



Aerobisten mikrobien määrittäminen naudan jauhelihasta

Jauheliha on otollinen kasvualusta mikrobeille, koska lihan pinta ja kudokset on rikottu. Aika usein jauheliha pakataan suojakaasuun, joka estää aerobisten (hapetta tarvitsevien) mikrobien kasvun. Pakkauksessa on kerrottu avaamattoman pakkauksen valmistusajankohta ja säilyvyysaika. Kun pakkaus avataan, suojakaasu häviää ja jauheliha on alttiimpi aerobisten mikrobien lisääntymiselle.

Tässä työssä on tarkoitus selvittää jauhelihasa esiintyvien aerobisten bakteerien kokonaismäärä. Bakteereja ei eritellä eikä identifioida vaan selvitetään kvantitatiivisesti niiden kokonaismäärä. Elatusaineena käytetään yleisalusta PCA:ta, joka on väriltään kirkas ja läpikuultava ja josta vaaleat pesäkkeet erottuvat hyvin.

Reagenssit ja välineet

- PCA-agar (Plate count agar) yleiskasvualusta, jolla kasvavat kaikki bakteerit
- laimennusliuos (8,5 g NaCl, 1 g peptonia, 1000 ml vettä, pH 7,2 ± 0,2 tai vastaava valmis seos) annosteltuna 2 x 99 ml/pullo ja 2 x 90 ml/pullo
- steriilejä lusikoita, steriili mittalasi
- steriilejä näytepusseja
- petrimaljoja
- steriloituja pipetin kärkiä (10 ml, 1 ml, 0,1 ml)

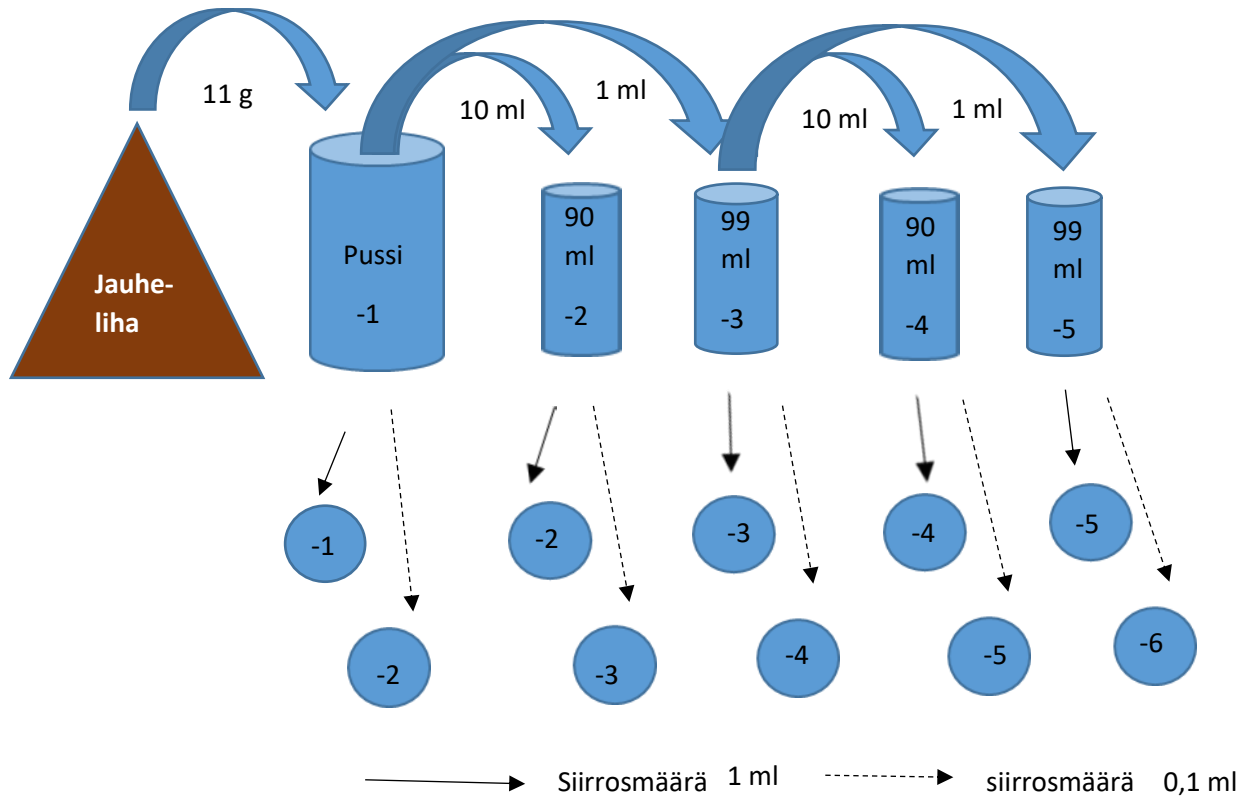
Työn suoritus

Punnitse steriiliin pussiin 11 g jauhelihanäytettä aseptisesti.

Lisää 99 ml steriiliä laimennosliuosta, niin että saat -1 laimennoksen ($11\text{g} + 99\text{g} = 110\text{g}$; $11/110 = 1/10$)

Homogenoi näytettä käsin puristelemalla pari minuuttia.

Tee homogenaattisuodoksesta aseptisesti alla olevan kuvan mukainen laimennussarja. Anna kiintoaineen painua pohjalle ja pipetoi nestettä. Jos Finnpiipetin kärki menee tukkoon, voit käyttää steriilejä mittapipettejä. Niiden kärjen aukko on vähän isompi.



Kaikki laimennokset tehdään aseptisesti steriileillä välineillä ja laimennokset huolellisesti sekoittaen (vähintään 10 kertaa)

Pipetoi näytteet nimikoitujen petrimaljojen pohjalle ja vala temperoitu elatusalusta päälle. Käytät siis maljavalutekniikkaa.

Sekoita huolellisesti näyte ja elatusalusta piirtämällä maljalla kahdeksikkoa pöytäpintaa vasten.

Muista tehdä negatiivinen kontrolli ilman siirrostusta.

Maljoja inkuboidaan 24 – 48 tuntia 30 °C:ssa. Tulokset lasketaan 24 ja 48 tunnin kuluttua.



Tulosten laskeminen

Laske kahden vuorokauden kasvatuksen jälkeen maljoilla kasvavat pesäkkeet. Muista, että jos maljalla kasvaa yli 300 pesäkettä, sitä ei huomioida. Tee vihkoosi alla oleva taulukko tulosten kirjaamisen helpottamiseksi.

maljalla oleva laimennos	pesäkkeiden lukumäärä
-1	
-2	
-2	
-3	
-3	
-4	
-4	
-5	
-5	
-6	

Laske tulos seuraavan kaavan mukaisesti

$$\text{mikrobimäärä} = \frac{\text{laskettujen pesäkkeiden yhteismäärä}}{\text{käytettyjen laimennosten yhteismäärä}} = \frac{\sum \text{pesäkkeiden lukumäärä}}{\sum \text{käytetty laimennos}}$$

Tulos annetaan yksikössä pmy (pesäkettä muodostava yksikkö) / g