

Питательные среды

Приготовила:

студентка гр. БИО-171

Петухова Е.О.

Проверила:

проф., д.т.н. Артюхова С.И.

- **Питательная среда** – специальный однокомпонентный или много-компонентный субстрат, необходимый для культивирования различных микроорганизмов.
- Питательные среды необходимы для получения чистых культур микроорганизмов, изучения особенностей их морфологии и физиологии, а также для сохранения микроорганизмов в виде чистых культур в лабораторных и производственных условиях.



Требования, предъявляемые к средам

- **быть питательными**, т.е. содержать в легко усваиваемом виде вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей;
- иметь **оптимальную** концентрацию рН;
- **стерильность**
- **быть изотоничными**, т.е. осмотическое давление в среде должно быть таким же, как внутри клетки;
- **унифицированность**, т.е. должны содержать постоянное количество отдельных ингредиентов;
- **Прозрачность**, чтобы было удобнее следить за ростом культур

Классификация питательных сред

- Потребность в питательных веществах и свойствах среды у разных видов микроорганизмов неодинакова. Это исключает возможность создания универсальной среды. Кроме того, на выбор той или иной среды влияют цели исследования (выделение, выращивание, длительное сохранение микроорганизмов в культурах).



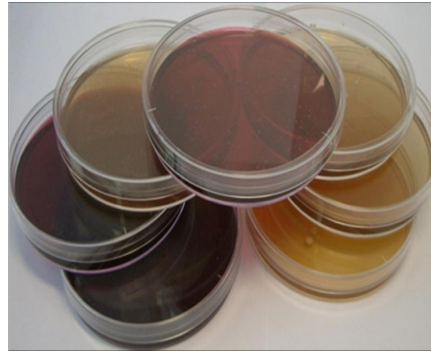
Классификация питательных сред по КОНСИСТЕНЦИИ

- Среды бывают:

- **жидкие**

плотные

полужидкие.

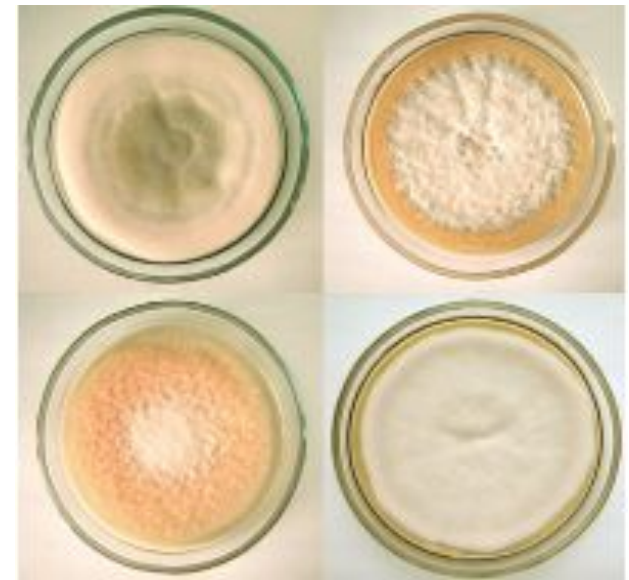


Плотные и полужидкие среды готовят из жидких веществ, к которым для получения среды нужной консистенции прибавляют обычно агар-агар или желатин.

Классификация питательных сред по ИСХОДНЫМ КОМПОНЕНТАМ

- По исходным компонентам различают **натуральные, полусинтетические, синтетические** среды.
- Чаще всего обычно используют полусинтетические среды, в которых ценные пищевые продукты (мясо и др.) заменены непищевыми: костной и рыбной мукой, кормовыми дрожжами, сгустками крови и др. Эти среды хороши для выращивания определенных групп микроорганизмов, а также для выделения из среды продуктов их жизнедеятельности: **антибиотиков, витаминов.**

- **Натуральные среды готовят из продуктов животного и растительного происхождения (мяса, рыбы, молока, овощей, фруктов и др.), поэтому точный состав этих сред неизвестен. Их используют в том случае, когда хотят вырастить различные виды микроорганизмов.**



- Синтетические среды готовят из определенных химически чистых органических и неорганических соединений, взятых в точно указанных концентрациях и растворенных в бидистиллированной воде. Важное преимущество этих сред в том, что состав их постоянен (известно, сколько и какие вещества в них входят), поэтому эти среды легко воспроизводимы.



Классификация питательных сред по составу

Среды делят на простые и сложные.

- К первым относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду.
- Сложные среды готовят, прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма.



