тахминан $1/4$ қисмигача хом, тозаланмаган картошканинг майда бўлаклари солинади ва $1/3$ қисмигача кичкина қошиқча билан бўр қўшилади. Бундан сўнг $2/3$ қисмини оддий артезиан суви билан тўлғазилади. Бу аралашма 80°C да сув ҳамомида 10 минутча қўйилади. Пастеризация тугаши билан пробирка термостатда 35°C да 2—3 суткага қолди-рилади. Ву вақт ичида бижриш жараёни бошланади, чунки мой кислотали бижғишга олиб борадиган бациллалар ривожланади.

Бижғиш жараёни вақтида CO_2 ва H_2 газлар ҳосил бўлиб пробирканинг юқори қисмига ҳаракат қилади ва картошка парчаларини ҳам пробирканинг юқори қисмига қўтаради.

Мой кислотали бижғишни қўзғатувчи микробларнинг кўпчилиги ташқи муҳитга кучли ферментлар ишлаб чиқаради. Бу ферментлар таъсирида клетчатка гидролизланади (парчаланади).

Клетчатка ва крахмал парчаланиши натижасида ҳосил бўлган оддий шакарларни, юқоридаги формула асосида, мой кислотали бижғишни қўзғовчи бактериялар бижғитади.

Мой кислотали бижғиш жараёни бир томондан фойдали бўлса, иккинчи томондан зарар келтиради. Фойдали томони шуки, бу жараён ёрдамида мой кислоталар, бутил ва этил спиртлар, ацетон ва бошқа маҳсулотлар олинади. Бактерияларнинг баъзи бир турлари молекуляр азотни ўзлаштирадн. Бу жараён экинлар учун зарур бўлган азот бирикмаларининг тўпланишида жуда катта аҳамиятга эга.

Зарари эса шундаки, агар сарийёғ, пишлоқ, сут, силос ва бошқа маҳсулотларга мой кислотали бижғиш қўзғатувчи бактериялар тушиб қолса, уларда ҳосил бўлган мой кислота ва бошқа бирикмалар таъсирида маҳсулотларнинг сифати пасаяди ва бузилиши ҳам мумкин. Мой кислотали бижғиш жараёнининг бу тури халқ хўжалиги учун жуда зарарлидир.

Микроорганизмлар таъсирида азотли бирикмаларнинг ўзгариши

Чиритувчи микроблар таъсирида чириш жараёни ҳосил бўлади. Бу

ходиса гўшт-пептон бульонига озгина ивителиган товук тухумининг оксидидан қўшилганда яхши кўринади.

Микробларнинг протеолитик ферментлари таъсирида товук тухумининг оксиди парчаланadi ва у ўзлаштирилади. Лаборатория шароитида бактериялар культурани Экиш учун 3% пептон қўшилган гўшт-пептон бульонидан фойдаланилади. Бундан тайёрланган сунъий озиқ муҳитни 100—160 мл сиғимли Эрленмейер колбаларга 30—50 мл дан қуйиб озгина тупроқ қўшилади.

Аммиак газини ва водород сульфит газини ҳосил бўлишини аниқлаш учун кўрғошин ацетат эритмаси билан намланган бир парча филтр қоғозни колбанинг оғиз бўшлиғига пробка билан қистирилиб ёпилади. Колбанинг пробкаси устидан пергамент қоғоз билан ўраб ип ёки резина ҳалқача орқали маҳкамланиб, термостатга қўйилади 2—3 кун ўтиши билан бактериялар ривожланади.

Агар аммиак гази ҳосил бўлган бўлса, пушти рангли лакмус қоғоз зангори рангга олади, агарда водород сульфит гази ҳосил бўлган бўлса, кўрғошин ацетат эритмаси билан ҳўлланган филтр қоғознинг парчаси қорайиб кетади. Униб чиққан микробларнинг культураси микроскоп орқали текширилади. Бунинг учун текшириляётган микробларнинг культурасидан суртма тайёрланиб, Пфейффер фуксин бўёқ эритмаси билан 1—2 минут бўйлади.

Микроскопда иммерсион система орқали препарат кузатилганда турли шаклли ва ҳажмли аммонификация жараёнида иштирок этадиган микроорганизмлар кўринади.

Ундирилган микроблар турини аниқлаш

Ундирилган микроорганизмларнинг тури гўшт-пептон бульон ва гўшт-пептон агар сунъий озиқ муҳитидан аниқланади.

