

Jamila SHERQULOVA

**SANOAT
MIKROBIOLOGIYASI**

laboratoriya mashg‘ulotlari

**(Biotexnologiya bakalavriat yo‘nalishi 4-kurs talabalari uchun
uslubiy qo‘llanma)**

Qarshi
“Nasaf” nashriyoti
2019

UO`K 54

KBK 35

Sherqulova Jamila.

*Sanoat mikrobiologiyasi [laboratoriya mashg‘ulotlari] Jamila Sherqulova.
Qarshi: “Nasaf” nashriyoti, 2019. 44 b.*

KBK 35

Ushbu uslubiy qo‘llanma O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligi tomonidan tasdiqlangan “Sanoat mikrobiologiyasi” fan dasturi asosida yozilgan bo‘lib, Oliy o‘quv yurtlarining 5320500 –biotexnologiya bakalavriat yo‘nalishi 4 kurs talabalari uchun mo‘ljallangan. Uslubiy qo‘llanmada sanoat mikrobiologiya fani bo‘yicha bajariladigan laboratoriya mashg‘ulotlarining mavzulari keltirilgan. Unda mikroorganizmlarni va mikrosuvo‘tlarni o‘stirish va ulardan toza kul’turalar olish uchun ozuqa muhitlar tayyorlash, kulturalarni o‘stirish va biomassalarni ajratish haqida nazariy va amaliy ma’lumotlar berilgan.

Tuzuvchi
b.f.f.d. Sherqulova J.P.

Taqrizchilar
Sattorov A.S.,
Termiz davlat universiteti
biologiya fanlari nomzodi, dotsent.

Hayitov I.Y.
Qarshi davlat universiteti
biologiya fanlari nomzodi, dotsent.

Ushbu uslubiy qo‘llanma Qarshi davlat universitetining 2019- yil 10- maydagi 6-sonli yig‘ilishida muhokama qilinib, nashrga tavsiya etilgan.

© **J. Sherqulova, 2019- yil**
© **“Nasaf” nashriyoti, 2019- yil**

ISBN 978-9943-18-248-6

KIRISH

“*Sanoat mikrobiologiyasi*” fani Mikrobiologik sintezacosida ishlab chiqarish biologik texnologiyalar orasida eng zarur, samarador va iqtisodiy tejamkor ishlab chiqarish jarayonlaridan biri hisoblanadi. Mikrobiologik sintez texnologiyasi yoki oxirgi vaqlarda mikrobiologik texnologiya deb yuritilayotgan jarayon asosida inson manfaatlari uchun o‘ta zarur bo‘lgan mahsulotlarni tayyorlash yoki olish uchun mikroorganizmlarni yoki ularning hayoti davomida hosil bo‘ladigan mahsulotlarni qayta ishlash jarayonlari va ularni olish usullarini takomillashtirish yotadi.

Mazkur uslubiy qo‘llanma Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligi tomonidan tasdiqlangan fan dasturga moslab yozilgan bo‘lib, universitetlarning biotexnologiya yo‘nalishi talabalariga, sanoat mikrobiologiya fanining laboratoriya mashg‘ulotlari mavzulari berilgan. Uslubiy qo‘llanmada mikrobiologiya laboratoriyasining joylashishi unda ishlash qoidalari bilan tanishish, Mikrosuvo‘tlarini o‘stirish uchun ozuqa muhiti tayyorlash, kulturalarni o‘stirish va biomassalarni ajratish usullari, zamburug‘larni o‘stirish uchun suyuq va qattiq ozuqa muhiti tayyorlash, ozuqa muhiti tarkibini tahlil qilish va zamburug‘larni o‘stirish usullarini o‘rganish va mikroorganizmlar asosida entomopatogen biopreparatlar olish texnologiyasi, produtsentlari va xom-ashyo manbalarini o‘rganish hamda mikroorganizmlarni ekish uchun ozuqa muhiti tayyorlash va sterilizatsiya qilish kabi mashg‘ulotlar berilgan.

Uslubiy qo‘llanma biotexnologiya yo‘nalishi bo‘yicha tahsil olayotgan oliy o‘quv yurtlarining bakalavriat talabalari uchun mo‘ljallangan.

1 – laboratoriya mashg‘uloti.

Mavzu: Mikroorganizmlar bilan ishlashning texnik talablari va shartlari

Mashg‘ulot o‘tkazishdan maqsad. Mikrobiologiya laboratoriya-sining joylashishi, maxsus laboratoriya (308-309 xona) larda qanday ishlar bajarilishi va jihozlanishini o‘rganish. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari bilan tanishish.

Laboratoriya xonalarining joylashishi va jihozlanishi

Mikrobiologiya laboratoriyasi uchun 308 va 309 xonalar ajartilgan bo‘lib, belgilangan maqsadga qarab (o‘quv, ilmiy-tadqiqot, ishlab chiqarish) laboratoriya ishlari uchun mo‘ljallangan. Mikrobiologiya laboratoriyasida mikroskopda ko‘rish, sterillash, mikroorganizmlarni o‘sirish uchun termostat, ozuqa muhitlarni tayyorlash va idishlarni yuvish ishlari olib boriladi. Barcha xonalar quruq, yorug‘, yaxshi shamollatilgan, sovuq va issiq suv hamda ularni chetga chiqarish qurilmasi bilan ta’minlangan bo‘lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriyasida talabalar o‘quv va ilmiy-tadqiqot ishlarni 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 asboblar va mikroorganizmlarga zarar yetkazadi. Xona devorlari och rangli moyli buyoqlar bilan bo‘yaladi. Pol esa lenoleum yoki oson yuviladigan plitalar bilan qoplanadi. Stollarning balandligi 0,7 m dan oshmasligi kerak. Stollarning yuza qismi yuvish va dezinfeksiya qilish oson bo‘lishi uchun plastik yoki lenoleum bilan qoplanishi lozim. Ish jarayonida foydalaniladigan stul va taburetkalar vintli bo‘lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriya xonasi bir kunda ikki marta nam latta bilan artib chiqiladi. Pol, devorlar va mebel vaqtiga vaqtiga 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 xloramid 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 bakteriotsid 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. Bakteriotsid chiroq yoqilgan kichik xonalarda o‘tirish mumkin emas.

Mutloq 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 lenoleum bilan qoplanishi kerak. Boksda stol, stullar, gaz gorelkalari joylashtiriladi, bakteriotsid chiroqlar osib qo‘yiladi yoki qo‘zg‘aluvchan kronshteynga mahkamlanadi. Boks xonalarini vaqtiga vaqtiga bilan yuvib turiladi va dizenfektsiya qilinadi. Xona yig‘ishtirilgandan keyin, ish boshlashdan oldin, poldan 2 m balandlikda joylashtirilgan bakteriotsid chiroqlar bilan nurlantiriladi.

Mikrobiologiya laboratoriyaning ya’ni, 308 xonada stullar, stollari, idish va reaktivlar uchun shkaflar, shuningdek zaruriy asboblar – sentrifuga, gomogenizator, texnik tarozi, meshalka, sheykerli suv hammomi, 309 laboratoriya xonada esa avtoklav, termostat, laminar-boks muzlatgich, spektrofotometr, pH-metr va analitik tarozi kabi jihozlar bilan jihozlangan.

Ozuq muhitlarini va idishlarni sterillash uchun avtoklavda olib boriladi (1-rasm). Sterillash ishlari olib borilgandan 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.

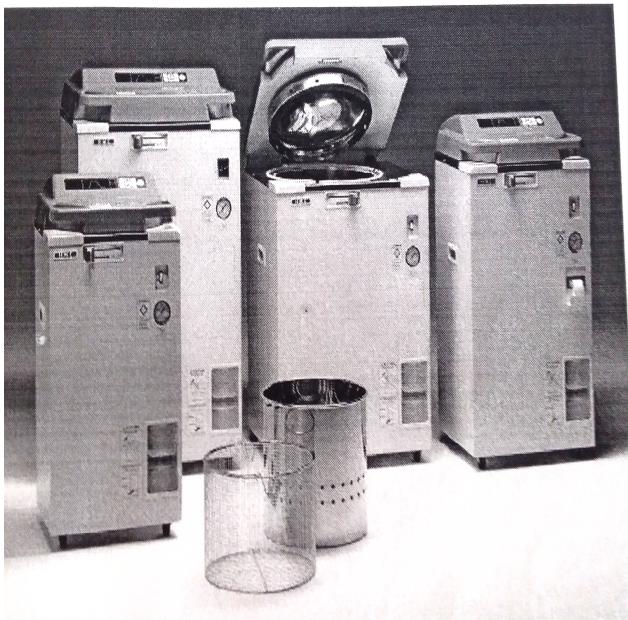
Yuvish xonasi issiq va sovuq suv o‘tkazilgan qulay rakkovinalar, idishlarni quritish uchun stellajlar, gaz yoki elektr plitalari, ozuq muhitlarni qaynatish uchun idishlar, tarozilar, suv distillyatorlari bilan jihozlanadi. Yuvish xonasida havosi almashiladigan, quritish va

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.

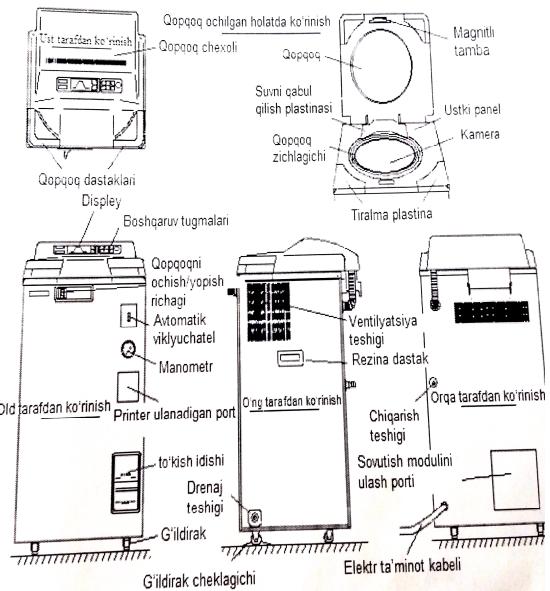
Termostat xonasida kolba va probirkalar uchun stellajlar qo‘yiladi, maxsus fundamentda rotatsion tebratgichlar o‘rnataladi. Termostat xonasidagi harorat $30\text{-}45^{\circ}\text{C}$ atrofida bo‘lishi kerak (2-rasm).

