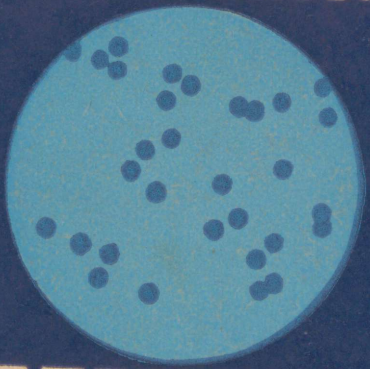
V. Bogdanov
N. Koroljova
L. Bannikova



MIKROBIOLOOGILINE KONTROLL PIIMATÖÖSTUSES

A-32954

EESTI NSV LIHA- JA PIIMATÖÖSTUSE MINISTEERIUM

V. M. BOGDANOV, N. S. KOROLJOVA
L. A. BANNIKOVA

MIKROBIOLOOGILINE KONTROLL PIIMATÖÖSTUSES

«VALGUS» TALLINN 1973

6T8
B66

Originaali tiitel:
В. М. Богданов, Н. С. Королева, Л. А. Банникова.
Микробиологический контроль на предприятиях
молочной промышленности.
2-е издание, переработанное и дополненное
Издательство «Пищевая Промышленность» Москва 1967

Tõlkinud V. Stumbur ja K. Türk

Kaane kujundanud T. Aru

Raamat koosneb üld- ja eriosast.

Üldosas kirjeldatakse tööstuse mikrobioloogialaboratooriumi seadmeid, käsitletakse uurimistel vajalike söötmete, värvide ja indikaatorite valmistamist, mikroobide omaduste uurimise meetodeid ning nende arvulist määramist. Vaadeldakse piimas ja piimatoodetes esinevaid mikroorganisme.

Eriosas antakse piima ja piimatoodete mikrobioloogiliste uurimiste metoodika, tootmisprotsesside mikrobioloogilise kontrolli ning töötuste sanitaarse olukorra kontrolli skeemid.

Raamat on ette nähtud piimatööstusettevõtete mikrobioloogialaboratooriumide töötajaile.

Raamatus on 24 tabelit, 103 illustratsiooni, 5 bibliograafiat.

Tartu Riikliku Ülikooli
Raamatukogu
81305

3—17—3

EESSÕNA

NLKP XXIV kongressi direktiivides rahvamajanduse arendamise viie aasta plaani kohta on piimatoodete kvantiteedi suurendamise kõrval ette nähtud ka nende maitseomaduste ja toiteväärtuse parandamine ning sortimendi laiendamine.

Seoses sellega on piimatööstusettevõtete töötajate otsene ülesanne parandada toodangu kvaliteeti, suurendada väljatulekut ning vähendada tööstuskadusid ja jääke.

Nende ülesannete edukal täitmisel on tähtis koht laboratooriumitöötajatel, eriti mikrobioloogidel, kes kontrollivad tooraine (piim ja koor), abimaterjalide ja valmistoodangu kvaliteeti ning tootmise sanitaar-hügieenilisi tingimusi.

Piimatoodete kvaliteedi parandamist tuleb alustada lautadest, kus on vaja süstemaatiliselt kontrollida lüpsi ja piima esmast käsitsemist. Kui lüpsil ja piima esmasel käsitsemisel ei peeta kinni eeskirjadest, on tööstustesse saabuv tooraine bakteritega tugevalt saastunud, mistõttu kvaliteetseid ja hästi säilivaid piimatooteid on raske saada. Lihtsate kontrollimeetoditega, nagu puhtuseproov, reduktaasproov, happesuse määramine, tehakse kindlaks piima kvaliteet selle vastuvõtmisel.

Eeskirjadekohane lüpsmine ja piima hoidmine lautades ei kindlusta aga kvaliteetset piima, kui vedamisel ei peeta kinni ettenähtud režiimist. Piima transportimise tingimused peavad olema sellised, et piimas ei paljuneks mikroobid ega tõuseks piima happesus.

Piimatööstustesse laekuva piima ja koore kvaliteedi kontrollimiseks määratakse perioodiliselt bakteriaalne saastumine (reduktaasproov).

Meie maal valmistatakse kõik piimatooted pastöriseeritud piimast. Õige pastöriseerimine on üks tähtsamaid kvaliteetsete piimatoodete saamise tingimusi. Seepärast tuleb kontrollida pastöriseerimise efektiivsust ja kindlustada vajalik temperatuur piima termilisel töötlemisel.

Piimatoodete kvaliteet (hapupiimatooted, hapukoorevõi, juustud) sõltub suurel määral kasutatava juuretise kvaliteedist. Selleks et saada head juuretist ning tagada selle bakteriaalne puhtus, on otstarbekas valmistada laboratoorsed juuretised steriliseeritud piimas ja vähendada ümberistutuste arvu tööstuslike tarbejuuretiste valmistamisel.

Kvaliteetseid ja hästi säilivaid piimatooteid on võimalik saada vaid siis, kui täidetakse tootmise sanitaareeskirju. Selleks tuleb süstemaatiliselt kontrollida tootmisprotsessi, seadmete ja ruumide puhtust, abimaterjale jne.

Käesoleva käsiraamatu eesmärgiks on ühtlustada mikrobioloogilise uurimise meetodeid ning mikrobioloogilist kontrolli piimatööstustes. Sellisel alusel organiseeritud mikrobioloogiline kontroll võimaldab parandada piimatoodete kvaliteeti.

Raamatu on kirjutanud:
üldosa ja XII peatüki — V. M. Bogdanov,
VI ja IX peatüki — L. A. Bannikova,
VII peatüki — L. A. Bannikova ja V. M. Bogdanov,
VIII peatüki — N. S. Koroljova,
X ja XI peatüki — N. S. Koroljova ja V. M. Bogdanov.

Autorid loodavad, et käesolev raamat abistab tööstuste mikrobiolooge nende praktilises töös.

Kriitilised märkused palutakse saata aadressil: Moskva, B-120, Mrussovski põik 1.

ÜLDOSA

I PEATÜKK

MIKROBIOLOOGIALABORATOORIUMI ORGANISEERIMINE JA SISUSTAMINE

LABORATOORIUMI EHITUS

Mikrobioloogia laboratoorium koosneb kahest osast: mikrobioloogiliste tööde ruumist (20 m²) ning söötmete valmistamise, steriliseerimise ja nõudepesuruumist (12 m²).

Ruumil, kus töötatakse mikroskoobiga, peavad aknad olema põhja poole. Lõunapoolsed aknad tuleb katta valge värviga või päikesekatetega.

Seinte alumised osad tuleb värvida helekollase või hallikassinise õlivärviga. Niisuguseid seinu on võimalik pesta vee ja desinfitseerivate ainetega. Seinte ülemised osad ning lagi on soovitatav lubjata.

Põrandad tuleb valmistada kergesti pestavast materjalist. Tavaliselt tehakse nad puust ja kaetakse õlivärviga. Kasutatakse ka puu- ja kiviparketti, linoleumi ja muid kattematerjale.

Asfaldist ja betoonist põrandad sobivad ainult pesuruumi.

Laboratooriumi üldvalgustamiseks kasutatakse laelampe, töökohtade valgustamiseks reguleeritavaid ja tavalisi laualampe, mikroskoobiga töötamisel spetsiaalseid mikroskoobilampe.

Mikrobioloogilisteks töödeks on parem kasutada mattklaasist lampe.

On soovitatav kasutada elektrilisi termostaate, autoklaave ja muid soojendusseadmeid.

LABORATOORIUMI SISUSTUS

Termostaadid

Mikroobe tuleb kasvatada tingimustes, kus ümbritseva õhu temperatuur kõiguks võimalikult vähe. Püsiva temperatuuri saamiseks kasutatakse termostaate (õhktermostaadid ja vesitermostaadid).

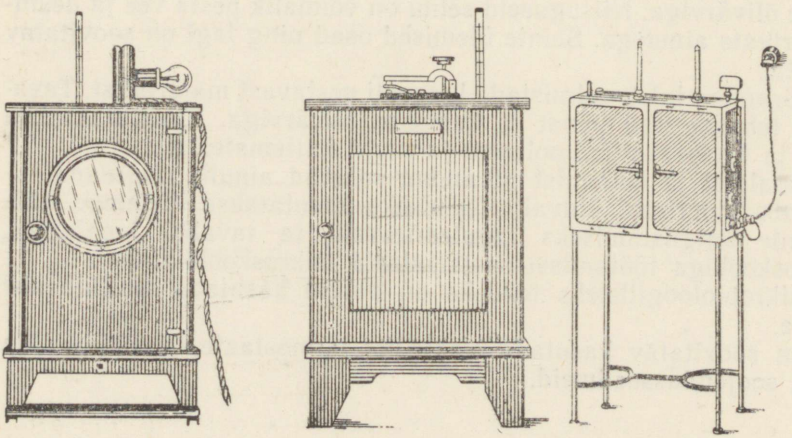
Õhktermostaate (joonis 1 *a, b*) soojendatakse kuuma õhuga, mida enne on soojendatud elektriga. Vesitermostaatides on kahekordsete seinte vahe täidetud veega, mida soojendatakse elektriga (joonis 1 *c*), gaasiga või mõne muu soojusallikaga. Temperatuur kõigub vesitermostaatides vähem kui õhktermostaatides.

Täiusliku süsteemi moodustavad polütermostaadid, mis koosnevad mitmest osast, kus saab hoida erinevaid temperatuure.

Laboratooriumis peab olema vähemalt kolm termostaati temperatuuriga 30, 37 ja 43° C. Mikroobe, mis kasvavad 20° C juures, võib kasvatada toatemperatuuril.

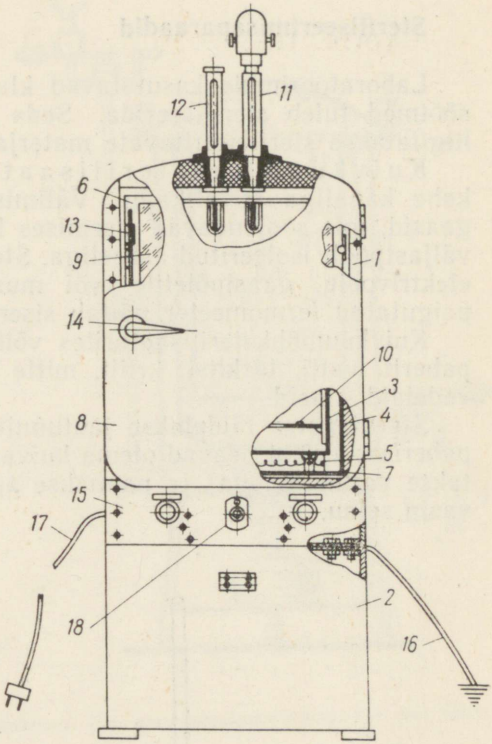
Termostaadis hoitakse püsivat temperatuuri termoregulaatorite abil. Täpsete termoregulaatoritega termostaadis ei tohi temperatuur kõikuda rohkem kui ±2° C.

Termoregulaatorite ehitus on mitmesugune. Nende konstruktsioon põhineb ainete joonpaisumise printsiibil. Temperatuuri mõjul muutuvad termoregulaatori töötava osa mõõtmed. See muutus antakse edasi täiturelemendile (tavaliselt voolukatkestile), mis katkestab voolu või lülitab selle sisse.



a *b* *c*

Joonis 1. Termostaadid:
a — õhktermostaat; *b* — Saraatovi töökodades valmistatud õhktermostaat; *c* — vesitermostaat. kus vett kuumutatakse elektriga.



Joonis 2. Kontakttermomeetriga termostaat:

1 — sooja reguleeriv seade; *2* — alus; *3* — töökamber; *4* — keskmine kamber; *5* — elektriline küttekeha; *6* — kate; *7* — soojusisolatsioonimaterjal; *8* — välisuks; *9* — siseuks; *10* — võrelised riiulid; *11* — kontakttermomeeter; *12* — kontrolltermomeeter; *13* — lukk; *14* — käepide; *15* — paneel; *16, 17* — juhtmed; *18* — tumbler.

Enam kasutatakse termostaatpadjakesega termoregulaatorit. See kujutab endast valgevasest silinderjat karbikest, mis on täidetud nõutavale temperatuurile vastavate vedelikega, näiteks 20—24° C saamiseks klooretüüliga, 30—40° C — eetriga, 40—60° C — eetri ja piirituse seguga. Temperatuur, mille juures töötab padjake, on märgitud padja küljele.

Padjake on paigutatud termoregulaatorisse, mille keskel asuvasse süvendisse toetub varras. Selle teine ots surub kangile. Kui temperatuur ületab ettenähtu, paisub vedelik padjakeses, varras tõuseb ja kang eemaldab elektrijuhtme kontaktid või katkestab kuuma õhu juurdevoolu.

Varras ei kinnitu otse kangile, vaid spetsiaalsesse vinti, mille abil võib ühendada või lähendada elektrijuhtmete kontakte. Niiviisi saab temperatuuri täpsemini reguleerida.

Laboratooriumidele võib soovitada Odessa Arstiriistade Tehases valmistatavaid termostaate, mis hoiavad hästi temperatuuri. Termostaadil on kontakt- ja kontrolltermomeeter, mis on paigutatud metallist ümbristesse (joonis 2).

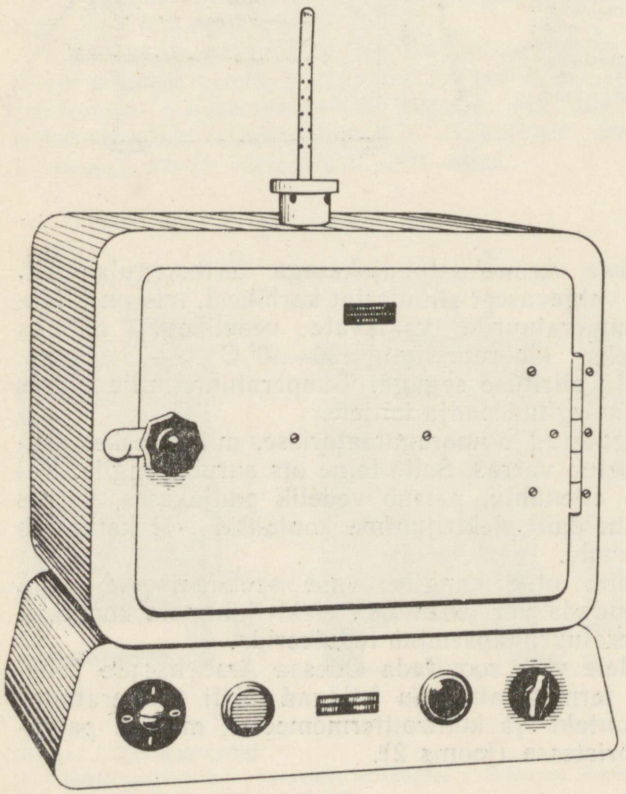
Steriliseerimisaparaadid

Laboratooriumis kasutatavad klaasesemed, materjalid, samuti söötmed tuleb steriliseerida. Seda tehakse sterilisaatorites, mis liigitatakse steriliseeritavate materjalide soojendamise viisi järgi.

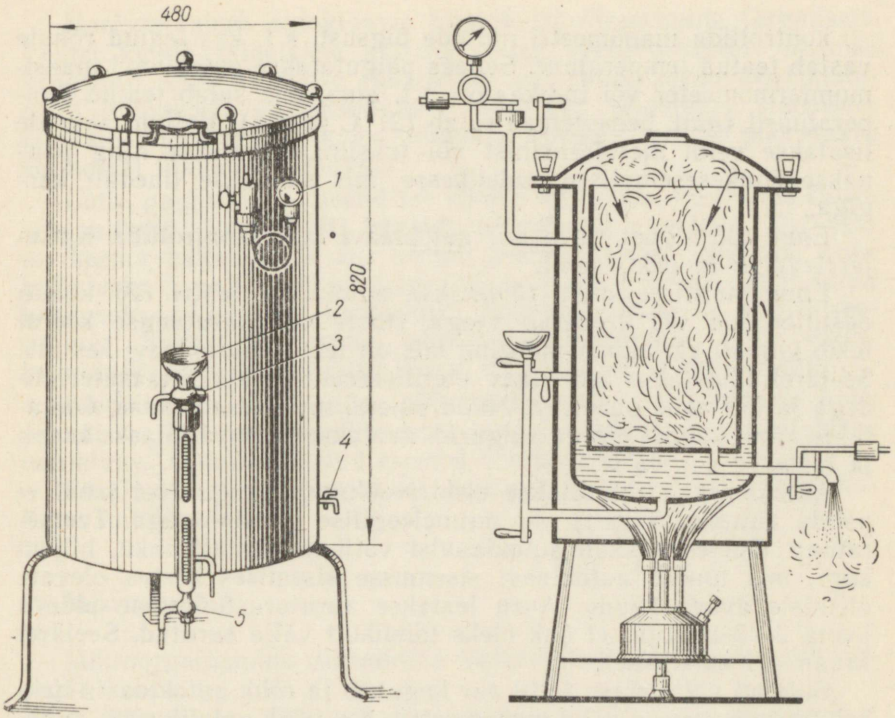
Kuivkuumõhksterilisaator (joonis 3) kujutab endast kahe kanaliga metallkappi. Välimises kanalis liiguvad kuumad gaasid, mis soojendavad sisemises kanalis olevat õhku. Kapp on väljastpoolt isoleeritud asbestiga. Sterilisaatorit soojendatakse kas elektrivoolu, gaasipõletite või muude soojusallikatega. Kapile paigutatud termomeeter näitab sisemist temperatuuri.

Kuivkuumõhksterilisaatorites võib steriliseerida klaasesemeid, paberit, vatti, tärklist, kriiti, mitte aga vedelsöötmeid ega muid vedelaid aineid.

Sterilisaator täidetakse jahtunult. Esemed pakitakse hoolikalt paberisse (nõud peavad olema kuivad, kolvid ja katseklaasid suletakse vattkorkidega) ja pannakse aparaati nii, et nad ei puutuks vastu seinu.



Joonis 3. Kuumõhksterilisaator.



Joonis 4. Vertikaalne autoklaav:
1 — manomeeter; *2* — veelehter; *3* — veekraan; *4* — auru väljalaske kraan; *5* — vee väljalaske kraan.

Steriliseerimine kestab 160—170° C juures 2 tundi (aega arvatakse momendist, mil temperatuur sterilisaatoris tõuseb 160° C-ni).

Steriilsed esemed võetakse kapist välja pärast kapi jahtumist.

Steriliseerimine lõpetatakse, kui esemete ümbrispaberid on kergelt pruunikaks muutunud. Madalamal temperatuuril paberi värvus ei muutu, kõrgemal temperatuuril (üle 170° C) aga läheb see pruuniks ning isegi söestub.

Autoklaav või sterilisaator, kus kuumutatakse kuuma auruga rõhu all (joonis 4), kujutab endast kahekordsete seintega metallsilindrit, mille massiivne kaas suletakse vindiga sulguritega. Silinderjat keret ümbritseb metallkest. Aparaadil on aurutoru, manomeeter, kaitseventiil ja veenivoonäitur. Autoklaavis steriliseeritakse söötmeid, mitmesuguseid vedelikke ja nõusid.

Autoklaaviga töötamisel tuleb täita järgmisi nõudeid:

kaitseventiil reguleerida selliselt, et see avaneks manomeetri osuti tõusmisel üle ettenähtud piiri (manomeetri numbrilaual märgitud punase joonekesega) ning laseks auru välja;

mitte sulgeda auru väljalaske ava enne, kui õhk autoklaavist on välja tõrjutud. Vastasel korral ei vasta ettenähtud temperatuur manomeetri näidule;

kontrollida manomeetri näitude õigsust, s. t. kas teatud rõhule vastab teatud temperatuur. Selleks paigutatakse autoklaavi maksimumtermomeeter või indikaator, s. t. aine, mis sulab teatud temperatuuril (näit. bensofenool sulab 121° C juures). Valitud ainetele lisatakse veidi metüleensinist või fuksiini, segatakse ning pannakse õhukeseseinalisse pudelikesse, mis suletakse tihedalt korgiga.

Enne töö algust tuleb uut autoklaavi lasta kontrollida Katlajärelevalve Inspektsioonil.

Enne steriliseerimist täidetakse autoklaav lehtri *(2)* kaudu destilleeritud või keedetud veega (toore vee kasutamise korral tekib kiiresti katlakivi) märgini, mis on tehtud autoklaavi kestale. Seejärel täidetakse autoklaav steriliseerimist vajavate materjalidega ja kaetakse paberiga. Nüüd suletakse aparaadi kaas, keeratakse kinni kaanel olevad sulgurid, avatakse auru väljalaske kraan ja lastakse aur välja.

Autoklaavi kuumutatakse elektrivooluga, auruga (sel juhul ei panda autoklaavi vett) või mitmeleegilise gaasipõletiga. Temperatuuri tõustes hakkab autoklaavist väljuma esmalt õhku, hiljem auru, mis tungib autoklaavi sisemusse sisemises kestas olevate ülemiste avade kaudu. Auru lastakse aurutorust ühtlase pideva joana 2—3 minutit, et õhk oleks täielikult välja surutud. Seejärel kraan *(4)* suletakse.[1]

Suletud väljapääsu tõttu aur koguneb ja rõhk autoklaavis hakkab tõusma, mis on näha manomeetril. Kui tekib vajalik rõhk, väheneb autoklaavis küttekeha soojuse aste selliselt, et manomeetri osuti jääb teatud näidule ettenähtud ajaks.

Steriliseerimise algust loetakse momendist, mil manomeetri osuti on jõudnud vajaliku näiduni. Manomeetri näidule vastab kindel auru temperatuur.

Manomeetri näit (at)	Auru temperatuur (°C)
0,5	112,0
1,0	121,4
1,5	128,8
2,0	135,1

Steriliseerimise lõppedes lülitatakse soojusallikas välja ja oodatakse, kuni manomeetri osuti langeb nullile. Alles siis avatakse auru väljavoolu toru ja aur lastakse välja. Nüüd keeratakse kaane sulgurid lahti, kaas tõstetakse üles ja autoklaavil lastakse sellises asendis jahtuda. Steriliseeritud esemed võetakse autoklaavist välja.

Väga töökindlad ja mugavad on elektriautoklaavid, mis jagunevad horisontaalseteks ja vertikaalseteks.

---

[1] Autoklaavist väljuv aur on soovitatav juhtida vette. Selleks pannakse kraanile kummivoolik, mille teine ots juhitakse veepaaki.

Horisontaalses autoklaavis toimub steriliseerimine järgmiselt. Lehtri kaudu täidetakse katlake veega veenivoonäituri ülemise kriipsuni. Kaas avatakse (kaanel asuvat ratast pööratakse kellaosuti liikumisele vastassuunas). Autoklaav täidetakse steriliseeritavate esemetega ja kaas suletakse tihedalt (ratast pööratakse kellaosuti liikumise suunas).

Lüliti paigutatakse asendisse «Sisse lülitatud», kusjuures süttib signaallamp. Ümberlüliti käepide pööratakse vasakule. Kui vesi on keema hakanud ja aur väljub pideva joana, suletakse auru väljalaske kraan. Kui manomeetri osuti on tõusnud ettenähtud kõrgusele, pööratakse ümberlüliti käepide asendisse «Steriliseerimine». Sellest momendist algab steriliseerimine. Auru väljalaskmiseks rõhu liigse tõusu korral on autoklaavil kaitseventiil.

Steriliseerimise lõppedes pööratakse ümberlüliti käepide nullasendisse. Kui manomeetri osuti langeb nullasendisse, avatakse autoklaav ja steriliseeritud esemed võetakse välja.

Emajuuretiste valmistamisel steriliseeritakse piima suuremahulistes autoklaavides.

Mikroskoobid[1]

Mikroorganismide uurimiseks kasutatakse optilisi ja elektronmikroskoope.

Optilised mikroskoobid (joonis 5) on keerukad riistad, mis suurendavad eset 1000 ... 1500 korda.

Mikroskoobi leiutas Antoni Leuwenhoeck (1632—1723). Tema poolt konstrueeritud aparaadiga (lihtne kaksikkumer lääts), mis andis 160—200-kordse suurenduse, õnnestus tal näha organisme, mis olid inimesele tundmatud.

Nüüdisaegne mikroskoop (joonis 6) koosneb kahest osast — mehaanilisest ja optilisest.

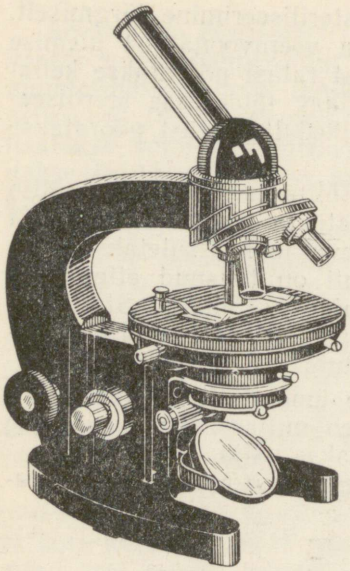
Mehaaniline osa. Mikroskoobi põhiosaks on statiiv, mille külge on kinnitatud tuubus koos optiliste osadega ja esemelaud.

Statiiv peab olema raske, et mikroskoop oleks stabiilne. Statiiv, mis valmistatakse vasest ja malmist, koosneb alusest ehk hobuserauakujulisest jalast ja tuubusehoidikust, mille keskel on süvend mikroskoobi tõstmiseks. Tuubusehoidiku alumine osa on ühendatud liigendiga, nii et mikroskoobi ülemist osa on võimalik kallutada, mis muudab töötamise mugavamaks. Liigendi jäikust reguleeritakse võtmega, mis on lisatud mikroskoobi juurde.

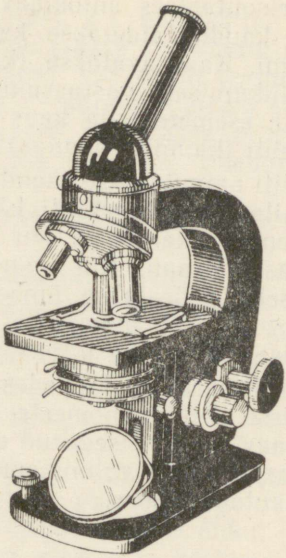
Tuubusesse on paigutatud objektiivid ja okulaarid. Objektiivid on keeratud vindiga tuubuse alumisse ossa, mida nimetatakse revolvriks. Okulaarid paiknevad vabalt tuubuse ülemises osas.

---

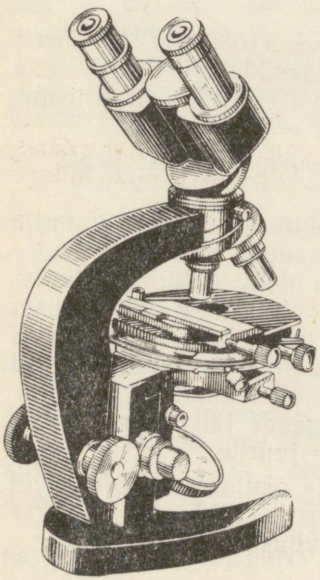
[1] Mikroskoop on tuletatud kreekakeelsetest sõnadest *mikros* — väike ja *scopeō* — vaatan.



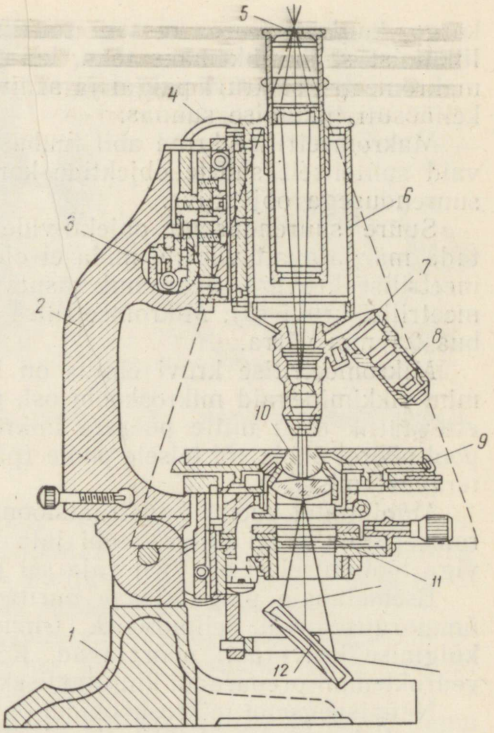
a



b



Joonis 5. Mikroskoobid:
a — МБИ-1; *b* — МБИ-4; *c* — МБИ-3.



Joonis 6. Mikroskoobi ehituse skeem:

1 — jalg; *2* — statiiv; *3* — mikromeetriline kruvi; *4* — makromeetriline kruvi; *5* — okulaar; *6* — tuubus; *7* — revolver; *8* — objektiiv; *9* — esemelaud; *10* — kondensor; *11* — diafragma; *12* — peegel.

Tuubus koosneb kahest teineteise sisse lükatavast torust, mille abil saab suurendada või vähendada tuubuse pikkust. Sisemisele torule on märgitud jaotused millimeetrites, mis näitavad nihutuse astet. Nähtavus on parim, kui tuubuse pikkus on 160 mm (Zeissi, Reicherti ja kodumaised mikroskoobid) ja 170 mm (Leitzi mikroskoopides).

Et suurendust muuta, keeratakse revolvrit, kuhu on kinnitatud objektiivid. Revolvri ketas fikseeritakse lukukeelega, mis läheb revolvri liikuva osa lõhikusse. Objektiivid tsentreeritakse revolvriga selliselt, et üleminekul ühelt suurenduselt teisele ei tohi täpp, mis asub vaatevälja tsentrumis ühe objektiivi korral, kaduda revolvri pööramisel. Revolvril on 2—4 pesa, kuhu keeratakse objektiivid.

Et preparaat oleks selgesti nähtav, tuleb tuubust liigutada tema optilise telje suunas. Seda tehakse makro- ja mikromeetrilise kruvi abil.

Suuremat liikumist võimaldavad hambuline liist, mis kinnitub tuubusele, ja hambuline telg, mis asub statiivi ülemises osas. Pöörates kruvi *(4)*, mida nimetatakse suureks hammasrattaks, makromeetriliseks kruviks või kremaljeeriks, võib tuubust tõsta või langetada. Makromeetrilise kruvi liikumine peab olema võimalikult

kerge, kuid seejuures ei tohi tuubus ise alla langeda. Tuubuse liikumist saab tihkemaks teha, kui hoida vasaku käega vasakut makromeetrilist kruvi paigal ja samal ajal pöörata paremat kruvi kellaosuti liikumise suunas.

Makromeetrilise kruvi abil tuubust liigutades on nähtavus hea vaid suhteliselt suurte objektide korral, kui kasutatakse väikese suurendusega objektiive.

Suure suurendusega objektiivide korral tuleb tuubust nihutada märgatavalt vähem, mida ei ole võimalik saavutada makromeetrilise kruviga. Sel juhul kasutatakse teravustamiseks mikromeetrilist kruvi *(3)*. Mikromeetrilise kruvi täispöördel nihkub tuubus 0,1 mm võrra.

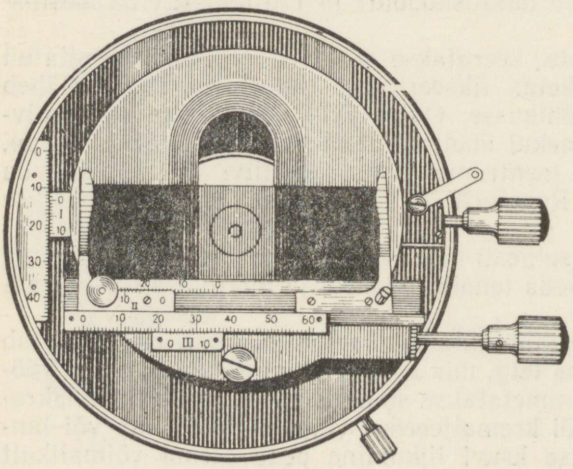
Mikromeetrilise kruvi ehitus on keerukas. See on üks kergemini rikkiminevaid mikroskoobi osi, mille käsitsemisel tuleb väga ettevaatlik olla: mitte pöörata mikromeetrilist kruvi rohkem kui pool pööret ühele või teisele poole (pärast makromeetrilise kruviga teravustamist).

Mõningatel uuema konstruktsiooniga mikroskoopidel asub mikromeetriline kruvi mikroskoobi jala lähedal. Mikromeetrilise kruviga töötamisel ei ole käsi vaja sel juhul tõsta.

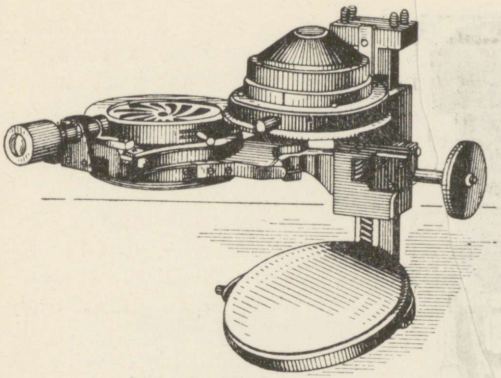
Esemelauale paigutatakse uuritav preparaat. Esemelauad on ümmargused või nelinurksed. Ümmargused aiuslauad on kahe külgmise kruvi abil pööratavad. Kõikidel aluslaudadel on kaks vedruklemmi preparaadi kinnitamiseks.

Nüüdisaegsetel mikroskoopidel on preparaadijuhtijad, mis märgatavalt kergendavad tööd (joonis 7). Preparaadijuhtijaga saame liigutada preparaati kahes teineteisega risti olevas suunas. Tal on kaks skaalat ja nooniused punkti koordinaatide määramiseks, mis pakuvad uurijale huvi.

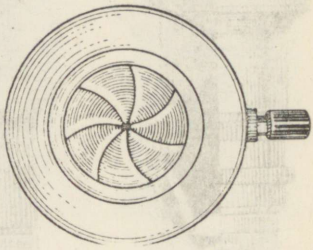
Optiline osa. See osa mikroskoobist koosneb peeglist, diafragmaga kondensorist, objektiividest ja okulaaridest.



Joonis 7. Esemelaud koos preparaadi juhtijaga.



Joonis 8. Kondensor koos väljapoole pööratud diafragmahoidikuga.



Joonis 9. Iirisdiafragma.

Mikroskoobi peegel on liikuv. Tal on kaks telge, nii et teda saab pöörata vasakule kui ka paremale, ettepoole ja tahapoole ning paigutada soovitud nurga alla. Valguskiired suunatakse peegli abil läbi avause esemelauale ja läbi esemeklaasi objektiivi.

Peegel on ühelt poolt tasapinnaline, teiselt poolt aga nõgus. Kunstliku valgusallika korral on parem kasutada nõguspeeglit, hajutatud valguse korral tasapinnalist.

On mikroskoope, mille valgustamiseks kasutatav elektrilamp on monteeritud statiivi alumisse ossa. Peeglit sel juhul ei ole.

Preparaadi paremaks valgustamiseks kasutatakse Abbe (joonis 8) kondensorit, mis koosneb mitmest (kahest või kolmest) koondavast läätsest, mis kontsentreerivad peeglil peegeldatud kiired väikesele pinnale.

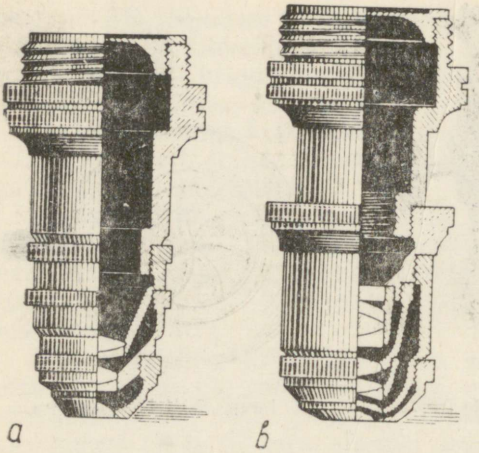
Preparaadi valgustust reguleeritakse diafragmade abil. Lihtsustatud süsteemidega mikroskoopidel on diafragmaks metallring mitmesugustes suurustes avadega, mis võimaldavad suurendada või vähendada preparaadi valgustamise astet.

Nüüdisaegsetel mikroskoopidel on sageli iirisdiafragma (joonis 9), mis kujutab endast metallplaadikestest ringi. Kui külgmist tihvti nihutada, lähevad metallplaadikesed kokku või eemalduvad, moodustades ringi tsentrisse suurema või väiksema diameetriga avause, mis reguleeribki preparaadi valgustamist.

Diafragma asetseb kondensori ja peegli vahel.

Objektiivid on kõige tähtsamad ja hinnalisemad mikroskoobi osad, mis määravad seadme optilise võimsuse. Uuritava objekti peendetailide vaatlemise määratleb objektiivi lahutusvõime, mis sõltub objektiivi konstruktsioonist ja läätsede kvaliteedist. Suure suurendusega objektiiviga saab täpsemalt vaadelda preparaadi detaile.

Optilise süsteemi tüübi järgi jagunevad objektiivid järgmiselt: akromaatilised, apokromaatilised ja fluoriidilised.



Joonis 10. Objektiivid:
a — akromaatiline; *b* — apokromaatiline.

Akromaatilised objektiivid (joonis 10 *a*) on lihtsamad ja odavamad.

Apokromaatilised objektiivid (joonis 10 *b*) on akromaatilistest paremad sfäärilise ja kromaatilise aberratsiooni[1] poolest. Nad annavad suurema suurenduse ja selgema kujutise.

Fluoriidilised objektiivid on akromaatiliste ja apokromaatiliste suhtes vahepealsed. Neis kasutatakse sageli fluoriitklaasi.

Ojektiivi suurendusvõime oleneb läätse kumerusest. Mida suurem on kumerus, seda väiksem on fookuskaugus ja seda suurem on objektiivi suurendus.

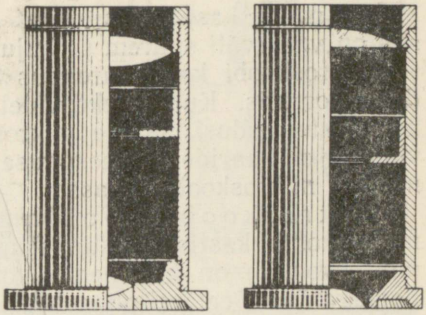
Objektiivid jagunevad kuivobjektiivideks (objektiivi ja preparaadi vahel on õhukiht) ja immersioonobjektiivideks (objektiivi ja preparaadi vahel on õli).

Objektiivide kuivsüsteeme kasutatakse väikeste (40—120 korda) ja keskmiste (400—600 korda) suurenduste korral. Neid tähistatakse numbritega 2—3—6—7 (Leitzi, Reicherti mikroskoopides) või tähtedega A—B—C—D (Zeissi mikroskoopides). Mida väiksem on arv või mida lähemal on täht tähestiku algusele, seda väiksem on objektiivi suurendus. Kodumaiste mikroskoopide viimastes mudelites märgitakse objektiivile selle suurendus (8—20—40).