Бунинг учун суртма тайёрланаб Грам усулида бўйлади, ҳужайраларнинг шакли, спора ва филоф борлиги аниқланади. Агарда шакли таёқчасимон бўлса, ёш микроблар культурасининг ҳаракатчанлиги ҳам

ўрганилади.

Булардан ташқари. колонияларнинг шакли, биокимёвий хусусиятлари (шакар ва оксил парчаланиши) текширилгандан сўнг, Н. А. Красильников, Р. А. Цион ёки Д.Берджиларнинг аниқлагичлари орқали шу микроблар тури аниқланади.

Мой кислотали бижғишнинг амалий аҳамияти

Табиатда бу бижғишнинг аҳамияти катта. Чунки бу бижғиш орқали турли органик бирикмалар ўзгариб янги бирикмалар ва моддалар ҳосил бўлади. Шундай қилиб, табиатда углевод ва бошқа моддаларнинг алмашинуви ўтади. Аммо мой кислотали бижғишга олиб борадиган микроорганизмлар иштирокида картошканинг ва сабзавотларнинг чириши, пишлоқнинг бузилиши, консерваларнинг шишиши, сутнинг ачиши содир бўлиб, бу эса катта иқтисодий зарар кўрсатади.

Мой кислотали бактериялар кислотали муҳитга сезгир бўлади ва сут кислота бор жойда камроқ ривожланади. Пастеризация қилинган ёки кўп вақт совуқда сақланган сутда, сабзавотларни тузлаганда, сут кислота секин ҳосил бўлганда, мой кислотали бактерияларга қулай шароит туғилади ва шу шароитда улар яхши ривожланиб сут ва тузланган сабзавотларни бузади. Сут ва тузланган сабзавотлар бузилганда турли газлар ҳосил бўлиши, мой кислота, ўткир бадбўй ҳид бериши билан уларнинг мазаси ўзгаради, ёмон ҳидли бўлади.

Мой кислотали бижғиш орқали саноатда мой кислота ҳам ишлаб чиқарилади. Бунинг учун таркибида шакар ёки крахмал бўлган картошка, паст сифатли ун, крахмал ва шакар ишлаб чиқарадиган заводларнинг чиқиндилари ва бошқалар ишлатилади. Мой кислотали бижғишнинг боришида бу муҳитни нейтраллаш учун бўр қўшилади ва 40°C да олиб борилади.

Сут кислотали бижғиш жараёни

Инсоният, таркибида сут кислотали бижғиш жараёни аввалдан қўлланиб келган бўлсада, аммо унинг биологик жараёнлигини ва

микроорганизмлар иштирок этганлигини фақат 1860 йилда Луи Пастер исботлаб берди. Бунда шакар моддалар, асосан, моносахаридлар парчаланиб сут кислота ҳосил қилади.

Реакция қуйидагича боради:



Бу реакдияда ҳосил бўлган энергия бу жараёни қўзғатувчи бактериялар томонидан сарфланади. Бижғиш жараёнида вужудга келган сут кислота кўп бактериялар учун заҳарли модда бўлиб, уларнинг фаолиятини сусайтиради ва нобуд қилади. Шунга кўра, қатик, кефир ва бошқа маҳсулотлар тайёрлашда сут кислотали бижғиш жараёнидан фойдаланилади.

Спиртли бижғиш жараёни

Вино тайёрлаш усуллари қадимдан маълум бўлишига қарамай, шакарнинг парчаланиши натижасида этил спирт ҳосил бўлиши XVII аср охиридагина аниқланган. Лавуазье маълумотида кўра, шакарнинг парчаланиши натижасида этил спирт ва карбонат ангидрид ажралиб чиқади. Бу реакция қуйидагича боради:



Спиртли бижғиш жараёни тирик организмлар иштирокида боришини, яъни биологик жараён эканлигини. Луи Пастер 1859 йилда кўрсатиб ўтди. Бу давргача спиртли бижғиш жараёни кимёвий реакциялардан иборат ҳодиса деб, қаралган холос. Спиртли бижғиш жараёни *Saccharomyces* (сахаромицес) оиласига мансуб ачитки замбуруғларнинг иштироки билан боришини ҳам Луи Пастер аниқлаган.