O‘quv laboratoriyasida har qaysi talabaga doimiy ish joyi va asboblar biriktirib qo‘yiladi. Laboratoriya stolida mikroskop uchun yoritgich, spirt yoki gaz gorelkasi, buyoqlar 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.

Avtoklavlar, termostatlar berilgan doimiy haroratda ozuq muhitida mikroorganizmlarni o‘sirish uchun mo‘ljallangan. Laboratoriya alohida guruh mikroorganizmlarni rivojlantirish uchun talab etiladigan turli haroratli bir nechta termostat: mezofillar uchun - $28\text{-}30^{\circ}\text{C}$, termofillar uchun - $43\text{-}55^{\circ}\text{C}$, patogen turdofillar uchun - 37°C li termostatlar o‘rnataladi. Termostatlar har xil shaklda, o‘lchamda va tuzilmali bo‘ladi. Ular unchalik katta bo‘lмаган shkaf ko‘rinishidan bir nechta bo‘limlardan tashkil topgan politermostat yoki alohida termostat xonasi bo‘lishi mumkin.



Avtoklavning tashqi ko'rinishi



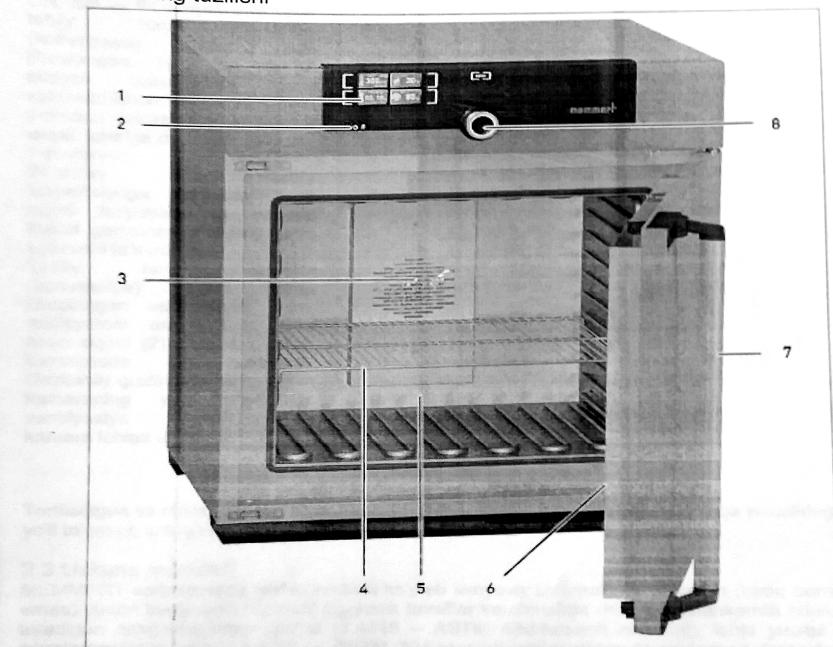
1-rasm. Avtoklavning tuzilish sxemasi:

Sozlash va ishlash tartib-qoidalari

memmert

2. Uskunaning tuzilishi va ishlash tartib-qoidalari

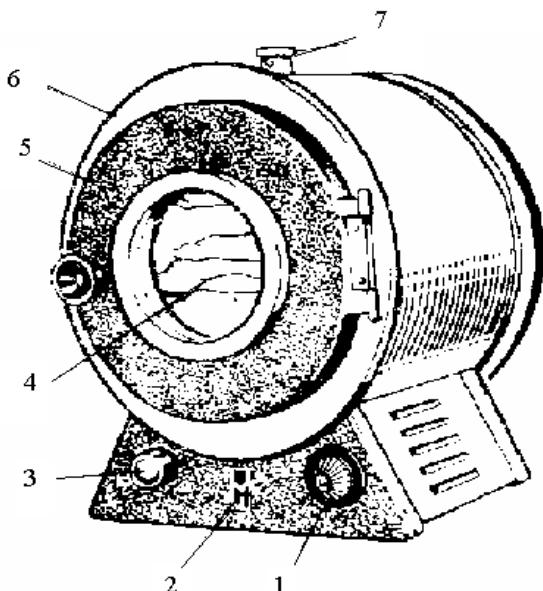
2.1 Uskunaning tuzilishi



2-rasm: Uskunaning tuzilishi

1. Control COCKPIT ixcham funksional tumachalarni o'z ichiga olgan paneli (shuningdek, 25-betga qarang).
2. "On/Off" ulab-uzgich qurilmasi (shuningdek, 22-betga qarang).
3. Ishchi kamera ventilyatori (faqat UF/IF/SF uskunalar uchun).
4. Po'lat panjara.
5. Ishchi kamera.
6. Firma yorlig'i (eshikning orqa tomonida, shuningdek, 12-betga qarang).
7. Eshik tutqichi (shuningdek, 23-betga qarang).
8. Tasdiqlash tugmachasini o'z ichiga olgan burish regulyatori.

2-rasm. Termostat.



3-rasm. Quritish shkafi:

1-shkalali termoregulyatorni dastasi; 2 – asbobni o’chiruvchi vinti; 3–signal beruvchi lampa; 4 - taglik; 5-eshikcha; 6-korpus; 7 – termometr uchun teshik va ventilyatsiya qalpoqchasi

Termoregulyatorli quritish shkafi laboratoriya idishlarini quritish va sterillash, turli materiallarni doimiy massasigacha quritish uchun mo’ljallangan. Quritish shkafi issiqlikka chidamli materiallardan (metall va asbestos) tayyorlanadi va ishchi kamerasi 200°C gacha bo’lgan haroratga mo’ljallanadi. Shkafning ichi teshikli metall listlardan tayyorlangan polkalar bilan jihozlangan bo’lib, ularning ustiga quritiladigan idishlar yoki materiallar joylashtiriladi (3-rasm).

Sovutkichlar ishlatiladigan yoki muzeyga oid mikroorganizmlar kulturasи, ozuq muhitlari, ba’zi bir reaktivlar va aralashmalarni $+40\text{ C}$ atrofidagi haroratda saqlash uchun ishlatiladi.

Sentrifuga suspenziya va aralashmalarining suyuq va qattiq fazalarini ajratish uchun xizmat qiladi. Sentrifuga ikkita rotor bilan jihozlangan bo’lib, ular elektr dvigatelining valiga ketma-ket o’rnatalidi: to’rtta stakanli rotor-prestavina va shisha yoki polietilen probirkalar uchun uyachalari bo’lgan burchakli rotor. Rotorlarning aylanish tezligi – 1 minutda 6000 marta aylanishda olib boriladi.

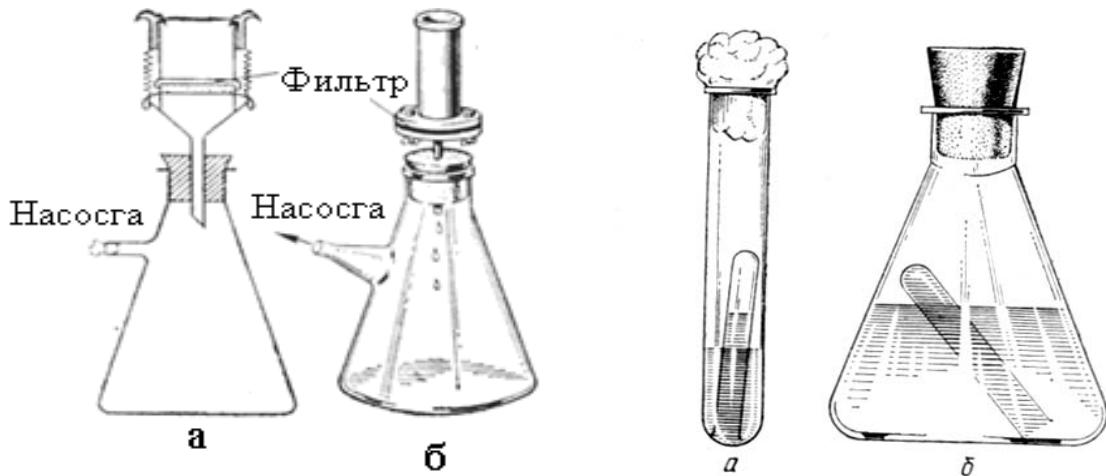
Laboratoriya pH-metri vodorod ionlarining (pH) aktivligi va oksidlanish - qaytarilish potensialini (Eh) o’lchash uchun mo’ljallangan.

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

Spektrofotometr optik zichligini hamda suyuq va qattiq moddalarining o'tkazuvchanlik koefitsiyentlarini o'lhash uchun ishlatiladi.

Zeyts filtrlari (4-rasm) asbest va selyuloza 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 metalldan tayyorlangan voronkaga 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.

Mikrobiologik idishlar. Mikrobiologik tadqiqotlar uchun har xil shisha idishlar talab etiladi. Petri likobchasi (diametri 10 sm, balandligi 1,5 sm) qattiq ozuq muhitda mikroorganizmlarni o'stirish uchun, tebratgichga o'rnatiladigan kolbalar aerob mikroorganizmlarni o'stirish uchun, probirkalar va naychali kolbalar bijg'ish jarayonlarini o'rganish uchun qo'llaniladi. Shuningdek, oddiy kimyoviy idishlardan ham keng foydalaniladi. Bular jumlasiga tubi yassi, konussimon, erlen-meyyer kolbasi, tubi dumaloq, o'lchov kolbalari; darajalangan (1, 2, 5, 10 ml li) pipetkalar, mor pipetkalari (1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100 ml li), kapillyarli Paster pipetkalari, 18x2,0, 18x1,5, 15x1,5 sm li agronomik probirkalar (rangsiz), byuretkalar, tomizgichlar, voronkalar, menzurka, silindr, byukslar kiradi.



