

MIKROSKOPICKÉ HOUBY – CVIČENÍ 28.11.

1. Izolace kvasinek – stanovení počtu živých buněk v 1 g vzorku - metodou roztěrem

Materiál: pekařské droždí

Pomůcky: sterilní fyziologický roztok, špičky, automatické pipety, kultivační médium (GYPA – Glukose-Pepton Yeast Extract)

Pracovní postup:

1. Připravíme výchozí suspenzi pekařského droždí ve fyziologického roztoku (desetinásobné ředění). Homogenizujeme na magnetickém míchadle 3 minuty. Poté se nechá roztok 30 minut stát a opět promícháme 2 minuty na míchadle.
2. Pomocí pipety z výchozí suspenze (10^{-1}) přeneseme 1 ml do 9 ml fyziologického roztoku. Dobře promícháme! Tento postup opakujeme až k dosažení ředění 10^{-8} (obr. 1).
3. Z ředění 10^{-6} , 10^{-7} a 10^{-8} vykápneme pomocí pipety 100 μ l na povrch pevného média (obr. 1) a L-kličkou rozetřeme rovnoměrně po celém povrchu pevného média.
4. Kultivujeme při teplotě 30 °C po dobu 2 dnů.
5. Spočítáme kolonie na Petriho misce.
6. Výpočítáme hodnotu CFU (Colony Forming Unit) v 1 g vzorku.

Celkový počet mikroorganismů N na g vzorku se vypočte podle vztahu

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

$\sum C$ součet všech kolonií spočítaných na vybraných plotnách,

V objem inokula aplikovaného na misku v ml,

n_1 počet ploten použitých pro výpočet z prvního ředění,

n_2 počet ploten použitých pro výpočet z druhého ředění,

d faktor prvního pro výpočet použitého ředění,

Obr. 2 Stanovení počtu živých buněk v 1 g vzorku - METODA ROZTĚREM