Микробларнинг нафас олиши

Микроблар ўзининг ҳаёт фаолиятида бошқа организмлар сингари доимо энергияни сарфлаб туради. Бу энергия микроблар ҳужайрасида борадиган кимёвий реакциялар орқали юзага келади ва оқибатда иссиқлик ҳосил бўлади. Энергиянинг бир қисми тирик ҳужайраларнинг энергиясига айланади.

Микроорганизмлар нафас олишига қараб икки гуруҳга бўлинади:

1. Аэроблар.
2. Анаэроблар.

Аэроблар—энергияни оксидланиш реакцияси натижасида ҳосил қилиб, кислородни ҳаводан олади.

Нафас олиш жараёнида ҳосил бўлган моддалар CO_2 ва H_2O гача парчаланadi. Анаэроблар — бу турда нафас олганда энергияни оксидланиш реакцияси орқали эмас, балки кислородсиз муҳитда органик моддаларнинг парчаланишидан ҳосил бўлган энергиядан олади.

Анаэроб микроорганизмлар икки груҳга бўлинади:

1. Қатъий анаэроблар.
2. Факультатив анаэроблар.

Қатъий анаэроблар кислородсиз шароитда яшайди ва кислородли муҳитда улар нобуд бўлади. Факультатив анаэроблар эса ҳам кислородли, ҳам кислородсиз муҳитда яшай олади.

Нафас олиш турига қараб гуруҳларнинг орасига кескин чегара қўйиш мумкин эмас.

Аэроблар—кислородли ҳаводан, анаэроблар эса озик муҳитдаги мураккаб органик бирикмаларни парчалаш ҳисобига олади. Аэроб микроорганизмлар маҳсус шароит талаб қилмасдан оддий шароитда озик муҳитларда ўсиб ривожланади. Анаэроблар эса озик; муҳитда ривожланиш учун маҳсус ўзига хос, яъни кислородсиз шароитни талаб қилади. Агарда анаэроб микробларни кислородли шароитда ўстирсак, бунда водород пероксид ҳосил бўлиб, микроб ҳужайраси цитоплазмасини оксидлаб, уни нобуд қилади. Анаэроблар каталаза ферментини ҳосил қилмайди, шунинг учун водород пероксиди парчаланмайди. Аэроблар эса каталаза ферменти орқали водород пероксидини парчалаб ўзига қулай шароит туғдиради ва водород пероксидини заҳарли таъсирини йўқотади.

Кислородсиз шароитни бир неча усул билан яратиш мумкин. .

1. **Физикавий усул** — ҳавони тортиб олиш йўли билан, яъни вакуум шароит ҳосил қилинади. Бунда Камовский насосидан фойдаланилади.

Эксикаторга озиқ муҳитга экилган микроорганизмлар билан косача қўйилади. Унинг махсус жўмракли найчаси орқали ҳаво насос билан чиқарилади ва жўмрак беркитилади, насоснинг резинали найчаси эксикатордан ажратилиб, эксикатор термостатга қўйилади ва микроблар ўстирилади.

2. **Кимёвий усул** — кимёвий моддаларнинг ҳаводан кислородни тортиб олишига асосланган. Экилган микроблар билан бактериологик косачага, ёнида пирагаллол ва 10% ли натрий ишқори эритмаси солиниб, герметик ҳолатда ёпилади.

3. **Биологик усул** — аэроб ва анаэроб микроорганизмлар битта бактериологик косачага зич озиқ муҳитига экиб ўстирилади. Бунинг учун бактериологик коса задаги гўшт-пептон агар икки қисмга бўлинади. Озиқ муҳитнинг ўртасидан тасмача шаклида олинади. Озиқ муҳитнинг ярмига аэроб микроорганизмлар, иккинчи ярмига эса анаэроб микроорганизмлар зкилади. Микроорганизмлар экилгандан сўнг косачанинг қопқоғи парафин билан ёпиштирилади (косачанинг қопқоғи ва койачанинг чеккаларига эритилган ҳолда парафин қуйилади). Бундай тайёрланган бактериологик косача термостатга қўйилади. Термостатда аввало аэроблар униб чиқиб ҳаводаги кислородни сарфлайди ва анаэроб микробларга қулай шароит яратади.