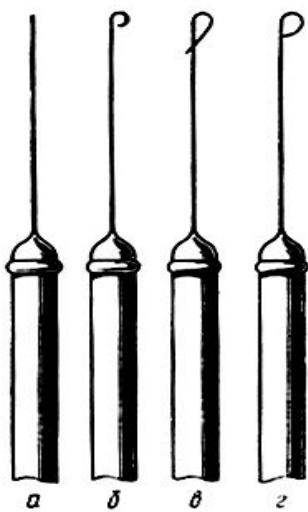
4- rasm. Zeyts filt'ratlari:
 a – shisha tutqichli;
 b – metal tutqichli

5-rasm. Paxta tiqinlarni
 tayyorlash:
 a – to'g'ri; б – не то'г'ри

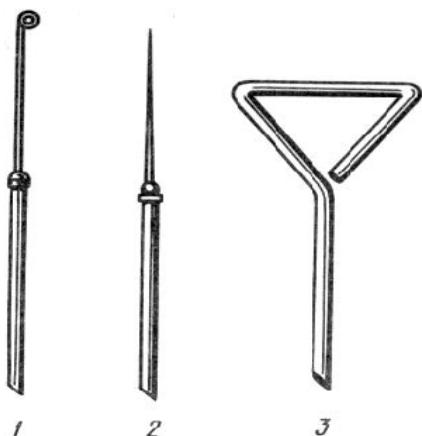
Paxtali tiqinlarni tayyorlash. Ozuq muhitlarini tayyorlash va sterillash hamda mikroorganizmlar to'plamini o'stirish uchun ishlatiladigan kolba va probirkalar paxtali tiqinlar (5-rasm) bilan berkitiladi. Tiqinlar qo'lida yoki maxsus mashina yordamida tayyorlanadi. To'g'ri tayyorlangan tiqin 3-5 sm uzunlikda,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

Mikrobiologiya amaliyotida ilmoqlar, ninalar, shpatellar (6-, 7-rasm), pinset, qaychi, tiqinlar uchun parma, pipetkalar uchun metall silindr probirkalarni sterillash uchun teshikchali sim yoki metall savatchalar, probirkalar uchun plastmassa yoki metall shtativlar va shu kabi boshqa jihoz qo'llaniladi.

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



Rasm 6. Mikroblarni ekishda qo'llanadigan igna
 (a) va ilmoq: b va v - ilmoq
 noto'g'ri bajarilgan;
 g - ilmoq to'g'ri bajarilgan



Rasm 7. Mikroorganizmlarni ekishda qo'llanadigan asboblar:
 1 - mikrobiologik ilmoq;
 2 - mikrobiologik igna; 3 - shpatel

Mikrobiologiya laboratoriyasida texnik talablari

Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlayotganda havfsizlik texnikasi va qoidalariga rioya qilinishi lozim. Mikrobiologiya laboratoriyasida faqat oq xalat, shapkacha yoki durrachada ishlash talab etiladi.

Laboratoriyaga begona buyumlarni olib kelishga ruxsat etilmaydi. Ish joyida ortiqcha narsa bo'lmasligi kerak. Faqat bitta joyda ishlash, o'ziga birkitelgan asbob uskunalardan foydalanish va barcha narsalarni belgilangan joylarga qo'yish lozim. Ichida mikroorganizmlar kulturasi bo'lgan kolba va probirkaga siyox bilan aniq qilib yozilishi, reaktivlar va aralashmalar solingan idishlarga esa yorliqlar yopishtirilishi kerak. Spirtovkalar bilan ishlayotganda spirt bug'larining alangalanib ketishidan ehtiyyot bo'lish lozim. Spirtovkani yonib turgan boshqa spirtovkadan yondirish mumkin emas. Spirtovkani faqat maxsus qalpoqchalar bilangina o'chirish kerak. Paxtali tiqinlar yona boshlaganda ularni puflab o'chirishga harakat qilmaslik kerak. Bu yonishni kuchaytiradi xolos. Yonayotgan tiqinni probirkaga, kolbag'a tiqish yoki ustiga mato yopish kerak.

Ishni boshlashdan oldin va ish tugagach, tadqiqot o'tkazilayotgan stol usti yuviladi hamda dezinfeksiya qilinadi. Mikrob biomassasi qo'l, stol va atrofdagi narsalarni ifloslantirmasligi zarur. Ilmoqlar,

ninalar va pinsetlarni mikroorganizmlarga tekkandan so‘ng spirtovka yoki gaz gorelkasida kuydirish va maxsus shtativga qo‘yish kerak. To‘kilib ketgan mikrob suspenziyasini 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. Mikrobl 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 palapartish ishlash natijasida havoda mikrob aerozoli hosil bo‘lishi mumkin.

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

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

Laboratoriyada chekish, ovqatlanish, suv ichish, ko‘p 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 gigiyena qoidalariga ham qat’iy rioya qilish lozim.

Ish tugagandan so‘ng va ovqatlanishdan oldin qo‘llarni dezinfeksiya qilish vasovun bilan yaxshilab yuvish kerak.

Talabalar va laboratoriya xodimlari o‘tkazilganligi va laboratoriya- da ishslash tartibi bilan tanishtirilganligi to‘g‘risida maxsus jurnalda qayd qilinadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Mikrobiologiya laboratoriya xonalarini joylashishi to‘g‘risida tushuncha bering?
2. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalarini tushuntiring.
3. Mikrobiologiya laboratoriyasida qanday asosiy jihozlari bor?
4. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash jarayonida qanday sanitariya-gigiena qoidalariga amal qilish kerak.

2 – laboratoriya mashg‘uloti

Mavzu: Mikrosuvo‘tlarini o‘stirish uchun ozuqa muhit tayyorlash, kulturalarni o‘stirish va biomassalarni ajratish usullarini o‘rganish.

Chlorella, Chlorococcum va Scenedesmus avlodi mikrosuvo‘tlari

Ishdan maqsad: Daryolar, ko‘llar, kanallar va boshqa suv havzalaridan mikrosuvo‘tlarni ajratib olish, ozuqa muhitlarga ekish va biomassalarini ajratib olishdan iborat.

Talabalar bajarilgan tajriba natijalarini daftarlara xulosa yozishadi.

Mikroskopik suvo‘tlar o‘simliklar dunyosiga xos xususiyatga ega bo‘lib, turli yo‘nalishdagi biologik ilmiy tadqiqotlar olib borishda qulay obyekt hisoblanadi. Ularning hujayra o‘lchovi kichikligi, o‘sish va ko‘payish muddatlarining juda qisqaligi hamda har xil o‘stirish sharoitlariga moslashtirish mumkinligi bilan ko‘pchilik olimlarni o‘ziga jalb etib kelmoqda.

Mikrosuvo‘tlari fotosintez jarayoni orqali o‘zini zarur bo‘lgan ozuqa moddalari bilan ta’minlaydi, ya’ni quyosh energiyasi va havodagi korbonat angidirid gazi ishtirokida ozuqa muhitidagi noorganik moddalarni organik birikmalarga aylantiradi va ular yer sharida hayot davomiyligini ta’minlovchi biosferaning muhim uglerod rezervuari hisoblanadi. Mikrosuvo‘tlari juda keng tarqalgan organizmlar bo‘lib, yer sharida barcha suv havzalarida uchraydi. Ilmiy adabiyotlarda keltirilgan ma’lumotlarga ko‘ra mikrosuvo‘tlarining ayrim turlari to‘yimli oziq-ovqat mahsuloti hisoblanadi. Ularning biomassalari qishloq xo‘jaligida – chorvachilik va dehqonchilikda

qo'shimcha oqsil, uglevod, mikroelementlar sifatida va muqobil energiya (biodizel) manbai sifatida foydalaniladi. Mikrosuvo'tlar maxsus o'stirgichlarda o'stirilganda bir hektar maydondan yiliga 70 tonna biomassasi olish mumkin.

O'zbekiston hududida joylashgan daryolar, ko'llar, kanallar va boshqa suv havzalaridan olingan mikrosuvo'tlarining mahsuldorligini, tarkibidagi lipidlar miqdorini va boshqa ayrim xususiyatlarini o'rganishdan iborat.

Kerakli asboblar va reaktivlar: Avtoklav, laminar boks, sentrafuga, konussimon kolbalar, petri chashkalari, fotobioreaktor, mikrosuvo'tlar uchun ozuqa muhini: g/l; KNO_3 – 0,2, K_2HPO_4 – 0,04, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,08, temir sitrat – 0,01, limon kislotasi – 0,1, bop – 0,5 ppm, $\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 ppm, $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,02 ppm, $\text{CoCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,02 ppm, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,02 ppm, pH 7,5.

Ishning bajarish tartibi: Mikrosuvo'tlar yig'ma kulturalarini olish uchun ozuqa muhiti tayyorланади. Avtoklavda, sterilizatsiya qilinadi, suvo'tlarini ajratish lozim bo'lган na'munalarga (1:10) nisbatda suyuq ozuqa muhiti aralashtiriladi va 28°C haroratga 3500-5000 Lk (lyuks) yorug'likga qo'yiladi va har 2-2,5 soatda aralashtirilib turiladi (*eslatma 14-18 kun davomida na'munalar tiniq rangsiz holatidan yashil ranga o'zgaradi*) 14-18 kunda na'munalar mikroskop yordamida tekshiriladi (8-9 rasmlar).

8-rasm. Mikrosuvo'tlarni
o'stirish jarayoni.

9-rasm. Mikroskopik
tadqiqotlar natijasida
hujayralarining morfologik
tuzilishi aks ettirilgan.

Chlorella avlodiga mansub shtammlarning hujayralar sharsimon, yumaloq, ovalsimon, ellipssimon, qisqa silindrsimon, avtosporalar yordamida ko‘payadi. Ularning o‘rtacha o‘lchamlari 1,5– 13 mkm bo‘lishi qayd etildi (10- rasm).

Chlorococcum avlodlari mikrosuvo‘tlari hujayralari sharsimon, ovalsimon, doirasimon. Ular zoosporalar yordamida ko‘payadi, o‘rtacha o‘lchamlari 4–25 mkm, rangi yashil, zangori va qo‘ng‘ir ko‘rinishda bo‘lishi kuzatildi (11- rasm).

Scenedesmus avlodiga mansub bir hujayrali yashil suv o‘tlarining hujayralar 2, 4, 8, 16, 32 shaklda ketma-ket joylashganligi, hujayralari cho‘zilgan, silindrsimon, ovalsimon, tuxumsimon, ellipssimon ko‘rinishda bo‘lishi aniqlandi (12-rasm).