Immersioonobjektiive kasutatakse suurte suurenduste korral (900—1500 korda). Neid tähistatakse HI—90—100 ja OI—90—100[2]. Valguskiirte murdumise vältimiseks üleminekul ühest keskkonnast (klaas) teise (õhk) ja vaatevälja tugevaks valgustamiseks pan-

[1] Sfääriline aberratsioon on nähtus, kus valgusallikast tulevad kiired pärast peegeldumist peeglilt ei koondu ühte punkti, mille tõttu tekib ebaselge kujutis. Kromaatiline aberratsioon on valguskiirte jaotumine mitmesugustest keskkondadest läbiminekul.

[2] HI — esimesed tähed sõnadest *Homogene Immersion* (homogeenne immersioon), OI — esimesed tähed sõnadest *Öel Immersioon* (õli immersioon).



Joonis 11. Okulaarid.

nakse objektiiv mikroskopeerimisel veetilka või erilisel teel tihendatud seedriõlisse, mis on vajalik seepärast, et immersioonobjektiividel saab läätse suure kumeruse tõttu kasutada mikroskopeerimisel ainult läätse keskosa, sest küljed annavad moonutatud kujutise.

Seedriõli kasutamise korral juhitakse valguskiirte kimp, mis tuleb peeglilt läbi kondensori, peaaegu täielikult objektiivi. Nüüd suureneb preparaadi vaatevälja valgustatus märgatavalt.

Okulaarid (joonis 11) suurendavad objektiivi poolt antud kujutist, kuid ei too ise nähtavale mitte mingisugust uuritava preparaadi detaili. Seepärast on mikroskoobi suurendust võimalik tõsta suure suurendusega okulaaride kasutuselevõtuga vaid teatud piirini, mille ületamisel kujutis kaotab selguse ja teravuse.

Okulaarid koosnevad kahest läätsest — koondavast, mis on suunatud esemele, ja pealäätsest, mis on suunatud silmale. Läätsed asuvad metallraamis, mis on paigutatud tuubuse ülemisse ossa. Kodumaiste mikroskoopide okulaaride ülemises osas on arvud 7× — 10× — 15×, mis tähendavad okulaaride suurendust.

Akromaatiliste objektiividega töötamisel kasutatakse Hygensi okulaare, apokromaatiliste objektiivide korral aga nende optilisi puudusi parandavaid kompensatsioonokulaare.

Objektiivide ja okulaaride optilised andmed on toodud tabelis 1.

Tabel 1

Objektiivi süsteem	Objektiivi mark	Objektiivi suurendus	Okulaar	Okulaari mark	Okulaari suurendus	Üldine suurendus mitmesuguste objektiividega		
						8	40	90
Kuiv-	8× 40×	8 40	Hygensi	7× 10×	7 10	56 80	280 400	630 900
Immersioon-	90×	90		15×	15	120	600	1350

Parem on kasutada tugevat objektiivi ja nõrka okulaari, sest siis on vaateväli suurem ja kujutis preparaadist teravam.

Mikroskoobi kogusuurendus on objektiivi ja okulaari suurenduse korrutis. Kui objektiividel ja okulaaridel ei ole märgitud nende suurendusi, saame mikroskoobi suurenduse teada objektiivide ja okulaaride mitmesuguse kombinatsiooni korral tabelitest, mis on mikroskoobil kaasas.

Mikroskoobi hooldamine. Töö vaheaegadel hoitakse mikroskoopi kastis või klaaskupli all[1]. Kui töö algul selgub, et mikroskoobile on kogunenud tolmu, pühitakse see puhta pehme harjaga ära. Seejärel puhastatakse mikroskoopi puhta lapiga.

Mikroskoobi hoidmisel ei ole vaja okulaari tuubusest välja võtta, sest see kaitseb objektiivi tolmu eest.

Et teha kindlaks mikroskoobi saastumise koht, tuleb pöörata okulaari ja vaadata samal ajal mikroskoopi. Kui prahiosakesed liiguvad kaasa, tähendab see, et nad asetsevad okulaaril, vastupidisel korral on saastunud objektiiv.

Läätsede välispindade puhastamisel eemaldatakse prahiosakesed pehme harjaga. Kui see ei aita, pühitakse pinda bensiini või puhta eetriga niisutatud pehme linase või batistist lapiga. Selleks otstarbeks ei soovitata kasutada ksülooli, sest see võib lahustada kanada palsamit, millega läätsed on liimitud (bensiin on selles suhtes ohutum).

Läätsi ei soovitata puhastada piiritusega.

Läätsede sisepindade saastumisel tuleb neid eriti hoolikalt puhastada. Eriti käib see objektiivide kohta. Pärast tolmu eemaldamist pehme harjaga puhastatakse neid hoolikalt puhta lapiga, mis on mähitud kepikese otsa (objektiivi ava pööratakse suunaga alla). Objektiive ei tohi lahti kruvida ega osadeks lahti võtta. Okulaari võetakse lahti harva. Objektiivid on soovitatav saata puhastamiseks tehasesse.

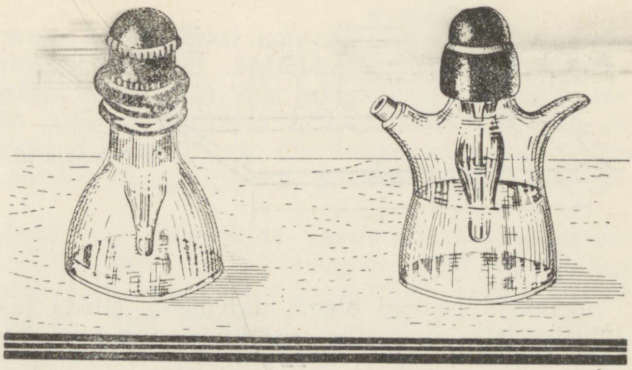
Kohe pärast mikroskopeerimist tuleb objektiivilt eemaldada seedriõli. Selleks pühitakse objektiivi esmalt kuiva lapiga ja seejärel väheses bensiinis niisutatud lapiga.

Kui mikroskoobiga töötamine on lõpetatud, kruvitakse Abbe kondensor allapoole, revolvrit pöörates keeratakse ette nõrk objektiiv ja tuubust langetatakse, nii et objektiiv läheb aluslauas olevasse avausse, kuhu enne on pandud valge lapike.

Optiline seedriõli. Mikroskopeerimisel kasutatakse tihendatud seedriõli. See on kollaka värvusega õline vedelik, mida tuleb hoida pimedas kohas erilistes anumates (joonis 12). Osa anumaid on kahekordsed. Sisemisse ossa valatakse seedriõli, välimisse bensiin objektiivi puhastamiseks.

Seedriõli asemel võib kasutada vaseliinõli (vedel parafiin), kastoorõli (happevaba), tavalise seedriõli (mitte immersiooni-) ja

[1] Mikroskoopi ei tohi jätta ei päikese kätte ega väga sooja kohta, sest siis rikneb kanada palsam, millega läätsed on liimitud.



Joonis 12. Seedriõlianumad.

kastoorõli segu (1:3), kastoorõli segu tilli- või virsikuõliga või järgmise retsepti järgi koostatud õli: puistata kolbi 30 g puhast naftaliini, valada sinna 100 ml linaseemne-, kastoor- või päevalilleõli. Segu kuumutada 50—60° C-ni ja loksutada, kuni naftaliin lahustub. Kolb jätta seisma järgmise päevani, et lahustumata naftaliiniosakesed põhja langeksid. Saadud selge lahus on kasutamiseks valmis.

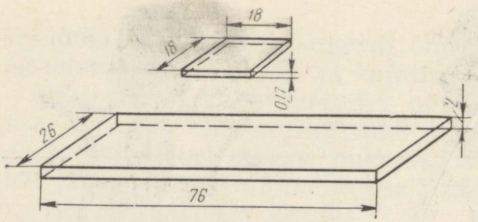
Heaks aseaineks on ka immersiool, mis koosneb 50 g virsikuõlist, 10 g kanifooliumist, 10 g naftaliinist ja 1 g saloolist (naftaliini lõhna maskeerimiseks). Veevannil valmistatakse kanifooliumi ja õli sulam, milles sulatatakse naftaliin ja lisatakse salool. Preparaat jäetakse jahedasse kohta kaheks päevaks. Pärast kurnatakse kuumutamata läbi paberfiltri.

Allpool on toodud mitmesuguste vedelike murdumisnäitajad. Neid vedelikke võib kasutada mikroskopeerimisel, et suurendada preparaadi vaatevälja valgustatust.

Seedriõli	1,510
Immersiool	1,512
Kedrool	1,488
Linaseemneõli	1,475
Päevalilleõli	1,475
Kastoorõli	1,477
Linaseemneõli (küllastatud naftaliiniga)	1,504
Päevalilleõli (küllastatud naftaliiniga)	1,498
Kastoorõli (küllastatud naftaliiniga)	1,500

Esemeklaas ja katteklaas (joonis 13). Mikroskoobis vaadeldav objekt pannakse nelinurksele esemeklaasile, mille pikkus on 76 mm, laius 26 mm ja paksus 1—2 mm. Objekt kaetakse ruudukujulise katteklaasiga, mille serva pikkus on 18×18 mm või 20×20 mm ja paksus mitte üle 0,2 mm (parem on 0,17 mm)[1].

[1] Mikroskoopide objektiivid on korrigeeritud 0,17 mm paksustele katteklaasidele.



Joonis 13. Katte- ja esemeklaas.

Klaasid peavad olema värvuseta, sileda tasapinnaga ja õhumullikesteta. Eriotstarbelisteks uuringuteks kasutatakse nõgususega esemeklaase (1—2—3 nõgu).

Tarvitamata esemeklaase pestakse kõigepealt sooja vee ja seebiga, pärast pühitakse pehme lapiga.

Katteklaase pestakse esmalt eetri ja piirituse seguga (1:1), siis bensiiniga ja pühitakse pehme rätikuga.

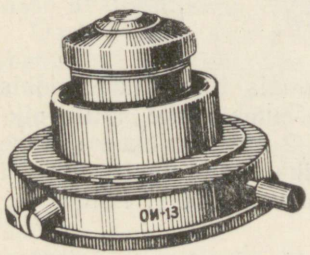
Pärast kasutamist pannakse klaasid mõneks tunniks kroomisegusse (kui klaasil on seedriõli, pühitakse see enne ära). Edasi pestakse neid hoolikalt veega, pühitakse rätikuga ja hoitakse piirituse ja eetri segus (1:1) või piirituse ja denatureeritud piirituse segus klaaskorgi all.

Igapäevases töös pestakse esemeklaasid pärast kasutamist seebiga puhtaks, loputatakse veega ja kuivatatakse pehme kuiva lapiga. Pestud ja kuivatatud esemeklaasidelt võib eemaldada rasvaosakesi eetriga niisutatud vatt-tampooniga. Puhtaid esemeklaase hoitakse klaasides, mis on kaetud pappkaantega. Katteklaase on soovitatav hoida Petri tassis.

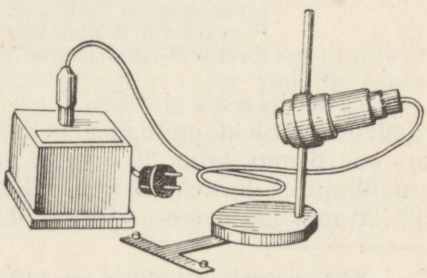
Esemeklaasi puhtuse kontrollimiseks pannakse klaasile tilk vett. Hästi puhtal klaasil valgub tilk ühtlase kihina laiali ja märgab kergelt klaasi. Rasvase klaasi korral ei muuda tilk oma kerajat kuju.

Puhtaid klaase tuleb kinni hoida servast, mitte keskelt.

Mikroskopeerimise uued meetodid. Mikroorganisme uuritakse detailselt mitmesugustel mikroskopeerimismeetoditel.



Joonis 14. Pimeväljakondensor.



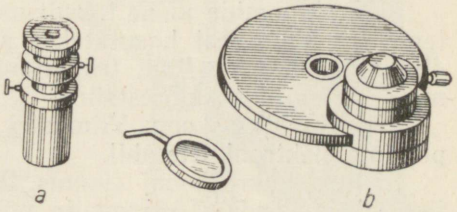
Joonis 15. Mikroskoobi lamp ОИ-7.

Pimeväljameetod. Objekti kontrastsuse suurendamiseks kasutatakse mikroskopeerimisel spetsiaalset keskpimendusega pimevälja kondensorit (joonis 14), mis takistab tsentraalse kiirtekimbu läbiminekut ning mille tõttu mikroskoobi vaateväli on pimendatud. Külgmised valguskiired, mis langevad teatud nurga all, valgustavad objekti ja see muutub pimeväljas heledalt valgustatuks.

Olenemata sellest, kas pimeväljas vaatlemiseks kasutatakse kuiv- või immersioonobjektiivi, tuleb kondensori ülemisele läätsele panna tilk immersioonioli. Pimevälja kondensori juurde kuulub spetsiaalne diafragma, mis paigutatakse immersioonobjektiivi pessa. Kuivsüsteemi objektiivide korral seda diafragmat ei kasutata.

Pimeväljameetod vajab tugevat valgusallikat, milleks sobib lamp ОИ-7 (joonis 15).

Faasikontrasti meetod võimaldab detailsemalt uurida mikroobide elusaid rakke. Selle meetodi korral lisatakse tavalisele mikroskoobile faasikontrastiseade (joonis 16), mis koosneb spetsiaalsetest objektiividest, väikese suurendusega abimikroskoobist, revolvriga faasikondensorist, spetsiaalsetest diafragmadest ja mitmest valgusfiltrist. Peale selle on vajalik valgustuslamp ОИ-7 või ОИ-9.



Joonis 16. Faasikontrastiseade:
a — abimikroskoop; *b* — revolvriga faasikondensor.

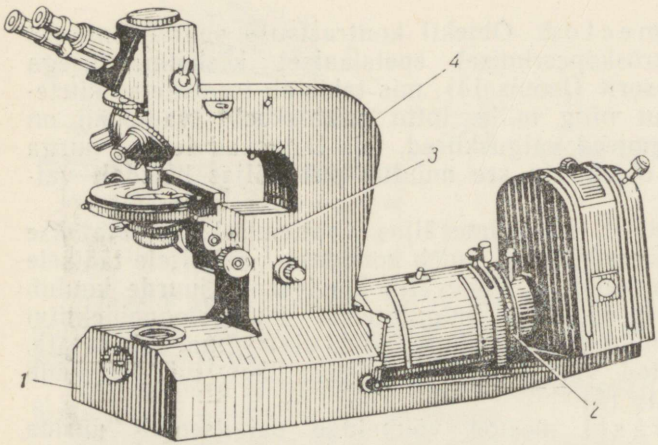
Et valguse murdumise näitajad keskkonnal ja objektil on erinevad, siis valguskiirega, mis läbib objekti, toimuvad faasilised muutused, mille kutsusid esile faasikontrastiseadmed. Faasilised muutused seisnevad amplituudi muutuses, mis tugevdab või nõrgendab objekti läbivat valgust.

Luminestsentsimikroskoopia. Elusraku struktuurielementide kujutist võib saada luminestsentsmikroskoobi[1] abil, kui kasutada mikroskoope МЛ-1 ja МЛ-2 (joonis 17).

Selle meetodi korral täheldatakse fluorestsentsi[2] läbivas ja pealelangevas valguses, kombineeritakse vaatlusi faasikontrasti ja luminestsentsi abil. Luminestseeruvaid objekte võib mikrofotografeerida. Et bakterite isehelendus on väga nõrk, siis töödeldakse

[1] Luminestsents on objekti helendamine, mille on esile kutsunud tema poolt neelatud valgusenergia.

[2] Fluorestsents on objekti helendamine, mis tekib tema valgustamise tagajärjel ja mis kustub kiiresti pärast valgustamise katkestamist.



Joonis 17. Luminestsentsmikroskoop:
1 — statiiv; *2* — valgustusseade; *3* — peen- ja jämefokuseerimise seade; *4* — tuubusehoidja.

uurimisobjekte fluorestseerivate värvidega (fluorokroomidega), mis värvivad raku struktuurielemendid mitut värvi.

Fluorokroomide väike toksilisus võimaldab uurida rakkude elutegevust. Värvidest kasutatakse sagedamini akridiinoranži, akridiinkollast, korüfosfiini, trüpaflaviini, rivanooli, rodamiini, auramiini, primuliini, fluorestsiini.

Elektronmikroskoop. Viimastel aastatel on hakatud mikroskopeerima elektronkiirte abil.

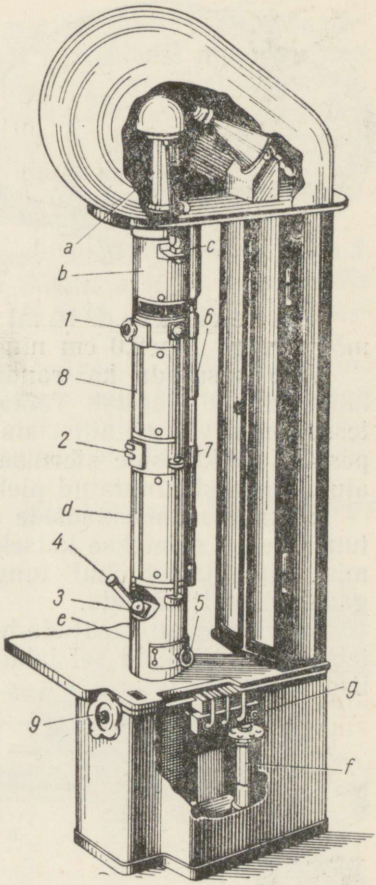
Elektronmikroskoobi (joonis 18) kasulik suurendus on 50 000 ja rohkem korda. Tööprintsiip põhineb elektronide voolu kasutamisel, mis saadakse spetsiaalsest allikast (elektronkahur). Kõik optilised elemendid on asendatud elektromagnetiliste läätsedega, mis tekitavad elektromagnetilise välja, mis juhib elektronide voolu suunda.

Elektronide vool, mis eraldub volframitraadist, suunatakse kondensorläätse abil uuritavale objektile. Läbinud objekti, kalduvad elektronid oma esialgsest suunast kõrvale. Kiirte teele paigutatud objektiivlääts laseb diafragmast läbi elektrone, mis liiguvad optilise telje ligidal ja annavad kontrastse suurendatud vahekujutise.

Seda kujutist suurendatakse projektsioonläätsega, mis annab lõpliku kujutise fluorestseerival ekraanil, mis helendab elektronide toimel. Ekraani võib asendada fotoaparaadiga.

See osa preparaadist, kus asub objekt, laseb elektrone vähem läbi ja annab helendaval plaadil tihedama varju, taastades objekti väliskontuurid.

Preparaat valmistatakse kõige õhemale kollodiumkilele, sest elektronid klaasi ei läbi.



Joonis 18. Elektronmikroskoop:

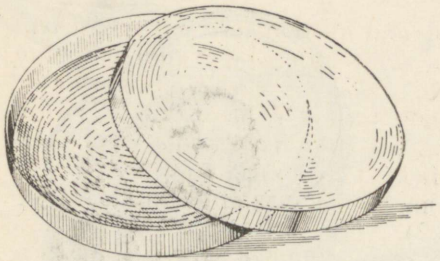
a — kahur; *b* — kondensorlääts; *c* — objektiivlääts; *d* — projektsioonilamp; *e* — fotokaamera; *f* — difusioon-õlipump; *g* — needitud vaakumlüliti; *1* — objekti vahetamise luuk; *2* — vahekujutise jälgimise aknake; *3* — lõppkujutise jälgimise aknake; *4* — valgusmikroskoop; *5* — fotoplaatide vahetamise luuk; *6* — vaakumjuhe; *7* — objektiivi nihutamise rihmad; *8* — kahuri juhtimise käepide; *9* — vaakumsüsteemi juhtimise käepide.

Nõud ja inventar

Petri tassid (joonis 19) koosnevad kahest ümarjast lamedast tassist — kaanest ja põhjast. Kõige enam kasutatavad on 10-cm läbimõõduga (sügavus 1,5 cm) tassid. Klaas, millest tasse valmistatakse, peab olema õhuke, läbipaistev ja õhumullideta.

Pipetid (joonis 20). Bakterioloogilisteks töödeks kasutatakse 1—5-ml ja 10-ml mahuga pipette. Kõige sagedamini kasutatakse 1-ml Mohri pipette, mille pikkus on umbes 28 cm.

Pestud ja kuivatatud pipettide ülemine ava suletakse vatttampooniga ning steriliseeritakse paberisse mähitult või silinderjates metallpinalites (joonis 20). Pinali põhja pannakse vatt, et pipettide otsad ei puruneks. Silindri küljel ja kaanel on auk, mis jäetakse steriliseerimise ajaks avatuks. Steriliseerimise lõppedes suletakse ava kaane pööramisega.



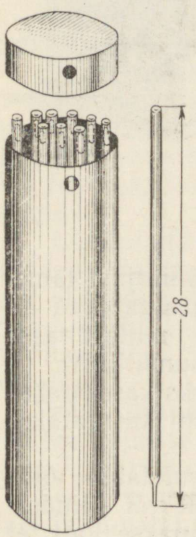
Joonis 19. Petri tass.

Katseklaasid. 10 ml vee villimisel kasutatakse katseklaase mõõtmetega 18×2,0 cm ning 18×1,5 cm.

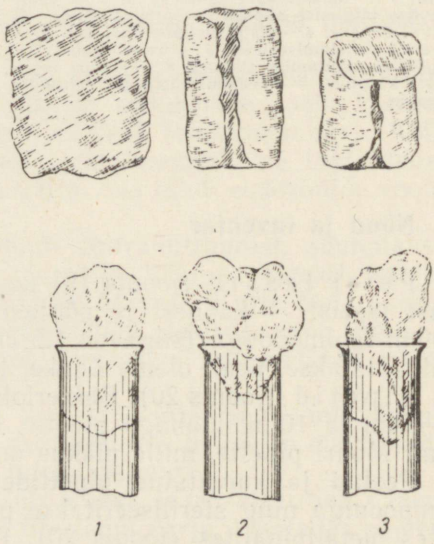
Võib kasutada ka randita katseklaase, mis on valmistatud läbipaistvast klaasist. Töötamisel paigutatakse need spetsiaalsetesse puust või metallist statiividesse, milles on tavaliselt 12—24 pesa. Katseklaaside steriliseerimiseks ja hoidmiseks soovitatakse alumiiniumist, tinutatud plekist või traadist korvikesi.

Et kaitsta katseklaaside sisu õhus olevate mikroobidega saastumise eest, suletakse katseklaasid steriliseerimisel vattkorkidega, mis võimaldavad õhul tungida katseklaasi ning moodustuvatel gaasidel sealt väljuda.

Soovitatav on kasutada hügroskoopilist vatti. Võib kasutada ka tehnilist vatti, kuid sel juhul tuleb korgi pind katta hügroskoopilise vatiga.



Joonis 20. Pipetid ja pinal Petri tasside steriliseerimiseks ning hoidmiseks.



Joonis 21. Vattkorgid:
1 — õigesti valmistatud vattkork; *2* ja *3* — valesti valmistatud korgid.

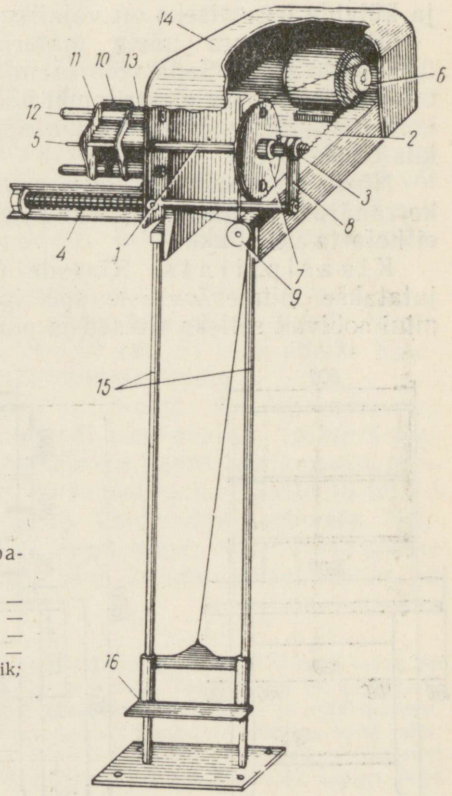
Vattkorkide valmistamine on näidatud joonisel 21. Õigesti tehtud korgid peavad kergesti ja sügavalt katseklaasi minema ning liibuma tihedalt selle seintele. Katseklaasilt eemaldatud kork ei tohi oma kuju muuta. Kork peab sobima katseklaasile jõudu tarvitamata. Korgi eemaldamisel katseklaasilt tuleb korki kergelt keerata, eriti siis, kui see on katseklaasi külge kleepunud.

Vattkorki on väga mugav valmistada aparaadiga, mille konstrueeris N. J. Lukjanov (joonis 22).

Aparaadiga töötamisel keeratakse vatt ümber pöörleva varda *5*, mis on kinnitatud rihmaratta *3* külge. Rihmaratas pannakse tööle elektrimootoriga *14*, mille võimsus on 0,25 kWh (1440 pööret minutis).

Korgi paksust reguleeritakse vati hulgaga, mida mähitakse varda ümber. Korgi tihedus sõltub käega vajutamise tugevusest surveplaadile *10*. Kui kork on valmis, vajutatakse jalaga pedaalile *16*. Pedaali langedes tõmbab vedru varrast paremale ja vabanev kork kukub.

Mikrobioloogia laboratooriumis kasutatakse käärtorudega katseklaase.



Joonis 22. Vattkorkide valmistamise aparaat:

1 — pöörlev puks; *2* ja *3* — rihmarattad; *4* — vedruga tõmme; *5* — teravik; *6* — alus; *7* — rattahamba muhv; *8* — liist; *9* — rull; *10* — surveplaat; *11* — piirdeplaat; *12* — varras; *13* — kest; *14* — elektrimootor; *15* — pedaali juhik; *16* — pedaal.

Kolvid. Kasutatakse koonilisi ja ümarjaid lamedapõhjalisi kolbe mahuga 50, 100, 250 ml ja 1, 2, 3, 5 liitrit.

Tiitrimislaud. Tiitrimislahused (0,1 n NaOH ja H_2SO_4 lahused) ja indikaatorid (fenoolftaleiin jt.) paigutatakse spetsiaalsele lauale, mis on näidatud joonisel 23.

Anum aluse ja sillakesega (joonis 24). Preparaate on hea värvida klaaspulkadest või jämedast vasktraadist alusraamil, mis paigutatakse kristallisaatorile või sügavale taldrikule. Preparaat värvitakse ja pestakse veega, ilma et käega alusklaasi puudutataks. Preparaadi pesemisel võib kasutada külgavaga pudelit.

Värvide ja reaktiivide pudelikesed. Mikrobioloogilisteks töödeks on vaja järgmisi värve ja reaktiive: metüleensinist, gentsiaanvioletti (kristallvioletti), Lugoli lahust, 96°-st piiritust, Pfeifferi fuktsiini, mis on kõik valatud spetsiaalsetesse pipettidega pudelikestesse.

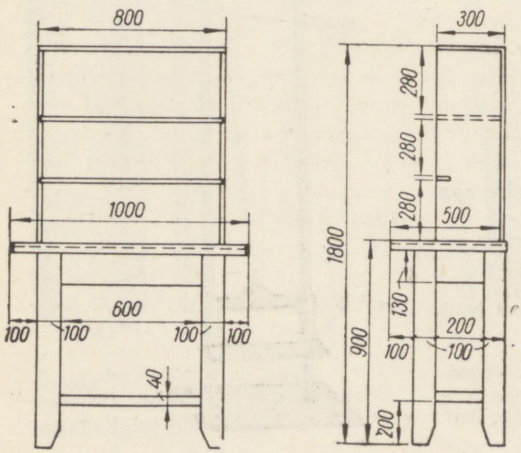
Klaasihoidik. Preparaatide valmistamisel (kuivatamine, fikseerimine, värvimine) tuleb esemeklaasi hoida pintsettidega. Kõige paremini sobivad selleks Cornet' pintsetid.

Nõelad ja aasad (joonis 25). Uurimismaterjali võtmiseks ja külvide tegemiseks on vajalikud nõelad ja aasad.

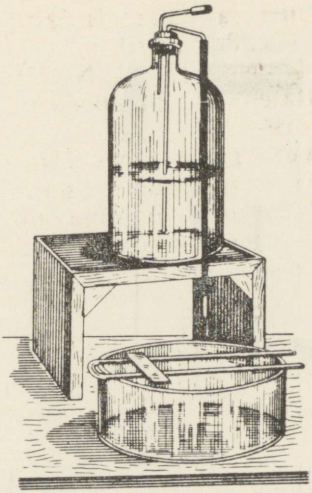
Kõige parem nõela materjal on plaatinatraat (jämedus 0,37—0,40 mm). Seda võib asendada ka nikliga, kroomnikliga või 0,5-W võimsusega elektrilambi hõõgniidiga. Traat pannakse nõelahoidikusse või sulatatakse klaaspulga otsa. Soovitatav nõela pikkus on 6—8 cm.

Nõela otsa painutamisega moodustatakse aas. Aas peab olema korrapärane (ligikaudne diameeter 3 mm) ja kinnine, sest muidu ei hoia ta vedelikku.

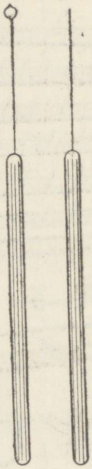
Klaasipliiats. Klaasile (katseklaasid, Petri tassid) kirjutatakse mitmevärviliste spetsiaalsete pliiatsitega. Kõige paremini sobivad selleks sinised ja punased pliiatsid.



Joonis 23. Tiitrimislaud.



Joonis 24. Anum aluse ja sillakesega.



Joonis 25. Aas ja nõel.

Kaalud. Söötmete, värvide, lahuste jm. valmistamisel on kaalumiseks vaja tehnilisi ja lauakaale.

Külvidelaud. Laboratooriumis on mugav töötada spetsiaalsel laual. Laud värvitakse õlivärviga. Alumises osas on kapp ja mitu väljatõmmatavat sahtlit. Lauaplaat kaetakse linoleumi või klaasiga, mida ümbritseb puust liist, mis on lauaplaadist 2—3 mm kõrgem. Kui klaasi või linoleumi ei ole, tuleb laud katta värviga, mis on happe- ja leelisekindel.[1]

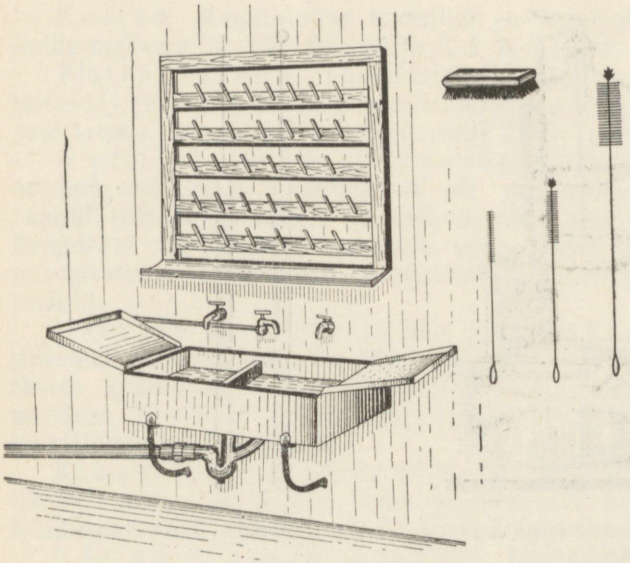
Külve võib teha ka laboratooriumilaual.

Mikroskopeerimislaud asetatakse akna juurde. Laua kõrgus on ligikaudu 80 cm, laius 50—55 cm. Et laud püsiks kindlamini, on soovitatav paigutada see kronsteinidele.

Vanniga pesulaud peab asetsema nõudepesuruumis. Vanni sisepind on kaetud tsingitud või roostevabast terasest plekiga. Et klaasnõud ei puruneks, asetatakse vanni põhja puust rest.

Nõusid pestakse järgmiselt: Petri tassid, katseklaasid ja teised klaasnõud, mida pole veel kasutatud, keedetakse seebivees. Seejärel jäetakse nad mõneks tunniks hapustatud vette (1—2%-line soolhappelahus), sest uus klaas eraldab kuumutamisel leelist, ja seejärel loputatakse.

[1] Lauaplaat värvitakse järgmiselt. Valmistatakse 2 lahust. Esimene lahus on soolhappelise aniliini lahus (4 l vett ja 600 g värvi). Teine lahus on järgmine: 86 g vaskkloriidi, 67 g kaaliumkloriidi, 33 g ammooniumkloriidi ja 1000 ml vett. Enne tarvitamist segatakse 4 mahuosa esimest lahust 1 mahuosa teise lahusega. Selle seguga võõbatakse lauaplaati 4—5 korda (iga kord pärast ööpäevast seismist). Lõpuks hõõrutakse lauaplaati linaseemneõlisse kastetud lapiga 3—4 korda.



Joonis 26. Kuivatusrest ja klaasnõude pesemise harjad.

Kasutatud klaasnõud puhastatakse, keedetakse seebi- või soodavees ja loputatakse mitu korda puhta veega. Pestud katseklaasid ja kolvid kuivatatakse restil (joonis 26), tassid aga paigutatakse lauale, põhjadega üles.

Pipetid pannakse pesemiseks silindrisse, kus on seebivesi. Kummist ballooni abil uhutakse pipette seebiveega. Seejärel jäetakse nad kuni järgmise päevani kroomisegusse. Pärast kroomisegust väljavõtmist pestakse pipette hoolikalt veega ja kuivatatakes kapis umbes 100° C juures. Kapi riiulile asetatud pipettide alla on soovitatav panna filterpaberi leht. Kui pipettidest pole valgujäägid täielikult eemaldunud, tuleb neid pesta kroomiseguga. Selleks valatakse anumasse veidi vett ja natuke rohkem kroomisegu.[1] Kummiballooni abil imetakse kuum kroomisegu pipetti.

Klaasnõude pesemiseks on tarvis harjade komplekti.

T a b u r e t i d. Laboratooriumi taburetid on tavaliselt ümmargused või nelinurksed. Nende kõrgus peab vastama laudade kõrgusele.

---

[1] Laboratooriuminõude pesemiseks vajalik kroomisegu valmistatakse järgmiselt. Kolbi valatakse 0,5 l kontsentreeritud väävelhapet ja lisatakse 50—60 g purustatud kaaliumbikromaati. Segu segatakse hoolikalt, kuni vedelik värvub oranžpunaseks.

Ühte ja sama segu kasutatakse mitme partii nõude pesemiseks. Kui kroomisegu värv muutub (tekib rohekas varjund), valmistatakse uus lahus. Kroomiseguga töötamisel tuleb olla ettevaatlik, sest see tekitab tugevaid põletushaavu. Tarvitatud kroomisegu ei tohi valada trappi, valamusse ega metallämbrisse.

II PEATÜKK

SÖÖTMED, VÄRVID JA INDIKAATORID

SÖÖTME REAKTSIOONI MÄÄRAMINE

Mikroobide omaduste uurimiseks kasvatatakse neid mitmesugustel söötmetel.

Sööde peab olema võimalikult täisväärtuslikuks toiteallikaks uuritavale mikroobile. Et mikroobide arenemiseks on tarvilikud mitmesugused toitained, on ka söötmete koostis mitmesugune.

Ühe või teise toote mikrofloora uurimise tulemused on seda täpsemad, mida lähedasem on söötme koostis uuritavale tootele. Seda põhimõtet tuleb eriti hoolikalt järgida piima ja piimasaaduste uurimisel, kus mikroobide arv omab erilist tähtsust.

Söötmete valmistamisel on eriti oluline söötme reaktsiooni määramine. Enamik baktereid vajab arenemiseks neutraalset reaktsiooni. Pärm- ja hallitusseened arenevad paremini nõrgalt happelises keskkonnas.

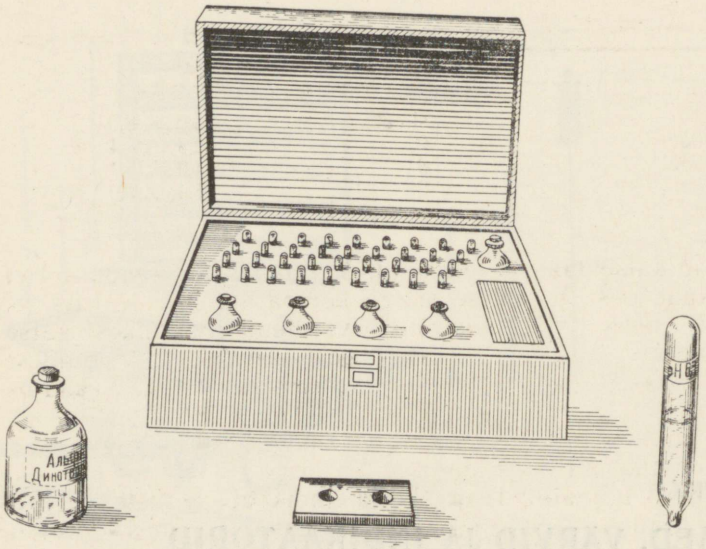
Söötme reaktsiooni võib määrata mitmesugusel viisil.

Reaktsiooni määramine lakmuspaberiga. Söötme reaktsiooni määratakse punase või sinise lakmuspaberiga.

Paberi märgumisel vedelikuga, mille reaktsioon on leeliseline, läheb punane paber siniseks, sinise paberi värvus aga ei muutu. Happelise reaktsiooni korral läheb sinine paber punaseks, punane paber aga värvust ei muuda. Neutraalse reaktsiooni korral ei muutu kummagi paberi värvus.

Söötme reaktsiooni määramine lakmuspaberi abil on väga lihtne, kuid pole kuigi täpne. Söötmete reaktsiooni määramiseks on see siiski sobiv.

Tiitritava happesuse määramine. 10 ml vedelikku mõõdetakse kolbi, lahjendatakse 20 ml destilleeritud veega ja lisatakse 2—3



Joonis 27. Seade vesinikioonide määramiseks Michaelise järgi.

tilka 1%-list fenoolftaleiini piirituslahust. Segatakse hoolikalt läbi ja tiitritakse pidevalt segades 0,1 n naatrium- (või kaalium-)hüdroksiidi vesilahusega kuni 1 minuti jooksul püsiva roosa värvuse tekkimiseni.

Leelise hulk milliliitrites, mis kulus tiitrimiseks, korrutatakse 10-ga. Nii saadakse happesus kraadides, mis näitab 0,1 n naatriumhüdroksiidi milliliitrite arvu, mis kulus 100 ml söötme neutraliseerimiseks.

Aktiivse happesuse määramine. Peale tiitritava happesuse määratakse söötmete valmistamisel ka aktiivne (tegelik) happesus vesinikioonide kontsentratsiooni (pH) määramise meetodiga.[1] See meetod võimaldab määrata üksnes vaba hapet, kuna tiitrimisel määratakse hape nii vabal kui ka seotud kujul. Kasutatavamad vesinikioonide kontsentratsiooni määramise meetodid on Michaelise, Klarki ja Lebsi ning elektromeetriline meetod.