мясопептонный
агар



Кровяной агар

Классификация питательных сред по назначению

- **Основные** среды служат для культивирования большинства патогенных микробов. Примеры: МПА, МПБ, бульон и агар Хоттингера, пептонная вода;
- **специальные** среды служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых средах. Примеры: кровяной, сывороточный и желчный агары;



Пептонная вода

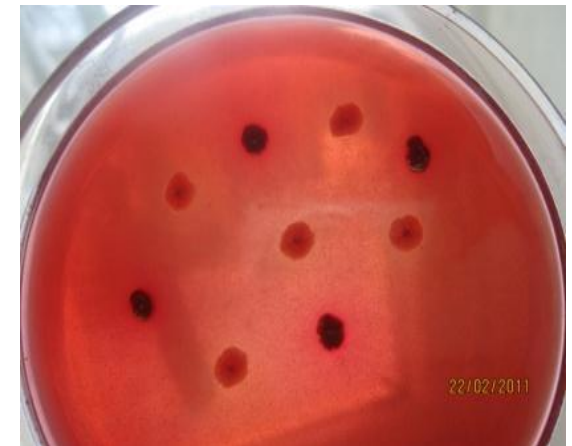


Сывороточный агар

- **элективные** (избирательные) среды служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они благо-приятствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Примеры: среды Мюллера, Вильсона-Блера, Плоскирева и щелочной агар;
- **дифференциально-диагностические** среды позволяют отличить один вид микробов от другого по ферментативной активности. При росте микроорганизмов, расщепляющих углеводы, изменяется цвет среды. Примеры: среды Гисса, Эндо и Левина.

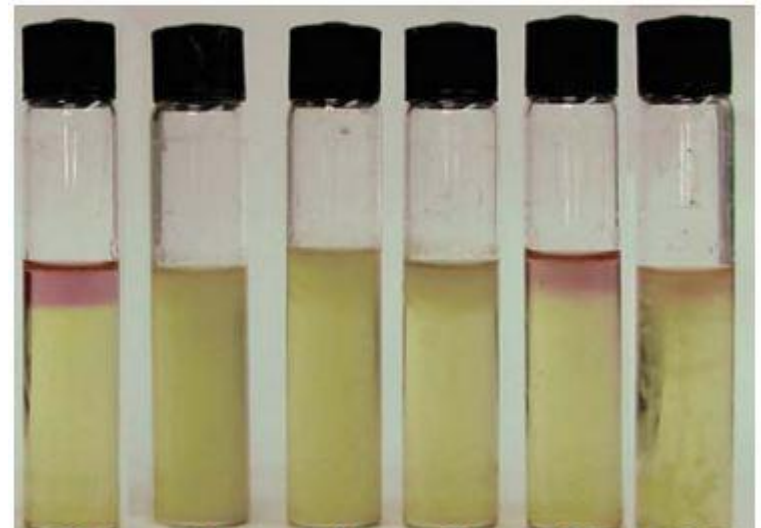


Среда Мюллера



Среда Эндо

- **консервирующие** среды предназначены для первичного посева и транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание микроорганизмов и подавляется развитие других микроорганизмов.
Примеры: глицериновая смесь, боратная смесь, фосфатно-буферная смесь, тиогликолевая среда для анаэробов.



Тиогликолевая среда

Приготовление питательной среды

- **Посуда.** Посуда для приготовления сред не должна содержать посторонних веществ, например щелочей, выделяемых некоторыми сортами стекла, или окислов железа, которые могут попасть в среду при варке её в ржавых кастрюлях. Лучше пользоваться стеклянной, эмалированной или алюминиевой посудой. Перед употреблением посуду необходимо тщательно вымыть, прополоскать и высушить.
- **Сырьё.** Исходным сырьём для приготовления большинства сред служат продукты животного и растительного происхождения, а также готовые полуфабрикаты.

Этапы приготовления

- **Взвешивание:** отбирают навески компонентов питательной среды на аналитических весах;
- **Растворение:** компоненты питательной среды растворяют в предварительно нагретой до 70 °С дистиллированной воде. Растворы макро- и микросолей готовят отдельно. Растворы фосфатов входящих в состав макросолей также готовят отдельно, т. к. в процессе стерилизации в автоклаве они выпадают в осадок и в дальнейшем вновь требуют растворения;
- **Кипячение:** растворы питательных сред кипятят на водяной бане в течении 2 мин.

Этапы приготовления

- **Установление рН:** ориентировочно производят с помощью индикаторной бумаги, для точного определения пользуются потенциометром. При стерилизации рН снижается на 0,2, поэтому сначала готовят более щелочной раствор.
- **Фильтрация** жидких и расплавленных плотных сред производят через влажный бумажный или матерчатый фильтры. Фильтрация агаровых сред затруднена – они быстро застывают. Обычно их фильтруют через ватно-марлевый фильтр.
- **Розлив сред:** питательные среды разливают не более чем на 3/4 емкости, так как при стерилизации могут намокнуть пробки и среды утратят стерильность.

Этапы приготовления

- **Стерилизация:** для стерилизации питательный сред используют термический способ: стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование), дробная стерилизация (тиндализация), кипячение. Режим стерилизации зависит от состава среды и указан в её рецепте. При автоклавировании 3–5 % жидкости теряется в результате испарения, поэтому рекомендуется в приготавливаемые среды добавлять сверх объема примерно 5 % дистиллированной воды. Тогда после стерилизации среда будет иметь требуемую концентрацию.

Этапы приготовления

- **Контроль:**

1. для контроля *стерильности* среды ставят на 2 суток в термостат, после чего их просматривают.
2. *химический* контроль окончательно устанавливает рН, содержание общего и амминого азота, пептона, хлоридов.
3. для *биологического* контроля несколько образцов среды засевают специально подобранными культурами, и по их росту судят о питательных свойствах среды.