Tadqiqotlar davomida mikrosuvo‘tlari 14 kun o‘stirilganda ozuqa tarkibidagi mineral moddalar miqdorining o‘zgarishi, (pH muhitiga raqamli pH metrda tekshirilganda 7,2 dan 9,6 ga ortishi) natijasida mikrosuvo‘tlari shtammlarida xlorofil pigmentining kamayishi, ya’ni yashil rangli hujayralarning sariq rangga o‘zgarishi kuzatildi. Ilmiy

adabiyotlarda keltirilishicha muhit pH ning ekstremal ko'rsatkichlari mikrosuvo'tlarning lipidlar metabolizmiga juda katta ta'sir ko'rsatadi. Ishqoriy stress sharoitlarida mikrosuvo'tlari fotosintetik apparatining reduksiyalanishi hisobiga membrana lipidlari miqdorining kamayishi va proporsional ravishda triatsilglitserinlarning ko'p miqdorda to'planishi ko'rsatilgan. Ushbu jarayonda mikrosuvo'tlarining ko'payishi turg'un holatga o'tganligi aniqlandi, biomassa cho'ktirilganda cho'kmaning ustki yuzasida oq qatlam (nobud bo'lgan hujayralar) to'plami mavjudligi kuzatiladi. Bu holat mikrosuvo'tlarining ko'payish jarayoni tugallanganidan dalolat beradi. Mikrosuvo'tlarining 14 kun davomida quruq biomassa hamda lipid hosil qilish imkoniyatlari 1-jadvalda aks ettirilgan. *Chlorella* sp 2 avlodiga mansub mikrosuvo'tlari 35,3–45,7 foizgacha lipid hosil qilgan bo'lsa, *Chlorococcum* sp. 4; 48 foiz, *Chlorococcum* sp.8; shtammlari 48,6 foizgacha lipid hosil qilishi aniqlandi. *Scenedesmus acutus* shtammi 33,2-36,8 %, *Scenedesmus* sp.42. shtammi; 30,5-32,7 foizgacha lipid hosil qilganligi aniqlandi, Mikrosuvo'tlarining biomassa hosil qilish imkoniyatlari tadqiq etilganda *Chlorococcum* avlodiga mansub mikrosuvo'tlari tadqiq etilgan boshqa shtammlarga nisbatan sermahsul ekanligi, ya'ni 14 kun davomida o'stirilganda 237,5mg/100ml biomassa to'plashi aniqlangan.

1-jadval. Mikrosuvo'tlarining biomassa qilishi va yog' miqdori.

Nº	Mikrosuvo'tlar	Quruq biomass mg/100ml.	yog' %
1	<i>Chlorella</i>	170,4-183,6	35,3-45,7
2	<i>Chlorococcum</i>	212,7-237,5	46,5-48,6
3	<i>Scenedesmus acutus</i>	178,5-228	33,2-36,8
4	<i>Scenedesmus</i> sp.42.	180,6-235,5	30,5-32,7

Yuqorida keltirilgan ma'lumotlarga asoslanib, olingan natijalar tahlil qilinganda mikrosuvo'tlarining bitta avlodga mansub turli shtammlarida har xil miqdorda lipidlar hosil bo'lishi aniqlangan. Ushbu tadqiq etilgan avlodlarga mansub shtammlar orasida, *Chlorella* sp 4; 45 foiz, *Scenedesmus acutus*. UT1; 43,2 foiz, *Chlorococcum* sp.4 46,5 foiz, *Chlorococcum* sp.8 mikrosuvo'ti shtammi 48,6 foiz,

yani tadqiqotlarda o‘rganilgan boshqa mikrosuvo‘tlari shtammlariga nisbatan ko‘p miqdorda lipid sintez qilish xususiyati aniqlangan.

Olingan natijalarga asoslanib xulosa qilinganki, O‘zbekiston sharoitida ajratilgan *Chlorococcum* va *Scenedesmus* avlodiga mansub shtammlarning nisbatan yuqori darajada lipid sintez qilishi, o‘sish muddatining qisqa vaqt olishi ularning tarkibidagi yog‘lardan yuqori mikdorda biodizel olish mumkinligini ko‘rsatadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Mikrosuvo‘tlar deganda qanday suvo‘tlarni tushunasiz?
2. Mikrosuvo‘tlarni o‘sirish uchun qanday ozuqa muhiti ishlatiladi?
3. Mikrosuvo‘tlar necha kunda o‘sadi?
4. Mikrosuvo‘tlardan qanday biomassa olinadi?

3 – laboratoriya mashg‘uloti.

Mavzu: Zamburug‘larni o‘sirish uchun suyuq va qattiq ozuqa muhiti tayyorlash, ozuqa muhiti tarkibini tahlil qilish va zamburug‘larni o‘sirish usullarini o‘rganish

Ishdan maqsad: Zamburug‘larni o‘sirish uchun suyuq va qattiq ozuqa muhiti tayyorlash, ozuqa muhiti tarkibini tahlil qilish va o‘sirish usullarini o‘rganishdan iborat.

Oziqa muhitlarni tayyorlash usullari

Ушбу 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 shu eritmalarda qaynatib, yuvib, distillangan suvda yaxshilab chayib quritiladi. Ishlatilgan idishlarnisovun 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 agarning kerakli miqdorini qo‘shib, suv hammomida, agar to‘la eriguncha qizdiriladi. So‘ng muhitni paxta-marlili filtrdan 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 ozuq 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 etmasligi kerak.

Sterillangan ozuq 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.

Kerakli asbob va reaktivlar: Suyuq va qattiq ozuqa muhitini tayyorlash uchun distillangan va vodoprovod suvi. 200 ml li kolbalar. Suv hammomi, elektr plita, analistik tarozi, qoshiqchalar. Ozuqa muhini quyish uchun voronkalar. pHni aniqlash uchun komparator. Sterillangan probirkalar va petri likobchalari. Paster naychasi -2-5-10 ml. Kartoshka, tuproq. Kimyoviy tuzlar KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 , CaCl_2 , bug‘doy kepagi, mikroelementlar, (mikroelementlar aralashmasi: 500 mg FeSO_4 , $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , CoCl_2 , HCl 100 ml distillangan suvda), pH 5,5, NaNO_3 , K Cl, FeSO_4 , saxaroza va agar-agar.

Ishning bajarish tartibi: Suyuq ozuqa muhitini tayyorlash.

1. Tarkibi g/l: KH_2PO_4 – 1,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,55; MgSO_4 – 0,5; CaCl_2 – 0,3; bug‘doy kepagi – 2; mikroelementlar – 1 ml; (mikroelementlar aralashmasi: 500 mg FeSO_4 ; 156 mg $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$; 167 mg ZnCl_2 ; 200 mg CoCl_2 ; 1 ml 19% HCl 100 ml distillangan suvda) dan iborat, pH 5,5 bo‘lgan, o‘zgartirilgan Mandels mineral ozuqa muhiti tayyorlanadi.

2. **Qattiq ozuqa muhitini tayyorlash.** Kartoshkali ozuqa muhit 400 gramm tozalanib, kubik shaklida qirqilgan kartoshka ustiga 1 litr vodoprovod suvidan solib, 15 daqiqa qaynatiladi. Qaynatma filtr qog‘oz yoki paxta bilan filtrlab olinadi va probirka hamda kolbalarga solinadi. Avtoklavda 1 atmosfera bosimda 30 daqiqa sterillanadi.

Kartoshka suviga 20 gramm saxaroza yoki glyukoza va 20 gramm agar –agar qo’shib zich ozuqa muhit tayyorlanadi. Ozuqani qaynatib, pH ni aniqlab belgilanadi. Avtoklavda 1 atm bosimda sterillanadi. Oziqli muhitni Petri likobchasiga quyiladi (13-rasm).

Kartoshkali ozuqa muhit

2-jadval

1.	Kartoshka	400 gramm
2	Vodoprovod suvi	1 litr
3	Saxaroza yoki glyukoza	20 gramm
4	Agar –agar	20 gramm

Chapeka Ozuqa muhiti (Tuproqli agar). Quriq tuproqni o’simlik qoldiqlari, tosh va qumlardan yaxshilab tozalanadi. Tuproqni havonchada maydalab, elakdan o’tkaziladi. Tuproqni kolbaga solib, ustidan distillangan suvni 1:5 nisbatda qilib solinadi. Tayyor suspenziya 5-10 daqiqa chayqatiladi, keyin 1.5-2% agar-agar qo’shiladi. Ozuqani avtoklavda 120°C haroratda 1 soat davomida sterillanadi. Sterillash 1 sutkadan keyin yana qaytariladi.

3-jadval

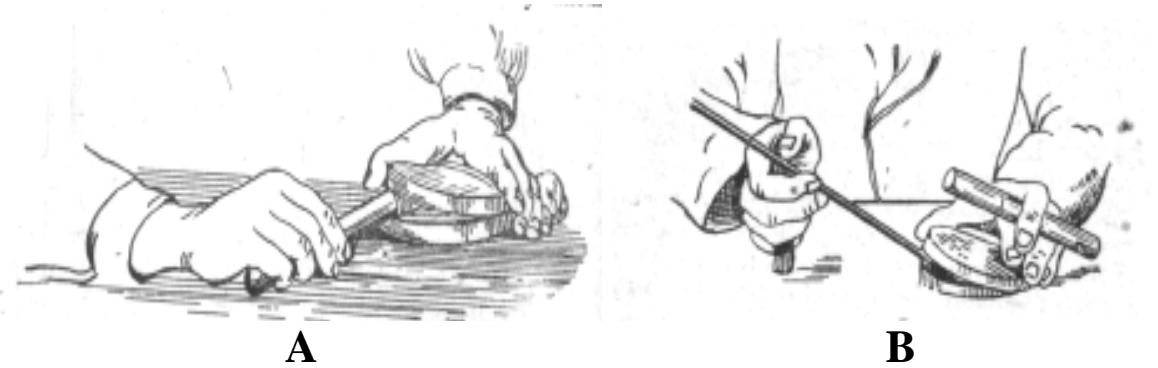
1.	NaNO ₃	2г	5.	FeSO ₄	0,001g
2.	KH ₂ PO ₄	1г	6.	Saxaroza	20g
3.	MgSO ₄	0,5г	7.	Agar-agar	20g
4.	K Cl	0,5г	8.	vodoprovod suvi	1 litr

Go’sht-peptonli agarni tayyorlash. Odatda mikroorganizmlarning umumiyl sonini aniqlash uchun standart oziq muhiti go’sht-peptonli agar qo’llanadi (GPA). Uni tayyorlash uchun avvalom bor go’sht- peptonli bulon 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 qaynatisiladi, ko’pigi olib tashlanadi. Go’sht suvini sovitib, 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 etkaziladi. GPB-ni

filtrlab, pH –ni 7,2-7,4-ga 10% yordamida etkaziladi va 20 min davomida 120 C da sterilizatsiya qilinadi.