Michaelise meetod. Vesinikioonide kontsentratsiooni määramise seade (joonis 27) koosneb viiest indikaatoriga pudelikesest (tabel 2), 35 värvitud vedelikega ja pH arvuliste väärtus-

[1] Vesinikioonide kontsentratsiooni 1 liitris lahuses väljendab arv 10 negatiivse astmenäitajaga. Keskkonna neutraalse reaktsiooni korral on vesinikioonide kontsentratsioon 10^{-7}, happelises keskkonnas suurem kui 10^{-7} ja leeliselises keskkonnas väiksem kui 10^{-7}. Et negatiivse astmenäitajaga arvu on vesinikioonide kontsentratsiooni iseloomustamiseks ebamugav kasutada, eelistatakse nende arvude logaritmi vastasmärgiga (+), mida tähistatakse pH-ga.

Tabel 2

Indikaator	Etalonide arv	pH
Universaalne	skaala	3,0 ... 8,0
α — dinitrofenool	9	2,8 ... 4,4
γ — dinitrofenool	8	4,0 ... 5,4
p — nitrofenool	9	5,4 ... 7,0
m — nitrofenool	9	6,8 ... 8,4

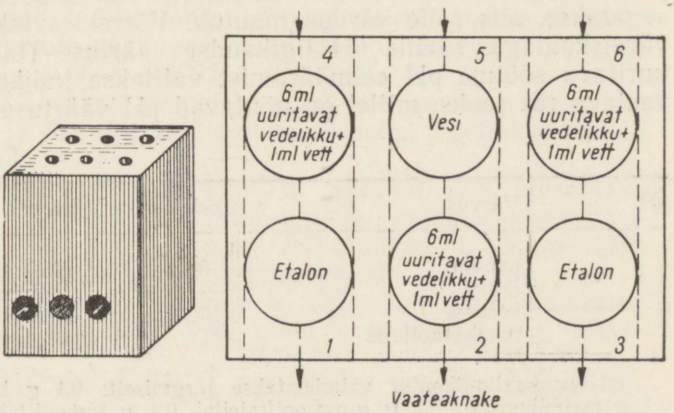
tega joodetud katseklaasist (etalonid, mis paiknevad seadmes neljas reas), kuue pesa ja kolme avaga komparaatorist (joonis 28) katseklaaside jaoks vedelike värvuste võrdlemiseks, kuuest katseklaasist uuritava lahuse jaoks, kahest portselantassist, pipettidesttilgutitest, klaaspulgast ja universaalindikaatori värviskaalast (paberil).

Etalone võib valmistada laboratooriumis. Teatud kogus indikaatorite põhilahuseid lahjendatakse 10 korda 0,1 n Na_2CO_3 lahusega. Tabelis 3 näidatud lahjendatud indikaatorlahuste kogused mõõdetakse gradueeritud pipetiga puhastesse, kuivadesse, võrdse diameetriga katseklaasidesse, mille kaelad on välja venitatud (kinnijootmiseks) ja mis on valmistatud värvitust klaasist. Edasi lisatakse 0,1 n Na_2CO_3 lahust kuni 7 ml-ni, joodetakse kinni ja kleebitakse peale etiketid, millel on märgitud pH ja indikaatori nimetus.

Indikaatorite põhilahused valmistatakse järgmistes vahekordades: 0,1 g α-dinitrofenooli 200 ml vees, 0,1 g γ-dinitrofenooli 200 ml vees, 0,1 g p-nitrofenooli 100 ml vees, 0,3 g m-nitrofenooli 100 ml vees.

Michaelise meetodil määratakse pH komparaatoris.

Kolme puhtasse katseklaasi valatakse igasse 6 ml uuritavat vedelikku. Kahte neist lisatakse 1 ml vett ja paigutatakse pesa-



Joonis 28. Komparaator.

Tabel 3

Katse-klaasi number	I rida α-dinitro-fenool		II rida γ-dinitro-fenool		III rida p-nitro-fenool		IV rida m-nitro-fenool	
	pH	ml	pH	ml	pH	ml	pH	ml
1	2,8	0,51	4,0	0,74	5,4	0,16	6,8	0,27
2	3,0	0,78	4,2	1,10	5,6	0,25	7,0	0,43
3	3,2	1,20	4,4	1,65	5,8	0,40	7,2	0,66
4	3,4	1,74	4,6	2,4	6,0	0,63	7,4	1,0
5	3,6	2,5	4,8	3,4	6,2	0,4	7,6	1,5
6	3,8	3,4	5,0	4,5	6,4	1,4	7,8	2,3
7	4,0	4,6	5,2	5,5	6,6	2,0	8,0	3,0
8	4,2	5,7	5,4	6,6	6,8	3,0	8,2	4,2
9	4,4	6,7	—	—	7,0	4,05	8,4	5,2

desse *4* ja *6* (vt. joonis 28). Kolmas katseklaas, kuhu valatakse 1 ml väljavalitud indikaatorit, pannakse pessa *2*. Pessa *5* paigutatakse katseklaas veega. Etalonid pannakse pesadesse *1* ja *3* ning neid vahetatakse seni, kuni leitakse katseklaasis *2* oleva uuritava vedelikuga võrdne värvus.

Värvust jälgitakse komparaatori vaateaknakesest. Vaatlemisel tuleb komparaator asetada valgele foonile, milleks soovitatakse kasutada komparaatorisse pandud mattklaasi.

Uuritava vedeliku pH on võrdne selle etaloni pH-ga, mille värvus oli kõige lähedasem uuritava vedeliku värvusele. Kui uuritava vedeliku värvus on kahe naaberetaloni värvuste vahepealne, võrdub ka pH kahe etaloni keskmisega.

Et kiirendada vastava rea etalonide valikut ja määrata pH täpsemalt, määratakse pH enne universaalindikaatoriga[1].

Selleks mõõdetakse portselankaussi 2—3 ml uuritavat söödet ja lisatakse tilk universaalindikaatorit. Kui söödet klaaspulgaga segatakse, siis selle värvus muutub. Võrreldes tekkinud värvust värviskaalaga, saame pH ligikaudse väärtuse (tabel 4). Pärast uuritava söötme pH eelmääramist valitakse indikaator etalonide vastava rea jaoks, millel on nõutavad pH väärtused.

Tabel 4

pH	Värvus	pH	Värvus
4	punane	8	roheline
5	oranž	9	sinakasroheline
6	kollane	10	sinakaslilla
7	rohekaskollane	11	punakaslilla

[1] Universaalindikaator valmistatakse järgmiselt: 0,1 g broomtümoolsinist, 0,1 g metüülpunast, 0,1 g α-naftoolftaleiini, 0,1 g tümoolftaleiini ja 0,1 g fenoolftaleiini lahustatakse väikeses koguses piirituses ja siis täidetakse piiritusega kuni 500 ml-ni.

Tabel 5

Indikaator	Värv hapus lahuses	Värv leeliselises lahuses	pH piirid	Kontsentratsioon %
		Happeline rida		
Tümoolsinine	punane	kollane	1,2—2,8	0,04
Broomfenoolsinine	kollane	sinine	3,0—4,6	0,04
Metüülpunane	punane	kollane	4,4—6,0	0,02
Broomkresoolpunane	kollane	purpurne	5,2—6,8	0,04
Broomtümoolsinine	„	sinine	6,0—7,6	0,04
Fenoolpunane	„	punane	6,8—8,3	0,02
Kresoolpunane	„	„	7,2—8,8	0,02
		Leeliseline rida		
Tümoolsinine	kollane	sinine	8,0—9,6	0,04
Kresoolpunane	värvitu	punane	8,2—9,8	0,02

Tabel 6

Indikaator	Kogus ml	
	0,05 n NaOH	destilleeritud vesi
Tümoolsinine	4,3	250
Broomfenoolsinine	3,0	250
Metüülpunane	7,4	500
Broomkresoolpunane	3,7	250
Broomtümoolsinine	3,2	250
Fenoolpunane	5,7	500
Kresoolpunane	5,3	500

Klarki ja Lebsi meetod. Autorid soovitavad tervet rida eredate värvidega indikaatoreid, mis annavad pH väärtused 1 kuni 10 (tabel 5).

Tabelis 5 toodud indikaatorite lahused valmistatakse järgmiselt: 0,1 g indikaatorpulbrit peenestatakse kvartsuhmris ja lisatakse teatav kogus 0,05 n NaOH-d (tabel 6).

Söötme reaktsiooni määramiseks kantakse portselanplaadikesele 1 ml söödet ja üks tilk indikaatorit. Tabelist 7 leitakse vastavad pH väärtused.

Elektromeetriline meetod. See on üks täpsemaid meetodeid pH määramiseks mitmesuguste potentsiomeetritega (П-4, П-5). Potentsiomeetriga (mark ЛП-58) saab määrata mitte ainult lahuse pH-d, vaid ka redokspotentsiaali.

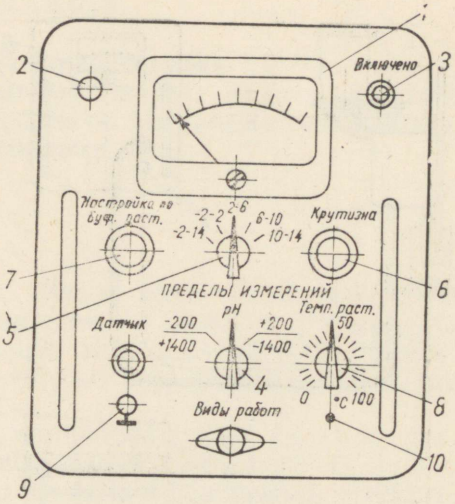
Väga kergesti käsitsetav, täpne ja lihtne on potentsiomeeter (pH-meeter) ЛПУ-01 (joonis 29), mida kasutatakse koos anduriga ДЛ-01.

Aparaadil ЛПУ-01 saab pH-d määrata piirides 2 kuni 14. Aparaati juhitakse esipaneelilt, mille ülemises osas asub galvano-

Tabel 7

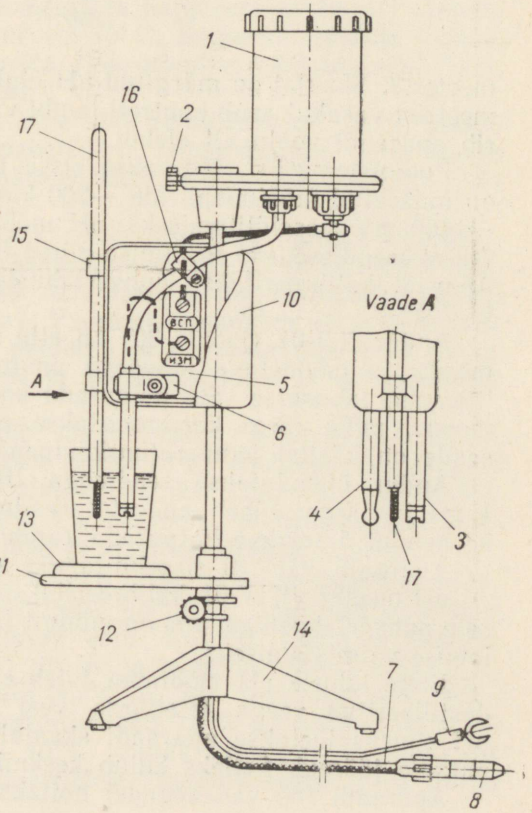
Indikaator	pH												
	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5
Tümoolsinine	Kollane →												
Broomfenoolsinine		← Kollane	Kollakaspruun	Lillakaspruun	Pruunikaslilla	Lillakassinine	Sinine	→					
Metüülpunane		← Punane	Punane	Punane	Punane	Punakasoranž	Oranž	Oranžikaskollane	Kollakas	→			
Broomkresoolpunane					←	Hallikaskollane	Kollakaspruun	Pruunikaslilla	Tumelilla	Lilla	→		
Broomtümoolsinine						←	Kollane	Rohekaskollane	Kollakasroheline	Tumesinine	Sinine	Tumesinine	→
Fenoolpunane						←	Kahvatukollane	Roosa	Punane	→			
Tümoolsinine										←	Kollane	Hallikaskollane	Rohekaslilla

Nool näitab, et pH edasisel muutumisel värvus püsib.



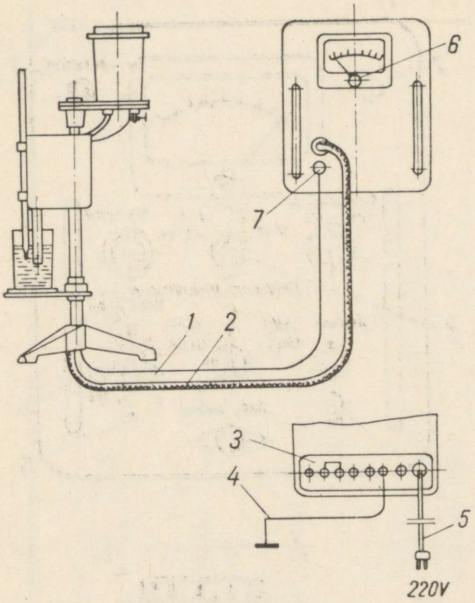
Joonis 29. pH-meetri ЛПУ-01 esipaneel:

1 — lugeminäitaja; *2* — kontrollambi valgusfilter; *3* — tumbler; *4* — tööliigi ümberlüliti; *5* — mõõtmispiiride ümberlüliti; *6* — vahelduv takistus tõusu häälestamiseks; *7* — vahelduv takistus puhverlahustega kalibreerimiseks; *8* — vahelduv takistus käsitsi temperatuurkompenseerimiseks; *9* — anduri maandamise klemm; *10* — temperatuurikompensaatori sõlme käsitsi fikseerimise kruvi.



Joonis 30. Laboratoorne andur ДЛ-01:

1 — voolav abielektrood; *2* — abielektroodi kinnitamise kruvi; *3* — voolava elektroodi otsik; *4* — klaaselektrood; *5* — elektroodide kronstein; *6* — elektroodide kinnitid; *7* — koaksiaalkaabel; *8* — kaablipistik; *9* — anduri maandamise juhe; *10* — ekraanid (kaaned); *11* — pööratav lauake; *12* — lauakese kinnitaja; *13* — vaibake; *14* — statiivi alus; *15* ja *16* — klambrid; *17* — elavhõbetermomeeter või termokompensaator.



Joonis 31. Seadme ЛПУ-01 sisselülitamise skeem:

1 — anduri maandamise juhe; *2* — anduri koaksiaalkaabel; *3* — seadme tagaseina klemmi paneel; *4* — seadme vooluvõrku lülitamise juhe; *6* — nullkorrektor; *7* — anduri maandamise klemm.

meeter *1*. Skaalal on märgitud pH ühikud ja millivoldid. Galvanomeetrist vasakul asub kontroll-lambi valgusfilter *2*, mis signaliseerib aparaadi voolu all olekut.

Potentsiomeeter lülitatakse sisse tumbleriga *3*. Ümberlüliti *4* on määratud mõõtmispiiride —200 kuni +1400 mV ja +200 kuni —1400 mV sisselülitamiseks. pH mõõtmisel pannakse ümberlüliti *4* keskasendisse. pH mõõtmise piirid fikseeritakse ümberlülitiga *5*. Aparaat kalibreeritakse puhverlahustega vahelduvate takistite *6* ja *7* abil.

Andur ДЛ-01 (joonis 30) on ette nähtud elektroodide kinnitamiseks ja mõõdetava lahusega anuma paigaldamiseks. Kontrollitavasse lahusesse võib paigutada koos elektroodidega ka termomeetri, mille järgi korrigeeritakse pH-meetri lugeja näitu, kui seade on käsitsi temperatuurkompensatsiooniga.

Andur ühendatakse seadmega ЛПУ-01 kaablipistikuga *(8)*. Koos kaabliga läheb andurist seadmesse juhe *9*, mis ühendab kronsteini *5* seadme korpusega (anduri maandamise juhe).

Aparaadi ЛПУ-01 sisselülitamise skeem on toodud joonisel 31.

pH-meeter ЛПУ-01 kalibreeritakse ja kontrollitakse standardsete puhverlahustega, mis on müügil fiksanaalidena 1 liitri puhverlahuse valmistamiseks.

Enne lahuse pH mõõtmist tuleb elektroode hoolikalt loputada destilleeritud veega. Üleliigne vesi kuivatatakse filterpaberiga. pH suurus loetakse aparaadi skaalalt pärast seda, kui osuti on paigale jäänud. Selleks kulub keskmiselt 0,5—1 minut.

Aparaadi töö vaheaegadel hoitakse elektroode vees.

PÕHISÖÖTMETE VALMISTAMINE.

Söötmed jagunevad vedel- ja tardsöötmeteks.

Mikroobide selliseid biokeemilisi omadusi nagu süsivesikute kääritamine ja hapete moodustamine on hea jälgida vedelsöötmes. Teisi omadusi uuritakse tardsöötmetes.

Vedelsöötmed

Hüdrolüüsitud piim. Parim sööde piimhappebakteritele on hüdrolüüsitud piim, mis võetakse piima ja piimatoodete analüüsil paljude söötmete aluseks. Hüdrolüüsitud piima valmistamisel keedetakse naturaalset või taastatud piima ja jahutatakse see 45° C-ni.

Pärast söötme reaktsiooni reguleerimist (pH 7,6—7,8) lisatakse 1 liitrile piimale 0,5 g kuiva pankreatiinipulbrit või 2—3 g kõhunääret, mis on lastud mitu korda läbi hakkmasina. Pankreatiinipulber on soovitatav lahustada enne väheses soojas vees.

Mõni minut pärast pankreatiini lisamist valatakse piima 5 ml kloroformi. Kolb suletakse korgiga ja paigutatakse 18—24 tunniks termostaati, kus temperatuur on 40° C. Esimeste tundide jooksul tuleb piima mitu korda segada (loksutamisel eemaldatakse kork, et kloroformiaurud väljuksid).

18—24 tunni pärast võetakse kolb termostaadist välja, hüdrolüsaat filtreeritakse läbi paberfiltri, lahjendatakse 2—3 korda veega ja steriliseeritakse pärast neutraliseerimist (pH 7,0—7,1) 1 at juures 15 minutit.

Piimapeptoonvadak. Kohupiima või juustu valmistamisel saadud vadaku pH reguleeritakse 7,0—7,2-le. Valkude täielikumaks väljasadenemiseks lisatakse kaltsiumkloriidi (5 ml 40%-list lahust 1 liitri kohta). Vadakut keedetakse 10 minutit, siis filtreeritakse, lisatakse 1% peptooni ja kuumutatakse 1 at juures 10 min., filtreeritakse uuesti ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Piimapeptoonvadakut võib saada lõssist, mida kuumutatakse 60—65° C-ni ja millele lisatakse nõrka (5%) soolhappelahust, kuni tekib helbeline valgusade. Vadak kurnatakse läbi vati, pH reguleeritakse 7,0—7,2-le ja lisatakse 1% peptooni. Steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit, filtreeritakse ja steriliseeritakse uuesti.

Hüdrolüüsitud kaseiin. 100 g happekaseiini segatakse 4 g soodaga ja peenestatakse hoolikalt. Aeg-ajalt valatakse juurde 50—60° C-ni kuumutatud vett. Kui on tekkinud ühtlane mass, lisatakse segule vett 1 liitrini ja kuumutatakse keemiseni.

Edasi jahutatakse kaseiin 45° C-ni, pH reguleeritakse 7,6—7,8-le, lisatakse 1 g pankreatiinipulbrit ja 5 ml kloroformi ning pannakse kolmeks päevaks 40° C juures termostaati. Selle aja möödudes hüdrolüsaat filtreeritakse, lahjendatakse 4—5 korda

veega, pH viiakse 7,0—7,2-le ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

See sööde on aluseks kõikide söötmete valmistamisel, mis ei sisalda laktoosi (süsivesikuterea puljong).

Lihapeptoonpuljong. Lihapeptoonpuljong valmistatakse vasika- või loomalihast. Liha eraldatakse kontidest, rasvast ja kõõlustest, lastakse läbi hakkmasina, kaalutakse ja valatakse üle kahekordse koguse 60° C-ni kuumutatud veega. Seejärel lisatakse 1% peptooni ja 0,5% keedusoola (% on arvestatud vee kogusest) ning jäetakse üheks tunniks 50° C juures seisma.

Pärast seda keedetakse söödet 30 minutit. Kokkutõmbunud valk filtreeritakse esmalt läbi hõreda riide ja seejärel läbi paberfiltri. Filtraat mõõdetakse ja esialgsest kogusest puudujääva osa võrra lisatakse vett. pH reguleeritakse 7,0—7,2-le. Et puljong on tavaliselt happelise reaktsiooniga, tuleb ta leelistada küllastatud soodalahusega[1].

Et puljong tuleks selge, lisatakse munavalget (1 munavalge 1 liitri söötme kohta), mis enne klopitakse lahti kahekordse veekogusega. Munavalgega puljongit kuumutatakse voolavas aurus 30 minutit. Seejuures kalgendub valk ja haarab endaga vedelikus hõljuva hägu. Kuum puljong filtreeritakse läbi kahekordse märja paberfiltri. Saadud selge puljong valatakse kolbidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 15 minutit.

Täispiim ja lõss. Värske täispiim või lõss (happesusega 16—18° Th) villitakse katseklaasidesse (1/3 mahust) ja kolbidesse ning steriliseeritakse 1 at juures 10 min.

Virre. Hallitus- ja pärmseente kasvatamiseks kasutatakse humalatega õllevirret, mis takistab bakterite kasvu. Areomeetriga (jaotustega 1000 kuni 2000) määratakse enne suhkrusisaldus. Kõrge suhkrusisalduse korral lahjendatakse virret veega 6—8%-lise suhkrusisalduseni, villitakse katseklaasidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Virre on nõrgalt happelise reaktsiooniga, mis sobib hallitus- ja pärmseentele. Seepärast pH-d ei muudeta.

Linnasevesi. Hallitus- ja pärmseeni kasvatatakse odavamal söötmel — linnaste tõmmisel. Seda valmistatakse järgmiselt: 1 kg linnaseid valatakse üle 10 liitri veega, mille temperatuur on 16—18° C. Segu jäetakse 10—12 tunniks seisma. Siis keedetakse segu 2—3 tundi ja lastakse jahtuda. Jahtunud mass pannakse nõrguma tihedasse linasest riidest kotti ning riputatakse spetsiaalsete konksude külge. Filtraat villitakse kolbidesse ja steriliseeritakse autoklaavis 1,5 at juures 40 minutit.

Enne tarvitamist valatakse selge linnasevesi ettevaatlikult sademelt, selitatakse ja lisatakse 1,5—2,0% superfosfaadi vesitõmmist ja vadakut (1 l vadakut, mille happesus on 100—140° Th, 3 l tõmmise kohta).

---

[1] Sooda asemel võib söödet leelistada 10%-lise NaOH lahusega.

Segu kuumutatakse 60° C-ni ja neutraliseeritakse 10%-lise soodalahusega, et saada vajalikku happesust (40—42° Th). Segu kuumutatakse veel 3—4 minutit, hoitakse 10—15 min., filtreeritakse läbi 3—4-kordse marli ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Superfosfaadi vesitõmmise valmistamiseks lisatakse 200 g superfosfaadile 1 liiter vett, segatakse hoolikalt ja jäetakse 5—6 tunniks selgima. Aeg-ajalt segatakse. Selge lahus valatakse sademelt ära.

Linnastest vedelsöötme valmistamise retsept ml:

Linnasevesi	1000
Piimavadak (100—140 °Th)	250
Superfosfaadi vesitõmmis	10
Ammooniumsulfaat (20%-line lahus)	3
Magneesiumsulfaat (20%-line lahus)	5

Tardsöötmed

Söötme tahkestamiseks lisatakse vedelsöötmele agar-agarit või želatiini.

Agar-agar on välimuselt pikkadest peentest ribadest koosnev hallikaskollane aine (mõnikord on müügil ka plaatidena). Keevas vees agar-agar sulab, moodustades läbipaistva liimja massi, külmas vees aga paisub ja muutub pehmeks. Agar-agar on kolloidne aine, mida mikroobid ei omasta (üksikud mikroobiliigid, mida ei esine piimas ja piimatoodetes, lagundavad agar-agarit)[1].

Tardsöötme valmistamiseks lisatakse puljongile 1,5—2,0% agar-agarit. Agar-agar on tundlik happelisele reaktsioonile, andes nõrga geeli. Et agar-agar on ise neutraalne, ei muuda tema lisamine söötme reaktsiooni.

Kui sööde on happelise reaktsiooniga, tuleb agar-agarit lisada rohkem, et sööde tuleks küllalt tahke. Näiteks pH 5,5—6,0 korral suurendatakse agar-agari kogust kuni 2% ja pH 4,0 korral isegi kuni 3 protsenti. Siis on sööde vajaliku tihedusega.

Agar-agari iseloomustavaks omaduseks on sulamistäpi (90° C juures) ja tardumistäpi (40° C juures) vaheline suur erinevus. Kõrge sulamistemperatuur võimaldab kasvatada mikroobe mitmesugustel temperatuuridel, mis on agarsöötmete suureks eeliseks. Puuduseks tuleb lugeda söötme nõrka hägusust ja agar-agari omadust eraldada pärast tardumist kondensatsioonivett. Seepärast tuleb agarsöötmetega töötamisel kuivatada söödet enne külvi või pöörata tardunud agariga tassid põhjaga üles (kondensatsioonivee tilgad, mis tekivad tassi kaanel, ei lange agari pinnale).

[1] Mõningad agar-agari sordid sisaldavad aineid, mis takistavad mikroobide arenemist. Nende eemaldamiseks tuleb agar-agarit enne tarvitamist pesta vees.

Tabel 8

Želatiinisisaldus %	Söötme sulamis-temperatuur °C	Hangumistäpp °C
5	22	Ligikaudu 20
10	24	
15	25	
25	26,5	

Želatiin on nõrgalt happelise reaktsiooniga lämmastikuline aine. Mikroobid omastavad želatiini kergesti. See omadus näitab ühtlasi, kuidas mikroobid mõjuvad valkudele. Kui mikroob veeldab želatiini, siis lagundab ta ka piimavalke.

Želatiin, mida saadakse kõhredest ja kontidest, on müügil läbipaistvate elastsete lehtedena.

Söötme sulamistemperatuur sõltub lisatud želatiini protsentuaalsest kogusest (tabel 8).

Tavaliselt lisatakse söötmele 10% želatiini. Kuumadel aastaaegadel suurendatakse seda kogust 15%-ni või tehakse želatiini ja agar-agari segusööde (1 liitri puljongi kohta võetakse 50 g želatiini ja 7,5 g agar-agarit).

Söötmed valmistatakse parematest želatiinisortidest (toiduželatiin või želatiin, mida kasutatakse fotoplaatide valmistamisel).

Želatiiniga söötmete eeliseks on nende läbipaistvus ja kondensatsioonivee puudumine. Puuduseks on madal sulamistäpp, mis piirab nende kasutamist mikroobide kasvatamiseks kõige sobivamatel temperatuuridel.

Želatiiniga söötmete reaktsiooni tuleb reguleerida väga täpselt, sest sellest sõltub söötme tihedus.

Hüdrolüüsitud piima agar, piimapeptoon-vadaku agar ja lihapeptoonpuljongi agar. Piima hüdrolüsaadile, vadakule või puljongile lisatakse 1,5% peenestatud agar-agarit. Segu sulatatakse 1 at juures 15 minutit, filtreeritakse läbi vati (soojalt autoklaavis), villitakse katseklaasidesse või kolbidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Virdeagar[1]. Et virre on happelise reaktsiooniga, siis on söötme tahkestamiseks vaja lisatavat agar-agari kogust suurendada 2%-ni. Agar-agar sulatatakse 1 at juures 15 minuti vältel, filtreeritakse, villitakse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Kriidiga agar (piimhappebakterite jaoks). Hüdrolüüsitud piima agarile või piimavadaku agarile lisatakse enne steriliseerimist 2—3% kriiti.

[1] Hallitus- ja pärmseente määramiseks võib samuti kasutada hüdrolüüsitud piima agarit, kuid pH peab olema 4,5—5,0.

VALIKSÖÖTMETE VALMISTAMINE

Söötmed mikroobide proteolüütiliste omaduste määramiseks

Hüdrolüüsitud piimaga želatiin. Hüdrolüüsitud piimale[1] lisatakse 10% peenestatud želatiini, lastakse paisuda ja kuumutatakse kuni 50° C-ni. Kuumutamise ajal tuleb piima segada. Pärast želatiini täielikku sulamist reguleeritakse söötme pH 7,0—7,2-le küllastatud soodalahusega, filtreeritakse, valatakse katseklaasidesse ja steriliseeritakse 0,75 at juures 20 min. vältel.

Želatiini ei ole soovitatav kuumutada korduvalt ja pikaajaliselt, sest see mõjutab želatiini tardumisomadusi. Seepärast tuleb želatiinsöötmega katseklaasid pärast steriliseerimist kiiresti jahutada külmas vees.

Kui sööde ei tule küllalt selge, lisatakse pärast želatiini sulatamist ja söötme vajaliku reaktsiooni reguleerimist munavalget (1 munavalge 1 liitri söötme kohta). Munavalge klopitakse lahti kahekordse veekogusega ja valatakse želatiini hulka (40—50° C). Seejärel keedetakse söödet 10 minutit, filtreeritakse, villitakse ja steriliseeritakse. Nii munavalge lisamise kui ka keetmise ajal segatakse söödet vahetpidamata.

Piimaagar. Valmistatakse ette 2%-line veeagar ja lõss, mis steriliseeritakse. Enne tarvitamist lisatakse sulatatud agarile 20% steriilset lõssi, loksutatakse hoolikalt segi ja valatakse Petri tassi.

Söötmed süsivesikute kääritamise ja redutseerimise võime[2] määramiseks

Süsivesikute puljong. Võime kääritada süsivesikuid on eri mikroorganismidel erisugune. Näiteks kääritavad ühed mikroobid glükoosi, kuid ei käärita laktoosi, teised kääritavad aga mõlemaid. Peale selle võib tekkida ühe ja sama aine, näiteks laktoosi kääritamisel kahe eri mikroobiliigi poolt ühel juhul hape, teisel juhul aga hape ja gaas.

Mikroobide ühe või teise süsivesiku kääritamisvõime määramisel võib põhisöötmena kasutada 1%-list peptoonilahust või hüdrolüüsitud kaseiini. Söötmele lisatakse 0,25% uuritavat süsivesikut ja mõned tilgad Andrade indikaatorit. Seejärel villitakse sööde käärtorukestega katseklaasidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

---

[1] Hüdrolüüsitud piima asemel võib kasutada hüdrolüüsitud kaseiini, piimapeptoonvadakut ja liha peptoonpuljongit.

[2] Mikroobide redutseerivaks omaduseks nimetatakse nende võimet valastada teatud orgaanilisi värve (metüleensinine, lakmus, indigo). Moodustunud värvusetud ühendid saavad oma värvuse tagasi tugeval kokkupuutel õhuga.

Lakmuspiim. Värskele keemiseni kuumutatud lõssile lisatakse lakmustinktuuri, kuni värvus muutub sirelililaks (lisatav lakmustinktuuri hulk sõltub kasutatava lakmuse värvustavatest omadustest). Värvi tuleb lisada intensiivse lilla tooni tekkimiseni, sest steriliseerimisel osa värvi laguneb.

Lakmuspiima on soovitatav steriliseerida voolavas aurus (3 päeva á 30 min.), kuid võib ka steriliseerida rõhu all (1 at juures 10 min.).

Sööde mikroobide lipolüütilise omaduse määramiseks

1 liitrile veele lisatakse 0,5% peptooni ja 0,3% pärmiautolüsaati. Söötme pH reguleeritakse 7,2—7,4-le ning lisatakse 1,5% agar-agarit. Agar-agar sulatatakse, sööde filtreeritakse ja lisatakse 1% kuuma võirasva.

Pärast rasva hoolikat emulgeerimist sööde villitakse ja steriliseeritakse 1 at juures 15 minutit.

Söötmed kolirühma bakterite määramiseks

Buliri sööde. 1 liitrile lihapeptoonpuljongile[1] lisatakse 10 g manniiti, mis lahustatakse tulel. Sööde neutraliseeritakse. Seejärel värvitakse sööde küllastatud neutraalpunase vesilahusega, kuni ta muutub kirsipunaseks, filtreeritakse, villitakse käärtorukestega katseklaasidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Kessleri sööde (modifitseeritud)[2] 1 liitrile veele lisatakse 10 g peptooni ja 50 ml värsket sappi. Segu kuumutatakse peptooni lahustumiseni, filtreeritakse läbi vati, lahustatakse 2,5 g laktoosi ja täiendatakse kuni 1 liitrini. Söötme pH reguleeritakse 7,4—7,6-le. Seejärel lisatakse 2 ml 1%-list gentsiaanvioleti vesilahust, villitakse käärtorukestega katseklaasidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 15 minutit.

Endo sööde[3]. Laktoosilahus (10 g laktoosi 50 ml vees) ja 25 ml 10%-list naatriumsulfiti vesilahust steriliseeritakse eraldi voolavas aurus 1 tund. Ühele liitrile 2%-lisele lihapeptoonagarile (pH 7,6—7,8) lisatakse laktoosilahus. Saadakse laktoosagar.

5 ml aluselise fuksiini küllastatud piirituslahusest ja värskelt valmistatud naatriumsulfiti lahusest valmistatakse kahvaturoosa läbipaistev segu. Enne tarvitamist lisatakse see segu laktoosagarile (vältida vahutamist!) ja valatakse steriilsetesse Petri tassi-

[1] Lihapeptoonpuljongi võib asendada hüdrolüüsitud kaseiiniga.

[2] Kessleri söötmes võib vee, peptooni ja laktoosi asemel kasutada hüdrolüüsitud piima.

[3] Lihapeptoonagari ja laktoosi asemel võib kasutada hüdrolüüsitud piima agarit.

desse. Tardunud söödet kuivatatakse termostaadis (söötme värvus peab olema kahvaturoosa[1]). Endo söödet võib kasutada kuivsöötmena.

Levine'i sööde. 100 ml lihapeptoonagarile (pH 7,2) lisatakse 0,2 g dikaaliumvesinikfosfaati, 5 ml 20%-list laktoosilahust, 2 ml 2%-list eosiin-B vesilahust ja 2 ml 0,5%-list metüleensinise vesilahust. Segu steriliseeritakse 0,5 at juures 15 minutit.

Peptoonvesi. 1 liitrile destilleeritud veele lisatakse 10 g peptooni, 5 g keedusoola ja 0,1 g kaaliumnitraati. Segu kuumutatakse, filtreeritakse läbi paberifiltri, söötme pH reguleeritakse 7,6—7,8-le, villitakse katseklaasidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Hissi sööde (kirju rida). 500 ml peptoonveele lisatakse 5—7 ml 1%-list broomtümoolsinise piirituslahust. pH reguleeritakse 7,2—7,4-le. Söödet keedetakse, filtreeritakse ja täiendatakse esialgse mahuni, seejärel villitakse 100-ml kolbidesse ja lisatakse 1% süsivesikut (glükoos, laktoos, sahharoos, maltoos või manniit). Pärast süsivesiku lahustamist villitakse sööde käärtorukestega katseklaasidesse ja steriliseeritakse 0,5 at juures 15 minutit.

Simmonsi sööde. Koseri lahusele (1,5 g naatriumammooniumfosfaati, 1 g kaaliumdivesinikfosfaati, 0,2 g magneesiumsulfaati, 2,5—3 g naatriumtsitraati ja 1 liiter destilleeritud vett) lisatakse 1,5% agar-agarit, pH reguleeritakse 7,2—7,4-le ja steriliseeritakse 1 at juures 15 minutit. Tardumata söötmele lisatakse 10 ml 0,5%-list broomtümoolsinise piirituslahust, villitakse steriilsetesse katseklaasidesse ja pannakse kaldasendisse tarduma.

Söötme võib valmistada ka vedelana, s. t. ilma agar-agarita.

Söötmed aroomibakterite eraldamiseks

Rikastussööde. Hüdrolüüsitud piimale lisatakse 5% pärmiautolüsaati[2] ja 1% naatriumtsitraati. pH reguleeritakse 6,0-le, segu filtreeritakse, villitakse käärtorukestega katseklaasidesse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

---

[1] Et saada kahvaturoosa värvusega söödet, võib naatriumsulfiti lahust kasutada rohkem või vähem sõltuvalt selle ja fuksiini kvaliteedist. Fuksiini ja naatriumsulfiti suhte õigsust Endo söötmes võib kontrollida järgmiselt: 2-cm diameetriga filterpaberist ring märjastatakse 1,5%-lise formaliinilahusega ja pannakse söötme pinnale. Kvaliteetse söötme korral tekib ringi ümber metalliläikeline punane rõngas.

[2] Pärmiautolüsaat valmistatakse järgmiselt: 1 kg presspärmi segatakse niisama suure veehulgaga ühtlaseks massiks ja jäetakse kolmeks päevaks 50—55°C juures termostaati. Seejärel autoklaavitakse massi 0,8 at juures 15 minutit ja filtreeritakse mitu korda. Sadet pestakse veega sellise arvestusega, et filtraati saaks 4 liitrit. Filtraat neutraliseeritakse pH 6,8-ni, villitakse väikeste hulkadena ja steriliseeritakse autoklaavis 1 at juures 10 minutit.

K a l t s i u m t s i t r a a t a g a r. Hüdrolüüsitud piimale lisatakse 1% kaltsiumtsitraati ja 1% sahharoosi. Pärast reaktsiooni reguleerimist (pH 7,0—7,2) lisatakse 1,5% agar-agarit ja sulatatakse 1 at juures 10 minutit. Seejärel filtreeritakse, villitakse ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit.

Söötmed *Str. lactis*'e ja *Str. cremoris*'e diferentseerimiseks

V e d e l s ö ö d e. 1 liitrile destilleeritud veele lisatakse 5 g peptooni, 2 g dikaaliumvesinikfosfaati, 0,5 g glükoosi, 3 g dl-arginiini ja 50 ml pärmiautolüsaati. Lisandid lahustatakse kuumutamisel (pH 6,8—7,0).

T a r d s ö ö t m e d. I. 450 ml destilleeritud veele lisatakse 50 ml pärmiautolüsaati, 5 g peptooni, 2 g dl-arginiini, 2 g kaaliumdivesinikfosfaati ja 0,5 g glükoosi. Söödet kuumutatakse lahustumise kiirendamiseks. pH reguleeritakse 6-le. Sööde steriliseeritakse filtreerimisel Seitzi või Büchneri lehtris läbi peenepoorilise filtreeriva plaadi (papi), mis on ühendatud Bunseni kolviga. Filtreeritakse vaakumis, mis tekitatakse veejoa- või õlipumbaga.

Söödet ei saa steriliseerida autoklaavis, sest siis reaktsioon muutub, mistõttu tulemused pole täpsed.

II. 15 g agar-agarit lahustatakse kuumutamisel 500 ml destilleeritud vees ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit. Vedelsööde ja agar-agari vesilahus segatakse kokku pärast steriliseerimist. Enne tarvitamist lisatakse söötmele 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi vesilahust (50 mg trifenüültetrasoolkloriidi lahustatakse 10 ml keedetud ja jahutatud destilleeritud vees). Sööde valatakse Petri tassi ja pärast agari tardumist kuivatatakse termostaadis 40—45° C juures 20—30 minutit.

Kuivsöötmed

Kuivsöötmed on bakterioloogilises töös väga olulised. Neid saab kiiresti valmistada ja nad on hõlpsasti transporditavad.