Суюқ озиқ муҳитларда анаэроб микроблар ўстириш учун муҳитнинг сиртига вазелин мой қуйилиб мойдан қатлам ҳосил қилинади ва кислородсиз шароит яратилади. Бундай тайёрланган сунъий озиқ муҳити (Китт-Тароци) ишлатишдан олдин қайнатилади. Сунъий озиқ муҳит қайнатилганда унинг таркибидаги газлар, шу жумладан, кислород ҳам буғланиб, муҳитда кислород қолмасдан анаэроб микроорганизмларга кислородсиз шароит яратилади.

СУВ, ҲАВО ВА ТУПРОҚ МИКРОБИОЛОГИЯСИ

ВА УЛАРНИ ТЕКШИРИШ УСУЛЛАРИ.

СУВНИНГ КОЛИ-ТИТРИ ВА КОЛИ-ИНДЕКСИ

Ишдан мақсад. Лабораторияда сувни ва тупроқни текшириш учун ўртача намуналарни олиш, уларни лабораторияга жўнатиш қоидалари билан танишиб чиқиш. Суюлтириш усулидан фойдаланиб, гўшт-пептон агарга (ГПА) текшириляётган сувни экиш. Шу 1 мл сувдаги : микроблар сонини аниқлаш 1 мл суюлтирилмаган ҳамда 1:10 ва 1:100 нисбатда суюлтирилган сувларни олиб сунъий озиқ муҳитли бактериологик косачаларга экиш, униб чиққан тўпламлар орқали шу 1 мл сувдаги микроблар сонини аниқлаш. Коли-титр ва коли-индекс микробларнинг сонини аниқлади. Коли-титр ва коли-индекс нималиги билан танишиб чиқиш. Сувнинг санитария ҳолатини баҳолашни ўрганиш.

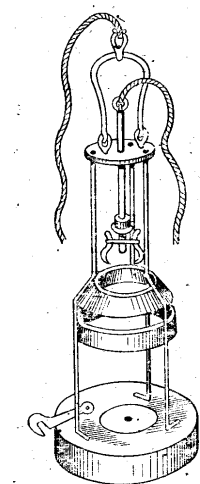
Турли, хоналардаги микроорганизмлар сонини Кох усули билан ва Кротов аппарати ёрдамида аниқлаш.

Асбоб ва реактивлар: ҳар икки талаба учун, қопқоғи маҳкам беркитиладиган колба, стерил суви билан 9 мл ли иккита пробирка, қоғозга ўралган тўрттадан бактериологик косачалар, 2 миллилитр ҳажмдаги учта пипетка, гўшт-пептон агар билан 10—12 мл ҳажмли тўрттадан пробирка. Бактериологик ҳалқа, буюм ва қоплагич ойналар, 10 ва 0,1 мл ли стерил пипеткалар. Люголь эритмаси. Иммерсион мой, спирт лампа, гугурт, Кротов аппарати. Гўшт-пептон агарли учта бактериологик косачалар. Сув, тупроқ, ўртача намуналар. Микроскоп, карбон кислотали эритрозиц бўёқ эритмаси, окуляр микрометр.

Таблицалар: Кротов аппаратининг схемаси. Тоза ва ифлос¹ сувни кўрсатиш учун Эйкман озиқ муҳитида ўстирилган ичак таёқчаси.

Сувни микробиологик текшириш. Сувда ичак таёқчаси борлиги, юқумли касалликларни кўзғатувчи микроорганизмларни ва умумий сувни

микроблар билан ифлосланганини аниқлаш учун сув текширилади. Текшириш учун сув водопровод, артезиан қудуқлардан ва очик сув манбалардан олинади.



2- расм.

Барометр

Текшириш учун водопроводдан сув олиш осон, аммо сув омборларининг чуқур қатламларидан сувни олиш анча қийин. Бунинг учун махсус асбоб-барометр ишлатилади. Барометр керакли чуқурликка темир тростда чўктирилиб шу қатламлардан сув олинади (2-расм).

Очик сув омборлардаги сувни текшириш

Сувни текширишда бир неча қоидаларга риоя қилиш. керак:

1. Сув манбаига ифлос сув тушса, текшириш учун сувни учта жойдан олиш керак. Ифлосланиш манбаининг юқорисидан, қарама-қаршисидан ва ифлос сув тушган жойнинг пастидан.
2. Қудуқларни текширишда сув икки марта олинади: эрталаб — қудуқдан сув олинмасдан олдин ва кечқурун — қудуқдан сув олиниши тўхтатилгандан сўнг.
3. Дарё, кўл ва сув омборларидан сув текширишга 0,5—1 метр чуқурликдан ва сув омборининг қирғоқларидан 1—2 метр чуқурликдан олинади.