GPA tayyorlash uchun GPB ga ozuq muhitni qo'llanishiga binoan 0,2-2% agar-agar qo'shiladi va past olovda aralashtirib, agar eriguncha qaynatiladi. GPA ni probirka va kolbalarga quyib 120⁰ C da 20 min sterilizatsiya qilinadi.



13 – rasm.

- a – Oziqli muhitni petri likobchasiga quyish;
- b - Petri likobchasidagi koloniyalarini probirkaga quyish.

Ozuq muhitlarning pH aniqlash. Ozuq muhitlarning pH ni kalorimetrik usul – bilan aniqlanadi.

Bu usul muhitdagi vodorod yoki gidroqsil ionlar miqdoriga qarab indikator rangining asoslangan. Vodorod ionlari kislotali reaksiyani, gidroqsil ionlar esa ishqorli reaksiyani yuzaga keltiradi. U yoki bu guruh ionlar miqdorini 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 gammadinitrofenol qo'llaniladi. Indikatorlar yorug'likni o'tkazmaydig'an shishadan tayyorlangan flakonlarda saqlanadi. Mixaelis asbobida indikatorlardan och sariqdan to'q sariqqacha bo'lgan turli ranglardagi eritmalar solingan standartlar tayyorlangan. Bo'yalish darajasi pH ning etiketkada yozilgan muayyan kattaligiga to'g'ri keladi. Yonmay-yon joylashgan probirkalar o'rtasida pH –ni farqi 0,2 ga teng. Standartlardan 4 ta qator hosil bo'lgan qilingan: birinchi qatorda – metanitrofenol indikatori standartlari (pH 6,8-8,4), ikkinchi qator paranitrofenol indekator standartlari (pH 5,4-7,0), uchinchi qatorda

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

Ko‘rib chiqilgan usulda tashqari pH ni aniqlash uchun universal pH –indikatori ham qo‘llaniladi.

Talabalar qattiq va suyuq ozuqa muhitini tayyorlab, keyin daftariga bajarilgan ishlar natijalarini yozib quyyadi

1. Ozuq muhitlarning turlari va ularning tarkibi

Ozuq muhitlarning tarkibiga organik 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 manbasi sifatida oqsil moddalar, peptonlar, aminokislotalar, ammoniy tuzlari, nitratlar bo‘lishi mumkin. O‘siruvchi moddalar sifatida achitqi ekstraktlari yoki achitqi avtolizatlari, ba’zan vitaminlar, aminokislotalar, purin va pirimidin asoslarining eritmalari qo‘shiladi.

Tarkibi bo‘yicha ozuq muhitlari 2 turga bo‘linadi: tabiiy (natural) va sun’iy (sintetik).

Tabiiy muhitlar o‘simlik va hayvon mahsulotlaridan tashkil topib, murakkab va o‘zgaruvchan tarkibli bo‘ladi. Ularni mikroorganizmlarni o‘sirish, biomassasini oshirish, toza kulturalarni saqlash va mikroorganizmlarni aniqlash maqsadida qo‘llanadi. Natural ozuq muhitlaridan ko‘pincha go‘sht-peptonli bulon (agar), xmel (qulmoq) qo‘shilmagan pivo shirasi (agari), achitqili suv, karamli muhit va boshqalar qo‘llanadi.

Sintetik ozuqa muhitlar tarkibida ma’lum organik va anorganik birikmalar aniq konsentratsiyalarda bo‘ladi. Sintetik ozuq muhitlarni mikroorganizmlarning modda almashinuvini, o‘sish qonuniyatini aniqlash uchun yoki biror metabolitni sintezini o‘rganish h.k. uchun tayyorlanadi. Amaliy ishlarda ko‘pincha Chapeka sintetik muhitini – mog‘or zamburug‘ini o‘sirish uchun, Ridder muhitini – achitqilar uchun va boshqa muhitlar ishlatiladi.

Belgilangan maqsadga ko‘ra ozuq muhitlari universal, elektiv va differensial-aniqlovchilarga bo‘linadi. Universal (yoki asosiy, standart) ozuqalarga ko‘p turdagи mikroorganizmlar o‘sishi uchun qulay ozuq muhitlari kiradi: go‘sht –pepcionli bul’oni xmel qo‘shilmagan

pivo shirasi va boshqalar. Elektiv yoki tanlab oluvchi muhitlar faqatgina ma'lum mikroorganizmlarni yoki bir - biriga yaqin turlar guruhlarini o'sishini ta'minlaydi, boshqalari esa bu muhitda o'smaydi.

Differensial - aniqlovchi yoki indikator muhitlar mikroorganizmlarni bioximik xususiyatlarini o'rganib, ularning toza kulturasini indentifikatsiyalash (aniqlash) uchun qo'llanadi.

Konsistensiyasi bo'yicha muhitlar suyuq, qattiq va sochiluvchan bo'ladi. Suyuq ozuq muhitini mikroorganizmlarning biomassasini va modda almashinuv mahsulotlarini to'plash uchun, hujayralarni aktiv 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 ularni 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 ozuq 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 shakldadir. Suvda shishib, yumshab 100°C eriydigan gel hosil bo'lган qiladi va 40°C qotadi. Muhitni qotirish uchun 1,5-3% gacha agar qo'shilladi, yarim suyuq muhit tayyorlashda 0,15-0,7%. Jelatin hayvon suyaklari, paylarini qaynatib olinadigan oqsildir. Jelatin konsentratsiyasiga qarab (5-15%) $22-26,5^{\circ}\text{C}$ da eriydi. Jelatinli muhitlarni, achitqilarni indentifikatsiyalashda yirik koloniyalarni olish uchun qo'llanadi.

Asosiy elementlar manbasi. Ko'pchilik mikroorganizmlar uglerod manbasi sifatida organik moddalarni assimlyasiya qiladi. Mikroorganizmlar foydalanadigan uglerod manbalariga bog'liq bo'limgan 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 ozuqa muhiti tarkibiga kiruvchi moddalar orasida uglerod manbalari asosiy o'rinni egallaydi. Turli xil mikroorganizm turlari uglerodni har xil uglerod manbalarida o'zlashtiradilar.

Avtotrof mikroorganizmlar, yagona uglerod manbasi sifatida uglerod ikki oksididan foydalanadi.

Geterotrof mikroorganizmlar uchun uglerod manbasi sifatida, turli xil organik birikmalar: uglevodlar, spirtlar, organik kislotalar, lipidlar, uglevodorodlar va boshqa uglerod saqlovchi mahsulotlar xizmat qilishi mumkin.

Mikroorganizmlar azot ozuqasi uglerodga yaqinroq bo'lib undan hajmiga nisbatan kamroq bo'ladi. Elementlarni tahlili shuni ko'rsatadiki, mikroorganizmlar tarkibida azot, uglerodga nisbatan 5-6 marta kamroq bo'ladi. Mikroorganizmlar o'zlashtirgan uglerodlarini energetik maqsadlarda sarflaydi. Shuning uchun mikroorganizmlar ozuqa muhitini 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 ozuqa muhitida azotning tanqisligi hujayrada oqsil va aminokislotalar kamayishi hisobiga lipidlar saqlashining oshishiga va yog' bosib ketishiga olib keladi. Shuning uchun ishlab chiqarish sanoatida, boyitilgan ozuqa achitqisi olish uchun doimo ozuqada azot etishmasligining oldini olishga alohida e'tibor beriladi.

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

Mikroorganizm hujayralarining o'sish tezligi, fosfor saqlovchi ozuqa muhitidagi fosfor miqdoriga bog'liq bo'ladi. Shuningdek, kulturalarning o'sish tezligi mikroorganizm hujayrasida saqlanadigan fosfor miqdoriga ham bog'liq bo'ladi.

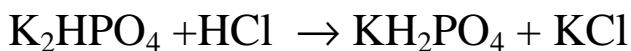
Mikroorganizmlar fiziologiyasida fosfor kislotalarining roli hamisha turli tumandir. Ozuqa muhitida fosfor kislotalari bufer yoki vodorod ionlari miqdorini boshqaruvchi rolini bajaradi, bu kichik buferli sig'imlar namoyon qilgan ozuqalarda juda zarur hisoblanadi (gidrolizatorlar).

Ozuqa muhitida oksidlanish-qaytarilish potensialini teskariga aylantiruvchi qobiliyatni fosfor kislota bajaradi va natijada teskari reaksiya ketadi:

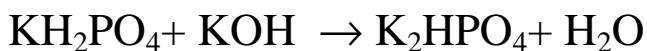


Bu tizim fosfatli bufer deb ataladi.

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 muhitini kuchli o‘zgarishi hosil bo’lgan 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— vitaminlar sintezlovchilar, bular ozuqada vitaminlar bo‘lishini talab qilmaydi.

Auksogeterotroflar— vitaminlar sintez qilmaydilar va ozuqa muhitiga vitaminlar qo‘shilishiga muhtoj bo‘ladi.

Mikrobiologik ishlab chiqarishda ko‘pchilik mikroorganizmprodutsentlar auksogeterotroflarga ta’luqlidir. Ularning barchasi deyarli tiamin, nikotin kislota, pantoten kislota, piridoksin, inozit va biotinlardan tashkil topgan V-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. Ozuqada vitaminlar miqdori hamisha juda kam miqdorda bo‘ladi (1 l ozuqada mg ning mingdan bir ulushi). Vitaminlar xom ashyo tarkibida bo‘lishi yoki alohida solinishi mumkin.

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

Mikroorganizmlar o'sishi va rivojlanishiga bir qadar ta'sir etuvchilarga temir ionlari, simob, marganets, 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 ozuqa muhitida uglerod, azot, fosfor, vitamin, makro va mikroelementlar miqdori, aniq pH darajasi hamda oksidlanish - qaytarilish reaksiyasi potensiali bo'lishi zarur.