Söötmete kuivatamiseks on kõige sobivamad pihustuskuivatid. Enne kuivatamist tuleb vedelsöödet kondenseerida (vaakumaparaatides).

Kuivatatud puljong on helekollane, ligikaudu 10%-lise niiskusesisaldusega hügroskoopne pulber. Agarsöötmete valmistamiseks segatakse kuiv toitepuljong mehaaniliselt kuiva pulbrilise agar-agariga: 5% agar-agarit sulatatakse vees 1 at juures 30 minutit, filtreeritakse läbi vatt-marlifiltri ja kuivatatakse pihustuskuivatis.

Kuivsöötmeid hoitakse tihedalt suletud nõudes, kus nad ei niisku ning säilivad pikka aega.

Enne kasutamist lahustatakse 5% kuivsöödet destilleeritud vees ja steriliseeritakse 1 at juures 15—20 minutit.

KASUTATAVAMATE VÄRVIDE JA INDIKAATORITE VALMISTAMINE

Värvid

Et enamiku mikroobide rakud on värvusetud, on nende ehitust võrdlemisi raske uurida. Üksnes värvitud preparaat võib anda selge pildi.

Mikroobide rakke värvitakse aniliin- (kivisöest saadud) värvidega, mis on bensooli derivaadid. Värvi ühend raku protoplasmaga on püsiv ega kao veega uhtmisel.

Sõltuvalt värvi alusest (happeline või aluseline) jaotatakse värvid neutraalseteks, aluselisteks ja happelisteks. Soovitatav on kasutada aluselisi värve, millest enam tarvitatakse järgmisi:

punaseid — fuksiin, neutraalpunane, safraniin, püroniin;
violetseid — kristallviolett, metüülviolett, gentsiaanviolett, dalia, tioniin;
siniseid — metüleensinine, veesinine;
rohelisi — malahhiitroheline, briljantroheline;
pruune — krüsoidiin, vesuviin (või bismarkpruun).

Neutraalsete värvide hulka kuuluvad neutraalpunane, happeliste hulka happeline fuksiin, eosiin, nigrosiin.

On olemas 3 tüüpi värvilahuseid: piiritus- (küllastatud), vesipiiritus- ja vesilahused.

Värvide küllastatud piirituslahused on püsivad. Nende valmistamisel lisatakse värvi sellises koguses, et põhja jääks sade. Piirituslahuseid värvimiseks ei kasutata. Neist valmistatakse lahjendatud vesipiirituslahused. Värvide vesipiirituslahused on vähem püsivad, kuid neid võib säilitada kuu aega. Vesilahused valmistatakse 1—2%-liste värvilahustena.

Metüleensinine valmistatakse preparaatide värvimiseks ja reduktaasproovi jaoks.

Värv preparaatide jaoks. 30 g kuiva metüleensinist segatakse 300 ml 96%-lise etüülpiiritusega ja jäetakse 24 tunniks 30° C juures termostaati. 100 ml kaaliumhüdroksiidi[1] vesilahusele (0,01%) lisatakse 30 ml valmistatud segu.

Lahus reduktaasproovide jaoks. Piima analüüsiks lisatakse 195 ml destilleeritud veele 5 ml metüleensinise küllastatud piirituslahust. Koore analüüsiks võetakse 15 ml metüleensinise küllastatud piirituslahust ja 185 ml destilleeritud vett.

Aluseline fuksiin. Küllastatud piirituslahuse valmistamiseks lahustatakse 10 g fuksiini 100 ml 96%-lises piirituses. Lahus jäetakse 18—20 tunniks seisma ja filtreeritakse.

Ziehli karboolfuksiin. 1 g aluselist fuksiini ja 5 g kristalset karboolhapet hõõrutakse hoolikalt uhmris mõne tilga glütseriiniga. Aeg-ajalt lisatakse 10 ml 96%-list piiritust. Saadud massile valatakse pidevalt segades 10 ml destilleeritud vett. Ööpäeva

[1] Laboratooriumides kasutatakse sageli leeliseta lahuseid.

möödudes lahus filtreeritakse ja pannakse lihvitud klaaskorgiga anumasse. Värv on püsiv.

Pfeifferi fuksiin. Ühele osale Ziehli fuksiinile lisatakse 9 osa destilleeritud vett. Lahus värvib intensiivselt nii rakud kui ka fooni. Et hoidmisel pole fuksiin püsiv, valmistatakse seda vastavalt vajadusele.

Grami värv. 1 g gentsiaanvioletti lahustatakse 10 ml piirituses. Saadud lahus lisatakse 100 ml 5%-lisele puhastatud karbolhappe lahusele. Et preparaadil ei tekiks värvi sadet, lisatakse lahusele veidi piiritust, kuni helkiv rohekas kile värvi pinnalt kaob.

Lugoli lahus. 2 g kaaliumjodiidi lahustatakse 5 ml destilleeritud vees. Lisatakse 1 g joodi. Pärast lahustumist (soovitatav segada) valatakse juurde 300 ml destilleeritud vett.

Värvipaberid (Sinjovi järgi). Õhukesed filterpaberi või ajalehepaberi lehed, mis on paigutatud klaasile, valatakse üle ükskõik millise värvi 1—2%-lise piirituslahusega. Leht kuivatatakse toatemperatuuril ja lõigatakse 2×4 cm suurusteks ribadeks. Paberid säilivad kaua muutuseta (hoida klaaskorgiga anumas).

Paber pannakse preparaadile ja niisutatakse veega (paberi alla ei tohi jääda õhumullikesi). Preparaat jäetakse 1—2 minutiks seisma. Siis võetakse paber pintsettidega ära ja pestakse.

Metüülpunase lahus. 0,1 g metüülpunast lahustatakse 300 ml etüülpiirituses ja lisatakse destilleeritud vett kuni 500 ml-ni.

Ehrlichi reaktiiv. 1 g paradimetüülamidobensaldehüüdi lahustatakse 90 ml 96%-lises etüülpiirituses. Lahusele lisatakse 20 ml soolhapet.

Indikaatorid

Fenoolftaleiin. 1 g fenoolftaleiini lahustatakse 60 ml 90%-lises piirituses. Seejärel lisatakse kuni 100 ml vett.

Lakmusekstrakt. Lakmus pulbristatakse uhmris ja valatakse üle 96%-lise piiritusega kümnekordses koguses. Segu hoitakse 3 päeva 37° C juures. Iga päev piiritust vahetatakse. Nimetatud aja möödudes valatakse piiritus pealt ära, sade kuivatatakse termostaadis ja lisatakse kümnekordne kogus destilleeritud vett. Hoitakse 3 päeva toatemperatuuril (20° C), filtreeritakse ja steriliseeritakse 3 päeva jooksvas aurus, iga kord 15—20 minutit.

Broomtümoolsinise indikaator. Kasutatakse indikaatori kahte modifikatsiooni: 1) 1,6 g broomtümoolsinise pulbrit lahustatakse 100 ml 96%-lises piirituses; 2) valmistatakse küllastatud vesilahus.

Andrade indikaator. 1 g happelist fuksiini viiakse 200 ml destilleeritud vette ja loksutatakse lahustumiseni. Seejärel lisatakse 32 ml 1 n NaOH lahust. 2—4 tunni pärast on indikaator valmis.

Indikaatori värvus sõltub pH-st:

pH	7,4 ja kõrgem	7,0—7,2	7,0 ja madalam
Värvus	oranž	kahvaturoosa	punane

III PEATÜKK

MIKROOBIDE OMADUSTE UURIMINE

MIKROSKOOPILISTE PREPARAATIDE VALMISTAMINE

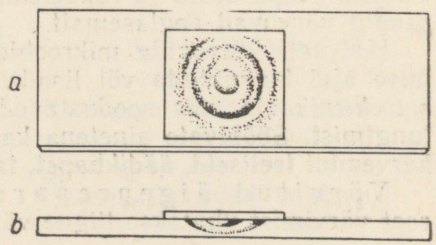
Värvimata preparaadid

Värvimata preparaate valmistatakse sel juhul, kui mikroobe vaadeldakse elusalt ja kui on vaja määrata nende liikuvust, paljunemisviisi jms. Preparaadid valmistatakse ühel järgmistest viisidest.

L a i a l i s u r u t u d t i l k. Puhtale esemeklaasile kantakse tilk vett[1] või füsioloogilist lahust (0,85%-line NaCl lahus). Tilka viiakse nõelaga väike kogus uuritava mikroobi kultuuri ja segatakse hoolikalt. Kui uuritakse vedelkultuuri, siis kantakse see vahetult esemeklaasile (veetilgata). Seejärel kaetakse preparaat katteklaasiga (tilk surutakse laiali).

Meetodi puuduseks on vedeliku kiire kuivamine preparaadis, mille tõttu mikroobid kaotavad liikumisvõime.

[1] Tilk peab olema keskmise suurusega ning täitma esemeklaasi ja katteklaasi vahelise ruumi. Kui tilk on liiga suur, võib vedelik valguda katteklaasile. Liiga väikese tilga korral jaguneb preparaat väikesteks osadeks, mis samuti raskendab mikroskopeerimist.



Joonis 32. Rippuv tilk:
a — vaade pealt; *b* — vaade kõrvalt.

Ripptilga meetodi korral kasutatakse spetsiaalseid lihvitud süvendiga esemeklaase, mille ääred määritakse vaseliiniga.

Preparaat tehakse katteklaasi keskele. Seejärel pööratakse esemeklaas süvendiga allapoole ja pannakse vastu katteklaasi nii, et tilk jääb süvendi keskele (tilk ei tohi puudutada põhja). Siis pööratakse preparaat katteklaasiga ülespoole. Vaseliin kleebib katteklaasi tihedalt esemeklaasi külge, mistõttu tilk ei kuiva, vaid tekib niiske kamber (joonis 32).

Värvitud preparaadid

Raku ehituse detailide uurimiseks, eriti väikeste mikroobide korral, või kultuuri puhtuse kontrollimiseks preparaat värvitakse.

Lihtvärvimine. Mikroobide värvimine koosneb järgmistest operatsioonidest.

Äigepreparaadi valmistamine. Puhtale, rasvast hästi puhastatud klaasile kantakse tilk vett ja sellesse väike hulk uuritavat materjali (materjal võetakse kuumutatud külvinõelaga), mis hõõrutakse klaasile ühtlaselt laiali 2—3 cm^2 ulatuses. Äigepreparaat tuleb teha võimalikult õhuke, sest siis on üksikuid rakke kergem uurida.

Äigepreparaadi valmistamisel puljongikultuurist on soovitatav hõõruda materjal laiali esemeklaasi kergelt kuumutades, sest siis kleepub materjal paremini klaasi külge. Tulemused on head, kui klaasile viiakse tilk lõssi, millega kultuur hoolikalt segatakse.

Kuivatamine. Pärast kultuuri klaasile kandmist äigepreparaat kuivatatakse. Selleks kuumutatakse teda kergelt leegil (esemeklaasi tuleb hoida materjaliga ülespoole).

Fikseerimine. Preparaat (materjaliga ülal) tõmmatakse mõned korrad aeglaselt läbi põletileegi. Fikseerimine lõpeb momendil, mil klaasi hoidev käsi tunneb kerget põletust. Kuumutamisel bakterite rakud surmatakse (raku protoplasma kalgenemise tagajärjel) ja nad kleepuvad tugevalt esemeklaasi külge, nii et pole karta nende ärauhtumist edaspidise töö käigus.

Peale selle tagab fikseerimine äigepreparaadi parema värvumise, sest surnud rakud võtavad värvi paremini külge.

Värvimine. Värvimiseks kasutatakse ühte värvi. Fikseeritud materjal valatakse värviga üle ja hoitakse niiviisi 0,5—1 min. Paksud preparaadid ja rakuelemente (kudesid) sisaldavad preparaadid värvuvad aeglasemalt.

Halvasti värvuvate mikroobide korral võib preparaati värvimise ajal kuumutada või lisada värvilahustele sööbivaid aineid, s. t. kemikaale, mis soodustavad värvide täielikumat preparaati tungimist. Sööbivate ainetena kasutatakse karbolhapet, aniliinõli, harvemini leeliseid, äädikhapet, tanniini, broomi, joodi, sublimaati.

Värvitud äigepreparaatide kuivatamine. Pärast värvimist uhutakse liigne värv veega ära ja preparaat kuiva-

tatakse filterpaberite vahel, mis imavad endasse suurema osa niiskusest. Seejärel kuivatatakse preparaat lõplikult põletileegil.

Värvimine Grami meetodil. Trifenüülmetüleenrea värvid (näiteks gentsiaanviolett) ja jood annavad mõningate bakterite rakkude protoplasmaga piirituses lahustumatu ühendi. Teistel mikroobidel see omadus puudub, ja kui neid piiritusega töödelda, muutuvad nad värvusetuks. Sel alusel jaotatakse mikroobe graampositiivseteks ja graamnegatiivseteks.

G. P. Kalina meetodil toimub värvimine järgmiselt. Puhtale, läbi leegi tõmmatud (flambeeritud) ja jahutatud esemeklaasile kantakse külviaasaga väike tilk destilleeritud vett ning pisut agarkultuuri, ilma et neid segataks. Seejärel lisatakse tilk 0,5%-list kristallvioletti või briljantrohelise piirituslahust.

Segu aetakse umbes 1 cm^2 suurusele pinnale ühtlaselt laiali, kuivatatakse toatemperatuuril ja fikseeritakse (esemeklaas tõmmatakse aeglaselt läbi põletileegi).

Värvi piirituslahust on soovitatav valmistada vähe korraga (5 ml) ja hoida seda kummikorgiga katseklaasis.

Ühele esemeklaasile võib teha 8—10 preparaati, kuid tingimata tuleb vahapliiatsiga tõmmata eraldusjooned esemeklaasi paremale küljele.

Pärast preparaadi jahtumist valatakse liiaga peale reaktiivi, nii et see kataks kogu klaasi pinna.

Reaktiivi valmistamiseks võetakse 96 ml 0,5%-list kaaliumjodiidi piirituslahust, 2 ml 5%-list aluselise fuksiini piirituslahust ja 2 ml 5%-list joodi piirituslahust.

Et kaaliumjodiid lahustub piirituses aeglaselt, tuleb protsessi kiirendamiseks segu soojendada veevannil keemiseni. Soojendamise ajal pidevalt segada. Reaktiivi hoitakse lihvitud klaas- või kummikorgiga kollasest klaasist pudelis.

Värvimine kestab 1—1,5 min. Seejärel pestakse preparaati veejoas, mis suunatakse vertikaalasendis klaasile nurga all. Värvitud preparaati võib kuivatada kas filterpaberiga (preparaadiga pool all), toatemperatuuril õhus, termostaadis või põletileegil.

Algajatel mikrobioloogidel on soovitatav Grami järgi värvimisel teha uuritavate mikroobide preparaatidega paralleelselt veel 2 preparaati teadaolevatest graamnegatiivsetest ja graampositiivsetest mikroobidest (näit. kolibakterid ja mikrokokid). See võimaldab võrrelda uuritava kultuuri värvust juba tuntud laboratooriumikultuuridega.

Graampositiivsed mikroobid	Graamnegatiivsed mikroobid
Peaaegu kõik liigid kerakujuliste sugukonnast *(Coccaceae)*	Kolibakterid, *Bacterium vulgare*
Peaaegu kõik eostega vormid	
Pärmid	Fluorestseeruvad bakterid
Kõik piimhappebakterid	

Värvimine Sinjovi meetodil. Fikseeritud preparaadile kantakse 2—3 tilka vett, pannakse peale filterpaberi riba, mis on immutatud kristallvioleti lahusega[1], ja jäetakse 2 minutiks seisma.

Paber eemaldatakse pintsettidega ja esemeklaasile valatakse Lugoli lahust või pannakse preparaat üheks minutiks lahusesse. Seejärel töödeldakse preparaati 96%-lise piiritusega või atsetooniga ja värvitakse täiendavalt safraniini vesilahusega.

MIKROSKOPEERIMINE

Pärast preparaadi valmistamist asutakse mikroskopeerima. Põhieeskirjad, mida tuleb mikroskopeerimisel järgida, on toodud allpool.

Mikroobide kolooniate vaatlemine. Mikroskopeerimist tuleb alustada suurematest objektidest — mikroobide kolooniatest. Neid vaadeldakse mikroskoobis nõrga suurendusega (objektiiv 8, okulaar 10). Abbe kondensor seejuures eemaldatakse või lükatakse kõrvale.

Esmalt tuleb reguleerida valgustust. Selleks määratakse kõigepealt kõrgus, millel peab asetsema objektiiv. Kolooniate vaatlemisel peab objektiiv olema ligikaudu 2—3 cm kaugusel aluslauast. Objektiivi nimetatud kõrgusele viimiseks keeratakse makromeetrilist kruvi ning vaadeldakse eset küljelt. Seejärel vaadatakse okulaari ning liigutatakse peeglit seni, kuni vaateväli muutub kõige heledamalt valgustatuks.

Enne vaatlemist tehakse pliiatsiga Petri tassi põhjale koloonia ümber ring. Seejärel eemaldatakse tassilt kaas ning põhi pannakse mikroskoobi aluslauale nii, et uuritav mikroobide koloonia asuks objektiivi vastas (enne tassi aluslauale paigutamist tuleb tuubust veidi tõsta).

Tuubust langetatakse makromeetrilise kruviga nii palju, et objektiiv jääb kolooniast umbes 1 cm kaugusele. Et sellises asendis on objektiiv madalamal, kui on vajalik koloonia selgeks nägemiseks, tuleb edaspidi tuubust tõsta.

Mikroskoobi täpseks reguleerimiseks tõstetakse tuubust makromeetrilise kruviga seni, kuni koloonia piirjooned muutuvad nähtavaks. Täpne nähtavus reguleeritakse makromeetrilise kruvi aeglase pööramisega (mikromeetrilist kruvi kolooniate vaatlemisel ei kasutata). Kui märgitud koloonia ei satu vaatevälja, tuleb tassi liigutada nii, et koloonia oleks rohkem vaatevälja keskel.

Värvimata preparaatide mikroskopeerimine. Värvimata preparaate vaadeldakse suurte suurendustega (objektiiv 6 — 7 — 40 või immersioonsüsteem; 10× okulaar).

Et enamiku mikroobide rakud on värvusetud, siis on nad suure

[1] 1 g värvi 100 ml 96%-lise piirituse kohta ja 5 ml glütseriini.

suurenduse korral halvasti märgatavad. Seepärast tuleb vaatevälja pimendada nii, et foon oleks hallikas, mille põhjal on mikroobid selgelt nähtavad.

Valgustuse seadmiseks langetatakse tuubust. Seda jälgitakse kõrvalt. Objektiiv peab asuma aluslauale lähemal kui kolooniate vaatlemisel. Seejärel seatakse valgustus kõige heledamaks ning kitsendatakse aeglaselt diafragmat (või langetatakse kondensorit), et saada nõrgalt tumendatud vaatevälja.

Valgustuse reguleerimise järel pannakse valmis preparaat aluslauale ja kinnitatakse klemmidega. Enne mikroskopeerimist tuleb tuubust langetada, nii et objektiiv puutuks peaaegu kokku katteklaasiga. Seejärel vaadatakse okulaari ja tõstetakse tuubust. Selleks pööratakse makromeetrilist kruvi väga aeglaselt enda poole. Kui ilmuvad nähtavale rakkude ähmased piirjooned, tuleb üle minna preparaadi täpsemale fokuseerimisele. Seda tehakse mikromeetrilise kruvi abil, mida lubatakse pöörata vaid pool pööret enda suunas või sellele vastassuunas. Kui toru tõsteti liiga kõrgele, tuleb see langetada esialgsesse asendisse, s. t. peaaegu kokkupuuteni katteklaasiga, ning korrata vaatlust.

Tuubust ei soovitata langetada okulaari vaadates, sest siis võib katteklaas katki minna ning rikutud oleks ka objektiiv. Et kergemini leida mikroobe, võib preparaati nihutada tilga piirjoonele (seda on kerge leida), sest sinna kuhjub rohkem mikroobirakke (lähem õhule).

Värvimata mikroobide vaatlemine võimaldab määrata raku kuju, suurust ja liikuvust. Viimase kindlakstegemiseks uuritakse kuni 24 tunni vanuseid kultuure. Seejuures on tähtis eraldada aktiivset liikumist passiivsest. Esimesel juhul, jälgides üksikrakku, võib näha liikumist mitmes suunas, teisel juhul toimub liikumine kas ühes suunas, mis on tingitud veevoolust, või võngub rakk ühe ja sama koha peal (veeosakeste võnkumise tagajärjel).

Pärast ripptilga meetodil valmistatud preparaadi vaatlemist nihutatakse katteklaas paigast, võetakse näpitsatega ära ja pannakse veega anumasse, patogeensete mikroobidega töötamise korral aga sublimaadi- (1:1000), lüsooli- (1—2%) või karbolhappe (2—3%) lahusesse.

Värvitud preparaatide mikroskopeerimine. Värvitud preparaate vaadatakse tugevate kuivobjektiividega (6 — 7 — 40). Preparaadile pannakse tilk vett ja kaetakse katteklaasiga. Kuivsüsteemide korral võib preparaati vaadata veeta ja katteklaasita.

Kõige sagedamini vaadatakse mikroorganismide värvitud rakke õlisüsteemis. Preparaat asetatakse aluslauakesele, kinnitatakse klemmidega ja pannakse peale tilk seedriõli. Seatakse maksimaalne valgustus (täielikult avatud diafragma ning aluslauakeseni tõstetud kondensor). Vaadeldes kõrvalt, pööratakse makromeetrilisest kruvist mikroskoobi tuubus objektiivi kokkupuuteni seedriõlitilgaga. Tuubust langetatakse veel veidi ja tilk surutakse

TRÜ Raamatukogu

laiali (objektiiv puutub esemeklaasiga peaaegu kokku). Selles asendis on tuubus madalamal, kui on vajalik mikroobide rakkude selgeks nägemiseks. Et fokuseerida preparaati, tõstetakse tuubust aeglaselt värvilise fooni ilmumiseni.

Kui foon on leitud, hakatakse tuubust liigutama mikromeetrilise kruviga. Niiviisi muudetakse rakkude piirjooned teravaks.

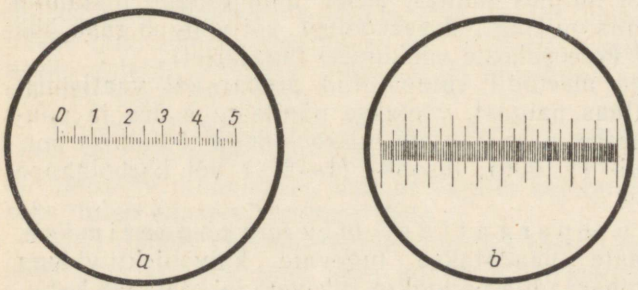
Kui toru tõstetakse liiga kõrgele (selle tunnuseks on vahe õli ja objektiivi vahel), tuleb see langetada esialgsesse asendisse ja teha kõik uuesti.

Nagu nähtub ülaltoodust, tuleb värvimata ja värvitud preparaatide mikroskopeerimisel okulaari vaatamisel tuubust ainult tõsta. Tuubuse langetamisel tuleb selle liikumist jälgida kõrvalt. Tuubust tõsta ja langetada pidevalt okulaari vaadates tohib vaid see, kes on mikroskopeerimise tehnika hästi omandanud.

MIKROOBIDE RAKKUDE MÕÕTMINE

Mikroobide rakke mõõdetakse okulaarmikromeetriga (joonis 33), mis asetatakse (jaotustega pool ülal) tavalise või spetsiaalse mõõteokulaari sisse.

Okulaarmikromeetri skaala ühe jaotuse suurus tuleb määrata eraldi mikroskoobi iga asendi, s. o. kasutatava objektiivi, okulaari ja toru pikkuse kombinatsiooni jaoks. Seda tehakse objektiivmikromeetriga, mis kujutab endast skaalaga klaasplaati, millel 1 cm on jaotatud 100 osaks. Iga objektiivmikromeetri jaotus võrdub 0,01 mm-ga, s. o. 10 μm-ga.



Joonis 33. Mikromeetrid:
a — okulaarmikromeeter; *b* — objektiivmikromeeter.

Objektiivmikromeeter pannakse mikroskoobi aluslauale (kui töötatakse õlisüsteemiga, pannakse klaasile tilk seedriõli). Vaadates okulaari, leitakse objektiivmikromeetri skaala ja viiakse ühte okulaarmikromeetri skaalaga. Seejärel määratakse täpselt, mitmele objektiivmikromeetri jaotusele vastab okulaarmikromeetri

kogu skaala (tavaliselt on seal 50 jaotust), ja arvutatakse välja ühe jaotuse suurus.

Näiteks 50-le okulaarmikromeetri skaala jaotusele vastab viis objektiivmikromeetri jaotust ehk 50 μm. Järelikult on üks okulaarmikromeetri jaotus 1 μm.

MIKROOBIDE OMADUSTE KIRJELDAMINE

Mikroobide omaduste kirjeldamise skeemi, mille järgi neid määratakse, kuuluvad morfoloogilised, kultuuri- ja biokeemilised tunnused.

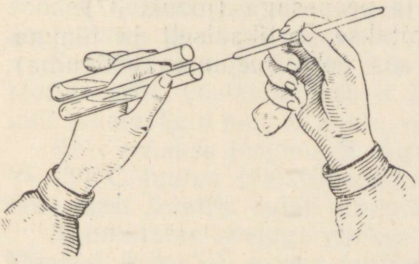
Morfoloogilised tunnused

Mikroskoobiga uuritakse mikroobide järgmisi tunnuseid: raku ja koloonia kuju, liikuvad või mitteliikuvad rakud, värvumine Grami järgi, eoste esinemine või puudumine.

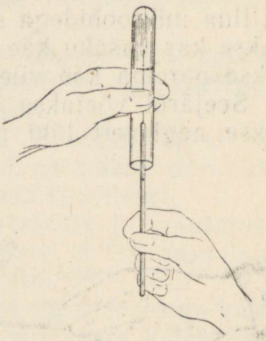
Kultuuritunnused

Kultuuritunnused ilmnevad mikroobide kasvu iseärasustes söötmetel.

Joonkülv. Längagaril tehakse joonkülv siis, kui on vaja uuendada mikroorganismide kollektsioon- või tööKultuure, mida kasvatatakse ja säilitatakse tahketel agarsöötmetel. Längagariga katseklaas pannakse kaldasendis vasaku käe pöidla ja esimese sõrme vahele ning eemaldatakse kork. Läbikuumutatud ning jahutatud külvinõelaga võetakse märgitud kolooniast materjal ja pannakse katseklaasi. Nõel pistetakse sisse peaaegu kondensatsiooniveeni. Agarit kergelt puudutades tõmmatakse sirge või siksakjoon üle kogu pinna (joonis 34).



Joonis 34. Joonkülv.



Joonis 35. Pistekülv.

Pärast külvi võetakse nõel katseklaasist välja ning kuumutatakse leegil koos külvimaterjali jääkidega. Seejärel kuumutatakse katseklaasi äärt. Katseklaas suletakse leegil põletatud korgiga.

Pistekülv. Agarisse tehtud pistekülv võimaldab määrata mikroobide õhuvajadust. Sõltuvalt sellest, kas mikroobid vajavad arenemiseks õhku või mitte, muutub ka nende kasvu iseloom söötmes. Pistekülv želatiinsöötmesse iseloomustab samuti mikroobide ja õhu vahekorda. Želatiinsöötme veeldamise järgi võib jälgida mikroobide proteolüütilisi omadusi.

Kuumutatud ja jahutatud nõelaga võetud külvimaterjal viiakse kiirelt agarsöötmega või želatiinsöötmega katseklaasi. Seejärel torgatakse külvinõel aeglaselt läbi söötme peaaegu katseklaasi põhjani (tuleb jälgida, et nõel torgataks läbi söötmesamba keskelt). Pärast külvi tõmmatakse nõel aeglaselt välja, katseklaasi ääri kuumutatakse ja katseklaas suletakse leegil põletatud korgiga.

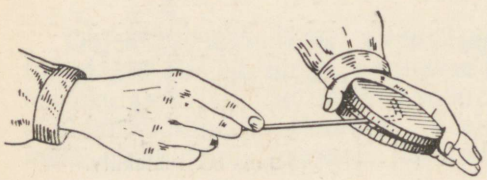
Pistekülvi korral soovitatakse söötmega katseklaas hoida suudmega allapoole (joonis 35). Katseklaas tõstetakse silmade kõrgusele ja torge tehakse alt üles. Sel viisil on võimalik nõela torgata täpselt katseklaasi keskelt, sest nõela liikumine on hästi nähtav.

Külv Petri tassi võimaldab uurida pindmiste ja agarisiseste kolooniate kuju ja suurust.

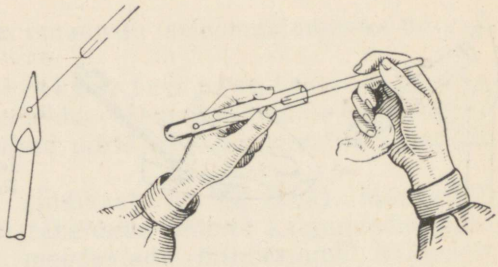
P i n d k ü l v. Petri tassi valatakse agar ja lastakse tarduda. Agari pind kuivatatakse termostaadis. Uuritav materjal kantakse külviaasa või pipetiga esimesel tassil oleva agari pinnale. Seejuures ei avata kaant täielikult, vaid seda kergitatakse veidi. Steriilset spaatlit (joonis 36) ringikujuliselt liigutades aetakse materjal kogu söötme pinnale laiali. Et esimesel tassil kasvab tavaliselt liiga tihe külv, ei kõlba see puhaskultuuride isoleerimiseks. Et saada isoleeritud kolooniaid, tehakse külvid teise ja kolmandasse tassi. Selleks võetakse spaatel esimesest tassist ja viiakse kuumutamata üle teise tassi. Külgejäänud materjal hõõrutakse laiali kogu söötme pinnale. Seejärel viiakse spaatel kolmandasse tassi, millega külv lõpebki.

S ü g a v k ü l v. Vasaku käe pöidla ja esimese sõrme vahele võetakse steriilse veega katseklaas. Katseklaasi hoitakse kaldu, et vältida mikroobidega saastumist õhus, kork eemaldatakse ja pannakse kas vasaku käe teise ja kolmanda sõrme vahele või haaratakse parema käe viienda sõrme ja peopesaga (joonis 37).

Seejärel võetakse külviaas, hoitakse vertikaalselt ja tõmmatakse aeglaselt läbi põletileegi (aas peab seejuures hõõguma).



Joonis 36. Spaatelkülv.



Joonis 37. Aasaga külv vedelsöötmesse.

Kuumutatakse mitte ainult aasa, vaid ka aasahoidikut. Pärast külviaasa kuumutamist viiakse aas kohe külvatava materjaliga nõusse. Aasal lastakse veidi jahtuda ja materjal viiakse kiiresti steriilse veega katseklaasi, mille ääred on leegil kergelt kuumutatud. Aas pistetakse vette ja raputatakse mõned korrad. Siis eemaldatakse külviaas kiiresti ja kuumutatakse. Katseklaas suletakse leegil põletatud vattkorgiga.

Steriilsesse vette viidud materjal segatakse hoolikalt (katseklaasi raputatakse või veeretatakse peopesade vahel). Saadud lahjendus külviks hästi ei sobi, sest see sisaldab ohtralt mikroobe. Tuleb teha suuremaid lahjendusi, millest külv annaks tassil mikroobide isoleeritud kolooniaid.

Selleks võetakse teine katseklaas steriilse veega eelmise lahjenduse kõrvale vasakusse kätte (teise ja kolmanda sõrme vahele). Katseklaase hoitakse kaldu, korgid võetakse pealt ja pannakse üks kolmanda ja neljanda ning teine neljanda ja viienda sõrme vahele. Katseklaasi suud tõmmatakse läbi leegi ja materjal viiakse kuumutatud külviaasaga kiiresti pärast segamist esimesest katseklaasist teise. Seejärel suletakse katseklaasid leegil põletatud korkidega.

Saadud teisest lahjendusest võib teha külvi söötmesse.

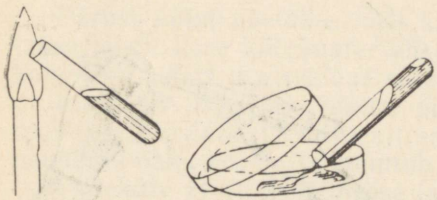
Kui materjali on vähe uuritud, võib teha veel ühe lahjenduse, s. t. materjal kantakse üle teisest katseklaasist kolmandasse, steriilse veega katseklaasi. Külvid tuleb teha igast lahjendusest eraldi söötmesse.

Enne külve sööde sulatatakse. Kui kasutatakse agar-agariga söödet, sulatatakse see keevas vees. Želatiinsööde sulab kergesti soojas vees ja nõrga leegi kohal kuumutamisel.

Seejärel valmistatakse ette Petri tassid. Paberid, milles neid steriliseeriti, võetakse ümbert ära ja tassid pannakse ettevaatlikult lauale, kuid neid ei avata, et mitte rikkuda steriilsust.

Külv tehakse järgmiselt. Agarsööde sulatatakse ja jahutatakse 45—50° C juures (želatiinsöötmega katseklaase ei ole vaja jahutada, sest želatiin sulab madalamal temperatuuril).

Kuumutatud nõelaga viiakse külvimaterjal steriilse veega katseklaasist, kuhu oli varem tehtud lahjendus, söötmega katseklaasi. Niisamuti tehakse külvid teisest ja kolmandast lahjendusest. Mater-



Joonis 38. Söötme väljavalamine Petri tassi.

jal, mis külvati sulatatud söötmega katseklaasi, tuleb hoolikalt segada. Selleks veeretatakse katseklaasi ettevaatlikult peopesade vahel (tuleb vältida õhumullide teket), et mikroobid jaotuksid ühtlaselt.

Kork eemaldatakse, katseklaasi suue flambeeritakse ja sisu valatakse kiiresti Petri tassi. Kaant kergitatakse seejuures vaid pisut (joonis 38). Seda kõike tuleb teha kiiresti, sest agar-agar võib tarduda, eriti söötme väljavalamisel. Želatiinsöötmete korral ei ole vaja kiirustada, sest želatiin tardub väga aeglaselt.

Väljavalatud sööde segatakse veel kord, et mikroobid jaotuksid ühtlaselt. Selleks kallutatakse Petri tassi eri suundades, kuid nii, et sööde ei satuks kaanele.

Niisuguseid külve tehakse kõikidest nendest katseklaasidest, kus võib oletada sellise arvu kolooniate väljakasvamist, mis võimaldab eraldada puhaskultuure.

Pärast külvi lastakse söötmel tarduda (agar-agar tardub kiiresti, želatiin tunduvalt aeglasemalt). Seejärel pööratakse tassid põhjaga ülespoole, et kondensatsioonivee tilgad ei langeks söötmele, ja pannakse termostaati. Želatiinsöötmete korral tasse ei pöörata. Neid võib hoida toatemperatuuril või termostaadis 20—22° C juures.

Kasvatamine. Mikroobe tuleb kasvatada optimaalsel temperatuuril. Patogeensete mikroobide optimaalne temperatuur on 37—39° C, enamikul saprofüütidel 30—35° C. Saprofüütide üksikud liigid arenevad ka kõrgemal (40—45° C või enam) või madalamal (20—25° C) temperatuuril.

Mikroobikolooniate kasvamiseks, mis oma mõõtmetelt sobivad puhaskultuuride isoleerimiseks, kulub tavaliselt 1—3 päeva.

Puhaskultuuride eraldamine. Puhaskultuur tuleb isoleerida pärast koloonia lõplikku kujunemist. Petri tassidele tehtud külvidest valitakse need, kus on üksikud üksteisest hästi isoleeritud kolooniad. Mikroobide väikesi kolooniaid (näiteks piimhappebakterite kolooniad) valitakse luubi või väikese suurendusega mikroskoobi abil.

Isoleeritud mikroobe võib külvata nii tard- kui ka vedelsöötmesse. Selleks puudutatakse mikroobikolooniat kergelt läbi leegi tõmmatud (flambeeritud) nõelaga. Haaratud materjal viiakse üle längagariga või vedelsöötmega katseklaasi.

Biokeemilised tunnused

Mikroobide füsioloogiliste omaduste iseloomustamiseks on vaja järgmisi andmeid.

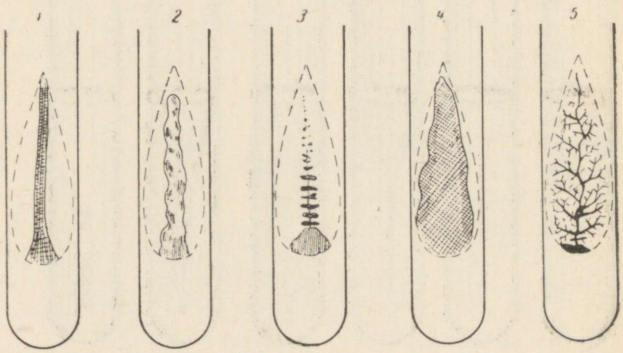
Mikroobide tundlikkus temperatuuri suhtes. Tuleb kindlaks määrata mikroobide kasvu optimaalne temperatuur ning nende arenemise äärmised piirid, s. t. minimaalne ja maksimaalne temperatuur.

Muutused piimas (indikaatoriga ja ilma). Mikroobide arenemisel piimas võib neil täheldada võimet kalgendada piima (tekitades hapet ja mitte), moodustada mitmesugust kalgendit, lagundada valke jne.

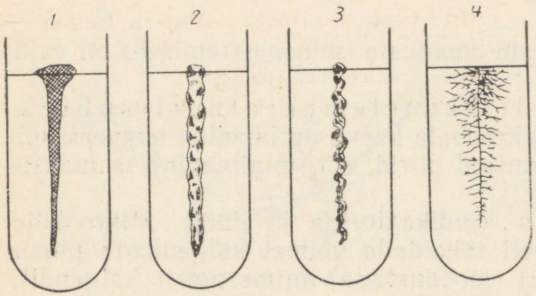
Süsivesikute kääritamine. Mikroorganisme iseloomustab võime kääritada mitmesuguseid süsivesikuid. Mikroobide kasvu tagajärjel söötmes võib täheldada happe teket või puudumist, gaaside teket või puudumist.

Mikroobide omaduste kirjeldamise lühike skeem

A. Mikroobi nimetus
B. Morfoloogia
   1. Raku kuju: kokk, lühike või pikk kepp.
   2. Raku asetus: üksikult, paarikaupa, ahelana, viinamarjakobarana, sartsiinid.
   3. Värvumine Grami järgi: positiivne (+) või negatiivne (−).
   4. Spooride moodustamine.
C. Kultuuri- ja biokeemilised omadused.
   1. Pindkolooniate ja söötmesiseste kolooniate kuju ja suurus (külvil agarile Petri tassis):
      a) kasvu iseloom ja üldkuju.
      Pindkolooniad — välja venitatud, suured, väikesed,



Joonis 39. Kasv joonkülvis:
1 — sile, piiritletud; *2* — kühmuline; *3* — helmeline; *4* — laiuv; *5* — hargnev.



