

# Vliv vnějších a vnitřních faktorů na růst mikroorganismů, kultivační vyšetření

## **Teoretická část:**

### **Způsob odběru vzorků pro mikrobiologické zkoušení:**

Vzorky se odebírají: původní spotřebitelská balení

určitý počet kusů u kusových výrobků

určitá hmotnost (objem) u nekusových výrobků

Způsob odběru vzorků kusových, tekutých a kašovitých, sypkých a výrobků smíšené konzistence – musí být vyloučena druhotná mikrobiální kontaminace

Označení a přeprava vzorků do laboratoře

### **Příprava vzorků pro mikrobiologické zkoušení:**

Otevírání obalů vzorků potravin

Odběr návážky, stupeň ředění

Homogenizace, vytřepání – výchozí ředění

Zhotovení řady ředění

### **Kultivace mikroorganismů:**

Kultivační vyšetření – důkaz nebo stanovení počtu mikroorganismů. Živé pudy se očkují serií nejméně tří po sobě jdoucích desinašobných ředění návážky vzorku nebo tekutého vzorku.

Výsledky kultivace hodnotíme kvalitativně nebo kvantitativně. Počet mikroorganismů se stanoví podle počtu kolonií vyrostlých na pevných půdách.

### **Výpočet a vyjadřování výsledků:**

## **Praktická část:**

### 1.úkol:

Vliv pH na růst mikroorganismů:

Do 6 zkumavek s 2,5 ml živného bujonu a 2,5 ml příslušného pufru ( pH 3, 4, 5, 6, 7, 8) naočkujeme 2 kličky bakteriální kultury *Escherichia coli*. Inkubujeme 24 hod. při 37°C. Po inkubaci odečteme nárůst mikroorganismu ve zkumavkách – zakalení půdy a nárůst na Endově půdě.

Do 6 zkumavek s 2,5 ml sladinkové půdy a 2,5 ml příslušného pufru ( pH 3,4, 5, 6, 7, 8) naočkujeme 2 kličky kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Inkubujeme 48 hod. při 25°C. Po inkubaci odečteme nárůst mikroorganismu ve zkumavkách – zakalení půdy a nárůst na Malt agaru.

Do Petriho misky vložte dva papírky Phan ke stanovení pH. Na jeden kápněte pipetou sterilní bujon, na druhý bakteriální bujonovou kulturu.

Srovnajte pH bujonu a pH bujonové kultury bakterií

### 2.úkol:

Růst bakterií v tekutých půdách:

Popište charakter růstu kultury *Escherichia coli* v živném bujonu.

### 3.úkol:

Vliv tepla na přežití bakterií:

Kultury *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* a *Staphylococcus haemolyticus* byly vystaveny níže uvedeným podmínkám a potom vyočkovány na krevní agar a Endo agar a kultivovány při 37°C 24 hod. Označte, zda bakterie po vystavení uvedeným teplotám rostou, nebo ne. Které podmínky bakterie ničí a které ne?

50°C - 30 min. (vodní lázeň)

70°C - 30 min. (vodní lázeň)

Proudící pára – 30 min.

120°C – 15 min. (autokláv)

#### 4. úkol:

Stanovení celkového počtu životaschopných buněk:

Životaschopností bakterie se obecně rozumí schopnost buňky vytvářet na agarovém živném prostředí viditelné kolonie. Každá tato kolonie vzniká z jedné bakteriální buňky.

Inokulum dané bakteriální kultury *Kocuria rhizophilla* (kultivace 24 hod. při 37°C) nanese sterilní pipetou v množství 0,1 ml příslušného desítkového ředění ( $10^{-4}$  –  $10^{-7}$ ) na povrch agarové půdy v Petriho miskách. Rozetíráme pomocí sterilní zahnuté tyčinky ze skla nebo plastu (hokejky) po povrchu agaru.

Každé ředění kultury se dávkuje samostatnou sterilní pipetou souběžně na dvě agarové misky, k rozetírání použijeme vždy jinou sterilní hokejku. Po kultivaci (dnem vzhůru) v termostatu (24 hod. 37°C) se počítají vyrostlé kolonie. Z jejich počtu a příslušných ředění ( vypočítává se jako průměr ze dvou po sobě jdoucích ředění) se potom vypočítá počet mikroorganismů v objemové jednotce původní suspenze. Pro tyto buňky je běžně používána zkratka CFU/ml nebo KTJ / ml.

Výpočet:

#### 5. úkol:

Protokol