Har bir mikroorganizm uchun mo'tadil ozuqa muhiti uzoq vaqt, ko'p bosqichli tajribalar olib borish yo'li bilan tanlanadi. Keyingi vaqt-larda mo'tadil ozuqa muhiti tanlash uchun matematik modellashtirish va ozuqa komponentlari nisbatini hisoblash usullari qo'llanilmoqda.

Ozuqa muhiti tayyorlash uchun xom ashyo mahsulotlari

Mikrobiologik ishlab chiqarishda ozuqa 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 ozuqa muhiti tarkibi tashkil etiladi, unda turli xil zararli aralashmalar bo'lmasligi, ishlatalishi qulay hamda tannarxi qimmat bo'lmasligi zarur.

Barcha turdag'i xom ashylar davlat standarti talablariga mos kelishi shart.

Murakkab tabiiy mahsulotlar yoki ishlab chiqarishning qoldiq mahsulot xom ashylari, ozuqa muhiti sifatida foydalanilishidan oldin qat'iy ravishda biokimyoviy tekshirishlardan o'tkazilishi lozim. Asosiy xom ashyo turlari bilan tanishib chiqamiz.

Suv. Ozuqa muhiti tayyorlash uchun suvlar vodoprovod, artezan 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 ozuqa muhiti tayyorlashda, balki sovutish 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 bиринчи navbatda uglerodga tanlash xususiyati bilan yondashadi.

Har bir mikroorganizm turlarining alohida xususiyati, ularning uglerod saqlovchi aralashmadan uglerod saqlovchi molekulalar ketma ketligiga ko‘ra assimlyasiya qilishiga ko‘ra xarakterlanadi.

Mikroorganizmlar hujayrasi aniq bir moddalar assimlyasiyasida ishtirok etuvchi fermentlar sintez qiladi va shunda assimlyasiya bo‘ladigan uglerod manbalari ular ishtirokida engil assimlyasiyalanadi. 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 vaqtida ular energiya manbasi sifatida ham xizmat qiladi.

Mikroorganizmlar uchun energiya manbai sifatida uglevodlardan eng qulayi glyukoza hisoblanadi, ammo ular asosida metabolitlar ishlab chiqarishda foydalanish mahsulotning tannarxini oshrib yuboradi.

Ko‘p tonnali mikrobiologik ishlab chiqarish uchun boshqa bir qadar arzonroq bo‘lgan uglevod saqlovchi manbalardan qishloq xo‘jaligi, qog‘oz-sellyulozali va oziq ovqat ishlab chiqarishning turli xil qoldiqlaridan foydalaniladi.

Bunda uglerod saqlovchi manbalar orasida asosiy o‘rinni yog‘ochsuzlik 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 $C_{12}H_{12}O_{11}$ (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 $C_6N_{10}O_5$ –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 qoramtil sharbatni mujassamlashtiradi. Quruq modda hisobida 70% atrofida redutsirlovchi mahsulot, shuningdek, texnik mahsulotlari 50% gacha shakar saqlaydi. Gidrol shakarlari asosan glyukozadan iborat. Glyukozadan tashqari quruq modda mahsuloti massasiga nisbatan 18% o‘zlashtirilmaydigan shakarlar saqlaydi. Shuningdek, o‘zida parchalanmagan kraxmal va glyukoza polimerizatsiyasini namayon etadi. Gidrolning boshqa uglevodlari to‘liq identifikasiya qilinmagan. Kraxmal gidrolizida uglevodlardan tashqari ba’zi bir organik kislotalar miqdorini ham hosil bo‘lgan qiladi. Gidrol 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 - qoramtil jigar rangda bo‘lib, zichligi $1,35\text{--}1,40 \text{ g/sm}^3$ 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, melassada mikroorganizmlar foydalana olmaydigan uchinchi qismi betain shaklida bo‘lgan 1,1–1,5% azot saqlaydi. Melassa tarkibidan ko‘pgina aminokislotalar (asparagin, glutamin kislotalar, leysin, izoleysin, tirozin) va V guruhi vitaminlari (biotin, tiamin, riboflavin, inozit, nikotin va pantoten kislotalar) chiqadi. Asosan biotin yuqori darajada bo‘ladi (80 mg/t). Melassa kularida 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, uning navi, o‘sirilish 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 Ozuqa muhitida uglerod manbasi 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 aminokislotalar, glikol, sut, yantar kislotalari, kalsiy, kaliy natriy tuzlari, marganets, kobolt, mis va qator V 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’lgan 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‘simplik to‘qimasi hujayra matriksini hosil bo’lgan qiladigan, sellyuloza, lignin, pentozanlar, gemitsellyulozalar va boshqa mahsulotlar saqlovchi ko‘p yillik o‘simplik 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 uskunalarida yuqori haroratda gidrolizlanadi (suv yordamida ajratiladi). Yog‘ochning polisaxaridlari gidrolizlash jarayonida mikroorganizmlar engil o‘zlashtiradigan suvda erigan manosaxaridlar holatiga o‘tadi. Sanoat asosida ishlab chiqarishda mikrobiologik sintez uchun substratlar daraxtning yaxlit holati emas balki, uning qayta ishlashdagi qoldiqlari: qipiqlik, tarashalar, egri-bugri shoxlari va xokozolar qo‘llaniladi. Yog‘ochni gidrolizlash jarayonidan olingan eritma “gidrolizat” deb nomlanib, mikroorganizmlarni o‘sirishda substrat sifatida qo‘llaniladi va monosaxaridlar saqlashi bo‘yicha baholanadi. Gidrolizatning shakarlar saqlashi, daraxtning turiga, girolizlash usuli va boshqa faktorlarga 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 ozuqada kalsiy gidrosulfid va sulfat kislota hosil bo’lgan 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 bo’lgan 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 ashvosini qishloq xo‘jalik o‘simpliklari qoldiqlari (chigit kunjarasi, makkajo‘xori so‘tasi, kungaboqar poyasi, sholi kunjarasi, somonlar), shuningdek, ba’zi bir o‘simpliklar (qamish, g‘o‘zapoya) tashkil etadi. Bunday xom ashyolarni mikrobiologik sintez uchun tayyorlash,

sellyulozalarni erigan shakarlargacha gidrolizlash bilan yakunlanadi. O’simlik xom ashylari mikrobiologik ishlab chiqarishda juda katta qiziqish uyg‘otmoqda.

Torf –kimyoviy tarkibiga ko‘ra, u hosil bo‘lgan bo‘lgan 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 engil 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 27gacha (C_{10} – C_{27}) bo‘lgan n-parafinlardan foydalanadi. Ular neftning muvofiq fraksiyalaridan ajratib olinadi va qaynashining dastlabki hamda oxirgi haroratlari ($280\text{--}320^{\circ}\text{C}$) shuningdek, asosiy komponentlar saqlashi bilan xarakterlanadi (99% dan kam bo‘lmagan). Mikroorganizmlar uglevodorodlarning oxirgi gazsimon $C_1\text{--}C_4$ uglerodni 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 engil o‘zlashtiradi. Metil spirti qo‘llanilishi 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) $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ –mikroorganizmlarni o‘sirishda istiqbolli xom ashylardan biri hisoblanadi. Etil spirti suvda juda yaxshi aralashadi, zaharli emas, uning yordamida biomassa olish uchun maxsus tozalash talab qilmaydi. Uglerod manbasi sifatida, mikrobiologik va kimyoviy yo‘llar bilan olingan barcha markadagi etil spirtlaridan foydalanish mumkin. Etil spirtida juda kam miqdorda izopropil spirti, oltingurgut saqlovchi birikmalar, organik kislota, murakkab efirlar, dietil efir va suvda erimaydigan moddalar bo‘lishi mumkin.

Sirka kislota CH_3COOH –60% dan ko‘p bo‘lмаган асосиј модда сақлајди, формалдегид (HCHO) ва чумоли кислотаси (HCOOH) esa 1% dan ko‘p bo‘lmaydi.

Yuqorida ко‘рсатиб о‘тилган модда ва махсулотлар микробиологикалын о‘стришда углерод манбай сифатида то‘ланылышы мүмкін.

Azot manbalari. Ishlab чиқарыш озуға мүхиттарда азот манбалари сифатида оқсил, пептидлар ва еркін аминокислоталар хизмат қилиши мүмкін. Микробиологик ишлаб чиқарыш билан бօг‘лиқ бо‘лган fermentatsiyalarni деярли барчасида маккажо‘xori ekstrakti, соя уни yoki achitqi gidrolizatları to‘ланылди.

Suu маqsada азот кислоталари, ammoniyli sulfat tuzи каби минерал азот сақловчи мoddalardan ba’zi hollardagina foydalaniladi.

Makkajo‘xori ekstrakti – о‘зининг ташқи ко‘ринишдан quyуq suyuqlik bo‘lib, rangi очиқ сарыдан qoramtir-jigar ranggacha bo‘lgan pag‘a-pag‘a suspenziyadir. Kimyoviy таркibi, маккажо‘xorining navi, o‘stirish sharoiti, saqlanish ва quritilishiga, shuningdek, makka-juxorini namlash jarayonlariga bog‘liq holda keng ko‘lamda o‘zgarib turadi. Ekstraktta quruq модда 48% dan kam bo‘lmasligi zarur. Quruq ekstract hisobida азот сақловчи мoddalarning umumiyy saqlanishi 40 dan 50% gacha bo‘ladi (umumiyy азот 6,4–8%). Namlash jarayonida маккажо‘xori oqsillarining fermentativ gidrolizlanishi boshlanib ketadi, bunda деярли азот сақловчи мoddalarning yarmi o‘zida аминокислоталар, polipeptidлар ва oqsillar namayon qiladi. Mahsulot lakulning miqdori 24% dan oshmasligi lozim. Asosiy kul elementlari fosfor, kaliy va magniy hisoblanadi. Ekstraktta umumiyy fosfor saqlashi 5%ni tashkil etadi. Bundan tashqari ekstract ba’zi o‘stirish moddalari va biostimulyatorlar, V guruhi vitaminlari (biotin) сақлајди. Shunday qilib, маккажо‘xori ekstraktining Ozuqa мүхити komponenti сифати аhamiyati juda yaxshi assimilyasiya bo‘ladigan organik азот, углерод hamda mikroelementlar ва ballastli moddalar saqlashi bilan aniqlanadi.