Текшириш учун сув тоза, оғзи яхши ёпиладиган пробиркаларга солинади. Анализ-тахлил учун сувнинг ўртача намунаси икки литрдан кам бўлмаслиги керак. Ҳар бир намуна учун кузатиш журнали тутилади.

Бу кузатиш журналида қуйидаги кўрсаткичлар ёзилади:

1. Сув манбаининг жойи ва номи.
2. Олинган вақти (куни, ойи ва йили).
3. Сув олинган жой қирғоқдан узоқлиги, чуқурлиги, ҳаво ҳарорати.
4. Олинган куни ва ундан ўн кун илгари бўлган ёғингарчилик.
5. Олинган сувнинг ҳарорати.
6. Олинган сув манбаининг ташқи кўриниши.
7. Сув текширишга қандай жўнатилади.
8. Сувни текширишга олган ходимнинг ишлаш жойи ва вазифаси.
9. Сувни текширишга олган ходимнинг имзоси. Текширишга олинган сув қишда музлашдан, ёзда эса исидан сақланиб тезлик билан лабораторияга олиб борилади.

Водопровод сувини текшириш

Аввал водопровод жўмрагини очиб, 10—15 минут сув шариллатиб оқизилади, сўнгра сув беркитилади. Сўнг сув тушадиган қисмини, яъни жўмрагининг учини, спирт лампаси ёки симга ўралган ва спиртга ботирилган пахта алангасида куйдирилади. Жўмрак бундай тайёрлангандан сўнг сув стерил колбага олинади.

Текшириш ўтказишдан олдин стерил сув билан иккита пробирка, учта стерил пипетка ва учта бактериологик косача тайёрланади.

Текшириш учун сувдан 2 мл олиниб, 1 мл ни биринчи, бактериологик косачага, иккинчи 1 мл ни 9 мл стерил -дистилланган сув билан биринчи пробиркага қўшиб аралаштирилади. Суюлтириш 1:10 нисбатда бўлади. Иккинчи пипетка билан биринчи пробиркадаги сувдан 2 мл олиниб, 1 мл ни иккинчи стерил бактериологик косачага ва 1 мл ни эса стерил дистилланган сув билан иккинчи пробиркадаги 9 мл сувга қўшилади. Суюлтириш 1:100

нисбатда бўлади. Сўнгра учинчи пипетка билан иккинчи пробиркадан 1:100 нисбатда суюлтирилган сувдан 2 мл олиниб, 1 мл ни учинчи бактериологик косачага қуйилади.

Учта бактериологик косачаларга бир миллилитрдан, биринчига суюлтирилмаган, иккинчига 1:10 нисбатда суюлтирилган ва учинчига 1:100 нисбатда суюлтирилган сув солиниб, ҳар бирига суюқ ҳолда 25° да совутилган 10—12 мл гўшт-пептон агар қуйилади. Косача тезлик билан беркитилади ва доира шаклида айлантириб, гўшт-пептон агар 1 мл косачадаги сув билан ҳар бир косачада аралаштирилади. Гўшт-пептон агар қотгандан сўнг бактериологик косачаларнинг қопқоғида махсус сих ёки рангли мум қалам билан текширилган куни, суюлтирилган микдори, талабанинг фамилияси ва ярим группанинг номери ёзилиб, бактериологик косачалар қопқоғини пастга қаратиб ағдарилган ҳолда 35—37°С иссиқликдаги термостатда қолдирилади. Бактериологик косачалардаги гўшт-пептон агар озиқ муҳитидан униб тўпламларни ҳосил бўлишига қараб ҳар бир косачадаги 1 мл сувдаги микроблар сони аниқланади.

Сувнинг коли-титри ва коли-индексини аниқлаш

Коли-титр — сувнинг ичак таёқчаси учрайдиган энг кичик ҳажми.