Joonis 40. Želatiinisse või agarisse tehtud pistekülvi kasvu iseloomustus:
1 — naelakujuline; *2* — lindikujuline; *3* — helmeline; *4* — hargnev.

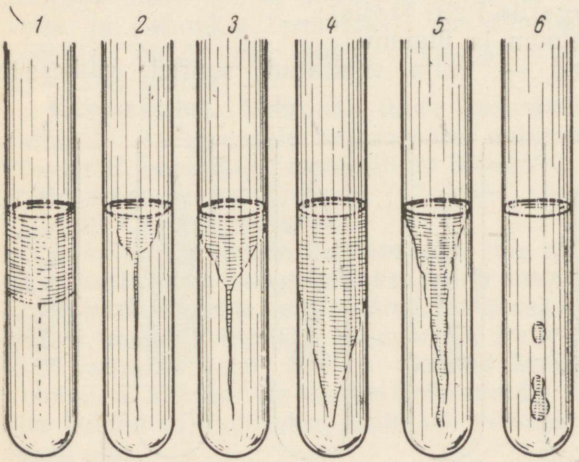
punktikujulised, ümarjad, ebakorrapärased, juurjad, kiulised, laialivalguvad; sisekolooniad — läätsekujulised, ämblikuvõrgutaolised, vatitükisarnased, nurgelised;

b) koloonia värvus (kui palja silmaga vaadata).

2. Kasv joonkülvis (joonis 39): sile, piiritletud, kühmuline, helmeline, laiuv, hargnev.

3. Suhtumine õhuhapnikku (joonis 40): kasv pistekülvina agar- või želatiinsöötmes: naelakujuline (peaga), lindikujuline, helmeline, hargnev.

4. Proteolüütiline omadus (jälgitakse pistekülvis želatiinsöötmesse, joonis 41): veeldamine — kihiline, naerikujuline, lehtrikujuline, kotikujuline, sukakujuline, mullikujuline (söötme sees) või veeldamist ei toimu.



Joonis 41. Želatiini veeldamise tüübid pistekülvis:
1 — kihiline; *2* — naerikujuline; *3* — lehtrikujuline; *4* — kotikujuline; *5* — sukakujuline; *6* — mullikujuline.

5. Suhtumine temperatuuri: minimaalne, optimaalne ja maksimaalne kasvutemperatuur.

6. Muutus piimas (indikaatorita ja indikaatoriga):

a) piim — optimaalne kasvutemperatuur, kalgendumise kiirus, kalgendi iseloom, happesus kalgendi tekkimise momendil ja 7 päeva pärast, peptoniseerimine (või selle puudumine);

b) lakmuspiim — optimaalne kasvutemperatuur, värvuse muutuse iseloomustus optimaalsel temperatuuril (muutuseta, läheb roosaks, täielik või osaline taandamine).

7. Süsivesikute kääritamine: süsivesiku nimetus, happe teke (või puudumine), gaasi teke (või puudumine).

Mikroobide omaduste täpsemaks kirjeldamiseks võib kasutada mikroobimäärajaid (Krassilnikov, Bergey).

IV PEATÜKK

MIKROOBIDE ARVU MÄÄRAMISE MEETODID

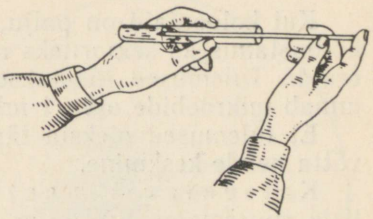
KOLOONIATE LOENDAMISE MEETODID

P l a a d i m e e t o d. Mikroobide arv tootes määratakse söötmel väljakasvanud kolooniate arvu järgi, kusjuures oletatakse, et iga koloonia on välja kasvanud ühest rakust. Uuritav materjal külvatakse Petri tassi ja valatakse üle söötmega. Tahked ained (või, juust) viiakse enne vedelasse olekusse: või sulatatakse, juust hõõrutakse veega peeneks.

Piim ja piimatooted võivad sisaldada palju mikroobe (1 ml-s kümned tuhanded kuni miljardid). Nende määramisel on vaja toodet enne lahjendada steriilses vees. Lahjendused (tavaliselt kümnekordsed) tehakse sellise arvestusega, et viimases neist oleks 1 ml-s kümneid rakke.

Petri tassi külvatakse kolm viimast lahjendust sellise arvestusega, et kõige väiksemast lahjendusest kasvaks välja ligikaudu 1000 kolooniat, eelviimasest 100 kolooniat ja viimasest 10 kolooniat. Petri tassi pind võimaldab loendada mikroobide kolooniaid võrdlemisi täpselt juhul, kui nende arv ei ületa 500.

Et saada kümnekordset (esimest) lahjendust, pannakse katseklaas uuritava materjaliga kaldasendis vasaku käe pöidla ja esimese sõrme vahele, steriilse veega katseklaas aga esimese ja teise sõrme vahele. Korgid võetakse katseklaasidelt ja üks neist pannakse vasaku käe kolmanda ja neljanda sõrme vahele, teine aga haaratakse parema käe viienda sõrme ja peopesa vahele. Seejärel kuumutatakse katseklaasi suudmeid leegil, steriilse pipetiga võetakse katseklaasist 1 ml uuritavat materjali ja viiakse steriilse veega katseklaasi (joonis 42). Vedelik puhutakse välja ning tõmmatakse sisse steriilne vesi, et pipetti puhtaks uhtuda. Seda kor-



Joonis 42. Lahjenduste tegemine.

ratakse mitu korda. Katseklaasid suletakse leegil kuumutatud korkidega.

Kui on vaja teha järgmisi lahjendusi, võetakse uus steriilne pipett ning viiakse sellega 1 ml esimeses katseklaasis olevat esimest lahjendust teise steriilse veega katseklaasi. Nii saadakse 100-kordne lahjendus (teine lahjendus).

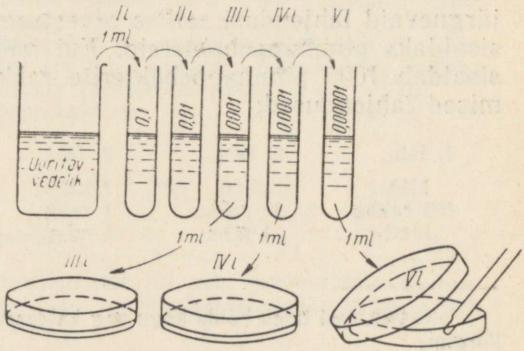
Selliselt valmistatakse kõik järgmised lahjendused. Kui vajalikud lahjendused on tehtud, alustatakse külvi tassidesse. Selleks võetakse 3 Petri tassi. Igasse neist viiakse steriilse pipetiga 1 ml ettenähtud lahjendust (näiteks kolmandat, neljandat, viiendat lahjendust): Petri tassi kaant kergitatakse veidi ning puhutakse välja kogu pipeti sisu.

Tavaliselt alustatakse külve viimasest lahjendusest. Kui külve alustatakse suurematest lahjendustest, võib kasutada ühte pipetti. Lahjenduste ja külvide tegemise skeem on antud joonisel 43.

Petri tassi viidud materjal valatakse üle söötmega (katseklaasi ääri kuumutatakse enne). Et mikroobid jaotuksid ühtlaselt, kallutatakse tasse kohe pärast söötme väljavalamist mitu korda ettevaatlikult.

Agaril lastakse tarduda, tassid pööratakse põhjaga ülespoole ning pannakse termostaati.

Mikroobikolooniaid loendatakse 2—3 päeva pärast (külvide kasvatamisel 30° C). Tasse, kus pesi on vähem kui 10, ei arvestata. Mikroobe võib kasvatada ka teisel temperatuuril, kui see vajalik on.



Joonis 43. Lahjenduste tegemise skeem ja külv Petri tassi.

Kui kolooniaid on palju, siis jaotatakse tassi põhi loendamise hõlbustamiseks sektoriteks ning iga sektori kolooniad loendatakse eraldi. Tulemused liidetakse. Saadud arvu korrutis lahjendusega annab mikroobide arvu 1 ml-s külvatud materjalis.

Et tulemused oleksid täpsemad, tuleb loendada kolm tassi ja võtta nende keskmine.

K a t s e k l a a s i m e e t o d. Petri tasse võib asendada tavaliste suuremate (ligikaudu 2×20 cm) katseklaasidega. Sel juhul tehakse uuritavast ainest valmistatud lahjendustest külv sulatatud ja 45° C-ni jahutatud söötmega katseklaasi (agarit on ligikaudu 10 ml).

Pärast materjali külvamist segatakse katseklaasi sisu hoolikalt ning pannakse veejoa alla. Katseklaasi keeratakse seal agari tardumiseni.[1] Katseklaasi tuleb pöörata aeglaselt, et sööde tarduks seintele ühtlase õhukese kihina.

Külviks on soovitatav võtta mitu katseklaasi (kõige parem 3), kus on erisuguste lahjendustega agar, et pesade arv oleks loendamiseks kõige sobivam. Kasvatamine ja pesade loendamine toimub samuti kui plaadimeetodil.

ÜKSIKUTE MIKROOBIRÜHMADE MÄÄRAMINE

Piimhappebakterid

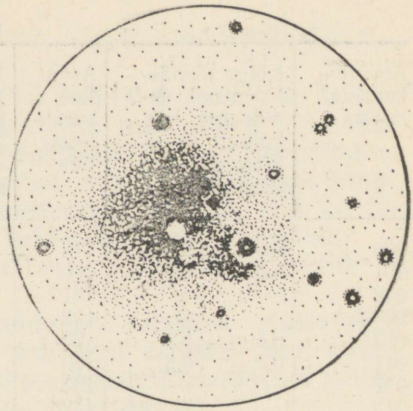
K r i i d i g a a g a r s ö ö t m e k a s u t a m i n e. Analüüsides tooteid, kus piimhappebakteritest on esindatud peamiselt *Str. lactis*, loendatakse neid Petri tassi külvates. Söötmeks kasutatakse hüdrolüüsitud piima agarit kriidiga. Külve hoitakse 3 päeva 30° C juures. Piimhappebakterid tunneme ära läbipaistvate ringide järgi, mis tekivad kriidi lahustumisel piimhappes (joonis 44).

P i i r l a h e n d u s t e m e e t o d i t kasutatakse peamiselt nende toodete analüüsimisel, mille piimhappemikrofloora koosneb piimhappestreptokokkidest ja -keppidest (juust, lõunamaised hapupiimaproduktid). Söötmena kasutatakse piima.

Uuritavast ainest valmistatakse steriilses vees rida üksteisele järgnevaid lahjendusi sellise arvestusega, et viimane lahjendus ei sisaldaks piimhappebaktereid. Kui näiteks 1 ml uuritavat toodet sisaldab 1000 piimhappebakterite rakku, siis valmistatakse järgmised lahjendused:

1. lahj.	2. lahj.	3. lahj.	4. lahj.	5. lahj.
1/10	1/100	1/1000	1/10 000	1/100 000
100 rakku	10 rakku	1 rakk	1 rakk	1 rakk
1 ml-s	1 ml-s	1 ml-s	10 ml-s	100 ml-s

[1] Katseklaasi tuleb hoida kogu aeg kaldasendis, nii et sööde ulatuks peaaegu korgini.



Joonis 44. Piimhappebakterite kolooniad agaril (kriidiga).

Valmistatud lahjendustest tehakse külvid (1 ml) steriilsesse lõssi (kahte katseklaasi igast lahjendusest). Viimasest lahjendusest tehakse külv selle tõestamiseks, et on määratud väikseim uuritava aine hulk, mis ei sisalda enam piimhappebaktereid.

Külvid pannakse termostaati 30° C juures 7 päevaks. Selle aja jooksul kalgendub nendes katseklaasides piim, mis sisaldas piimhappebaktereid. Igast kalgendunud piimaga katseklaasist määratakse happesus ja kalgendist tehakse mikroskoopiline preparaat.

Kui kalgendi happesus ei ole madalam kui 60° Th ja äigepreparaadis on näha streptokokke või keppe, siis tähendab see, et antud lahjenduses esinesid piimhappebakterid.

Piimhappebakterite arv leitakse tabeli 9 abil.

Näide 1

Võetud lahjendused	1/10	1/100	1/1000	1/10 000
Külvidega katseklaaside arv	2	2	2	2
Katseklaaside arv, milles piim kalgendus	2	2	1	1

Algul koostatakse arvuline karakteristika. See koosneb kolmest arvust, mis näitavad kalgendunud lõssiga katseklaaside arvu kolmest viimasest lahjendusest. Esimene arv (vasakul) arvulises karakteristikas on 2 (lõss kalgendus kahes katseklaasis lahjendustega 1/100), teine 1 ja kolmas 1.

Seega tuleb arvuline karakteristika 211. See vastab tabeli 9 järgi (kui külvati kahte katseklaasi) arvule 13. See arv tuleb korrutada lahjendusega, millega algas arvulise karakteristika esimene arv (käesolevas näites on see 1/100).

Seega 1 ml sisaldab 1300 piimhappebakterit.

Näide 2

Võetud lahjendused	1/10	1/100	1/1000
Külvidega katseklaaside arv	2	2	2
Katseklaaside arv, milles piim kalgendus	1	0	1

Käesoleval juhul on arvuline karakteristika 101, mis vastab arvule 1,2. Korrutades viimast lahjendusega, millega algas arvuline karakteristika (1/10), saame piimhappebakterite arvu 1 ml-s. See on 12.

Tabel 9

Arvuline karakteristika	Kõige tõenäolisem mikroobide arv, kui külvati katseklaasidesse paralleelselt		Arvuline karakteristika	Kõige tõenäolisem mikroobide arv, kui külvati katseklaasidesse paralleelselt		Arvuline karakteristika	Kõige tõenäolisem mikroobide arv, kui külvati katseklaasidesse paralleelselt	
000	0,0	0,0	113	—	—	230	—	3,0
001	0,5	0,3	120	2,0	1,1	231	—	3,5
002	—	—	121	3,0	1,5	232	—	4,0
003	—	—	122	—	—	240	—	—
010	0,5	0,3	123	—	—	241	—	—
011	0,9	0,6	130	—	1,6	300	—	2,5
012	—	—	131	—	—	301	—	4,0
013	—	—	132	—	—	302	—	6,5
020	0,9	0,6	140	—	—	303	—	—
021	—	—	141	—	—	310	—	4,5
022	—	—	200	2,5	0,9	311	—	7,5
030	—	—	201	5,0	1,4	312	—	11,5
031	—	—	202	—	2,0	313	—	16,0
040	—	—	203	—	—	320	—	9,5
041	—	—	210	6,0	1,5	321	—	15,0
100	0,6	0,4	211	13,0	2,0	322	—	20,0
101	1,2	0,7	212	20,0	3,0	323	—	30,0
102	—	1,1	213	—	—	330	—	25,0
103	—	—	220	25,0	2,0	331	—	45,0
110	1,3	0,7	221	70,0	3,0	332	—	110,0
111	2,0	1,1	222	110,0	3,5	333	—	140,0
112	—	—	223	—	4,0	—	—	—

Str. lactis'e ja piimhappekeppide kasvu määramiseks koostatakse eraldi arvulised karakteristikad (mikroskoopilise preparaadi ja happekraadi alusel).

Näide 3

Võetud lahjendused	1/10	1/100	1/1000	1/10000
Külvidega katseklaaside arv	2	2	2	2
Katseklaaside arv, milles piim kalgendus	2	2	2	1
Kalgendi happesus, °Th	250	200	120	110
Str. lactis esines järgmiste lahjenduste mikroskoopilises pildis	+	+	+	+
Piimhappekeppe esines järgmiste lahjenduste mikroskoopilises pildis	+	+	—	—
Arvuline karakteristika:				
streptokokkidel				221
keppidel				220
Tõenäoline mikroobide arv:				
streptokokke				70
keppe				25

Korrutades lahjendusega, saame streptokokkide arvuks 1 ml-s 7000, piimhappekeppide arvuks 250.

Proteolüütilised bakterid

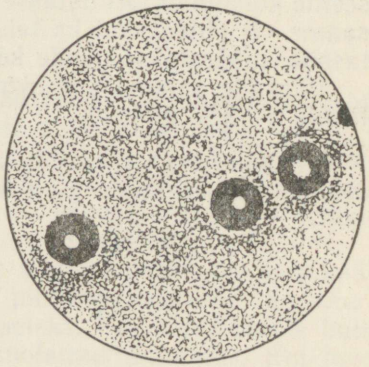
Arvu määramine hüdrolüüsitud piima želatiinsöötmel. Proteolüütiliste bakterite määramiseks tehakse uuritava toote mitmesugustest lahjendustest külv Petri tassi hüdrolüüsitud piima, hüdrolüüsitud kaseiini või lihapeptoonpuljong-želatiinsöötmesse. Lahjenduste valmistamise ja külvi tehnika on samasugune nagu mikroobide arvu määramisel plaadimeetodil.

Külve hoitakse 20—22° C juures tasse pööramata (želatiin ei eralda kondensatsioonivett).

Kolooniate loendamist, mis veeldavad želatiini, alustatakse kahe päeva pärast ja lõpetatakse, kui uusi želatiini veeldavaid kolooniaid enam juurde ei tule. Üksikute želatiini veeldavate kolooniate kasvu pidurdatakse põrgukiviga põletades.

Uuritavat materjali võib külvata mitte ainult Petri tassi, vaid ka želatiinsöötmega katseklaasi piirlahjenduste meetodil (vt. lk. 62). Külve hoitakse 37° C juures 24 tundi. Seejärel pannakse katseklaasid külma vette.

Kui želatiin ei tardu, siis on uuritavas materjalis proteolüütilisi bakterеid. Nende arv määratakse tabeli 9 järgi.



Joonis 45. Proteolüütiliste bakterite kolooniad piimaagaril.

Arvu määramine piimaagaril. Proteolüütilisi bakterеid on kõige parem loendada siis, kui uuritav materjal külvatakse piimaagarile. Lahjenduse valmistamise ja külvi tehnika on sama mis mikrofloora arvulisel määramisel plaadimeetodil.

Tassid külvidega pannakse termostaati 30° C juures. Kolooniaid võib loendada 36—48 tunni pärast.

Proteolüütiliste bakterite arv määratakse kindlaks läbipaistvate ringide järgi, mis tekivad koloonia ümber valgu lagunemise tagajärjel (joonis 45).

Võihappebatsillid

Võihappebatsillide arvu määramiseks tehakse uuritava materjali mitmesugustest lahjendustest külvid steriliseeritud täispiimaga katseklaasidesse. Pärast külvamist kuumutatakse katseklaase veevannil 85° C-ni 10 minutit ja hoitakse termostaadis 30° C juures kolm päeva.

Võihappebatsillide sisaldus määratakse:
gaasi tekke järgi,
võihappe lõhna järgi,
preparaadis eostega keppide olemasolu järgi, millel on trummipulga kuju ja mis annavad positiivse reaktsiooni granuloosile[1].

Uurimise tulemused väljendatakse tiitrina või leitakse võihappebatsillide arv tabeli 9 järgi.

Pärm- ja hallitusseened

Pärm- ja hallitusseente määramiseks tehakse külvid uuritava materjali erisugustest lahjendustest virdeagarile Petri tassi. Tasse hoitakse 30° C juures termostaadis kolm päeva. Pärm- ja hallitusseente kolooniad loendatakse eraldi. Korrutades neid lahjendusega, saame nii ühtede kui ka teiste arvu ml-s. Kui külv tehti mitmele tassile, määratakse nende keskmine.

Pärmide paremaks kasvuks ja määramiseks tuleb virdeagarile lisada 1—2% glükoosi.

---

[1] Granuloos on tärklisesarnane aine, mis värvub joodiga siniseks. Selle määramiseks pannakse uuritav mikroob veetilka ja segatakse Lugoli lahusega.

V PEATÜKK

PIIMAS JA PIIMATOODETES SAGEDAMINI ESINEVATE MIKROORGANISMIDE ISELOOMUSTAMINE

PIIMHAPPEBAKTERID

Piimatööstuse jaoks on kõige tähtsamad piimhappebakterid. Neid kasutatakse paljude piimatoodete valmistamiseks.

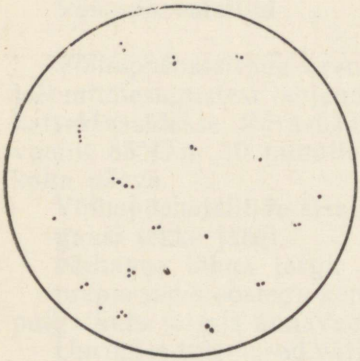
Piimas ja piimatoodetes sisalduv piimsuhkur kääritatakse piimhappebakterite elutegevuse tagajärjel piimhappeks. Peale viimase moodustub vähem või rohkem käärimise kõrvalprodukte — lenduvaid happeid, estreid, alkoholi, atsetoiini, diatsetüüli.

Sõltuvalt sellest, millises koguses tekivad piimhappelisel käärimisel kõrvalproduktid, jaotatakse piimhappebakterid homofermentatiivseteks ja heterofermentatiivseteks. Kui kõrvalainete hulk on vähene, nimetatakse protsessi homofermentatiivseks. Kui neid aineid tekib rohkesti, nimetatakse protsessi heterofermentatiivseks.

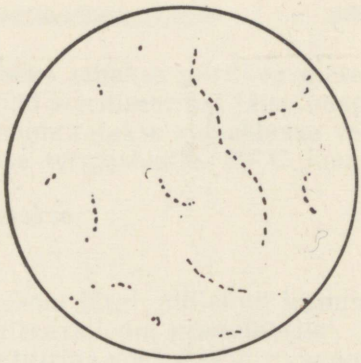
Morfoloogiliste tunnuste järgi jaotatakse piimhappebakterid streptokokkideks ja keppideks. Need grupid sisaldavad nii homokui ka heterofermentatiivseid baktereid.

Piimhappestreptokokid

Streptococcus lactis (piimhappestreptokokk). Rakk on ovaalne. Rakud asetsevad kõige sagedamini diplokokkidena (joonis 46). Piimas paljunedes (kuni kalgendi tekkimiseni) paiknevad rakud lühikeste kettidena. Kasvades tardsöötme pinnal, moodustavad nad peeni tilgasarnaseid kolooniaid. Agarisisesed kolooniad on läätsekujulised.



Joonis 46. *Str. lactis.*



Joonis 47. *Str. cremoris.*

Optimaalne kasvutemperatuur on 30—35° C. Sel temperatuuril kalgendavad streptokokid piima 10—12 tunniga (kui 10 ml steriliseeritud piimasse külvatakse mõned tilgad värsket kultuuri).

Piimal tekib ühtlane, tihe, lõheneva konsistentsiga kalgend. Rassid, mis annavad veniva konsistentsiga kalgendi, piimatoodete valmistamiseks enamasti ei sobi.

Kriitiline happesus, mida tekitavad *Str. lactis*'e tüved piimas, kõigub kõige sagedamini vahemikus 110—120° Th (harva 130° Th), ehkki esineb nn. nõrku rasse, mille kriitiline happesus ei ole kõrgem kui 90—100° Th. *Str. lactis*'ega hapendatud piim on puhta hapu maitse ja lõhnaga, kuid esineb rasse, mis tekitavad kõrbe-, ebapuhast ja teisi lõhnu ning maitset.

Str. lactis on suure tähtsusega hapupiimatoodete, hapukoore- või ja juustude valmistamisel.

Streptococcus cremoris (koore streptokokk) erineb *Str. lactis*'est selle poolest, et rakud paiknevad sageli pikkade kettidena (joonis 47). Koloonia kujult ja suuruselt sarnanevad *Str. lactis*'ega.

Str. cremoris kasvab hästi 20—25° C juures ja kalgendab piima optimaalsel temperatuuril 12 tunniga. Tekkiv kalgend on ühtlane, tiheda hapukooresarnase konsistentsiga. Kriitiline happesus, mida *Str. cremoris*'e tüved tekitavad piimas, on ligikaudu 110—115° Th. Hapnenud piim on puhta hapu maitse ja aroomiga.

Biokeemilistelt omadustelt on *Str. cremoris* lähedane *Str. lactis*'ele. Nad erinevad teineteisest maltoosi ja dekstriini kääritamise võime, samuti arginiinist ammoniaagi mooduṣtamise poolest jne. (tabel 10).

Et teha kindlaks, kas on tegemist *Str. lactis*'e või *Str. cremoris*'ega, toimitakse järgmiselt. Vedelsööde valatakse väikestesse katseklaasidesse (ligikaudu 2 ml) ja steriliseeritakse 1 at juures 10 minutit. Söötmega katseklaasi külvatakse aasaga uuritavat kultuuri ja pannakse 2 päevaks termostaati 30° C juures. Seejärel

Tabel 10

Liik	Ammoniaagi moodustumine arginiinist	Kasv söötmes						Kääritavad					Ferment tsitriidaasi olemasolu
		40°C juures	45°C juures	NaCl-ga 4%	NaCl-ga 6,5%	pH-l 9,2	pH-l 9,6	maltoosi	dekstriini	sorbiiti	glütseriini	manniiti	
Str. lactis	+	+	−	+	−	+	−	+	+	−	−+	−+	−
Str. cremoris	−	−	−	−	−	−	−	−(+)	−(+)				−
Str. diacetilactis	+	+		+		+		+	+				+
Str. faecalis			+		+		+			+	+	+	

kontrollitakse ammoniaagi olemasolu söötmes Nessleri reaktiiviga[1].

Selleks pannakse portselanplaadile või taldrikule 1 tilk söödet ja 1 tilk Nessleri reaktiivi. Kui uuritav kultuur moodustab ammoniaaki (sadeneb oranž või pruun sade), siis on tegemist *Str. lactis*'e kultuuriga (või *Str. acetoinicus*'ega). Kui uuritav kultuur ammoniaaki ei tekita (segu jääb läbipaistvaks ja peaaegu värvusetuks), on see *Str. cremoris*.

Str. lactis'e ja *Str. cremoris*'e diferentseerimiseks võib kasutada tardsöötmeid. Nende abil võib *Str. cremoris*'t eristada ka looduslikest allikatest.

Kultuuride diferentseerimiseks jaotatakse tardsöötmega Petri tassi põhi vahapliiatsi või tindiga 6—8 sektoriks. Igasse sektorisse külvatakse joonkultuurina uuritavat kultuuri, mis tavaliselt on kasvatatud hüdrolüüsitud piimas või lõssis. Külvid pannakse 30° C juures 16—24 tunniks termostaati. Pärast seda kontrollitakse kasvu külvijoonel. Kui kasvanud kolooniad on roosa värvusega, siis on uuritav kultuur *Str. lactis*. Värvuseta kolooniate korral on tegemist *Str. cremoris*'e kultuuriga.

Et eristada *Str. cremoris*'t looduslikest allikatest või juuretisest, külvatakse Petri tassi pinnale, mis on ette valmistatud nii,

[1] Nessleri reaktiiv valmistatakse järgmiselt. 30 g kaaliumjodiidi ja 22 g kristalset joodi pannakse 100 ml-s mahuga paksuseinalisse klaasnõusse ja lahustatakse 20 ml destilleeritud vees. Lisatakse 30 g metalset elavhõbedat ja loksutatakse 10 min., kuni vedelik muutub häguseks. Kuuma lahust jahutatakse ja loksutatakse seni, kuni vedelik võtab roheka värvuse.

Seejärel valatakse vedelik elavhõbedalt 400-ml mõõtekolbi. Elavhõbedat pestakse mitu korda destilleeritud veega. Vesi valatakse samasse mõõtekolbi ning täidetakse kriipsuni.

Pärast segamist mõõdetakse 500-ml mahuga kolbi 75 ml seda lahust, lisatakse 75 ml destilleeritud vett ja 350 ml 10%-list NaOH lahust (karbonaatidevaba). Lahus jäetakse seisma mõneks päevaks. Valmis reaktiiv peab olema täiesti läbipaistev. Hoitakse hästi suletud korgiga nõus pimedas.

nagu eespool kirjeldati, üks aasatäis rikastatud kultuuri või juuretist, mis kantakse ühtlaselt laiali üle kogu söötme pinna Drigalski spaatliga. Kui söötmel tekivad värvuseta kolooniad, võime tinglikult oletada, et tegemist on *Str. cremoris*'ega. Kultuuri tuleb kontrollida arginiiniga vedelsöötmel, nagu eespool kirjeldati.

Aroomibakterite rühma kuuluvad piimhappestreptokokid, mis moodustavad piimas ja piimatoodetes rohkesti lenduvaid happeid (äädikhape ja propioonhape) ja aroomaineid (diatsetüüli, estreid). Enamik neist baktereist sisaldab ferment tsitridaasi, mistõttu nad kääritavad sidrunhapet. Selle omaduse tõttu nimetatakse neid «tsitrovoorusteks».

Tuntud on kolm liiki aroomaineid moodustavaid baktereid: *Str. citrovorus, Str. paracitrovorus* ja *Str. diacetilactis*. Nende rakud on peenemad kui *Str. lactis*'el ja *Str. cremoris*'el ja nad paiknevad üksikute rakkudena, diplokokkidena või mitmesuguse pikkusega kettidena. Tardsöötmel kasvades moodustavad nad *Str. lactis*'ega ja *Str. cremoris*'ega sarnanevaid ümarjaid, tilgakujulisi, siledate äärtega pindkolooniaid. Agarisisesed kolooniad on läätsekujulised. Mõnedest aroomibakteritest *(Str. diacetilactis)* kasvavad 3%-lise agar-agari-sisaldusega tardsöötmetel välja hargnenud kujuga kolooniad, mis sarnanevad piimhappekeppide kolooniatega.

Aroomibakterite optimaalne kasvutemperatuur on 25—30° C, ehkki *Str. diacetilactis* kasvab ilmselt hästi ka 35° C juures.

Kasvuenergia ja happe moodustamine piimas ei ole kõigil aroomibakteritel ühesugune. *Str. citrovorus* areneb piimas aeglaselt ega kalgenda seda.

Str. paracitrovorus areneb kiiremini ja kalgendab piima optimaalsel kasvutemperatuuril 2—3 päeva jooksul.

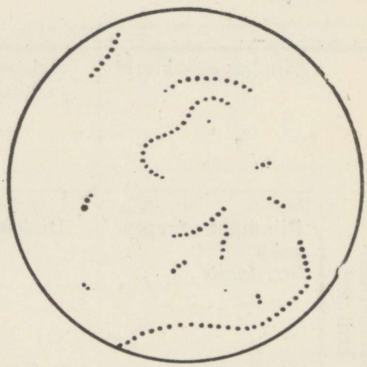
Aroomibakteritest on *Str. diacetilactis* kõige energilisem happemoodustaja. Kõige aktiivsemad tüved kalgendavad piima 16—18 tunni jooksul, vähem aktiivsemad 48 tunni jooksul.

Aroomibakterid parandavad piimatoodete maitset ja aroomi. Neid kasutatakse koos aktiivsete happemoodustajatega *(Str. lactis, Str. cremoris)* hapupiimatoodete, hapukoorevõi ja juustu juuretiste valmistamisel.

Kõige hinnatavam aroomibakter on *Str. diacetilactis*, mis tekitab diatsetüüli. Juba väga väike kogus diatsetüüli annab tootele meeldiva aroomi.

Aroomibakterite puhaskultuuride isoleerimiseks on soovitatav teha külv sidrunhappekaltsiumagarile. Aroomibakterite kolooniate ümber tekivad sidrunhappekaltsiumi kääritamise tõttu läbipaistvad sõõrid.

Streptococcus thermophilus (termofiilne streptokokk). Rakkude paiknemiselt sarnaneb *Str. thermophilus* mikroskoobis *Str. cremoris*'ega. *Str. thermophilus*'e rakud on veidi tugevamad ning paiknevad mitmesuguse pikkusega kettidena (joonis 48). Termofiilsetel streptokokkidel on rida iseärasusi. Nagu näitab nende nime-



Joonis 48. *Str. thermophilus.*

tus, arenevad nad paremini kõrgemal temperatuuril. Optimaalne kasvutemperatuur on 40—45° C.

Tardsöötmel kasvavad teralise struktuuriga ja ümarja kujuga pindkolooniad. Agarisisesed kolooniad on läätsekujulised ning mõnikord väljakasvuga.

Termofiilne streptokokk erineb mesofiilsest streptokokist sahharoosi kääritamise võime poolest. Seepärast on soovitatav termofiilse streptokoki isoleerimisel lisada süsivesikuid mittesisaldavale söötmele sahharoosi.

Kasvades optimaalsel temperatuuril kalgendab termofiilne streptokokk piima 12—14 tunniga, moodustades hapukooresarnase konsistentsiga ühtlase tiheda kalgendi. Kalgendunud piimal on meeldiv hapu maitse ja lõhn. Kriitiline happesus on 110—115° Th. Mõned *Str. thermophilus*'e rassid moodustavad diatsetüüli. Sellised tüved on eriti hinnatavad, sest nad parandavad toote maitseomadusi tunduvalt.

Termofiilse streptokoki kultuure on otstarbekas kasutada koos termofiilsete piimhappekeppidega. Seejuures pehmeneb tunduvalt toote maitse (näit. lõunamaine hapupiim).

Termofiilset streptokokki kasutatakse koos bulgaaria kepiga lõunamaiste hapupiimajookide (bulgaaria, matsooni, matsuuni) valmistamiseks. Peale selle mängivad nad tähtsat osa kõrge järelsoojendusega juustude valmimisel (šveitsi, nõukogude).

Enterokokid (seedetraktist pärit piimhappestreptokokid). Siia gruppi kuuluvad *Str. liquefaciens, Str. faecalis, Str. faecium, Str. durans* ja *Str. bovis.* Kasvavad nii madalal (10° C) kui ka kõrgel (45°C) temperatuuril, on püsivad keedusoola ja leeliselise reaktsiooni (pH 9,6) suhtes ning termoresistentsed (65° C juures 30 minuti vältel) ja resistentsed metüleensinise ja sapi suhtes. Enterokokid kääritavad mitmeid süsivesikuid ning neid leidub ohtralt toor- ja pastöriseeritud piimas.

Str. liquefaciens (Mammococcus). Rea omaduste poolest, nagu raku ja koloonia kuju, kriitiline happesus, on nad sarnased *Str. lactis*'ega. Optimaalne kasvutemperatuur on 30° C, kriitiline

	Piimhappebakterid	Rakkude paiknemine	Koloonia kuju ja suurus	Liikuvus	Värvumine Grami järgi	Kasvutemperatuur C° optimaalne	Kasvutemperatuur C° piirid
Homofermentatiivsed	Piimhappestreptokokk *Str. lactis*	Diplokokid	Tilgasarnased, läikivad, valkjad, 1—2-mm läbimõõduga	—	+	30—35	10—
Homofermentatiivsed	Koorestreptokokk *Str. cremoris*	Ketid	„	—	+	25	10—
Heterofermentatiivsed	Aroomibakterid *Str. citrovorus*	Rakud on üksikud, kahekaupa ning mitmesuguse pikkusega kettidena	„	—	+	25	10—
Heterofermentatiivsed	*Str. paracitrovorus*		„	—	+	25—35	10—
Heterofermentatiivsed	*Str. diacetilactis*		„	—	+	25—35	10—
	Termofiilne streptokokk *Str. thermophilus*	Ketid	„	—	+	40—45	10—
	Enterokokid *Str. faecalis*	Diplokokid ja lühikesed ketid	„	—	+	37	10—
	Str. bovis	„	„	—	+	35	22—
	Mammokokid *Str. liquefaciens*	„	„	—	+	37	10—
	Str. durans	„	„	—	+	40	10—

Tabel 11

Kriitiline happesus Th°	Lakmuspiima muutumine	Kasv		Kalgendi iseloom	Maitse	Konsistents
		pH 9,6	6,5% NaCl			
120 (pH 4,0—4,5)	Taandumine, kalgendumine	—	—	Ühtlane, tihe	Hapu	Lõheline
110—115 (pH 4,0—4,6)	„	—	—	„	„	Hapukoore-sarnane
—	Roosa värv, kalgendumiseta	—	—	—	—	—
70—80	Roosa värv, kalgendumine	—	—	Rebitud	Nõrgalt hapu	—
90—100	Taandumine, kalgendumine	—	—	Ühtlane, tihe, võib esineda gaasi	„	Lõheline
110—115	Roosa värv koos värvuse osalise taandumisega (põhjast), kalgendumine	—	—	Ühtlane, tihe	„	„
00—110 pH 4,3)	„	+	+	„	„	„
00—110 pH 4,0—4,5)	„	—	—	„	„	„
10—115 H 4,3	„	+	+	Kokkutõmbunud vadak eraldunud	Mõru	„
10—115 H 4,0—4,5	„	+	+	Ühtlane, tihe	Hapukas	—

	Piimhappebakterid	Kääritavad							
		glükoosi	galaktoosi	laktoosi	sahharoosi	maltoosi	manniiti	arabinoosi	ksüloos
Homofermentatiivsed	Piimhappestreptokokk, *Str. lactis*	+	+	+	—	+	+	—	—
Homofermentatiivsed	Koorestreptokokk *Str. cremoris*	+	+	+	±	±	±	—	—
Heterofermentatiivsed	Aroomibakterid *Str. citrovorus*	+	+	+	—	—	—	—	—
Heterofermentatiivsed	*Str. paracitrovorus*	+	+	+	+	+	—	—	—
Heterofermentatiivsed	*Str. diacetilactis*	+	+	+					
	Termofiilne streptokokk *Str. thermophilus*	+	+	+	+	—	—	±	±
	Enterokokid *Str. faecalis*	+	+	+	±	±	∓	±	
	Str. bovis	+	+	+	+	+	—	±	—
	Mammokokk *Str. liquefaciens*	+	+	+	+	+	±	±	
	Str. durans	+	+	+	±	±	±	—	—

happesus piimas 110—115° Th. Mammokokid ei moodusta üksnes piimhapet, vaid eritavad ka laapi.

Seoses piimhappe ja laabi üheaegse toimega piima valgule tekib kalgend madala happesuse juures (60° Th asemel 35—40° Th). Tekkinud piimakalgend on esialgu ühtlane, tihe, kuid laapfermendi toimel tõmbub kokku ja selle tagajärjel eraldub märgatavalt vadakut.

Mammokokkide arenedes piimas ja piimatoodetes tekib mõru maitse, mida põhjustavad suured peptoonikogused.

Str. faecalis. Rakud paiknevad diplokokkidena ja lühikeste kettidena, kääritavad manniiti, sorbiiti, harva arabinoosi. Taandavad lakmuspiima.

Str. faecium. Erineb eelmistest glütseriini kääritamise võime poolest. Omadustelt on väga sarnane *Str. faecalis*'ega. Kääritab arabinoosi, harva sorbiiti. Taandab osaliselt lakmuspiima.

Str. durans. Püsiv kõrgete temperatuuride suhtes. Kääritab glükoosi, laktoosi, maltoosi. Harva kääritab sahharoosi, salitsiini, manniiti. Ei käärita rafinoosi, inuliini, sorbiiti. Arginiinist moo-

Tabel 11, järg

afi-oosi	ram-noosi	man-noosi	sor-biiti	salit-siini	glüt-se-riini	dekst-riini	tärk-list	Milliste toodete valmistamiseks kasutatakse
–	—	—	∓	±	—	+	—	Hapupiim, kohupiim, hapukoor, keefir, hapukoorevõi, juustud
=			—	±	—		—	„
–	—	—	—	—	—	—	—	„
=	—	+	—		—	∓	—	„
								„
±				—	—		+	Hapupiim, juustud
+			∓	+	+	—	∓	Leidub soolestikus
+	±	±	±	+	—		+	Esineb soolestikus ja piimatoodetes
∓	—		±	+	+		±	„
–			—	—	—		—	„

dustab ammoniaaki. Paljunemist täheldatakse temperatuuril 10—45° C.