Soya uni – соя donining yanchilganidan, shuningdek, соя yog‘i олингандан со‘ng qoladigan соя kunjarasi ва shrotidan olinadi. Foydalaniladigan соя uni xom ashylari, yog‘siz yarim yog‘langan ва juda yog‘li shakllarga ajratiladi. Bundan tashqari соя uni dezodarirlangan (bug‘ bilan ishlov berilgan) ва dezodarirlanmagan bo‘lishi мүмкін. Dezodarirlangan соя unini bir yilgacha saqlash

mumkin, bunda fermentlar inaktivatsiyasi sodir bo‘ladi, dezodarilangan 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 reaksiyalı bo‘ladi. Azot manbasi va Ozuqani nordonlashtirish uchun qo‘llaniladi.

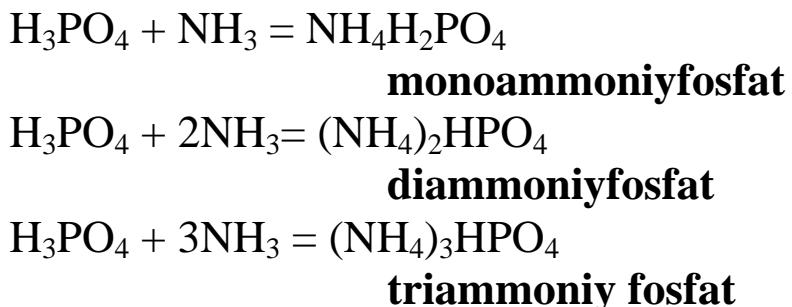
Ammoniy sulfat ($\text{NH}_4\text{}_2\text{SO}_4$) – suvda issiqlik yutib yaxshi eriydi. Azotni 20-21% saqlaydi.

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 gidrooksid) – o‘tkir o‘ziga xos hidli, rangsiz suyuqlikdir. Engil bug‘lanadigan zahardir. Ozuqaning 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 manbasi sifatida, ammiakning fosforli kislotalarini neytralizatsiyalashdan olinadigan ammoniy fosfat keng qo‘llaniladi:



Ko‘pincha mono va diammoniyfosfatlar aralashmasini namoyon qiladigan ammofos, shuningdek, erimagan qorishmasi (shlam) qo‘llaniladi. Ammofosda 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 ammofosning naviga bog‘liq holda 36-48% ni tashkil etadi. Ozuqa muhiti tarkibiga ammofos eritmasini qo‘shishdan oldin albatta filtrlab olish lozim. Ammafos nafaqat fosfor, balki azot manbai ham hisoblanadi.

Ortofosforli kislota (fosforli) H_3PO_4 —Ozuqada nordonlashtirish va fosfor manbasi 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 eritishyo‘libilan 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 (eritmada kristallizatsiyalash orqali olinganda) va F (flotatsiyada olinganda) markalariga bo‘linadi. Tarkibida, navlariga bog‘liq holda 95–98% asosiy modda saqlaydi.

Manganets sulfat $MnSO_4$ – suvsiz manganets sulfat - rangsiz, kristall modda bo‘lib, suvda kristallogidratlar hosil bo’lgan qiladi. Ishlab chiqarishda, odatda, suvda yaxshi eruvchi, oqish-qizish rangli, kristall kukun $-MnSO_4 \bullet 5H_2O$ qo‘llaniladi.

Temir sulfat $FeSO_4$ – suvli eritmada $FeSO_4 \bullet 7H_2O$ kristallogidrat shaklida kristallanadigan, temir kuporasi 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 bo’lgan 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 kuperosi 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.

Xlorid kislota HCl – dan mikrobiologik ishlab chiqarishda dastlabki miqdorining 31% idan kam bo‘lmagan miqdorida foydalilanildi.

Sulfat kislota H_2SO_4 – ozuqa muhitlarini nordonlashtirishda keng qo‘llaniladi. Zavodlarda H_2SO_4 ni 92,5–94% saqlovchi texnik sulfat kislotasi qo‘llaniladi.

Kaustik soda $NaOH$ (natriy gidrooksid, o‘yuvchi natriy) – ozuqani 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 $CaCO_3$ saqlaydi. Ozuqa pH ini mo‘tadillashtirish uchun qo‘llaniladi, agarda fermentatsiyada qo‘llanilsa kislotalar hosil bo‘lgan qiladi. Mikrobiologik ishlab chiqarishda, karbonat angidrid gazi chiqarib yuborilgan ohaktoshdan ajratilgan, shuningdek, tabiiy maydalangan bo‘rlardan foydalilanildi. 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 namayon qiladi. Tarkibida 6–6,5% metil spirti va 0,02–0,04% chumoli kislota saqlaydi. Dezinfiksiyalovchi vosita sifatida qo‘llaniladi.

Antiformin – o‘zida, aralashtirilgan dezinfiksiyalovchi vositalar namoyon qiladi: 1 m^3 eritmada, 100 kg xlor maydasi, 75 kg soda ($NaCO_3$) va 10 kg kaustik soda ($NaOH$) saqlaydi.

Mikroorganizmlarni aerob va anaerob sharoitda o'stirish

Mikroorganizmlarni ozuqa muhitida o'stirish kultivirlash deb ataladi (lotincha cultus – o'stirish degani). Ularni yuza, chuqur ekib, davriy yoki to'xtovsiz usullarda, ayerob yoki anayerob 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, matrats, kyuvetalarda o'stiriladi. Mikroorganizmlar ekilgan idishlar termostatda doimiy temperaturada saqlanadi. Ular muhit yuzasida rivojlanib, bevosita havodan kislorod o'zlashtiradi. Suyuq muhitda obligat ayeroblar juda qalin parda shaklida o'sadi. Fakultativ anayeroblar suspenziya, parcha-parcha, cho'kma hosil bo'lgan qilib suyuq muhit ichida ham, yupqa parda shaklida yoki yoppasiga chim hosil bo'lgan qilib o'sadi.

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

Chuqurda o'stirish. Bu usul davriy va to'xtovsiz bo'lishi mumkin. Davriy jarayonda ozuq muhitining hammasiga kultura ekiladi va zarur miqdordagi biomassa yoki mahsulot to'planguncha optimal sharoitda ma'lum vaqt oralig'ida o'stiriladi. Suyuqlikning chuqur qatlamida ayeroblar o'sishini ta'minlash uchun kislorod bo'lishi zarur. Mikroblar hujayrasi faqat erigan kisloroddan foydalanadi, uning eruvchanligi esa past (4-7 mg/l). Suyuq kulturalar ayeratsiyasida 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 ozuq muhitiga teng bo'lgan hajmdagi suvli

eritmasini kolbalarga quyib, tebratma uskunaga qo‘yiladi va ma’lum vaqtadan oksidlangan sulfit miqdori aniqlanadi.

To‘xtovsiz chuqur o‘sirishishlari 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, temperatura, pH tartibga solinadi, ko‘pik yo‘qotiladi va hokazo. Apparatdan to‘xtovsiz ravishda tayyor kultural suyuqlik oqib turadi. Bu jarayon xemostat yoki turbodostat 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‘siruvchi moddalar manbaidan, kislorod, pH dan va temperaturadan foydalanish mumkin. Limitlovchi omil ta’siridagi mumkin bo‘lgan o‘zgarishlarni aniqlash ishlab chiqarish sharoitida mikroorganizmlarni to‘xtovsiz o‘sirish jarayonini boshqarishda katta ahamiyatga ega, materiallarni tejab sariflashga, produtsentlarning genetik imkoniyatlaridan samarali foydalanishga, ega ko‘p mahsulot olishga imkon beradi. Turbostat rejimida biomassaning konsentratsiyasi doimiy saqlanadi. Shu maqsadda boyitilgan ozuq muhitlaridan foydalanish mikroorganizmlar deyarli eng yuqori tezlikda ko‘payishiga imkon beradi. Biroq bunda hujayralar konsentratsiyasi uncha yuqori bo‘lmaydi. Bundan tashqari, hujayralar zichligini fotometrik nazorat qilish uchun ozuq muhiti tiniq (shaffof) bo‘lishi kerak. Bu ishni faqat laboratoriya sharoitida bajarish mumkin.

Chuqurda o‘sirish jarayoni gomogen yoki geterogen-to‘xtovsiz bo‘lishi mumkin. Gomogen-to‘xtovsiz jarayonda jadal aralashtirayotgan fermentyorda barcha parametrler (ozuq moddalar konsentratsiyasi, hujayra titri va boshqalar) vaqt mobaynida doimiy bo‘ladi. Geterogen-to‘xtovsiz protsessda esa o‘zoro ketma-ket birikkan bir nechta fermentyordan foydalilanadi. Bunda oziq muhiti birinchi fermentyorga solinadi, tayyor kultural suyuqlik oxirgi fermentyordan oqib tushadi. Bu holda to‘xtovsiz ravishda ozuq muhiti kelib turadi, lekin hujayralar doimiy o‘sish sharoiti bilan ta’minlanmaydi (nechta apparat bo‘lsa, shuncha o‘sirish sharoiti mavjud). Kulturani bunday sharoitda o‘sirish 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 ozuq muhitida kislorodsiz o‘stiriladi. Muhitga ko‘p miqdorda kultura qo‘shilsa va atrof-muhit atmosferasida birmuncha uglerod dioksid bo‘lsa, anayeroblar aktiv o‘sadi.

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

Fizik usullar. Kulturani bevosita ekishdan oldin probirkalarni qaynatish yoki isitish yo‘li bilan (qaynayotgan suv hammomida 15-20 minut qaynatib, sovuq suv oqimida tezda sovitish yo‘li bilan) quyuq yoki suyuq ozuq muhitidagi kislorod yo‘qitiladi. Kulturani ekip bo‘lgandan keyin qalin ozuq muhiti qatlami ustiga vazelin moyi bilan parafinning sterillangan aralashmasi quyiladi.

Anaeroblar Petri likopchasiidagi yoki probirkalardagi ozuqli 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 foydalilanildi. Ularning ayrimlari muhittan tashqarida bo‘ladi, boshqalari esa qaytaruvchi sifatida bevosita muhitga qo‘shiladi. Pirogallolning NaCO li eritmasi, natriy gidrosulfat (ditionit) 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 NaCO ning to‘yingan eritmasi bilan aralashgan holda 220 sm havoni kisloroddan tozalaydi.