Ичак таёқчаси доимо одам ва ҳайвонлар ичагида яшайди. Бу микробларни ёш болалар ва ҳайвонларнинг ичагида ҳаётининг биринчи йилидаёқ кўплаб топиш мумкин, бу таёқча организмга овқат билан киради. Ичак таёқчаси одам ва ҳайвонлар организмда туғилгандан тортиб то ҳаётининг охиригача яшайди, деб айтсак, муболаға қилмаган бўламиз. Ичак таёқчалари нажас билан бирга ташқи муҳитга жуда кўп чиқиб туради. Шунга кўра, тупроқ ва сув ҳамиша ичак таёқчаси билан ифлосланган бўлади. Ичак таёқчаси ифлос (ювинди) сувларда айниқса кўп. Зарур санитария қоидаларига риоя қилинмаса, ичак таёқчаси сув ва озиқ-овқатларга тушиши мумкин. Сув ва озиқ-овқатдаги ичак таёқчаси микдори шу объектларнинг санитария ҳолатини билдирувчи муҳим кўрсаткич бўлиб хизмат қилади. Унга

тўғри баҳо бериш учун коли-титр ва коли-индекс (бир литр сувдаги ичак таёқчалари миқдори) аниқланади. Бошқа микроорганизмларга кўра ичак таёқчаси 43—46°C иссиқликда ҳам ривожланиб униб чиқади. Углеводларни парчалаб газ ва кислота ҳосил қилади. Шу хоссалар ичак таёқчасини аниқлашда ҳисобга олинади.

Коли-титрни аниқлаш учун бир неча усуллар бор.

Коли-титрни Эйкман усулида аниқлаш. Бунинг учун Эйкманнинг махсус муҳити (пептон—1 г, ош тузи — 0,5 г, глюкоза —0,5, водопровод суви 100 мл ва рН — 7,4—7,6) дан фойдаланилади. Глюкозани лактоза ёки маннит шакарлари билан алмаштира ҳам бўлади. 1,4 мл дан муҳит солинган 10 та пробиркага 10 мл дан текшириладиган сув қўйилади ва 14 мл дан озик муҳит солинган флаконга 100-мл-дан сув қўйилади. Текшириладиган сув билан озик муҳит 42—43°C ли термостатга қўйилади. Бир сутка ўтгач, ҳамма пробиркалар ва флаконлардан бактериологик ҳалқа билан суюқлик олинади ва махсус озик муҳитига экилади. Сўнг муҳит билан бактериологик косача 12,секторга бўлинади. Шу тариқа сувнинг ҳар бир намунаси учун биттадан косачалар ишлатилади. Косачалар термостатга қўйилади ва 24 соатдан кейин ўсиб чиққан колониялар қизил рангли бўлиб, металл каби товланиб туради. Пробирка ва флаконда ичак таёқчаси ўсиб чиққан ҳисобланади ва коли-титр аниқланади. Мисол: ичак таёқчаси олтига пробиркада ва бир флаконда ўсиб чиққанда коли-титри 28 га тенг. Ичак таёқчаси иккй пробиркада ўсиб чиққанда коли-титри 143 га-тенг.

УЧИНЧИ МАШҒУЛОТ

МАХСУС МИКРОБИОЛОГИЯ.

ОҚСИЛ ВА ЁҒЛАРНИ ОЛИНИШИ

Ўсимликлардан оқсилларни ажратиб олиш ва уларнинг хоссаларини ўрганиш (п. б. Плешков бўйича)

Керакли реактив ва асбоблар: 1. Ўсимлик тўқимаси; 2. Суюқ азот; 3. Борат буфери (рН-10); 4. 0,2% ли натрий бисульфит эритмаси; 5. Октил спирт; 6. Ацетат кислотанинг 1% ва 10% ли эритмалари; 7. 0,2 и

натрий гидроксид эритмаси; 8. 50% ли уч хлорацетат кислота; 9. Этил спирт; 10. Ацетон; 11. Диэтил эфири; 12. Фолин реактиви.

Ўсимлик органлари таркибидаги оксилларни ажратиб олишда ультратовушдан, совутгичда ёки суюқ азот ёрдамда музлатишдан ва гомогенизация каби усуллардан кенг фойдаланилади. Оксилларни ажратиб олишда ишкорий эритмалар кўпроқ ишлатилади. Усимликнинг вегетатив органларидаги оксилларни тубандаги усул ёрдамида ажратиб олинади.