Str. bovis. Termoresistentne, kääritab arabinoosi, rafinoosi ja inuliini. Erineb teistest enterokokkidest suurema tundlikkuse poolest sapi, keedusoola, leeliselise reaktsiooni ja metüleensinise suhtes. Ei kasva 10° C juures. Taandab osaliselt lakmuspiima ega kalgenda seda. Omadustelt on lähedane termofiilsele streptokokile (tabel 11).

Kepikujulised piimhappebakterid

Kepikujulised piimhappebakterid on samuti nagu piimhappestreptokokid looduses laialt levinud. Neid leidub tavaliselt piimas, lihas ja taimsetes saadustes, inimese ja looma soolestikus. Nad on vastupidavad hapetele ja sooladele. Võime areneda mitmesugustel temperatuuridel, õhu juuresolekul või ilma soodustab piimhappe-

Tabel 12

Piimhappebakterid	Raku kuju ja suurus	Koloonia kuju, suurus ja värv	Liikuvus	Värvumine Grami järgi	Kasvutemperatuur C°		Kriitiline happesus Th°	Kasv söötmes, mis sisaldab	
					optimaalne	piirid		sappi %	keedusoola %
Termobakterid									
L. helveticum	Pikad kepid. Paiknevad üksikute rakkude ja ahelatena	Peened, hallikad, siledad	–	+	40	25–40	200—300	2	4
L. bulgaricum	Jämedad, ümarjate otstega kepid. Paiknevad sageli ahelatena. Täheldatakse teralisust	Pindkolooniad on lainelised, sisekolooniad on vatitükisarnased	—	+	40—45	22—53	200—300	0—2	2
L. acidophilum	Mitmesuguse pikkusega kepid, üksikud või ahelatena	„	—	+	37	20–48	200—250	2—4	2
L. lactis	Pikad rakud, paiknevad üksikult, kahekaupa ja pikkade niitidena. Täheldatakse teralisust	„	–	+	40	22—50	110—180	4	
L. thermophilum	Lühikesed, sageli üksikult paiknevad ketid	Peened, punktikujulised siledate servadega	—	+	50	30–65	Ligikaudu 30		
Streptobakterid									
L. casei	Mitmesuguse pikkusega kepid. Paiknevad üksikult või kahekaupa		—	+	30	15–38	80—180	2–4	4
L. plantarum	Mitmesuguse pikkusega kepid. Moodustavad lühikesi ja pikki	Peened, valkjad, lamedad	—	+	30	15—38	180	4	5,5
Beetabakterid									

L. breve	Peened rakud	Siledad, läikivad, lamedad	—	+	30	15—38	—
L. bifidum	Peened hargnevad kepid. Paiknevad paarikaupa või üksikute rakkudena	Peened sisekoolooniad, siledad või krobelised	—	+	37	20	—

Tabel 12, järg

Piimhappebakterid	Kääritavad																Esinemise koht
	glükoosi	galaktoosi	laktoosi	sahharoosi	maltoosi	manniiti	arabinoosi	ksüloosi	mannoosi	rafinoosi	ramnoosi	sorbiiti	salitsiini	glütseriini	dekstriini	tärklist	
Termobakterid																	
L. helveticum	+	+	+	+	+	—		—	+	+	+	—	+	+	+		Piim ja juust
L. bulgaricum	+	+	+	∓	∓	—	—	—			—	—	—	—	—	—	Lõunamaine hapupiim
L. acidophilum	+	+	+	+	+	—	—	—	+	±	—	—	+	—	±		Soolestik
L. lactis	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	±	—	+	—	Piim ja juust
L. tehrmophilum	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	Pastöriseeritud piim
Streptobakterid																	
L. casei	+	+	+	+	+	+		+	+	—	—	+	+	—	+		Juustud
L. plantarum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	—	Juustud
Beetabakterid																	
L. breve	+	+	+	±	+	±	+	±	±	±	±	—	±	±	±	±	Piim, juustud ja taimsed jäägid
L. bifidum	+	+	+	+	+					+			±		+	+	Eraldatakse rinnalaste väljaheiteist. Pärast isoleerimist kasvab rangelt anaeroobsetes tingimustes, hiljem muutub mikroaerofiilseks

keppide levikut. Neid kasutatakse lõunamaiste hapupiimajookide ja juustude valmistamisel.

Käärimise kõrvalproduktide (äädikhape, süsihape, piiritus jt.) moodustamise põhjal jaotatakse piimhappekepid homo- ja heterofermantatiivseteks. Homofermentatiivsete piimhappekeppide hulka kuuluvad termobakterid ja streptobakterid, heterofermentatiivsed on beetabakterid.

T e r m o f i i l s e d p i i m h a p p e k e p i d (termobakterid). Piimhappekepid arenevad kõige paremini nõrgalt happelises keskkonnas (pH 6,5). Nad võivad areneda ka pH 3,8 juures, kuna streptokokid lakkavad sellise happesuse juures paljunemast.

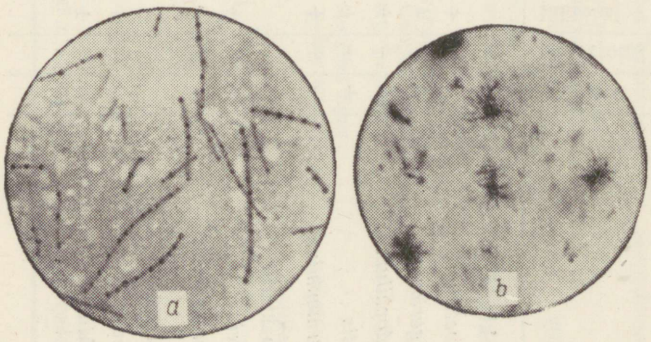
Mõningate termofiilsete piimhappebakterite omadustega võib tutvuda tabelis 12. Optimaalne kasvutemperatuur on 40—45° C. See grupp piimhappekeppe on energilised happetekitajad. Optimaalsel kasvutemperatuuril kalgendavad nad piima 12 tunni jooksul. Kriitiline happesus on kõrgem kui piimhappestreptokokkidel. See võib olla kuni 300—350° Th.

Termofiilsed piimhappekepid on jämedad (mõnikord teralised), paiknevad üksikute rakkudena või ahelatena. Tardsöötme pinnal moodustavad lainelisi kolooniaid. Agarisisesed kolooniad sarnanevad vatitüki või ämblikuvõrguga (joonis 49). Termofiilsete piimhappekeppidega hapendatud piima maitse on puhas, hapu. Kalgend on ühtlane, tihe. Biokeemilistelt omadustelt on selle grupi bakterid üksteisele lähedased.

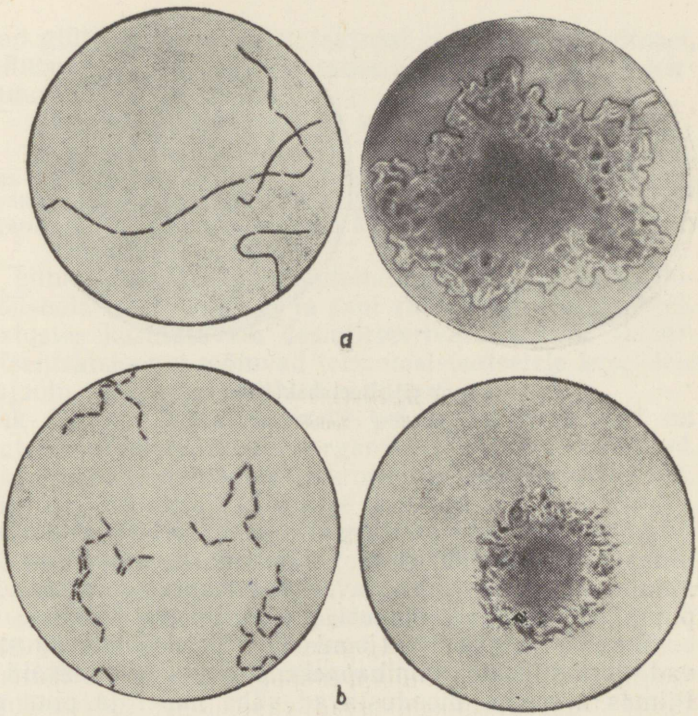
Lactobacterium helveticum (juustukepike). Kasvab 22—50° C juures. Piima happesus on kuni 200—300° Th. Kääritab maltoosi ja dekstriini, kuid ei käärita sahharoosi, rafinoosi ja salitsiini. Mõned rassid võivad areneda 5,5%-lise soolasisaldusega söötmes.

Lactobacterium bulgaricum (bulgaaria kepike). Kasvab 22—53° C juures ning viib piima happesuse 200—300° Th-ni.

Lactobacterium acidophilum (atsidofiilkepike). Kasvab 20—48° C juures. Kriitiline happesus ulatub 200—250° Th-ni.



Joonis 49. *Lactob. bulgaricum:*
a — agarisisene koloonia; *b* — rakud.



Joonis 50. Streptobakterid:
a — Lactob. casei; b — Lactob. plantarum.

Lactobacterium jugurti. Tekitab piimas kõrge happesuse. Ei käärita maltoosi ega dekstriini.

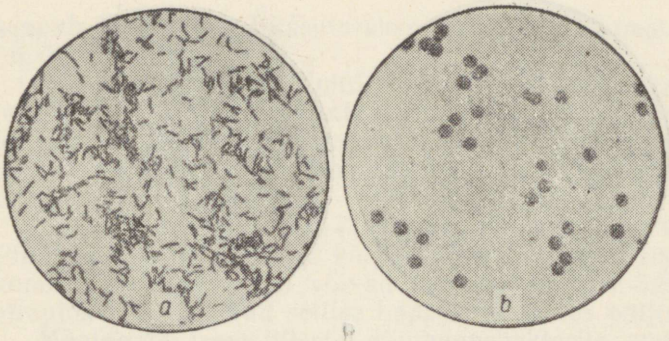
Lactobacterium lactis. Kasvab 22—50° C juures. Piima kriitiline happesus on 110—180° Th.

Mesofiilsed piimhappekepid (streptobakterid).

Rakud on neil peenemad kui termobakteritel. Sageli paiknevad kettidena. Tardsöötme pinnal tekivad sageli tasased, terava piirjoonega kolooniad. Agarisisesed kolooniad on läätsekujulised. Areneb temperatuuril 15—38° C. Optimaalne kasvutemperatuur on 30° C.

Streptobakterid on piimas väheaktiivsed. Isegi optimaalsel temperatuuril kalgendavad piima 2—3 päeva pärast. Kriitiline happesus võib tõusta 180—200° Th-ni. Piimakalgend on ühtlane, tihe, maitse puhas, hapu. Kääritab mitmeid süsivesikuid. Piimas ja piimatoodetes esinevad sagedamini kaks streptobakterite liiki.

Lactobacterium casei (joonis 50, *a*) etendab tähtsat osa juustude valmimisel. Mõned rassid võivad areneda 5,5%-lise soolasisaldusega söötmes. Kriitiline happesus piimas on 80—180° Th. Ei käärita arabinoosi, rafinoosi, ramnoosi ega glütseriini.



Joonis 51. Beetabakterid:
a — rakud; *b* — kolooniad.

Lactobacterium plantarum (joonis 58, *b*). Kriitiline happesus piimas tõuseb 180° Th-ni. Võtavad osa juustude valmimisest. Mõningad tüved põhjustavad roostekarva plekkide teket juustu pinnal. Ei käärita ramnoosi, glütseriini ega tärklist.

Beetabakterid (joonis 51). Tardsöötme pinnal moodustavad termofiilsete piimhappekeppidega sarnanevaid kolooniaid. Piimas arenedes moodustavad vähe hapet ja piim ei kalgendu. Pärmiautolüsaadi lisamine stimuleerib märgatavalt beetabakterite arenemist ja piima happesus võib tõusta 150—160° Th-ni.

Laktoosi kääritamisel tekib peale piimhappe rohkesti lenduvaid happeid. Beetabakterid kääritavad glükoosi, maltoosi ja arabinoosi. Piimatoodetes esinevad *Betabacterium caucasicum* (keefiriseentes ja keefiris) ja *Betabacterium breve.*

Termoresistentsed piimhappekepid. Peale juuretisega hapupiimatoodetesse sisseviidud piimhappekeppide leitakse neis sageli termofiilseid piimhappebaktereid, mida juuretisega ei lisatud. Neid on kerge märgata toodetes, mille juuretis koosneb ainult piimhappestreptokokkidest (kohupiim, hapukoor).

Biokeemiliste omaduste alusel võime iseloomustada neid mikroorganisme järgmiselt.

Rakud on kepikujulised, 4—10×0,7—0,9 μm, üksikud, sageli teravalt väljendunud teralise struktuuriga noortel kultuuridel tugevalt värvunud ühekaupa või ahelais. Graampositiivsed, eoseid ei moodusta, liikumatud.

Kasvavad piimas ja hüdrolüüsitud piima agaril. Agarisisesed kolooniad on tumedad, kollakaspruunid, peened, sageli lühikeste väljaulatuvate niitidega. Pindkolooniad on suuremad, lainelised või teralised, tumedate tsentritega.

Piim kalgendub 8—10 tunniga. Kalgend on veniv või mitteveniv, ühtlane ilma gaasimullikesteta. Kaseiini ei lõhusta. Piimas tekitavad lenduvaid happeid.

Kääritavad glükoosi, galaktoosi, laktoosi, sahharoosi, maltoosi, levuloosi, rafinoosi ja dekstriini, tekitades happeid. Kasvavad kõrgel temperatuuril.

	Optimum °C	Miinimum °C	Maksimum °C
Kasv piimas	45—55	20	60—65
Happe moodustamine	45—50	20	60
Kasv agaril	45	30	55

Taluvad piima lühiajalist kuumutamist 85—90° C-ni. Vastupidavad keedusoola (kuni 2—3%) ja sapi (kuni 30—40%) suhtes.

Piimatööstustes kasutatavate desinfitseerivate lahuste (kloorlubi jt.) kontsentratsioonid mõjuvad termoresistentsetele keppidele vähe. See asjaolu raskendab võitlust nendega.

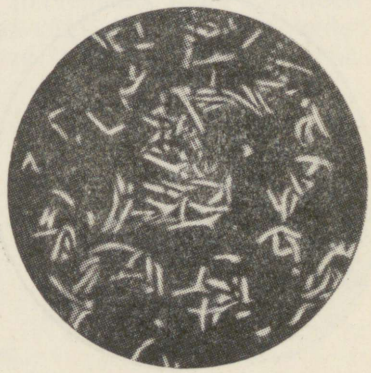
Nagu kõik teised *Lactobacterium*'i perekonna esindajad on termoresistentsed piimhappekepid organismile täiesti kahjutud. Et nad on aga hapupiimatoodete mikrofloora reguleerimata osa, tuleb nad liigitada tehniliselt kahjulike mikroorganismide gruppi. Põhiline viga, mida need bakterid põhjustavad, on kõrge happesus. Mõnikord võivad termoresistentsete keppide üksikud tüved põhjustada venivust ja ebapuhast maitset.

Termoresistentseid piimhappekeppe leidub toores piimas, 75° C juures 15—20 sek. ja 80—85° C juures 5—10 sek. pastöriseeritud piimas, piimatööstuse seadmetel ning mitmesugustes hapupiimatoodetes ja juuretistes.

Propioonhappebakterid

Propioonhappebakterid (joonis 52) on liikumatud eosteta kepid (esineb ka kerakujulisi vorme), mis arenevad hästi õhu juurdepääsuta.

Piimas paljunevad propioonhappebakterid aeglaselt ja kalgendavad selle tavaliselt 5—7 päeva jooksul. Seejuures nende kriiti-



Joonis. 52. Propioonhappebakterid.

line happesus 160—170° Th on tunduvalt kõrgem piimhappestreptokokkide poolt tekitatust. Propioonhappebakterite optimaalne kasvutemperatuur on 30—35° C.

Propioonhappebakteritel on tähtis osa pika valmimisajaga juustudes. Nad mõjutavad positiivselt juustu kvaliteeti. Piimasuhkru (või piimhappesoolade) käärimise tagajärjel tekkiv äädik- ja propioonhape parandavad juustu maitset ja aroomi. Kogunev süsihappegaas aitab moodustada juustus auke.

Lisaks eespool loetletule on propioonhappebakterid võimelised sünteesima B_{12}-vitamiini ja neid võib kasutada piimatoodete rikastamiseks selle vitamiiniga.

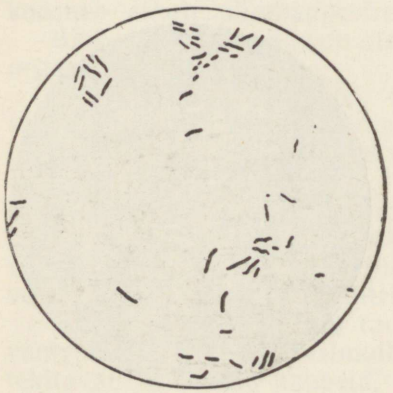
BAKTERID, MIS MOODUSTAVAD PIIMAS VÄIKESTES KOGUSTES HAPET

Peale bakterite, mis moodustavad piimas rohkesti hapet, on ka teisi, mille omadused on toodud tabelis 13.

Kolibakterid

Kolibaktereid esineb inimese ja looma seedetraktis alati. Piimas paljunedes kääritavad nad piimasuhkrut, moodustades piim-, äädik- ja merevaikhapet, etüülpiiritust, süsihappegaasi ja vesinikku. Nad kalgendavad piima optimaalsel kasvutemperatuuril (37—38° C) mitte varem kui 24 tunniga, moodustades kalgendi, mis on küllastatud gaasimullikestega. Piima kriitiline happesus ei ületa tavaliselt 80° Th.

Kolibakterite paljunedes juustus moodustub intensiivselt gaasi, mistõttu juustud hakkavad sageli paisuma liiga vara. Seejuures tekib ebaühtlane augustus ning ebapuhas maitse.



Joonis 53. Kolibakterid.

Kolibakterite ärahoidmiseks tuleb piima lüpsmisel, hoidmisel ja ümbertöötamisel rangelt täita sanitaareeskirju. Piima pastöriseerimisel hävivad kolibakterid täielikult.

Kolibakterid on piimatööstuste sanitaarolukorra peegeldajad. Nende esinemine inventaril ja seadmetel viitab režiimi rikkumisele.

Lisaks sellele võivad kolibakterid tekitada loomadel mastiiti.

Mõned kolibakterite tüved põhjustavad inimestel seedetrakti haigestumist.

Mikrokokid

Mikrokokke (joonis 54) leidub sageli õhus, vees, sõnnikus ja värskes piimas. Nende elutegevust piimas iseloomustab võime eraldada koos piimhappega laapfermenti. Happesus ei ületa tavaliselt 60° Th.

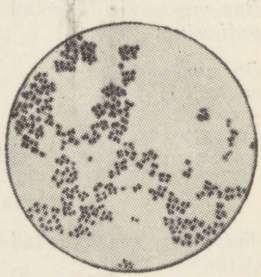
Piim kalgendub, kui mikrokokid paljunevad madalama happesuse juures (35—40° Th 60° Th asemel). Kalgend tekib laapfermendi ja piimhappe üheaegsel toimel kaseiinisse. Kalgend on ühtlasest ja tihedast happekalgendist erinevalt kokku tõmbunud (sageli ühe külje pealt) ja vadak eraldunud. Peale hapu maitse on tunda ka mõru (valkude lõhustumisel tekkinud peptoonide kuhjumise tagajärjel) maitset.

Mikrokokkide tugeva paljunemise korral võib piimas tekkida mõru maitse. See viga tekib kõige sagedamini kondenseeritud piima (suhkruga) või rõõsakoorevõi pikaajalisel säilitamisel. Kondenseeritud piimas (suhkruga) võivad seoses happesuse tõusuga tekkida veel valgu helbed. Piim võib muutuda paksuks laapfermendi toimel.

Mõned mikrokokkide liigid on võimelised lagundama rasva. Sel juhul on tootel rääsunud maitse.

Juustutööstuses võivad mikrokokid etendada positiivset osa, sest nende poolt eraldatud laapferment kiirendab juustude valmimist. Samuti võivad nad kaasa aidata piima valmimisele. Kuid mikrokokid võivad põhjustada juustu maitsevigu. Seepärast on vaja kasutada selliseid rasse, mis ei halvendaks toote kvaliteeti.

Mikrokokid on halbades tingimustes väga püsivad. Neid leidub sageli udaras, soolas ja suhkrus. Võime kohaneda udaras ja põh-



Joonis 54. Mikrokokid.

Bakterid	Raku		Koloonia		Liikuvus
	kuju	suurus µm	kuju ja värvus	suurus mm	
Mikrokokid	Kerakujulised, paiknevad üksikute rakkudena või kogumitena	1—2	Ümarjad, läikiva pinnaga ja sileda servaga	2—5	—
Sartsiinid	Sfäärilised, moodustavad korrapäraseid risttahukaid	0,5—1,5	„	3—5	—
Kolibakterid	Mitmesuguse suurusega kepid	1—2	Ümarjad, opalestseeruvad, sileda servaga	4—6	*Bact. coli* — liikuv, *Bact. aerogenes* liikumatu
Bact. fluorescens	Väikesed kepid	1—1,8	Ümarjad, hallikasrohelised, sileda servaga	4—5	+
Bact. vulgare	Mitmesuguse suurusega kepid, paiknevad üksikult või ahelatena	1—3	Pikaks venitatud, kilejad	4—5	+
Bact. linens	Kergelt kõverdunud kepid	—	Pruunikaspunased	—	—
Aeroobsed eostega kepid					
Bac. subtilis	Keskmise suurusega kepid	1,5—2	Hallikad, hambulise servaga	3—5	+
Bac. megatherium	Jämedad kepid	3,5—4	Hallikasvalged, läikivad		+
Bac. mesentericus	„	„	Kurrulised, lainelise servaga		
Bac. mycoides	Jämedad kepid, paiknevad üksikult või pikkade ahelatena	5—10	Lamedad, nahkjad, juurjad	kuni 5	+
Võihappebatsillid	Jämedad kepid	3—10	Siledad, läikivad		+

Tabel 13

dustuv nent	Värvumine Grami järgi	Želatiini veeldamine	Optimaalne kasvutemp. C°	Muutused piimas				Piima saastumise allikad
				kalgendumise aeg	kriitiline happesus	kalgendi iseloom	valgulagunemine	
ane ja iž, sööt- lahus- atu. Osa pig- ti ei dusta	+	Enamik liike veeldavad nõrgalt	25	3—5 päeva	40—60	Kokkutõmbunud	Aeglane peptoniseerumine	Õhk, vesi
,	+		25	—	—	—	—	Õhk, vesi
-	—	—	37—38	2—5 päeva	80	Rebitud	—	Sõnnik
ekas, mes stuv	—	+	20—25	—	—	—	+	Vesi, pinnas
-	—	+	37	—	—	—	+	Roiskuvad ained
-	—	+	21	—	—			Pehmete juustude kitt
-	+	+	30	—	—	—	+	Pinnas, sööt
-	+	+	35	—	—	—	+	Pinnas, vesi
								Pinnas
	+	+	30	—	—	—	+	Pinnas
	+	—	30—40	—	—	Kerkinud	—	Pinnas, vesi, sööt

justada selles põletikulisi protsesse viitab, et mikrokokkide hulgas on liike, mis lähenevad haigust tekitavatele bakteritele. Niinimetatud «kuldne» stafülokokk *(Staphylococcus aureus)* ei põhjusta mitte ainult udarapõletikku, vaid ka toidumürgistusi.

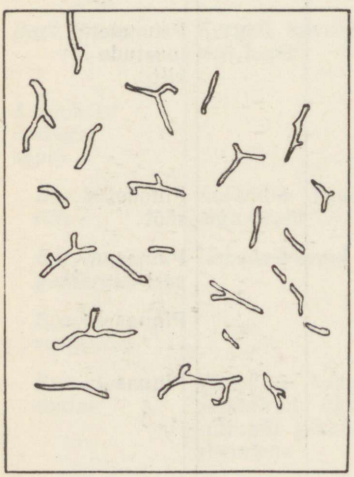
Mikrobakterid

Toores piimas esineb sageli peeneid eosteta keppe — mikrobaktereid (joonis 55). Analüüsid näitavad, et kohe pärast pastöriseerimist moodustavad nad olulise osa piima mikrofloorast. Mikrobaktereid esineb nõudel ja seadmetel, mida töödeldi puudulikult auruga või kloorlubja lahusega. Enamik neist moodustavad vähe hapet ega kalgenda piima.

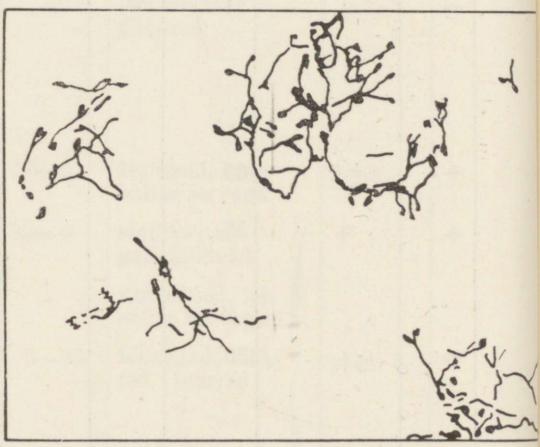
Kõige kõrgema happesuse annab piimale *Microbacterium lacticum*. Moodustab rohekaskollaseid pindkolooniaid ja kannatab 80—85° C-ni kuumutamist 15 minuti vältel. *Microbacterium flavum* moodustab kollaseid pindkolooniaid ja kannatab 75° C-ni kuumutamist 15 minutit. Siia gruppi kuulub ka *Microbacterium mesenterium*, mille pindkolooniad on valged ja kurrulised, kuid mis hävib 70° C juures, ning kaseiini lõhustav *Microbacterium liquefaciens*.

Bifidobakterid

Liikumatuid eosteta keppe — bifidobaktereid *(Lactobacterium bifidum)* (joonis 56) — leidub ohtralt rinnalaste soolestikus. Nad arenevad piimas väga aeglaselt, kuid võivad selle siiski kalgendada.



Joonis 55. Mikrobakterid.



Joonis 56. Bifidobakterid.

BAKTERID, MIS EI MOODUSTA PIIMAS HAPET

Bacterium vulgare

Bact. vulgare (Proteus vulgaris) (joonis 57) on eosteta kepp. Selle bakteri arenemise algul täheldatakse piimas happesuse nõrka tõusu, mida põhjustavad rasvade lõhustumisel tekkivad rasvhapped. Sedamööda kuidas leeliselised valgu lagunemise produktid kuhjuvad, muutub piima reaktsioon leeliseliseks. Mõned *Bact. vulgare* tüved moodustavad piimas ja piimatoodetes arenedes mürkaineid.

Fluorestseeruvad bakterid

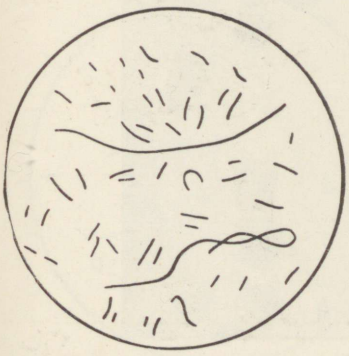
Fluorestseeruvad bakterid (joonis 58) on eosteta kepid, mida leidub pinnases, vees ja taimedel. Piima satuvad nad tavaliselt veest.

Mõned nendest bakteritest, näiteks *Bact. fluorescens liquefaciens*, lagundavad valku. Fluorestseeruvaid baktereid iseloomustab võime lagundada rasvu. Selle tagajärjel tekib piimas ja piimasaadustes mõru maitse. Et selle rühma bakterid paljunevad madalal temperatuuril, kus piimhappebakterite areng on pidurdatud (ei teki piimhapet), tekib tavaliselt piima ja piimatoodete külmas säilitamisel või pikaajalisel hoidmisel mõru maitse.

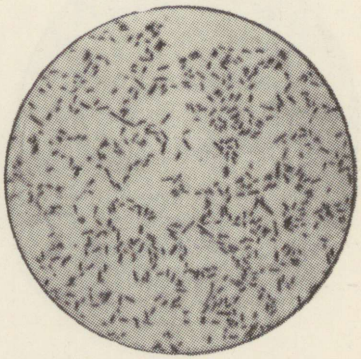
Piimatööstusettevõtetes tuleb fluorestseeruvate bakterite vältimiseks nõu- ja võipesuvett kloorida. Piim ja koor tuleb pastöriseerida.

Bacterium linens

Bact. linens on peenike graampositiivne eosteta kepp, liikumatu ja veidi kõverjas. Tahke söötme pinnal moodustuvad pruunikaspunased kolooniad. Veeldab želatiini. Muudab aeglaselt



Joonis 57. *Bact. vulgare.*



Joonis 58. Fluorestseeruvad bakterid.

lakmuspiima. 21° C juures läheb piim 6—7 päeva jooksul leeliseliseks ning 10 päeva pärast täheldatakse valkude tugevat lagunemist.

Optimaalne kasvutemperatuur on 21° C. Täheldatakse kasvu pH 6,0—9,8 juures ning 15%-lise soolasisaldusega söötmes. Ei käärita glükoosi, galaktoosi, laktoosi, sahharoosi, maltoosi, manniiti, inuliini ega sorbiiti.

Isoleeritakse pehmete juustude kitist. Esineb ka teistes piimatoodetes (või, koor).

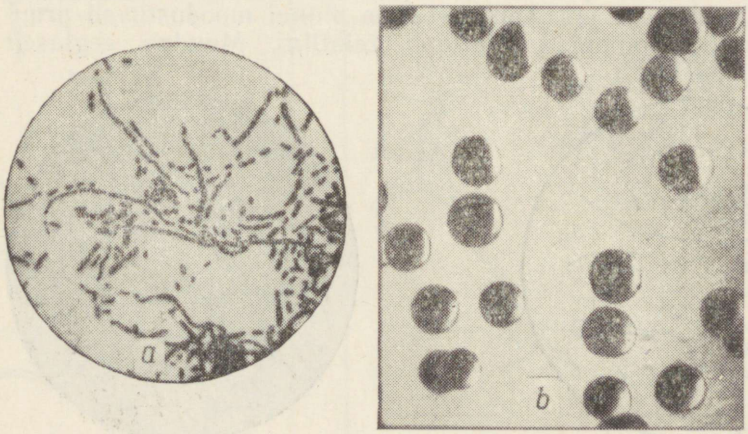
Äädikhappebakterid

Äädikhappebakterid (joonis 59) on liikuvad graamnegatiivsed bakterid. Rakud on kepikujulised või ovaalsed, paiknevad üksikult, paarikaupa või kettidena

Hapustatud vedelsöötme pinnal moodustavad äädikhappebakterid kile. Optimaalne kasvutemperatuur on 30° C. Nad ei veelda želatiini ning moodustavad katalaasi. Arenedes piimas, ei tekita nad hapet. Äädikhappebaktereid esineb sageli hapupiimatoodetes (keefir, hapupiim jne.).

Äädikhappebaktereid võib toodetes ära tunda oranži ringi järgi, mis tekib kalgendunud piima pinnale. Hapustatud vedelsöötmete pinnale moodustub kile, milles mikroskopeerimisel on näha liikuvaid baktereid.

Äädikhappbakterid arenevad piimas halvasti, kuid nende kasv intensiivistub, kui neid kultiveerida koos piimhappebakteritega. Nende koos arenedes pikeneb piimhappebakterite eluiga tunduvalt. Juuretis, mis sisaldab äädikhappe- ja piimhappebakterite segu, võib säilida mitu kuud ümber istutamata, ilma et selle aktiivsus langeks.



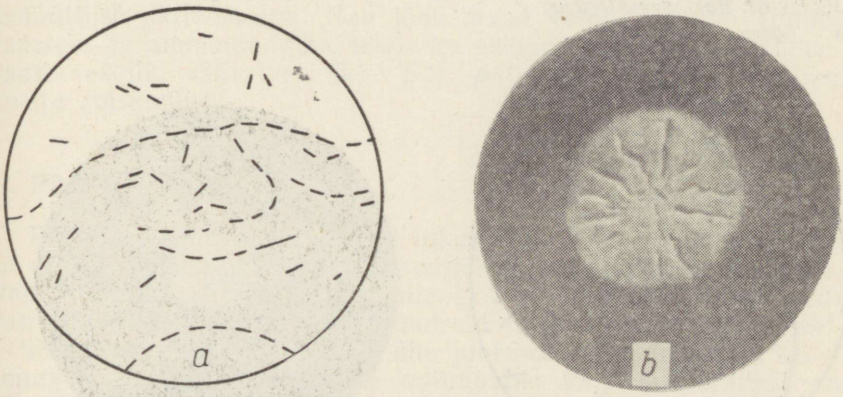
Joonis 59. Äädikhappebakterid:
a — rakud; *b* — kolooniad.

Aeroobsed eostega kepid

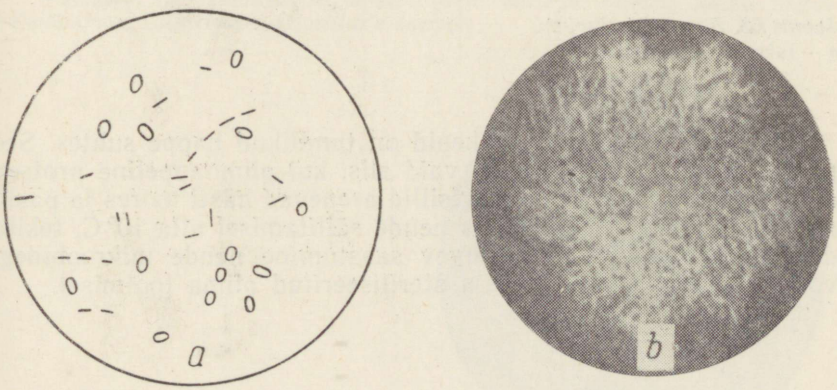
Piimas esinevad eostega aeroobsetest keppidest sageli *Bacillus subtilis* (joonis 60), *Bacillus mycoides* (joonis 61), *Bacillus mesentericus* (joonis 62) ja *Bacillus megatherium* (joonis 63).

Nad lagundavad piimavalku. Lagunemine toimub kahes faasis. Esialgu kalgendub piim laapfermendi toimel. Seejärel lagundab ferment peptaas valgud peptoonideks, aminohapeteks ja ammoniaagiks ning kalgend lõhustub. Pinnale kerkib kollakas vadak, mille hulk pidevalt kasvab. Piima reaktsioon muutub leeliseliseks.

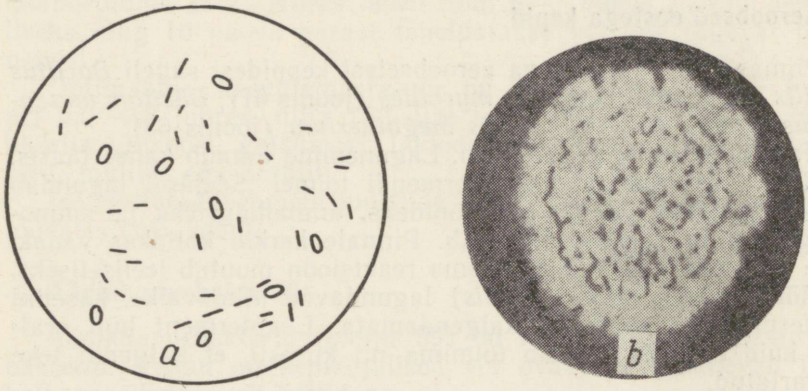
Mõned tüved *(Bac. subtilis)* lagundavad piimavalke, kaseiini laapfermendiga eelnevalt kalgendamata. Laapferment küll eraldub, kuid peptaas hakkab toimima nii kiiresti, et kalgendi teke on varjatud.



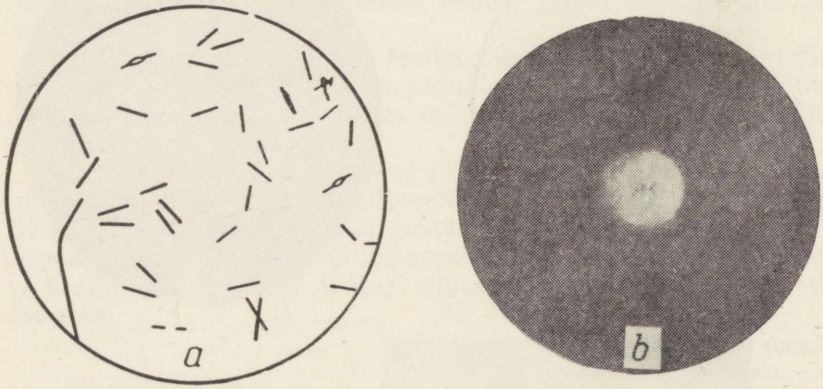
Joonis 60. *Bac. subtilis:*
a — rakud; *b* — kolooniad.



Joonis. 61. *Bac. mycoides:*
a — rakud; *b* — kolooniad.



Joonis 62. *Bac. mesentericus:*
a — rakud; *b* — kolooniad.



Joonis 63. *Bac. megatherium:*
a — rakud; *b* — kolooniad.

Kõik aeroobsed eostega kepid on tundlikud happe suhtes. Seepärast arenevad nad piimas vaid siis, kui piimhappeline protsess on algstaadiumis. Eostega batsillid arenevad hästi toores ja pastöriseeritud piimas ning koores nende säilitamisel alla 10° C, tekitades mõru maitset. Piima tugev saastumine nende mikroobidega võib põhjustada suurt praaki steriliseeritud piima tootmisel.

Võihappebatsillid

Võihappebatsillid *(Bacillus amylobacter)*[1] on anaeroobsed eostega kepid. Nad kääritavad piimasuhkrut ja selle soolasid, moodustades või-, äädik-, propioon- ja sipelghapet ning väheses koguses alkoholi. Käärimisel eraldub rohkesti gaase (vesinik ja süsihappegaas).

Sageli põhjustavad võihappebatsillid juustude valmimise lõpul nende kerkimist. Piima satuvad nad sööda, sõnniku ja mullaga. Nende vältimiseks tuleb lüpsil puhtust pidada.

Anaeroobsed roisubakterid

Anaeroobsed roisubakterid *(Bacillus putrificus)* on suure proteolüütilise aktiivsusega. Nad lõhustavad valgud kiiresti aminohapeteks ja ammoniaagiks, tekitades seejuures gaase (süsihappegaas, vesinik, väävelvesinik). *Bac. putrificus* põhjustab šveitsi juustu roiskumist.

Pärmseened

Pärmseened on üherakulised liikumatud mikroorganismid, mis on umbes 10 korda bakteritest suuremad ega moodusta mütseeli. Nad kuuluvad üherakuliste seente gruppi ning paljunevad pungumise, pooldumise ning pungumisele järgneva pooldumise teel.