Biologik usullar. Ba’zi anayeroblarni kislorod mavjud sharoitda ayeroblar bilan birga o‘stirish mumkin. Buning uchun zich berk idishga aerob kultura ekilgan 10-15 ta va anaerob kultura ekilgan bitta probirka joylanadi. Aerob mikroorganizmlar kislorodni jadal o‘zlashtirib, CO₂ ajratadi va shu bilan anaeroblarning o‘sishi uchun sharoit yaratadi. Aerooblarni o‘sayotgan hujayralari kislorodni batamom o‘zlashtirib bo‘lgandan keyingina anaeroblar o‘sa boshlaydi.

Zamburug‘larning qattiq muhitda o‘sishi. Sterilizatsiya qilingan probirkalar va Petri likobchalariga quyilgan ozuqaga zamburug‘ mitseliysi yoki konidiyalari mikrobiologik ilgak vositasida olib ekiladi. Ozuqa muhitiga o‘simlik qoldiqlaridan yoki tuproqdan suyultirish usuli yordamida ajratib olinib qattiq ozuqa muhitiga ekib, zamburug‘larni turini va sonini aniqlash eng qulay usul hisoblanadi. Buning uchun zamburug‘ o‘sib turgan probirkadan ozuqa solingan yangi probirkani qo‘lda bir –biriga paralell holda saqlab o‘ng qo‘l bilan ularning qopqoqlari ochiladi va mitseliy bo‘lagi olinib yangisiga ekiladi. O‘ng quldagi ruchka ushlangan holdagidek tutib turilgan mikrobiologik ilgak spirtli alangasida bir necha bor qizdirilib, qopqoqlari ochilgan probirkadagi ozuqada ilgak sovutiladi. Sovitilgan ilgak o‘simlik o‘sib turgan probirkaga kiritilib, unda o‘sayotgan zamburug‘larining mitseliy bo‘lagi yoki konidiyalaridan olinib, yangi ozuqali probirkadagi ozuqa yuzasiga bitta ukol bilan ekiladi. Bu probirkaning og‘zi spirtli alangasida qizdirilib qopqog‘i yopiladi. Probirkaning yuzasiga markerklarda yoki oynaga yozgich qalamda o‘simlik nomeri, nomi va ekilgan muddatlari ko‘rsatiladi. Probirka metall idishlarga yoki karton qutichalarga solinib, o‘sirish uchun 25-27°C haroratli termostatga qo‘yiladi. Unib chiqqan zamburug‘ni mikroskopda ko‘riladi.

Talabalar bajarib bo‘lgan tajriba natijalarini daftariga yozib, mikroskopda ko‘rgan zamburug‘larning mitseliysi va konidiyalarini chizib olishadi (14-15-rasmlar).

14- rasm.

- a –*Aspergillus* koloniysi;
- b –*Aspergillus oryzae*;
- v – *Penicillium notatum*.

Zamurug‘larni suyuq ozuqa muhitida o‘sirish uchun mikrobiologik ilgak bilan olingan mitseliy bo‘laklari yoki konidiyalari probirkadagi, kolbadagi suyuq ozuqaga spirtovka alangada sof holda o‘tkaziladi. Qolgan jarayonlar yuqorida ko‘rsatilgan tafsilotlar asosida amalga oshiriladi.

Nazorat uchun savollar:

1. Zamburug‘larni o‘sishi uchun qanday ozuqa muhitlarida o‘siriladi?
2. Ozuqa muhitlarining tarkibini tahlil qilib bering?
3. Zamburug‘larni o‘sishi uchun vitaminlar, makro va mikroelementlarini qanday ahamiyati bor?
4. Zamburug‘larni o‘sishi uchun qanday uglerod manbalari zarur?

4 – laboratoriya mashg‘uloti

Mavzu: Entomopatogen bakteriyalarni o‘sirish, ozuqa muhiti tayyorlash, ularni o‘sirish usullari hamda oqsilli moddalarni ajratib olish.

Ishdan maqsad: Mikroorganizmlar asosida entomopatogen biopreparatlar olish texnologiyasi, produtsentlari va xom-ashyo manbalarini o‘rganish hamda mikroorganizmlarni ekish uchun ozuqa muhiti tayyorlash va sterilizatsiya qilish, o‘sirish va hosil bo‘lgan bo‘lgan oqsilli moddalarni ajratib olishni o‘rganishdan iborat.

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

Kerakli asboblar va reaktivlar: laminar boks termostat, avtoklav, Petri likopchalari, agar-agar, saxaroza, kimyoviy tuzlar, ilmoqlar.

Ishning bajarish tartibi: Produtsent: *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi shtammi laboratoriya muzeyidan texnik laborant tomonidan maxsus kosyaklarga ekilgan holda beriladi yoki tuproqdan toza holda ajratib olinadi (16-rasm).

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

Preparat eritmasi o'simlikka purkash yo'li bilan qo'llaniladi. Uni 2-5 kg/ga miqdorda 300-1500 l/ga maxsus purkagichli moslamalar yordamida ham, katta maydonlarga samolyot yordamida ham sepilishi mumkin. Entobakterinni qo'llashning mo'tadil harorati 18-32°C dir.

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

Dastlabki ekuv materialini tayyorlash. Ekish materialini o'stirish uchun agarli kartoshka ozuqa muhiti kosyakida 2 kun davomida 28-30°C haroratda o'stirilgan kulturadan foydalaniladi (texnik loborant

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

Sterilizatsiyalash sharoiti. Ozuqa muhiti 105-110°C haroratda 1 atmosfera bosimda 20 min. davomida sterillanadi. Ozuqa muhitining pH ko'rsatkichi: sterilizitsiyagacha 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 oziqa muhiti pH ko'rsatkichini 7,4 da ushlab turish maqsadga muvofiqdir).

pH ko'rsatkichi (suyuq ozuqa 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 ozuqa muhitining ishqoriy holatga o'tishi kristallarni 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.

Ishni bajarib bo'lgach talabalar daftariga xulosalarni qayd qilib mikroskopdan kuzatgan rasmlarni chizib olishadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Entomopatogen deganda nimani tushunasiz?
2. Entomopatogen biopreparatlar olish texnologiyasini tushuntiring.
3. Produtsent *Bacillus thuringiensis* bakteriyasini qanday ajratib olish mumkin?
4. Entomopatogen biopreparatlar tayyorlash uchun qanday ozuqa muhitlar ishlataladi.
5. Entomopatogen biopreparatlar tayyorlashda sterilizatsiyalash sharoiti necha atmosfera bosimda olib boriladi?
6. Qanday usulda oqsil moddalari ajratib olinadi?

Adabiyotlar.

1. Davranov Q.D. Sanoat mikrobiologiyasi. O‘quv qo‘llanma. Т.: «Fan va texnologiya», 2013. – 196 bet.
2. Вахабов А.Х., Расурова Т.Х., Низаметдинова Я.Ф., Мансурова М.И., Музафарова И.А. Микробиологиядан амалий ва лаборатория машғулотлари учун ўқув қўлланма (лотинча).”Университет” нашриёти, 2009 йил.
3. Леонова И.Б. Лабораторный практикум по дисциплине «Основы микробиологии» Москва ФГБОУ ВПО «РЭУ им. Г.В.Плеханова» 2012. С. 88
4. Зупаров М.А., Хакимов А.А., Рахимов У.Н., Саттаров Р.К., Хакимова Н.Т., Аллаяров А.Н. Микробиологиядан лаборатория машғулотилари. Ўқув қўлланма. Тошкент, 2014. – 41-46 бетлар.
5. Xo‘jamshukurov N.A., Nurmuxamedova V.Z.- “Sanoat mikrobiologiyasi” fanidan amaliy mashg‘ulotlar uchun uslubiy qo‘llanma / Toshkent.: TKTI, 2013. – 100 b.
6. Шакиров З.С., Сафаров И.В. *Chlorella, Chlorococcum* ва *Scenedesmus* авлоди микросувўтларининг морфологик-физиологик тузилиши ҳамда айrim хусусиятлари. Қарду Хабарлари. № 4. 2017 .
7. Тренкеншу Р. П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики морских микроводорослей в плотной культуре// Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Красноярск, 1984. – 28 с.

MUNDARIJA

Kirish.....	3
Mikroorganizmlar bilan ishlashning texnik talablari va shartlari.....	4
Mikrosuvo‘tlarini o‘stirish uchun ozuqa muhiti tayyorlash, kulturlarni o‘stirish va biomassalarni ajratish usullarini o‘rganish.....	13
Zamburug‘larni o‘stirish uchun suyuq va qattiq ozuqa muhiti tayyorlash, ozuqa muhiti tarkibini tahlil qilish va zamburug‘larni o‘stirish usullarini o‘rganish.....	17
Entomopatogen bakteriyalarni o‘stirish, ozuqa muhiti tayyorlash, ularni o‘stirish usullari hamda oqsilli moddalarni ajratib olish.....	39
Foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati.....	42

O'QUV - USLUBIY NASHR

Jamila SHERQULOVA

SANOAT MIKROBIOLOGIYASI
laboratoriya mashg'ulotlari

**(Biotexnologiya bakalavriat yo'nalishi 4-kurs talabalari uchun
uslubiy qo'llanma)**

Muharrir *SH.Axmatov.*
Texnik muharrir *SH.Rahmonov.*
Musahhih *SH.Axmatov.*
Badiiy bezakchi *T. Ergashev.*
Sahifalovchi *K. Temirova.*

Nashriyot litsenziyasi № AI 139, 27.04.2009 yil. Terishga 20.05.2019- yilda berildi. Bosishga 11.06.2019- yilda ruxsat etildi. Bichimi 60x84 1/16. Times UZ garniturasi. Ofset qog'ozi. Ofset usulda chop etildi. Shartli bosma tabog'i 2,53. Nashr bosma tabog'i 2,73. 2019-shartnomasi. 110-buyurtma. 50 nusxada. 44 bet. Erkin narxda.

«Nasaf» nashriyoti, 180118, Qarshi shahri, Mustaqillik shohko'chasi, 22-uy.

«Qarshipoligrafnashr» MCHJda chop etildi.
180118, Qarshi shahri, «O'zbekiston ovozi» ko'chasi, 33-uy.