1. Ўсимликдан янги узиб олинган барг, поя, илдиз каби вегетатив органлардан 50—100 г намуна олиб, совутгичда ёки суюқ азотда музлатилади. Музлатилган намуна гомогенизаторда ёки чинни ҳовончада 1:4 нисбатда бир хил масса ҳосил бўлгунча, борат буфери эритмасида (рН-10) янчилади. Оксилларнинг эрувчанлигини ошириш мақсадида 4—5 томчи 0,2% ли натрий бисульфит эритмасидан томизилади. Кўпик ҳосил бўлмаслиги учун аралашмага 2—3 томчи октил спирт қўшилади. Гомогенат аввал совутгичда музлатилади, сўнгра эритилади ва тебратувчи асбоб ёрдамида 30—40 дақиқа давомда чайқатилади. Кейинчалик аралашма 5—10 дақиқа давомда 3000 δ тезлигида центрифугаланади. Чўкма устидаги эритма 500 мл ҳажмдаги ўлчов колбага солинади, чўкма эса буфер эритмаси билан гомогенизатор ёки чинни ҳовончада яна эзилади ва эритма 20—30 дақиқа давомда чайқатилиб, кейин центрифугаланади. Чўкма устидаги эритма илгари центрифугаланган эритма устига қуйилади. Чўкмани экстракция қилиш ва центрифугалаш 4—5 марта такрорланади, яъни оксилнинг ажралиб чиқиши тугашига қадар давом эттирилади. Оксил ажралиб чиқишининг тугаган-тугамаганлигини Фолин реактиви ёрдамида текшириб борилади. Оксил ажралиб чиқишининг тўхтаганлигига ишонч ҳосил қилингач, эритма ҳажми 500 мл га етказилади. Агар оксилни экстракция қилиш охиригача етказилган бўлса, эритмадаги азот миқдори ўсимлик таркибидаги азотнинг 90—95% ни ташкил қилиши керак. Бунинг учун эритмадан маълум миқдорда олиб, кислотада куйдирилади ва Къельдаль усули билан азот миқдори аниқланади. Топилган азот миқдори асосида олинган материал таркибидаги

умумий азот аниқланади. Топилган соннинг тўғрилигини исботлашда, оксилни ажратиб олиш учун тайёрланган ўсимлик материалидан маълум миқдорда олиб, унинг таркибидаги умумий азот ҳам Къельдаль усули бўйича аниқланади.

Эритмага ўтган оксилни чўктириш учун экстрактни 700—800 мл хажмли идишга (стаканга) олиб, эритма рН 4,4—4,5 га келгунча унинг устига 10% ли ацетат кислота қўшилади. Эритмадаги рН ни индикатор қоғози ёрдамида аниқлаш мумкин. Сўнгра эритма сув ҳаммомида 70°C да қиздирилади ва чўкмага тушган оксил центрифугалаш билан ажратилади. Чўкмадаги оксилни ювиш учун 1% ли ацетат кислотадан озроқ миқдорда қўшиб, яхшилаб аралаштирилади ва қайта центрифугаланади. Кейин эса чўкма устидаги эритма эҳтиёткорлик билан бошқа идишга олинади.

Оксилларни янада тозароқ ҳолда ажратиб олиш зарурияти туғилса, қайта чўктирилади. Бунинг учун центрифуга пробиркасидаги чўкма устига натрий гидроксиднинг 0,2 н ли эритмасидан солиб яхшилаб аралаштирилади ва суюқлик чўкма билан бошқа идишга қуйиб олинади. Центрифуга пробиркаси натрий гидроксиднинг 0,2 н ли эритмаси билан 2—3 марта ювилиб, у ҳам ўша идишга қуйилади. Сўнгра эритмадаги оксиллар тўла эригунча сув ҳаммомида 50°C да тутиб турилади. Қиздириш давомида эритмани шиша таёқча билан аралаштириб турилади. Эримасдан қолган хужайра заррачалари центрифугалаш билан ажратиб олинади.

Эритмадаги оксилларни қайта чўктириш учун идишдаги кислотанинг охирги концентрацияси 5% бўлгунча учхлорацетат кислотанинг 50% ли эритмасидан қўшилади. Чўкмага тушган оксилларни центрифугалаш йўли билан ажратиб олинади. Оксилларни тоза ҳолда олиш учун центрифуга пробиркасидаги оксил, аввало 5—6 марта ацетонда, 1—2 марта иссиқ этил спиртда ва, ниҳоят, 2—3 марта эфирда ювилади. Ҳар гал ювилганда центрифугалаш йўли билан чўкма устидаги эритма тўкиб ташланади ва олинган оксил хона ҳароратида қуритилиб, вакуум эксикаторида сақланади. Олинган оксил препаратларнинг ранги ўсимлик турига ва унинг органига

караб, оқ ёки кул ранг кукун кўринишида бўлиб, унинг таркибида 14—17% азот бўлади. Оксил препарати таркибидаги умумий азот миқдори Къельдаль усули бўйича аниқланади.