Pärmseened arenevad hästi õhu juuresolekul ning hapus keskkonnas. Enamiku pärmseente optimaalne kasvutemperatuur on 25—30° C. Vegetatiivrakud hävivad kuumutamisel 60—65° C juures, eosed aga kannatavad 10° võrra kõrgemat temperatuuri.

[1] Viimasel ajal kasutatakse anaeroobsete eostega keppide kohta sageli perekonnanime *Clostridium (Bacillus*'e asemel).



Joonis 64. Võihappebatsillid.

Eristatakse eostega ja eosteta pärmseeni. Eostega pärmseente hulka kuuluvad sugukonnad *Saccharomycetaceae* ja *Schizosaccharomycetaceae,* eosteta pärmseente hulka sugukond *Torulopsidaceae.*

Saccharomycetaceae sugukond. Selles sugukonnas on keskse kohal *Saccharomyces*'e perekond, kuhu kuuluvad pungumise teel paljunevad pärmseened.

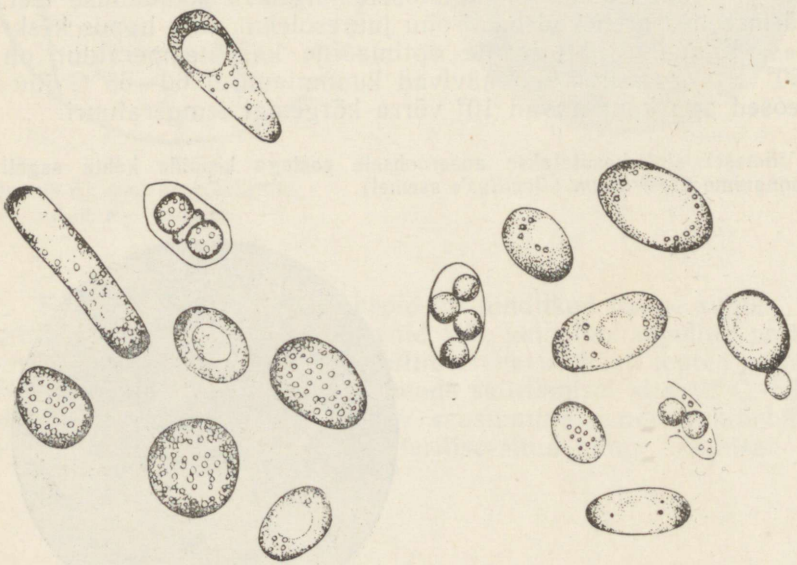
Nad on looduses laialt levinud ning põhjustavad energilist alkoholkäärimist. Piimas ja piimatoodetes esineb järgmisi eostega pärmseente liike.

Saccharomyces casei esineb kõige sagedamini juustus. Hapupiimatoodetes on need pärmseened tihedas sümbioosis piimhappebakteritega. Nad kääritavad glükoosi, galaktoosi, sahharoosi, kuid ei käärita laktoosi ega maltoosi.

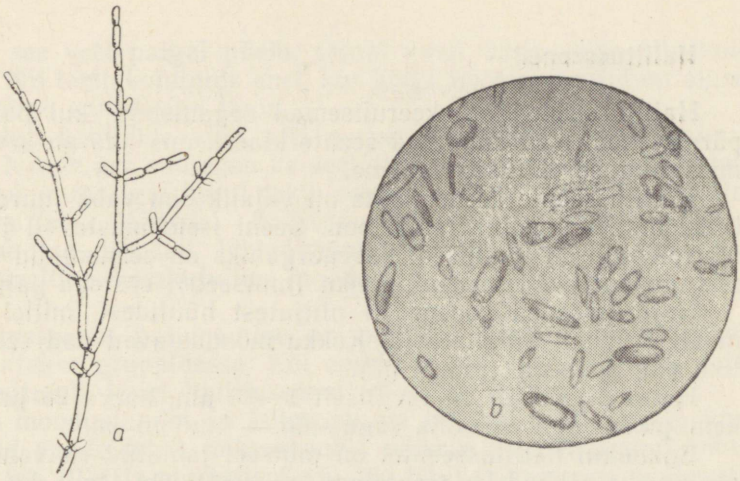
Saccharomyces cartilaginosus (joonis 65, *a*) esineb hapupiimatoodetes. Ta paljuneb põhiliselt galaktoosi kääritamise arvel, mis tekib laktoosist piimhappebakterite abil. Kääritab glükoosi, galaktoosi, sahharoosi ja maltoosi, kuid mitte laktoosi.

Saccharomyces lactis (joonis 65, *b*) esineb hapupiimatoodetes. Kääritab glükoosi, galaktoosi, sahharoosi, laktoosi, ksüloosi, kuid mitte maltoosi. Piimas arenedes on temperatuuri piir 45—50° C.

Schizosaccharomycetaceae sugukonda kuuluvad pooldumise teel ja eostega paljunevad pärmseened. *Schizosaccharomyces pombe* (aafrika pärmid) perekonda kuuluvad pärmseened moodustavad eostega kotte pärast vegetatiivrakkude kopulatsiooni.



Joonis 65. Eoseid moodustavad pärmseened:
vasakul — *Sacchar. cartilaginosus;* paremal — *Sacchar. lactis.*



Joonis 66. Eosteta pärmseened:
a — *Candida* perekond; *b* — *Mycoderma* perekond.

Torulopsidaceae sugukonda kuuluvad pärmseened paljunevad pooldumise teel. Eoseid nad ei moodusta. Piimatoodetes esineb selle sugukonna kolm perekonda: *Candida, Torulopsis, Mycoderma.*

Candida perekonna pärmseened (joonis 66) moodustavad rakkude hargnenud ahelatena pseudomütseeli (vale mütseel). Paljud liigid kääritavad süsivesikuid. Mõningad on võimelised rasvu lagundama.

Torulopsis perekonna pärmseened ei moodusta pseudomütseeli. *Torulopsis keefir* ja *Torulopsis sphaerica,* mis isoleeriti keefiriseentest, kääritavad laktoosi. Paljud liigid lagundavad rasvu.

Mycoderma perekonda (joonis 66, *b*) kuuluvad pärmseentesarnased mikroorganismid, mille rakud on ovaalsed või silinderjad. Paljunevad pungumisel, kusjuures pungad emarakust ei eemaldu. Süsivesikuid ei käärita. Arenevad hapupiimatoodete ja pehmete juustude pinnal. On tugevalt proteolüütiliste omadustega.

* * *

Pärmseeni kasutatakse piimatööstuses. Nad võivad piimatoodete kvaliteeti mõjustada nii positiivselt kui ka negatiivselt. Selliste hapupiimatoodete valmistamisel nagu keefir ja kumõss on nad vajalikud. Kohupiimas ja hapukoores kutsuvad nad esile alkoholkäärimise, mis põhjustab maitse- ja lõhnavigu.

Süsivesikuid mittekääritavaid pärmseeni (perekond *Torulopsis*) kasutatakse või valmistamisel, sest nad takistavad või hallitamist selle pikaajalisel säilitamisel ning pidurdavad selliste vigade teket, mis on seotud rasva lagunemisega. Suurt kahju tekitavad sahharoosi kääritavad pärmseened kondenseeritud piima (suhkruga) tootmises.

Hallitusseened

Hallitusseened on keerulisemad organismid kui bakterid ja pärmseened. Nad kuuluvad seente klassi, mis haarab arvukaid ja mitmesuguse ehitusega vorme.

Hallitusseente arenemiseks on vajalik õhu vaba juurdepääs ja keskkonna happeline reaktsioon. Seeni iseloomustavad järgmised morfoloogilised tunnused: kasvuorganiks on seeneniidid (hüüfid), mis moodustavad seeneniidistiku (mütseeli); eostega paljunemine.

Hallitusseened koosnevad niitjatest hüüfidest, millel on enamasti arvukalt külgharusid. Kokku moodustavad nad seeneniidistiku ehk mütseeli (joonis 67).

Hüüfi diameeter on tavaliselt 1—10 μm, harva 20 μm ja rohkem, pikkus aga võib olla väga suur — kuni 10 cm.

Enamikul hallitusseentel on mütseel jaotatud ristvaheseintega üksikuteks rakkudeks (septidega mütseel). On teada ka üherakulisi hallitusseeni *(Mucor)*, mille hargnenud mütseel, ehkki see on mõõtmetelt üsna suur, kujutab endast ühte diferentseerimata rakku (septideta mütseel).

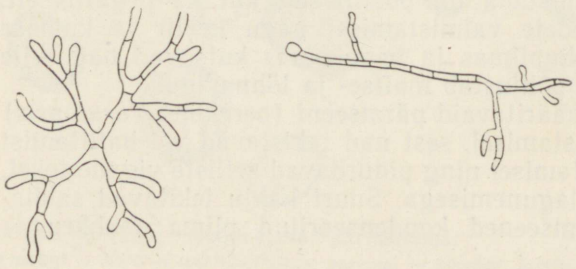
Eoste kasvades tahke söötme pinnal tekib pindmine seeneniidistik — hallituse koloonia. Kui ümbritseva keskkonna niiskus on küllaldane, kerkib osa hüüfe pinnale ning tekib viltjas poolkera, mis koosneb õhumütseelist.

Erinevalt taimeseemnetest on eos üherakuline ning moodustab kasvades niitja võrse, millest hiljem areneb vastav organism. Eosed jagunevad päritolult endogeenseteks ehk sisemisteks ja eksogeenseteks ehk välimisteks.

Endogeensed eosed tekivad enamasti erilistes eoslais, mida nimetatakse sporangiumideks (mukor-hallitusseened). Sporangiumi valmides puruneb kest ja selles olevad eosed pudenevad laiali.

Eksogeenseid eoseid nimetatakse koniidideks (lülieosteks). Nad tekivad vahetult õhumütseelil või erilistel hüüfidel — koniidikandjatel.

Koniidikandja ots eraldub vaheseinaga, muutub ümmarguseks ja kukub ära koniidina. Sageli formeerub esimese koniidi alla,



Joonis 67. Hallitusseene mütseeli arenemine.

seni kui see veel paigal püsib, samal viisil teine, teise alla kolmas jne. Nii tekib koniidide ahel, kus kõige noorem koniid on aluse juures, kõige vanem aga tipus.

Et tekib koniidide ahel, siis suureneb koniidide arv koniidikandjal. Nende arv suureneb ka seetõttu, et koniidikandja hargneb otsast, kusjuures igal harul tekib oma koniidide ahel (aspergillid ja penitsillid). Mõnedel hallitusseente liikidel ümbritsetakse koniidikandjad tihedalt läbipõimunud hüüfide kestaga. See on tumedavärviline kerakujuline moodustis, mida nimetatakse pükniidiks.

Hallitusseente paljunemine on põhiline tunnus, mille alusel nad jaotatakse gruppidesse. Kui eoseid ei ole veel tekkinud, pole ainult mütseeli järgi hallitusseeni võimalik määrata.

Eoste moodustumist on kõige parem jälgida Petri kausis, kus kolooniaid vaadeldakse mikroskoobis väikese suurendusega (okulaar 7× või 10× ja objektiiv 8 või 20) läbivas valguses (valgusti eemaldada). Et eoste asetus oleks selgemini nähtav, tuleb vaadelda koloonia serva või seda kohta, kus hallitus kasvab vähem intensiivselt.

Parem on uurida hallitusseene noort kultuuri (nädalavanust), kuni eosed pole veel pudenenud. Mikroskopeerimiseks võetakse ettevaatlikult nõelaga materjali hallituskoloonia pinnalt, pannakse esemeklaasile asetatud veetilka, kaetakse katteklaasiga ning vaadeldakse kuiv- või immersioonsüsteemil suurte suurendustega. Eoste loomulik asend mikroskopeerimisel on rikutud, kuid tavaliselt õnnestub preparaadis leida kohti, kus on näha koniidikandja ehitus, koniidi kuju jms.

Piimatoodetes sagedamini esinevaid hallitusseeni

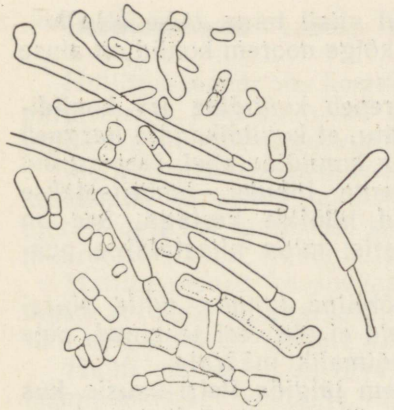
Oidium'i perekond. Selle perekonna esindaja on *Oidium lactis* (piimahallitus) (joonis 68). Piimahallituse valge sametjas mütseel ei tumene kunagi ega tekita värvilisi viljakandjaid.

Mikroskoobis on *Oidium lactis*'e mütseel nähtav paljurakuliste hargnevate niitidena.

Piimahallitusel ei teki spetsiaalseid viljakandjaid organeid, kuid üksikud mütseeliniidid jaotuvad otsast alates üksikuteks rakkudeks — oiidideks, mis on analoogilised eoste ja koniididega.

Oidium lactis't esineb piimatoodetes sageli. Ta areneb õrna valge sametja kilena kõigi piimasaaduste, juustude, koorevõi ning nende jääkide pinnal, kui neid säilitada pikemat aega. Piimahallitus on suuteline arenema mitte ainult pinnal, vaid ka toote sees, kus õhu juurdepääs on minimaalne. Sel juhul on kasv märgatavalt nõrgem. *Oidium lactis* põhjustab rääsunud maitset.

Piimahallitus, mis levib tööstuses halvasti steriliseeritud nõude ja seadmete kaudu, on üsna vastupidav kõikidele desinfitseerivatele lahustele, mida käesoleval ajal piimatööstustes kasutatakse.



Joonis 68. *Oidium lactis.*

Oiidid, mis jäävad halval pesemisel seadmete nurkadesse, saastavad tehnoloogilise protsessi käigus kogu toodangu. Juba 24 tunni pärast võib valmistoodangu pinnal näha üksikuid peeni kahuseid täppe — piimahallituse kolooniaid.

Piimahallituse vastu võitlemiseks tuleb enne tehnoloogilise protsessi algust seadmetest läbi lasta auru või kuuma vett (80—90° C).

Mucoraceae s u g u k o n d. Mukorhallitusi esineb sageli pinnases ja sõnnikus, kust satuvad ka piimatoodetesse, põhjustades nende riknemist.

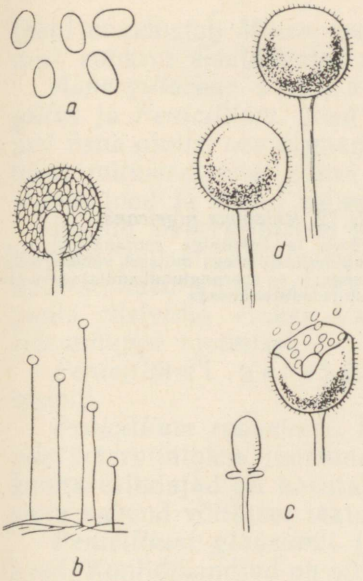
Mukorhallitused moodustavad õhulise hargnenud üherakulise mütseeli, mis kasvab enamasti toitesubstraadi sees. Mütseelist kerkivad arvukad pikad jämedad, kuid hargnemata seeneniidid — sporangiumikandjad, mis tekitavad substraadi pinnal koheva ämblikuvõrgutaolise viltja korra. Sporangiumikandjate otstes moodustuvad sporangiumid, mis on palja silmaga nähtavad tumedate täppidena.

Sporangiumi moodustudes paisub sporangiumikandja ots kerakujuliselt ja eraldub vaheseinaga. Seejuures moodustub nn. kolonn, mis kujutab endast sporangiumikandja jätku sporangiumis. Sporangiumi esialgu tuumadega tihedalt täidetud protoplasma jaguneb arvukateks spoorideks ehk eosteks. Pärast valmimist sporangiumikile puruneb ja spoorid satuvad väliskeskkonda.

Mucor'i p e r e k o n d. Siia kuuluvad järgmised liigid.

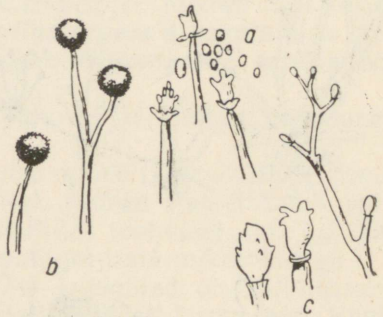
Mucor mucedo (joonis 69) moodustab kollakashallikaid kolooniaid, mille sporangiumikandjad ei hargne ning kasvavad kuni 4 cm pikkuseks. Sporangiumid on kollakashallid, palja silmaga nähtavad, pealt kaetud kaltsiumoksalaadi kristallidega.

Mucor spinosus (sünonüüm on *Mucor plumbeus*) (joonis 70) moodustab üsna madalaid tinahalle kolooniaid. Sporangiumikandjad on pikad, peened, palja silmaga halvasti nähtavate mustade



Joonis 69. *Mucor mucedo:*
a — eosed; *b* — sporangiumikandjatega mütseel; *c* — sporangium eoste ja kolonniga; *d* — sporangium.

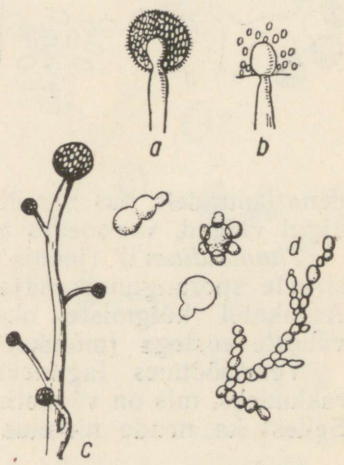
Joonis 70. *Mucor spinosus:*
a — eosed; b — sporangium; *c* — kolonn.



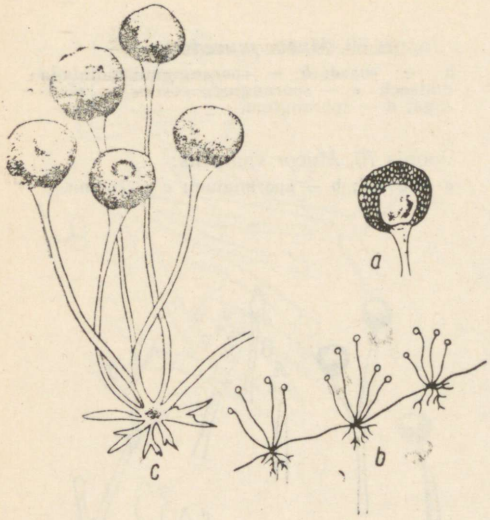
sporangiumidega. Kolonni ülemises osas on omapärane teravnenud väljakasv.

Mucor racemosus (joonis 71) on valge siidise kolooniaga, mis seistes muutub pruuniks. Sporangiumikandjad on kõrged, peened, tugevasti hargnenud. Harude otstes on väikesed sporangiumid.

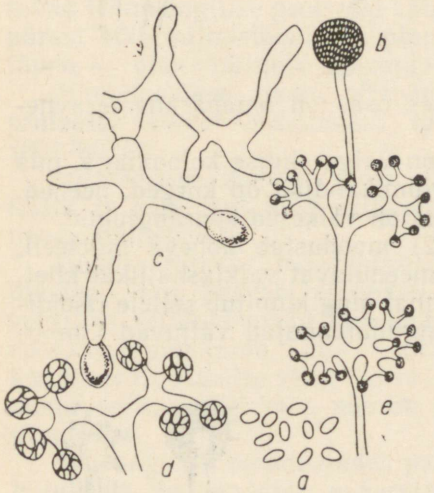
Rhizopus nigricans (joonis 72) moodustab koheva mütseeli, mis kujutab endast ämblikuvõrku meenutavat valkjashallikat kilet. Viimane levib kiirelt substraadi pinnal ning kinnitub sellele risoidikimpudega (juurekestega). Sporangiumikandjad väljuvad kimpu-



Joonis 71. *Mucor racemosus:*
a — sporangium; *b* — katkenud kestaga valminud sporangium, kolonn ja eosed; *c* — sporangiumikandja koos sporangiumidega; *d* — mukor-pärmseened mitmesuguse suurendusega.



Joonis 72. *Rhizopus nigricans:*
a — eoste ja kolonniga sporangium; *b* — sporangiumikandjatega mütseel väikese suurendusega; *c* — sporangiumikandjatega mütseel suure suurendusega.



Joonis 73. *Thamnidium:*
a — eosed; *b* — sporangiumid; *c* — mütseel; *d* — peened külgmised sporangiumid; *e* — pea- ja külgmiste sporangiumidega sporangiumikandja.

dena kohtadelt, kus risoidid kinnituvad. Sporangiumid on suured, algul valged, vananedes tumenevad.

Thamnidium'il (joonis 73) on valkjashall koloonia. Pikkade sirgete sporangiumikandjate otstes tekib üks suur sporangium. Arvukatel külgmistel okstel tekivad väikesed kolonnideta ja väheste eostega (mõnikord 1—2) sporangiumid.

Vedelsöötmes lagunevad mukorseente mütseelid üksikuteks rakkudeks, mis on võimelised edaspidi paljunema pungumise teel. Sellest ka nende nimetus «mukor-pärmseened». Selliseid pärm-

seeni moodustab *Mucor racemosus*, mis tekitab alkohoolset käärimist suhkrut sisaldavates vedelikes.

Aspergillaceae s u g u k o n d a kuulub kaks perekonda: *Aspergillus* ja *Penicillium*. Neid esineb arvukalt pinnases, kus etendavad üsna olulist osa orgaaniliste jäätmete lagundamisel. Arenevad hästi mitmesugustel suure niiskusega orgaanilistel substraatidel (toiduained ja muud sellesarnased).

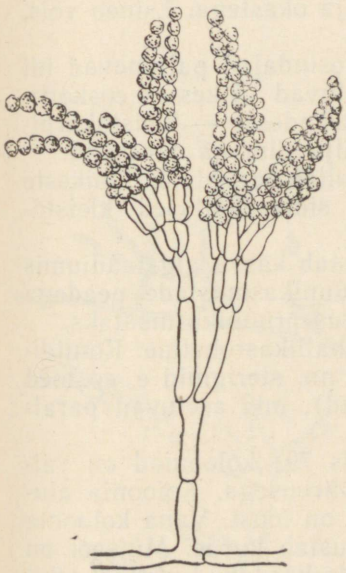
Paljud *Aspergillaceae* sugukonna esindajad põhjustavad puuviljade, juurviljade ja piimatoodete riknemist. Mõnda liiki rakendatakse kasulikult. Näiteks *Aspergillus oryzae*'d kasutatakse Jaapanis riisiviina «sake» valmistamisel. *Citromyces*'t tarvitatakse sidrunhappe tootmisel.

Penicillium'i p e r e k o n d a kuuluvad järgmised mikroorganismid.

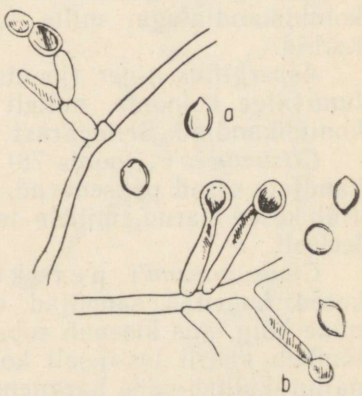
Penicillium roqueforti, Penicillium album'i, *Penicillium candidum*'i tarvitatakse juustude tootmisel. Mõned *Penicillium*'i perekonna esindajad on kasutusel penitsilliini tootmisel, mis on tähtsaim vahend võitluses teatud liiki patogeensete mikroobidega.

Penicillium glaucum'i (joonis 74) kolooniad on hallikasrohelised. Koniidikandjad on sirged, pintslikujuliselt hargnenud. Koniidide ahelad on enamasti tugevalt üksteise vastu surutud. *Penicillium glaucum* esineb võis, põhjustades rääsunud maitset.

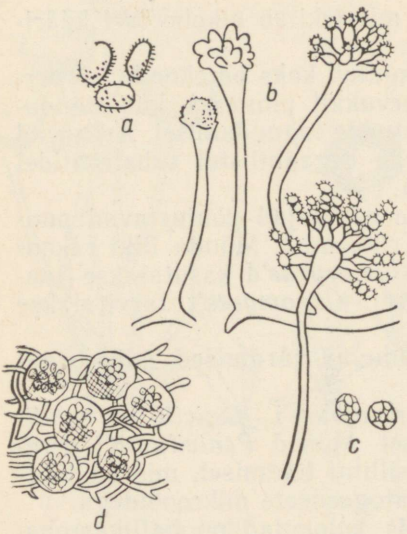
Penicillium brevicaule (joonis 75) koloonia on villasarnane, helepruuni värvusega. Valminult muutub limajaks ning tekib eba-



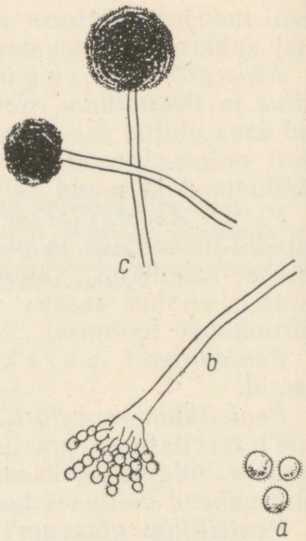
Joonis 74. *Penicillium glaucum.*



Joonis 75. *Penicillium brevicaule:*
a — koniidid; *b* — koniidikandja.



Joonis 76. *Aspergillus glaucus:*
a — koniidid; *b* — koniidiahelatega koniidikandjad; *c* — kleistokarbid; *d* — eostega kotid.



Joonis 77. *Aspergillus niger:*
a — eosed; *b* — koniidikandja arenemine; *c* — koniidikandja peake.

meeldiv lõhn. Koniidikandjad on sageli hargnemata ning peente pintslitega. Koniidid on sidrunikujulised ja okastega. Esineb võis, kus põhjustab rääsumist.

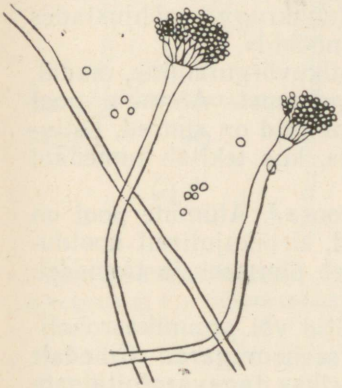
Aspergillus'e perekonna mõned esindajad paljunevad nii koniididega kui ka eostega, mis moodustuvad väikestes eoskottides. Eoskotid on suletud erilistesse viljakehadesse — kleistokarpidesse, mis tekivad substraadil ning on palja silmaga nähtavad.

Aspergillus glaucus'e niidistik on kollakasroheline, lühikeste koniidikandjatega, mille vahel asuvad sidrunikollased kleistokarbid.

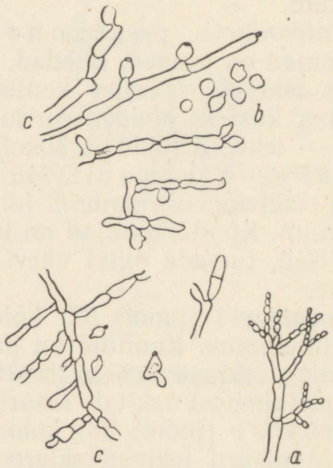
Aspergillus niger (joonis 77) moodustab kasvu algstaadiumis lumivalge koloonia, millelt kerkivad pruunikasmustade peadega koniidikandjad. Sellepärast muutub hallitus pruunikasmustaks.

Citromyces'e (joonis 78) koloonia on hallikasroheline. Koniidikandjate otsad paksenevad, moodustades nn. sterigmid e. eostoed (lühikesed harud, millele tekivad koniidid), mis asetuvad paralleelselt.

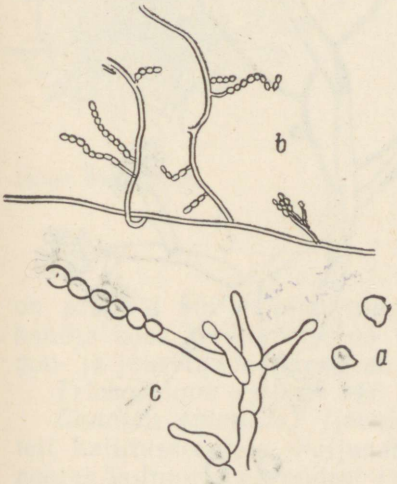
Cladosporium'i perekonna (joonis 79) kolooniad on väikesed, lamedad, sametjad, oliivrohelise värvusega. Koloonia alumine külg, mis kleepub substraadi külge, on must. Vana koloonia tõmbub agaril tavaliselt kokku ja moodustab kurde. Mütseel on paljurakuline, vähe hargnenud. Pinnalt üleskasvanud niitidel tekivad oliivrohelised ovaalsed koniidide kobarad. *Cladosporium*'i esineb võis, sest ta saab areneda väga vähese õhu juuresolekul ning



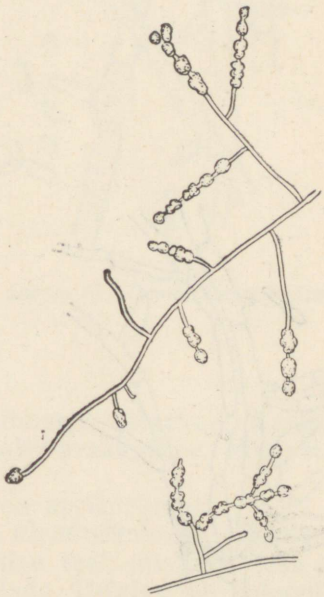
Joonis 78. *Citromyces.*



Joonis 79. *Cladosporium:*
a — koniidikandjatega mütseel; *b* — koniidid; *c* — koniidikandjatega mütseel (mitmesuguste suurendustega).



Joonis 80. *Catenularia:*
a — koniidid; *b* — koniidikandjatega mütseel; *c* — osa koniidikandjatega mütseelist.



Joonis 81. *Alternaria.*

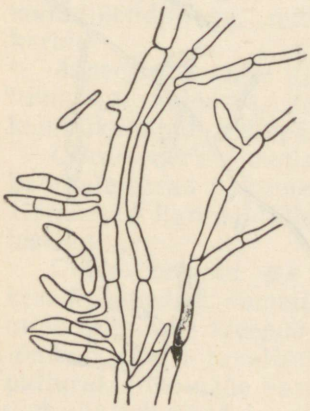
kutsub esile või nn. sisemise hallitamise, kui seal esineb mikrotühikuid.

Catenularia perekond (šokolaadhallitus) (joonis 80). Kolooniad on peened, tihedad, kasvavad aeglaselt. Mütseeli niitide otstes tekivad ridamisi koniidid nagu pärlite ahelad. Šokolaadhallitus kasvab kondenseeritud piimas (suhkruga), põhjustades vigu — tekivad tükid ja šokolaadikarva «nööbid».

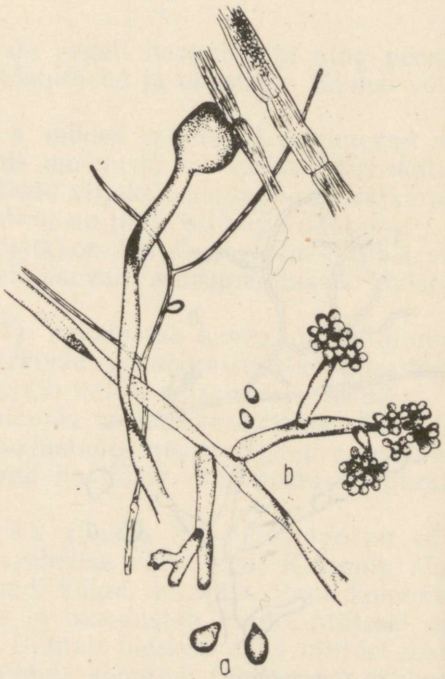
Alternaria (joonis 81). Mütseel on ämblikuvõrgutaoline, madal, algul kollakas-oliivpruun, hiljem peaaegu must. Alumine pool on pruun. Koniidikandjad on lühikesed. Koniidid on suured, paljuharulised, tumeda oliivi värvi. Esineb võis, kus tekitab tumedaid plekke.

Fusarium'i (joonis 82) kolooniad on roosad. Alumine pool on karmiinpunane. Koniidid on paljurakulised, sirbikujuliselt kooldunud ning tekivad vahetult mütseelil. Esineb pinnases ja taimedel. Kultuurtaimedel tekitab fusarioosi.

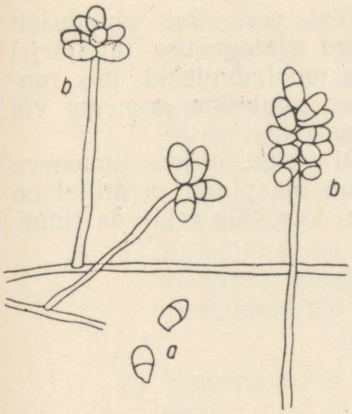
Botrytis'e (joonis 83) kolooniad on hallid või pruunikasrohelised. Mõnikord tekivad sklerootsiumid e. seenemügarad (tihedalt läbipõimunud hüüfidega mütseel, mis on rikas tagavaratoitainete poolest ning varustab nendega seent halbades tingimustes), mis



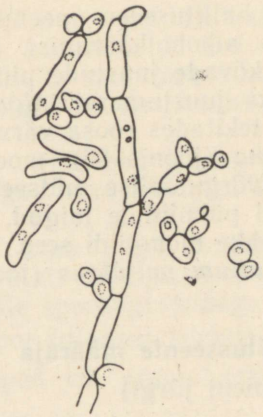
Joonis 82. *Fusarium.*



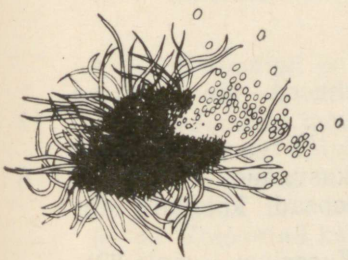
Joonis 83. *Botrytis:*
a — koniidid; *b* — koniidikandjad.



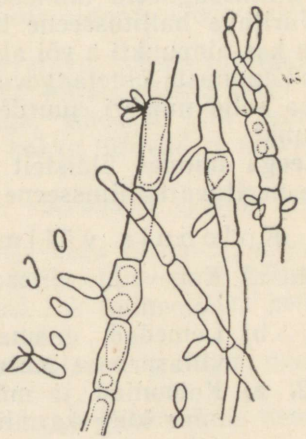
Joonis 84. *Trichothecium:*
a — koniidid; *b* — koniidikandjad.



Joonis 85. *Candida.*



Joonis 86. *Phoma.*



Joonis 87. *Dematium pullulans.*

on pruunid või mustad ning palja silmaga nähtavad. Koniidikandja koos koniididega on viinamarjakobarakujuline. Põhjustab puu- ja juurviljade riknemist.

Trichotecium (joonis 84). Hallitus on aprikoosroosa.

Candida (Monilia) (joonis 85) on üleminekuvorm pärmseentelt hallitusseentele. Paljuneb pungumise teel, mistõttu teda on noores kultuuris pärmidest raske eraldada. Esialgu on kolooniad sarnased pärmseente kolooniatega. Alles hiljem rakud pikenevad ning moodustub tõeline mütseel, millest kerkivad õhku niidid.

See hallitusseen meenutab pärmseeni veel oma omaduselt tekitada alkoholkäärimist. *Monilia nigra* elutegevuse tagajärjel võivad kõvade juustude pinnale ilmuda mustad plekid, mis tungivad ka juustumassi. *Monilia rosea* on suuteline arenema või pinnal, tekitades roosa värvusega plekke.

Phoma (joonis 86) moodustab algul valge, hiljem tumeneva ämblikuvõrgutaolise mütseeli, mis laotub üle pinna ja millel on tumedad pükniidide laigud. Esineb võis, kus võib tekitada tumedaid plekke monoliidi sees.

Dematium pullulans (joonis 87).

Hallitusseente määraja

(Gilmeni järgi)

Hallitusseente määrajas on kaks jagu. Esimeses jaos võetakse määramise põhitunnuseks hallitusseente koloonia välimus, teises eosekandja. Iga numbri juures on alapunktid a ja b, mis sisaldavad mitmesuguseid tunnuseid.

Uuritava hallitusseene koloonia tunnused peavad kokku langema kas alapunkti a või alapunkti b tunnustega. Kui on kindlaks tehtud tunnuste ühtelangevus ühega nendest punktidest, tuleb üle minna selle numbri juurde paremal poolel, mida näitab antud alapunkt.

Seega minnes üldistelt tunnustelt üle eritunnustele, määratakse uuritava hallitusseene nimetus.

I. Koloonia välimus

1. a) Kohevad, villasarnased, kahused või kiulised kolooniad 2
   b) Lamedad, enamasti sametjad, harva on koloonia villasarnase mütseeliga läbi kasvanud 8
2. a) Kolooniad ja mütseelid on roosad, koloonia alumine külg karmiinpunane.
   Fusarium (joonis 82).
   b) Kolooniad on teist värvi 3
3. a) Kolooniad on hallid, suurte kohevate koniidikandjatega. Mõnikord tekivad mütseelist pruunid või mustad haavlitera- või herneterakesesuurused sklerootsiumid.
   Botrytis (joonis 83).
   b) Kolooniad on teist värvi 4
4. a) Kolooniad on valged, helehallid, sirgelt seisvate pikkade niitjate sporangiumikandjatega, millel on palja silmaga näha halle ebemeid.
   Thamnidium (joonis 73).
   b) Kolooniad on teist värvi 5

5. a) Kolooniad on väga kohevad, nii et Petri tass kattub lühikese aja jooksul valge, hiljem halli ämblikuvõrgutaolise mütseeliga, mille sporangiumikandjate kimpudel on suured valged sporangiumid, mis hiljem mustenevad.

Rhizopus (joonis 72).

b) Kolooniad on kollakasvalged, pruunikaskollased, tinahallid 6

6. a) Kolooniad on tinahallid, kaua aega suhteliselt madalad, moodustades aeg-ajalt pikki peeni sporangiumikandjaid väga väikeste sporangiumidega.

Mucor spinosus (joonis 70).

b) Kolooniad on kollakasvalged või pruunikaskollased 7

7. a) Kolooniad on kollakashallid, pikkade (kuni 4 cm) vertikaalselt seisvate sporangiumikandjatega, tavaliselt hargnemata, üsna suurte kollaste ja hallide sporangiumidega.

Mucor mucedo (joonis 69).

b) Kolooniad siidjad, kollakasvalged, kollakaspruunid, üsna lamedad, veidi kahused, hiljem peente hargnenud sporangiumikandjatega, tihedalt täis peeni sporangiume, mis peatselt kokku liituvad ja näivad seetõttu limastena.

Mucor racemosus (joonis 71).

8. a) Kolooniad on valge sametja katu sarnased, mõnikord segunenud kahuse mütseeliga ning hiljem enamikul juhtudel värvunud. Äär on tavaliselt heledam või valge 9

b) Kolooniad ei ole puhtalt sametjad ning hiljem muutuvad üha enam 18

9. a) Kolooniad kasvavad puhta valge katuna, mis vanusega ei muutu.

Oidium (joonis 68).

b) Kolooniad on algul enamalt jaolt valged, hiljem värvunud 10

10. a) Kolooniatele annavad aprikoospunase värvuse valge mütseeli värvilised koniidid; Õhumütseel on nõrgalt arenenud ning kolooniatel on selgelt kontsentriline kasv.

