

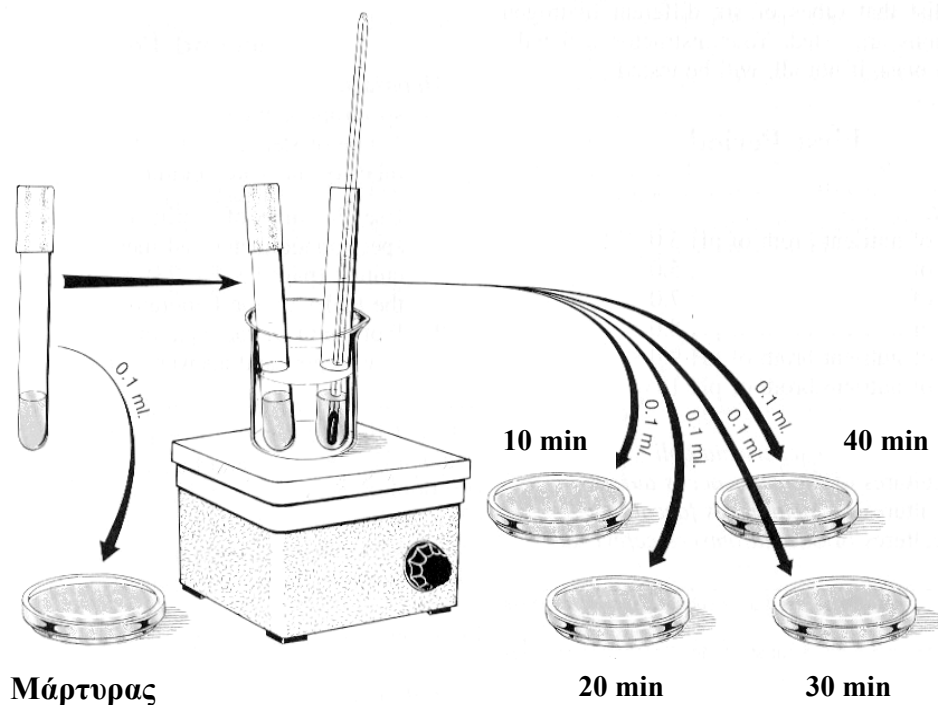
4^η ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Α. ΘΕΡΜΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

Για να συγκρίνουμε την ευαισθησία των διαφόρων μικροοργανισμών στις υψηλές θερμοκρασίες μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε δύο μεθόδους: τον προσδιορισμό της Θερμοκρασίας Θερμικού Θανάτου και τον προσδιορισμό του Χρόνου Θερμικού Θανάτου. Η **Θερμοκρασία Θερμικού Θανάτου** είναι η θερμοκρασία εκείνη στην οποία ο υπό μελέτη μικροοργανισμός πεθαίνει σε χρονικό διάστημα 10 λεπτών. Ο **Χρόνος Θερμικού Θανάτου** είναι το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να νεκρωθούν όλα τα κύτταρα σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία.

Στην άσκηση αυτή θα εξεταστούν δύο διαφορετικές καλλιέργειες μικροοργανισμών, σε θερμοκρασίες 60°, 70°, 80°, 90°, και 100° C. Το είδος *Bacillus subtilis* (το οποίο σχηματίζει ενδοσπόρια), θα συγκριθεί με το είδος *Escherichia coli* στις παραπάνω θερμοκρασίες. Στην αίθουσα θα υπάρχουν υδατόλουτρα ρυθμισμένα σε θερμοκρασίες 60°, 70°, 80°, 90°, και 100° C, θερμομέτρα, καθώς και δοκιμαστικοί σωλήνες με θρεπτικό υλικό Nutrient Broth οι οποίοι θα χρησιμεύσουν στον έλεγχο των θερμοκρασιών. Η πειραματική διαδικασία περιγράφεται στην εικόνα που ακολουθεί.



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Υλικά

- Τρυβλία Petri
- Σιφώνια (όγκου 1 ml)
- Υγρές καλλιέργειες *Bacillus subtilis* και *Escherichia coli*
- Θρεπτικό υλικό Nutrient Agar σε ρευστή μορφή

1. Τοποθέτησε ετικέτα με το όνομά σου και την θερμοκρασία που θα εξετάσεις στην καλλιέργεια που σου δόθηκε.
2. Τοποθέτησε ετικέτες στα τρυβλία Petri με την ένδειξη: "μάρτυρας", 10 min, 20 min, 30 min και 40 min. Σε κάθε ετικέτα θα πρέπει επίσης να αναγράφεται το είδος καλλιέργειας, η θερμοκρασία και το ονοματεπώνυμό σου.
3. Ανακίνησε την υγρή καλλιέργεια και μετέφερε 0,1 ml στο τρυβλίο Petri με την ένδειξη "μάρτυρας".
4. Τοποθέτησε την καλλιέργεια και ένα δοκιμαστικό σωλήνα με στείρο θρεπτικό υλικό στο κατάλληλο υδατόλουτρο. Στον στείρο δοκιμαστικό σωλήνα, τοποθέτησε ένα θερμομέτρο.
5. Σημείωσε τον χρόνο στον οποίο η θερμοκρασία του δοκιμαστικού σωλήνα φτάνει στο επιθυμητό σημείο. Να παρακολουθείς τακτικά την ένδειξη τον θερμομέτρου έτσι ώστε να αποφευχθούν μεγάλες διακυμάνσεις από την επιθυμητή θερμοκρασία.
6. Μετά την πάροδο 10 λεπτών από τη στιγμή που η θερμοκρασία του δοκιμαστικού σωλήνα φτάσει στο επιθυμητό σημείο μετέφερε από την καλλιέργεια 0,1 ml σε νέο τρυβλίο Petri. Το ίδιο επαναλαμβάνεται ανά 10 λεπτά έως ότου εμβολιαστούν όλα τα τρυβλία. Κάθε φορά πρέπει να ανακινείς καλά την καλλιέργεια και να χρησιμοποιείς νέο σιφώνιο.
7. Σε κάθε τρυβλίο Petri ρίξε το ρευστοποιημένο Nutrient Agar, ανάμιξε το θρεπτικό υλικό με το εμβόλιο και όταν στερεοποιηθεί το υπόστρωμα επώασε στους 37°C για 24-48 ώρες.
8. Μετά την επώαση τα τρυβλία ελέγχονται για την παρουσία ή όχι μικροβιακής ανάπτυξης. Ο πίνακας που ακολουθεί συμπληρώνεται απ' όλες τις ομάδες, σημειώνοντας με (+) την παρουσία και (-) την απουσία μικροβιακής ανάπτυξης.

	60° C					70° C					80° C				
	M	10	20	30	40	M	10	20	30	40	M	10	20	30	40
<i>E. coli</i>															
<i>B. subtilis</i>															

	90° C					100° C				
	M	10	20	30	40	M	10	20	30	40
<i>E. coli</i>										
<i>B. subtilis</i>										

Μπορεί από τα παραπάνω αποτελέσματα να προσδιοριστεί η Θερμοκρασία και ο Χρόνος Θερμικού Θανάτου για τους δύο μικροοργανισμούς ;