2. Ўсимликлар уруғи таркибидаги оксилларни ажратиб олишдан олдин уларни углевод, липид, нуклеин кислоталар каби моддалардан тозалашга тўғри келади. Бунинг учун уруғ мағзи, устки пўст (қобиғи) дан ажратилиб, сўнгра у майдаланиб, ун ҳолига келтирилади.

Уруғларни майдалашда ҳар хил майдалагич асбоблар (гомогенизатор, тегирмон, чинни ҳовонча) ишлатилади. Агар пахта чигити таркибндаги оксилларни ажратилмоқчи бўлса, энг аввало чигит мағзи устки қобиқдан ажратиладн. Ажратилган мағиз электр тегирмонида, чинни ҳовончада ёки бошқа гомогенизаторларда майдаланади. Майдалаб ун ҳолига келтирилган материал 0,25 мм тешикли элакдан ўтказилиб, аввало эфирда, кейин ацетонда ювиш йўли билан ёғсизлантирилса, яна яхши натижаларга эришиш мумкин.

Шу усулда тайёрланган уруғ унидан 10—15 г олиб қолбага солинади, унинг устига 0,2% ли натрий бисульфат аралаштирилган борат буферидан (рН-10) 100 мл қуйилади ва 1 соат давомида чайқатилади, сўнгра 15— 18 соат совутгичда (0°С да) тутилади. Кейин аралашма 3—4 минг марта тезликда айланадиган центрифугада 10—15 дақиқа давомида центрифугаланади. Чўкма устидаги эритма 250 мл ҳажмли ўлчов қолбасига қуйиб олинади. Центрифуга пробиркасидаги чўкмани ўз таркибида бисульфит тутган буфер эритмаси билан ювиб, 100—200 мл ҳажмли ўлчов қолбасига ўтказилади ва эритма 30—40 дақиқа чайқатилади, сўнгра центрифугаланади. Чўкма устидаги суюқлик, аввалги 250 мл ли қолбадаги эритма устига қуйилади. Чўкмани экстракция қилиш ва уни центрифугалаш жараёни 3—4 марта қайтарилади, яъни бу жараён оксил ажралиши тамом бўлгунча давом эттирилади. Буни эса Фолин реактиви ёрдамида билиш мумкин. Оксил ажралишининг тугаганлигига ишонч ҳосил қилннгач, эритма ҳажми 250 мл га етказилади. Сўнгра эритмадан маълум миқдорда олиб унинг таркибидаги умумий азот Къельдаль усулида аниқланади.

Уруғлардан ажратиб олинган оксил оқ рангли кукун бўлиб, унинг таркибида 14—18% азот бўлади.

Хантал (горчица) уруғидан ёғ олиш

Тозаланиб, куритилиб ва магнит ёрдамида темир аралашмаларидан ажратилган хантал уруғлари икки валли тегирмон станокларида янчилади. Янчилма одатдаги шамол машиналарида кепакдан жуда яхшилаб тозаланади. Хантал уруғидан ёғ олишда янчилмани намлаш тавсия қилинмайди. Чунки хантал уруғидан чиққан 1 кунжара таркибидаги эфир ёғлари сувнинг таъсирида учиб кетиши мумкин. Хантал кунжарасидан озиқ-овқат саноатида ошхона горчицаси тайёрланади. Хантал уруғидан тайёрланган янчилма намланмасдан 90—95°C гача қиздирилади. Янчилма 20 минут қовурилиб, намлиги 4—4,5% га етганда ЕП зичлагичига эзишга берилади. Озиқ-овқат учун ишлатишга ярамайдиган хантал янчилмаси медицинада ишлатилади.

АДАБИЁТЛАР

1. Ларина И.В., Педенко А.И. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии. М.: Экономика. 1987.
2. Н.Р. Асопов. Микробиология. М.: 1989, -351с.
3. И.В. Лерина, А.И. Педенко. Лабораторные работы по микробиологии. М.: 1986. -128с.
4. К.А. Мудрецова Висс, Ф.М. Чистеяков. Микробиология. М.: 1971. - 283с.
5. Мудрецова-Висс К.А. Микробиология. М.: Экономика, 1985.