Trichotecium (joonis 84).

b) Kolooniad on teisiti värvunud 11

11. a) Kolooniad on algul sinakasrohelised ja hallikasrohelised, hiljem kollakaspruunid 12

b) Kolooniad on teist värvi 13

12. a) Sirged mitmerakulised koniidikandjad, mitmesuguse kõrgusega, mitmekordselt pintslikujuliselt hargnenud, suuremalt osalt tihedalt teineteise külge surutud.

Penicillium glaucum (joonis 74).

b) Koniidikandjad on tipust paisunud, paralleelsete eostugedega.

Citromyces (joonis 78).

13. a) Kolooniad on kollakasrohelised, vaskussi värvi, tumenevate, kohevate, enamasti palja silmaga eraldatavate lühikeste (1 ... 2 mm) koniidikandjatega, mis on sageli segunenud sidrunikollaste terakestega (kleistokarpidega).

Aspergillus glaucus (joonis 76).

b) Kolooniad on teist värvi 14

14. a) Kolooniad on oliivrohelised või oliivpruunid 15

b) Kolooniad on pruunid või mustad 16

15. a) Kolooniad on lamedad, sametjad, oliiv- või hallikasrohelised, alumine pool on must või rohekasmust.

Cladosporium (joonis 79).

b) Kolooniad on algul kollakas-oliivrohelised, oliivpruunid, vananedes segunevad kahuse mütseeliga, alumine pool on tumepruun.

Septosporium (Alternaria) (joonis 81).

16. a) Alumine lumivalge seenekate muutub koloonias tumepruunikasmustaks, äärtelt heledam, kohevsametjas.

Aspergillus niger (joonis 77).

b) Kolooniad on pruunid 17

17. a) Kolooniad on helepruunid, ebaühtlaselt kahused, hiljem limased. Tugeva ebameeldiva arseenilõhnaga (dietüülarseen).

Penicillium brevicaule (joonis 75).

b) Kolooniad on šokolaadpruunid, kasvavad erakordselt aeglaselt, mistõttu on sageli nööpnõelapeasuurused. Kui teised hallitusseened ei lämmata kasvu, siis kasvab tumepruuniks kopikasuuruseks kolooniaks, mille keskel on kraatritaoline süvend. Vananedes muutub välimus tolmunuks.

Catenularia (joonis 80).

18. a) Kolooniad on algul kahused, hiljem limased 19

b) Kolooniad kasvavad aeglaselt ning esialgu pole nad hallituse-, vaid pärmseentesarnased, vahased, hiljem karekarvased.

Candida (Monilia) (joonis 85).

19. a) Kolooniad muutuvad järk-järgult ühtlaselt limaseks, hiljem sageli mustaks.

Pullularia pullulans (Dematium pullulans) (joonis 87).

b) Limaseks muutunud kolooniates on tihedalt peeni sõlmekesi.

Phoma (joonis 86).

II. Eosekandja järgi

1. a) Paljuneb eostega, mis asuvad sporangiumides sporangiumikandjatel või erilistes eoslates 2
b) Paljuneb koniididega, mis asuvad väljaspool koniidikandjatel, harvem vahetult mütseelil või erilistes eoslates 7
2. a) Spoorid moodustuvad sporangiumides sporangiumikandjatel 3
b) Eosed moodustuvad keskel asuvas ümarjas kehas (kleistokarpides), mis on värvunud kollaseks. 4—8 eose kaupa on eosed suletud ümarjatesse või ovaalsetesse askustesse (kottidesse), mille diameeter on 6—10 µm.
Eosed on värvuseta, põiki asetsevate vagudega.

Aspergillus glaucus (joonis 76).

3. a) Sporangiumikandja on lihtne, harva hargnev 4
b) Sporangiumikandja on hargnenud 5
4. a) Sporangiumikandjad, mis asetsevad eraldi, on vertikaalsed, kõrgus 1,5—2 cm (kuni 10 cm); sporangiumid on ümarjad, kollased või hallid, diameeter 100—200 µm, palja silmaga hästi nähtavad. Sporangiumide pind on kaetud peenikeste oblikhappekristallidest nõelakestega. Eosed on elliptilised, värvuseta, siledad, 6—12×3—6 µm. Kolonn on sile, mitmesuguse kujuga — silinderjas, pirnikujuline või ümarjas; kõrgus 70—140 µm, laius 50—80 µm.

Rhizopus nigricans (joonis 72).

b) Sporangiumikandjatel, mis väljuvad ühest ühisest punktist ja mille kõrgus on 2—4 mm, laius 24—42 µm, on suured mustad peakesed diameetriga 100—350 µm. Eosed on hallid, ümarjad või

ovaalsed, nurgelised, mitmesuguse suurusega — (9—12)×(7,5—8) µm. Kolonn on poolümarja kujuga, diameeter 80—90 µm.

Rhizopus nigricans (joonis 72).

5. a) Sporangiumikandja harud on lihtsad, vispli- või kahvlikujuliselt hargnenud 6
   b) Sporangiumikandjad on hargnenud õhulise kimbuna, harva tipust, sageli paljudest kohtadest; harud paiknevad visplikujuliselt üksteise vastas; peasporangiumikandja otsas on ümarjas sporangium diameetriga 100—200 µm; kolonni pikkus 60—90 µm ja läbimõõt 50—70 µm; harudel on mitmesuguse diameetriga sporangioolid (väga väikesed, kuni 24 µm).

Thamnidium (joonis 73).

6. a) Sporangiumikandjad on väga peened, hiirhallid, palja silmaga halvasti nähtavate sporangiumidega, mille diameeter on 100—130 µm ja mis on ümbritsetud kristallidega kaetud kilega; eosed on ümarjad, ebakorrapärased, hallid, diameeter 5—9 µm; kolonnid on mitmesuguse kujuga, sagedamini ovaalsed või pirnikujulised, ülemises osas omapäraste teravnenud väljakasvudega.

Mucor spinosus (joonis 70).

   b) Sporangiumikandjate kõrgus on 0,5—4 cm, paksus 8—20 µm, peened, arvukalt hargnenud, lühikeste külgharudega, kollakaspruunid; sporangiumid on üsna peened, diameeter 10—20 µm; eosed on ümarjad, ebakorrapärased, värvuseta, 6—10×5—8 µm. Kolonn on korrapärase kujuga — ümarjas või prinjas-elliptiline, kraekesega.

7. a) Koniidid moodustuvad koniidikandjate otstes või vahetult mütseelil 8
   b) Koniidid moodustuvad ümarjates või ovaalsetes pükniidides ja väljuvad nendes oleva ava kaudu; üherakulised, värvuseta, värtnakujulised kuni pikendatud ellipsi kujulised.

Phoma (joonis 86).

8. a) Koniidid moodustuvad tavaliselt erilistel koniidikandjatel, harva vahetult mütseelil 9
   b) Koniidid moodustuvad alati mütseelil (punguvad koniidid) 21
9. a) Koniidikandjad on lihtsad ja mittehargnenud 10
   b) Koniidikandjad on hargnenud 12

10. a) Koniidikandjad on pikad, peened, ilma vaheseinteta ja hargnemata; peakese otsas on jämedad, kaheks osaks hargnenud pirnikujulised, algul värvuseta, hiljem helepunased koniidid suurusega 6—12×6—8 µm, mis on hapralt ühendatud.

Trichothecium (joonis 84).

b) Koniidikandjad on lühikesed või peaaegu puuduvad 11

11. a) Koniidikandjad õigupoolest puuduvad. Peened ümarjad punakaspruunid koniidid tekivad mütseeli niitide otstesse pikkade ahelatena nagu pärlid; kaua ei pudene.

Catenularia (joonis 80).

b) Koniidikandjad kujutavad endast enamasti mütseeli lühikesi külgharusid, mõnikord kahvlikujuliselt hargnenud; koniidid on jämedad, mitmerakulised, ümarjad või pirnikujulised, tumeda oliivi värvi, muutuvad kuni mustaks.

Septosporium (Alternaria) (joonis 81).

12. a) Koniidikandja ehitust või koniidi kinnituskohta võib jälgida ainult tilkkultuuris, sest külgepuutumisel nad pudenevad 13

b) Koniidikandjate ehitust või koniidi kinnituskohta võib jälgida preparaadis 14

13. a) Koniidid moodustuvad mütseeli lihtsal jaotumisel ja pudenevad; nad on värvuseta, täisnurksed, mõnikord ahelateks reastunud, 10—30×3,5 µm.

Oidium (joonis 68).

b) Koniidid on punakaspruunid, asuvad põikvaheseintega jaotatud pikkadel koniidikandjatel hargnenud ahelatena.

Cladosporium (joonis 79).

14. a) Koniidikandjad on umbes 1 mm kõrgused, ülemised rakud on puusarnaselt hargnenud, moodustades viinamarjakobara kuju. Harude otsad on paisunud ning neil asub arvukalt eostugesid, millel moodustub üks üherakne kollakaspruun elliptiline või ümarjas siledakestaline koniid. Koniidi on kerge ära tunda suuruse järgi, 9—15×6,5—10 µm.

Botrytis (joonis 83).

b) Koniidikandjad on teisiti hargnenud 15

15. a) Koniidikandjad on otsast mitmekordselt pintsli- või kahvlisarnaselt hargnenud. Koniidid on ahelatena,

värvuseta või nõrgalt rohelised, siledad, ümarjad, diameeter 25 μm.

Penicillium (joonis 74).

b) Konidikandjad on hargnemata või oksakujulised (erandina) 16

16. a) Konidikandjad on enamikul juhtudel lihtsad, mõnikord kahvlisarnased või põõsasarnaselt hargnenud 17

b) Konidikandjad on otsast nööpnõela- või kerakujuliselt paisunud, mõnikord paksenemine puudub .. 18

17. a) Konidikandjad on sageli hargnemata, lühikesed. Konidid asuvad üsna pikkadel eostugedel ja on kollakaspruunid, ümarjad või sidrunikujulised, paksuseinalised, algul siledad, hiljem krobelised ja nõeljad, 5—9×4—7 μm.

Penicillium brevicaule (joonis 75).

b) Konidid on välja venitatud, sirbikujulised, mõnikord paljurakulised, värvuseta, massiliselt esinedes punased, mõnikord tekivad vahetult mütseelil.

Fusarium (joonis 82).

18. a) Konidikandjad on alati otsast kerakujuliselt või nööpnõelakujuliselt paksenenud ning üle külvatud arvukate eostugedega 19

b) Otsa paksenemine on vähemärgatav, eostoed paiknevad sellel paralleelselt; konidiahelad ei ole hargnenud; konidid on peened, diameeter 2,3—3,8 μm, ümarjad, siledad, värvuseta.

Citromyces (joonis 78).

19. a) Nööpnõelasarnaste või kerajate paksenditega konidikandjad; eostoed ei ümbritse peakest igast küljest või ümbritsevad üksnes vanadel kultuuridel 20

b) Konidikandjad, tavaliselt vaheseinteta, on otsast ümarjalt paksenenud, diameeter umbes 80 μm; eostoed paiknevad paksendi ümber ning on hargnenud; primaarsed — pikad ja peened, sekundaarsed — lühikesed. Konidid on peened, diameeter umbes 9,5—4,5 μm, ümarjad, algul siledad, hiljem krobelised ja tumepruunid.

Aspergillus niger (joonis 77).

20. a) Pikenenud eostugedega koniidid on algul siledad, hiljem tüükalised, rohekad, ümarjad või elliptilised, diameeter 7—10 μm.

Aspergillus glaucus (joonis 76).

21. a) Värtnasarnased või piklik-ümarjad koniidid, 9—13×3,6—5 μm, moodustuvad vahetult mütseelil.

Pullularia pullulans (Dematium pullulans) (joonis 87).

b) Pärme meenutavad munasarnased koniidid, 5,9×3,4 μm, moodustuvad vahetult mütseelil.

Candida (Monilia) (joonis 85).

ERIOSA

IV PEATÜKK

PIIMA KVALITEEDI KONTROLLIMISE MEETODID

PIIMA PUHTUSE MÄÄRAMINE

Piima puhtust määratakse seadme abil, mis on konstrueeritud Üleliidulises Või- ja Juustutööstuse Teadusliku Uurimise Instituudis (ВНИИМС).

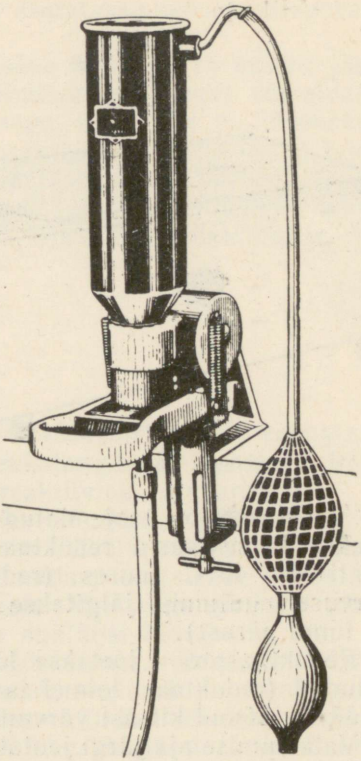
Analüüsimiseks asetatakse koonusekujulise seadme kaane võrgule vatiketas. Kaas kruvitakse seadme keermetega osa külge ja seade asetatakse statiivi rõngasse.

Pärast segamist võetakse piimamahutist mõõtekopsikuga 250 ml piima, valatakse seadmesse ja filtreeritakse läbi vatiketta. Filtreeritud piim koguneb seadme alla asetatud nõusse. Kaas kruvitakse lahti, vatiketas võetakse ära ja piima puhtust hinnatakse kehtivate etalonide järgi.

Mõõtekopsiku asemel võib piimaproovi võtta ka metalltoruga. Sel juhul suletakse toru ülemine ots pöidlaga ja toru lastakse nõu põhja. Seejärel eemaldatakse pöial toru otsalt ja võetakse piimaproov. Toru ülemine ots suletakse uuesti pöidlaga ja toru tõmmatakse kiiresti välja. Piim lastakse seadme koonuselisse ossa.

Teistkordsel piimaproovi võtmisel samast piimakannust kontrollitakse kannu põhjas oleva piima puhtust toru alumise otsa siksakilise liigutamisega mööda kannu põhja. Ka see piimaproov lastakse seadme koonuselisse ossa. Igast kannust võetakse toruga 2—3 proovi.

Hollandi seade piima puhtuse määramiseks on teistsuguse ehitusega. 250 ml piima valatakse seadme pumbale. Pumba kolb peab olema üles tõstetud. Eelnevalt asetatakse pump



Joonis 88. Piima puhtuse määramise seade.

kummirõnga ümmargusele väljalõikele, mille vastu ta surutakse ühe käega. Piim surutakse pumba kolviga läbi vattfiltri, mis on asetatud kummirõnga alla. Vattfiltrile jäävad piimas olnud mehaanilise mustuse osad.

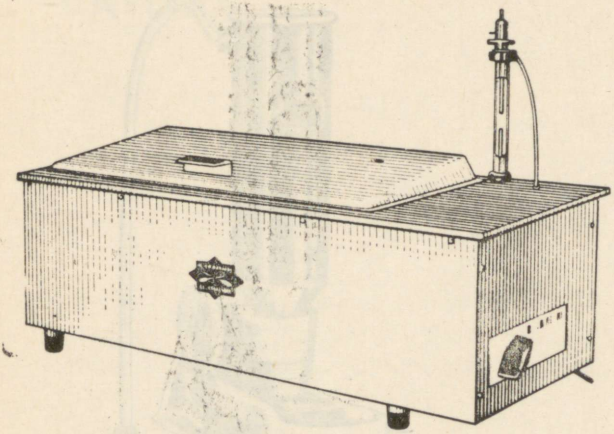
Piimas leiduvate mehaaniliste lisandite hulga määramiseks võrreldakse pärgamentpaberil kuivatatud vattfiltreid etalonidega.

REDUKTAASPROOV

Reduktaasproov on laialt levinud meetod mikroobide hulga kaudseks määramiseks toorpiimas. Meetod põhineb mõningate mikroobide omadusel eritada ümbritsevasse keskkonda reduktaasi — taandavate omadustega fermenti.

Reduktaasi eritusvõime ei ole eri mikroobigruppidel ühesugune, mistõttu mikroobide hulk piimas ei lange alati kokku metüleensinise taandamise ajaga.

Reduktaasi määramiseks valatakse kuuma veega pestud katseklaasidesse 1 ml metüleensinise lahust (5 ml küllastatud metüleensinise alkohollahust ja 195 ml destilleeritud vett) ja 20 ml uurita-



Joonis 89. Reduktaasiaparaat.

vat piima, mis on soojendatud 38—40° C-ni. Pärast segamist asetatakse katseklaasid reduktaasiaparaati (joonis 89) või termostaati 38—40° C juures (reduktaasi optimaalne temperatuur). Värvuse muutumist jälgitakse kolm korda (20 minuti, 2 tunni ja 5,5 tunni pärast).

Reduktaasproov loetakse lõppenuks, kui värvus on täielikult kadunud (reduktaasi toimel taandub metüleensinine värvituks).

Järelejäänud kitsast värvunud kihti piima peal ei arvestata.

Valastumise aja järgi jaotatakse piim 4 klassi (tabel 14).

Piima bakteriaalse saastumise orienteerivaks määramiseks kasutatakse Üleliidulise Või- ja Juustutööstuse Teadusliku Uurimise Instituudi poolt väljatöötatud meetodit reduktaasproovi kiiremaks määramiseks.

Kiirendatud proovi jaoks valmistatakse vahetult enne määramist väikeses koguses kümnekordselt lahjendatud metüleensinise töölahus, s. t. 10 ml metüleensinise lahusele lisatakse 90 ml destilleeritud või äsja keedetud ja jahutatud vett.

Mõned minutid enne piima vastuvõtmist mõõdetakse puhastesse katseklaasidesse pipetiga või büretist 1 ml lahjendatud metüleensinise lahust. Seejärel võetakse pärast hoolikat segamist igast piimakannust metallist mõõtenõuga 10 ml piima ja valatakse katseklaasi. Katseklaas suletakse tihedalt kummikorgiga, sega-

Tabel 14

Klass	Valastumise aeg tundides	Piima kvaliteet	Bakterite arv miljonites
I	Üle 5,5	Hea	Alla 0,5
II	5,5—2	Rahuldav	0,5—4
III	3—20 min.	Halb	4—20
IV	Alla 20 min.	Väga halb	Üle 20

takse katseklaasi ümber pöörates ja asetatakse reduktaasiaparaati 38—40° C juures.

Piima värvuse muutumist jälgitakse 5, 10 ja 15 minuti järel. Värvusetuks muutumise momendi kindlakstegemiseks võrreldakse metüleensinise lahusega proovi piimaga, kuhu pole metüleensinist lisatud. Proovi võtmise eel loputatakse mõõtenõud 1—2 korda vastava piimakannu piimaga ja valatakse tagasi piimakannu.

Töö lõppedes pestakse katseklaasid, pipetid, korgid ja mõõtenõud hoolikalt puhtaks, töödeldakse auruga või keedetakse vees ja kuivatatakse.

RESASURIINPROOV

Tehnikalt ja põhimõttelt ei erine resasuriinproov reduktaasproovist. Mõlemad annavad hästi kokkulangevad tulemused. Resasuriinproovi tegemisel kasutatakse reaktiivina resasuriini.

Resasuriinil on metüleensinise ees mõningaid eeliseid. Värvusetuks muutumine toimub kahes osas. Täielik värvusetuks muutumine lõpeb kõrgema hapendus-taanduspotentsiaali juures kui metüleensinisel. See võimaldab suure täpsusega jaotada piima klaasidesse ja tunduvalt lühendada analüüsi kestust.

Algstaadiumis on reaktsioon pöördumatu. Resasuriin läheb algul üle resorufiiniks. Värvus muutub aeglaselt terashallist üle kõikide lillade toonide roosaks. Resorufiiniks üleminek toimub hapendus-taanduspotentsiaalil 0,2—0,05 v. Seejärel taandub resorufiin värvituks dihüdroresorufiiniks. See on pöördumatu reaktsioon. Värv hakkab muutuma potentsiaalil 0,15—0 v.

On mitu modifitseeritud resasuriinproovi. Kõige vastuvõetavamad on tunnine ja viieminutine resasuriinproov.

T u n n i n e r e s a s u r i i n p r o o v. Piim jaotatakse nelja klassi värvuse järgi (tabel 15).

Proovi tegemiseks valatakse steriilsetesse katseklaasidesse 10 ml piima ja 1 ml resasuriini töölahust. Katseklaasid suletakse (mitte tihedalt) steriilsete kummikorkidega ja asetatakse 38—40° C juures 5 minutiks veevanni.

T a b e l 15

Klass	Piima kvaliteet	Piima värvus		Bakterite arv 1 ml piimas miljonites
		20 min. järel	60 min. järel	
I	Hea	Terashall	Terashall	Alla 0,5
II	Rahuldav	Terashall	Sirelililla	0,5—4
III	Halb	Terashall või roosa	Roosa	4—20
IV	Väga halb	Valge	Valge	Üle 20

37° C-ni soojenenud katseklaasid suletakse tihedalt korkidega ja pööratakse ettevaatlikult 3 korda statiiviga ümber. Uuritavate näidiste temperatuur määratakse koos piimaga kontrollklaasi paigutatud termomeetri abil. Temperatuur hoitakse püsiv (37° C) üks tund.

Näitusid vaadeldakse 20 ja 60 minuti järel. Värvituks muutunud piimaga katseklaasid märgitakse pärast esimese tähtaja möödumist ära ja eemaldatakse, statiiv järelejäänud katseklaasidega pööratakse ettevaatlikult ümber ning jäetakse termostaati või veevannile. Analüüsi tegemise ajal peavad katseklaasid olema valguse eest kaitstud.

Resasuriinilahus valmistatakse järgmiselt. 100 mg resasuriini lahustatakse 200 ml keedetud destilleeritud vees ja hoitakse külmutuskapis. See on nn. põhilahus, mida hoitakse tumedast klaasist pudelis valguse eest kaitstud kohas. Sellest valmistatakse enne kasutamist töölahus: põhilahust lahjendatakse keedetud destilleeritud veega vahekorras 1:10. Töölahus sisaldab 0,005% resasuriini.

Katseklaase steriliseeritakse kuivõhksterilisaatoris 160° C juures 1 tunni jooksul. Seejärel suletakse nad steriilsete kummikorkidega. Kummikorke steriliseeritakse autoklaavis 1 at juures 10 min. jooksul või keedetakse 30 min.

Piimaproov võetakse piimakannust või tsisternist. Piimaprooviga katseklaase võib hoida kuni 3 tundi 5—8° C juures resasuriini lisamata.

Viieminutine resasuriiniproov tehakse piima kiireks sorteerimiseks ja halvakvaliteedilise piima väljapraakimiseks piimatootmisfarmides. Resasuriinilahus valmistatakse samuti nagu tunnise proovi korral, kuid 100 mg resasuriini lahustatakse 100 ml destilleeritud vees.

Steriilsesse katseklaasi valatakse 10 ml uuritavat piima ja 1 ml 0,01%-list resasuriinilahust. Katseklaasid asetatakse 45° C juures 5 minutiks veevanni.

5 minuti pärast võrreldakse katseklaasi kontrollkatseklaasiga, milles on 10 ml keedetud ja jahutatud piimale lisatud 1 ml 0,01%-list resasuriini töölahust. Piim, mis ei sisalda reduktaasi, annab resasuriiniga terassinise värvuse (kontrollproov). Kui uuritav piim muutub pärast 5-minutist veevannil hoidmist värvusetuks või roosakasvioletseks, on ta halva kvaliteediga. Piima, mis säilitab terashalli värvuse või muutub sirelililaks, loetakse heakvaliteediliseks.

NITRAAT-REDUKTAASPROOV

Nitraat-reduktaasproov võimaldab lühikese ajaga välja selgitada piimas nitraate nitrititeks taandavate mikroorganismide (kolibakterite ja teiste mikroobide) olemasolu.

Selleks lisatakse 1 ml 1%-list kaalium- või naatriumnitraadi lahust sisaldavasse steriilsesse katseklaasi 10 ml uuritavat piima. Segu kuumutatakse veevannil 37° C-ni ja hoitakse selle temperatuuri juures 1—2 tundi. Seejärel lisatakse igasse katseklaasi 2 ml Griess-Losvi reaktiivi. Katseklaasi sisu raputatakse segi ja 5 minuti pärast vaadeldakse värvuse ilmumist.

Nitraat-reduktaasproovi järgi jaotatakse toores piim 4 klassi:

Klassid	Värvus
I	Värvuseta
II	Nõrk roosa
III	Heleroosa kuni punane
IV	Helepunane

II ja III klassi täpsemaks eraldamiseks valmistatakse standardne värvilahus. Selleks lisatakse 10 ml piimale 1 ml segulahust (2 ml 0,005%-list safraniinilahust ja 1 ml 0,005%-list fenoolpunase lahust lahustatakse 1-molaarses fosfaatpuhverlahuses pH 6,3). Piimaproovid, mis värvuse intensiivsuselt vastavad standardile (või on eredama värvusega), kuuluvad III klassi, nõrgema värvusega II klassi.

KÄÄRIMISPROOV

Piima kvaliteet määratakse järgmiselt. Piim valatakse puhastesse katseklaasidesse 1 cm võrra madalamale ülemisest servast, suletakse vattkorkidega või metallkapslitega ja asetatakse 40° C juures 12 tunniks reduktaasiaparaati. Seejärel vaadatakse katseklaasid läbi. Hea kvaliteedi korral peab piim vedelaks jääma. Kui moodustub kalgend, siis peab ta olema ühtlane, gaasimullideta.

Teist korda vaadatakse 12 tunni pärast. Selle aja jooksul peab piim olema kalgendunud. Moodustunud kalgendi iseloomu järgi määratakse piima kvaliteet:

Kalgendi iseloom	Piima kvaliteet
Ühtlane, želatiinitaoline, vadaku tunduva eraldumiseta	hea
Kergelt tihenenud, vadak rohekas	keskmine
Kerkinud või gaasimullidega	halb

REDUKTAAS-KÄÄRIMISPROOV

Algul tehakse piimast reduktaasproov, pärast käärimisproov. Katseklaasid jäetakse 24 tunniks seisma. Pärast seda hinnatakse kalgendi kvaliteeti nagu käärimisproovi korral.

Sel viisil hinnatakse piima reduktaas-käärimisprooviga kaks korda: metüleensinise värvusetuks muutumise kestuse (ligikaudne mikroobide arvu määramine) ja kalgendi iseloomu järgi (mikrofloora kvaliteedilise koostise määramine, peamiselt sooltekepikeste rühma kuuluvate bakterite olemasolu).

PIIMA KÕLBLIKKUSE MÄÄRAMINE JUURETISTE VALMISTAMISEKS

Piima kõlblikkust juuretiste valmistamiseks võib määrata juuretise aktiivsuse prooviga. Selleks valatakse 20 ml pastöriseeritud ja 40° C-ni jahutatud piima puhtasse steriilsesse või vees läbikeedetud katseklaasi. Pipetti, millega proov võetakse, keedetakse samuti vees.

Seejärel viiakse katseklaasi 1 ml metüleensinise lahust (kontsentratsioon sama, mis reduktaasproovi korral) ja kolm tilka juuretist. Proov asetatakse reduktaasiaparaati või termostaati temperatuuril 37—39° C. Kui juuretis on piimas aktiivne, peab metüleensinine muutuma värvusetuks ligikaudu 2 tunni pärast.

PIIMA HÜGIEENILINE HINDAMINE

Piima vastuvõtmisel on tingimata vaja selgitada, kas sekka pole sattunud ka mastiidihaigete lehmade piima. Mastiit on udarahaigus, mida põhjustavad streptokokid või kuldsed stafülokokid. Varjatud ehk subkliinilise mastiidi vorm on laialt levinud.

Subkliinilisse mastiiti haigestunud lehmade piim erineb tervete lehmade piimast rea füüsikalis-keemiliste näitajate poolest. Uurimine näitab, et haigest udaraveerandist saadud piimas väheneb kaseiini-, laktoosi-, rasva-, kaltsiumi- ja fosfaatide sisaldus, suureneb albumiini-, globuliini- ja kloriidide sisaldus. Piima keemilise koostise muutumise tagajärjel langeb tihedus 1,024—1,025-ni.

Subkliinilisse mastiiti haigestunud lehmadel väheneb nakatatud udaraveerandis piima tiitritav happesus. Laapfermendi toimel kalgendub selline piim tunduvalt aeglasemalt kui tervetelt lehmadelt saadud piim.

Subkliinilisse mastiiti haigestunud lehmade piimas arenevad halvasti piimhappebakterid. Happe tekitamise protsess aeglustub, kalgendi tekkimine piimas pidurdub 2 tunniks või rohkem. Kõige tundlikumaks on osutunud *Str. cremoris*.

Subkliinilisse mastiiti haigestunud lehmade piim tuleb tingimata välja praakida.

Käesoleval ajal on meetodeid, mis võimaldavad uurida iga üksiku nisa piima juba farmides.

Leukotsüütide proov. Mastiidikahtlase lehma igast nisast võetakse eraldi 15—20 ml piima. Igast proovist viiakse 10 ml piima gradueeritud katseklaasidesse (joonis 90) ja tsentrifuugitakse 5 minutit (1000 pööret minutis). Leukotsüüdid, mida mastiidihaigete lehmade piimas on hulgaliselt, jäävad peamiselt sademesse.

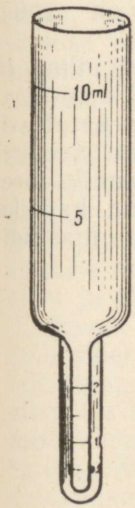
Kui katseklaasi väljavenitatud osas ulatub sade jaotuseni 0,5 (vastab 0,05 ml), on udar terve. Kui sade ulatub 0,5-st kuni jaotuseni 1, on piim kahtlane, kui aga jaotuseni 1—2, on piim haigetelt lehmadelt.

Alati ei saada täpseid uurimistulemusi, sest leukotsüütide kõrval võib piim sisaldada mehaanilisi lisandeid. Seepärast on tingimata tarvis vaadata piimasademe värvunud preparaati mikroskoobi all. Mitmetuumaliste leukotsüütide ja streptokokkide ahelate rohkus preparaadis (joonis 91) näitab udara haigestumist.

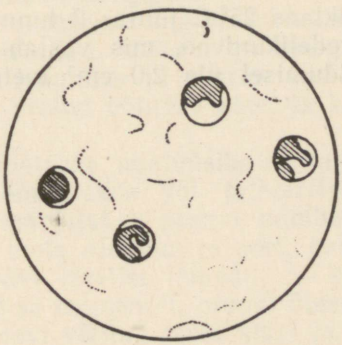
Settimisproov Mutovini järgi on üsna tundlik.

Lehma igast udaraveerandist (nisast) võetakse 10 . . . 15 ml piima eraldi statiivi paigutatud üksikutesse katseklaasidesse ja jäetakse 4—8° C juures seisma.

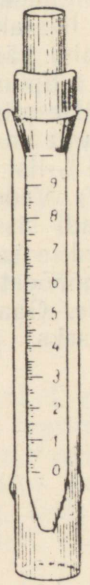
Katseklaasid vaadatakse üle 2—3 tunni möödudes ja veel kord 16—24 tunni pärast. Märgitakse üles piima värvus, sademe ja lisandite esinemine, koorekihi paksus ja välimus.



Joonis 90. Tsentrifuugi katseklaas.



Joonis 91. Piimasade streptokokilise mastiidi puhul mikroskoobist vaadatuna.



Joonis 92. Katalaasiklaas.

Subkliinilise mastiidi korral on piim vahel sinakas, nagu vesine. Kui koorekiht on alla 0,5 mm, näitab see patoloogilise protsessi olemasolu. Tähelepanu tuleb pöörata koore välimusele. Koore roosa värvus viitab erütrotsüütide esinemisele. Kui koor sisaldab lima ja helbeid ning mikroskoobi all on näha suurel hulgal leukotsüüte, näitab see mastiiti haigestumist.

Mastiiti haigestumisele viitab katseklaasi põhja moodustunud sade. Sademe värvuse ja hulga järgi võib teha kindlaks subkliinilise või kliinilise mastiidi vormi. Sademes leitakse suurel hulgal leukotsüüte.

Piima reaktsiooni muutumise proovid. Kirjeldatud meetodite kõrval kasutatakse ka piima reaktsiooni muutumise proove.

Broomtümoolsinise proov. Üksikust nisast võetud 5 tilka piima segatakse 1 tilga 0,2%-lise broomtümoolsinise lahusega (lahustatud 60°-ses piirituses). Tervete lehmade piim värvub kollaseks, haigete lehmade piim aga roheliseks või isegi siniseks.

Indikaatori värvuse muutumine on seotud mastiidse piima reaktsiooni muutumisega leeliseliseks. Raskete streptokokiliste mastiidivormide puhul võib piima reaktsioon olla happeline ja piim värvub broomtümoolsinisega kollaseks.

Fenoolpunase proov. Üksikust nisast võetud 5 tilka piima segatakse 1 tilga 0,1%-lise fenoolpunase lahusega. Lahuse valmistamiseks lahustatakse 0,1 g fenoolpunast 30 ml etüülpiirituses ja lisatakse 70 ml destilleeritud vett. Tervetelt lehmadelt saadud piim värvub oranžiks, mastiidihaigetelt — helepunaseks või isegi tulipunaseks. Indikaatori värvuse muutumine on seotud mastiidse piima leeliseliseks muutumisega.

Katalaasproov. 15 ml 25° C-ni soojendatud piima ja 5 ml 1%-list vesinikperoksiidi lahust viiakse katalaasiklaasi (joonis 92). Vedelik segatakse ja sisemine toru asetatakse katalaasiaparaadi sisse nii, et vedelikunivoo oleks nulljaotuses. Seejärel asetatakse katalaasiklaas 25° C juures 2 tunniks veevannile. Seejärel mõõdetakse vedelikunivoo, mis vastab eraldunud hapniku hulgale. Gaasi eraldumisel üle 2,0 cm^3 loetakse piim mastiidikahtlaseks.

VII PEATÜKK

PIIMA JA PIIMATOODETE MIKROBIOLOOGILINE UURIMINE

PROOVIDE VÕTMINE JA ANALÜÜSIKS ETTEVALMISTAMINE

Proovid mikrobioloogiliseks uurimiseks võetakse steriilsesse nõusse enne füüsikalis-keemiliseks analüüsiks määratud proovide võtmist.

Enne proovi võtmist segatakse toode ja võetakse proov kopsiku, lusika, spaatli, puuri või mõne teise proovivõtlaga, mis iga proovi võtmise eel tuleb tingimata steriliseerida (hõõrutakse piirituses niisutatud ja leegil süüdatud vatiga või steriliseeritakse autoklaavis, kuivatuskapis või keedetakse).

Prooviga nõu suletakse steriilse vatiga, klaaskorgiga või tihedalt suletava kautšukist korgiga.

Kui proovinõu saadetakse analüüsiks ettevõtte laboratooriumi, varustatakse see etiketiga, millele on märgitud proovi number, toote nimetus, partii number ja suurus, toote temperatuur proovi võtmise momendil, proovi võtmise päev ja kellaaeg, proovi võtja amet ja allkiri.

Proov, mis saadetakse analüüsiks väljapoole antud ettevõtte laboratooriumi, plommitakse või pitseeritakse ja varustatakse etiketiga, millele märgitakse proovi number, toote valmistanud ettevõtte nimetus, toote nimetus ja sort, partii suurus, valmistamise kuupäev, proovi võtmise kuupäev ja kellaaeg, toote temperatuur proovi võtmise momendil, proovi üleandja nimi, vastuvõtja perekonnanimi, proovi võtnud isiku amet ja allkiri.

Proovinõu pitseerimisel seotakse ümber nõu kaela tugev niit või sidumisnöör, mille otsad pannakse üle korgi või kaane ja pitseeritakse vaha või lakiga.

Piima ja piimasaaduste proove (välja arvatud jäätis) transporditakse ja hoitakse uurimise alguseni temperatuuril mitte üle 6° C, jäätist — mitte üle —2° C. Piimakonservidele temperatuurinõuet ei ole kehtestatud.

Proovi võib mikrobioloogilise uurimiseni hoida mitte üle nelja tunni alates proovi võtmise momendist.[1]

Proovide võtmine ja mikrobioloogiliseks uurimiseks ettevalmistamine ei ole eri piimatoodetel ühesugune. Proov võetakse järgmiselt.

Piim, koor, hapukoor, suflee ja teised vedelad piimatooted. Toodet segatakse hoolikalt steriilse kopsikuga ja 50 ml võetakse steriilsesse nõusse, mis suletakse steriilse korgiga. Seejärel mõõdetakse toote temperatuur ja märgitakse üles.

Pakendis toodetest võetakse 1—2 originaalpakendit.

Jäätis. Lahtise jäätise pinnalt kõrvaldatakse steriilse lusikaga vähemalt 2,5 cm paksune kiht[2]. Seejärel võetakse klaas- või vattkorgiga steriilsesse nõusse steriilse puuriga (või lusikaga) 50 g jäätist. Pakendis jäätisest võetakse 1—2 originaalpakendit. Pakend eemaldatakse, proov asetatakse klaas- või vattkorgiga steriilsesse nõusse. Uurimise eel soojendatakse proovi veevannil 40—45° C juures 10—15 minutit.

Kohupiim ja kohupiimasaadused. Kohupiimataarast võetakse 3—5 cm kauguselt selle seinast 2...3 proovi. Steriilne puur surutakse umbes $^3/_4$ pikkuses massi. Puurilt võetakse steriilse spaatliga ligikaudu 20 g kohupiima ja asetatakse klaas- või vattkorgiga suletavasse steriilsesse purki.

Uurimise eel kaalutakse 10 g kohupiima ja hõõrutakse steriilses portselanuhmris hoolikalt peeneks. Vähehaaval lisatakse 90 ml 45°-st steriilset vett. Saadakse esimene, s. o. 10-kordne lahjendus, millest tehakse kõik järgmised lahjendused.

Pakendis partiist võetakse 1—2 originaalpakendit.

Või ja sulatatud või. Proov võetakse nagu kohupiima korral. Uurimise eel sulatatakse või purgis veevannil 40—45° C juures ja segatakse ühtlase emulsiooni saamiseni.

Juust. Proovi võtmise kohas puhastatakse juustu pind tulise noaga. Steriilne puur viiakse $^3/_4$ pikkuses kaldu juustu keskele. Puurilt võetakse umbes 10 g juustu ja viiakse klaas- või vattkorgiga suletavasse steriilsesse purki. Uurimise eel kaalutakse leegil põletatud uuriklaasil või steriilses büksis 10 g juustu ja hõõrutakse steriilses portselanuhmris hoolikalt peeneks. Vähehaaval lisatakse 90 ml steriilset vett.

Kondenseeritud piim (kakao või kohv) suhkruga. Igast keedusest võetakse 2 konservikarpi kondenseeritud

[1] Erandjuhtudel võib proovi säilitada kuni 12 tundi. Aktis märgitakse sel juhul uurimise edasilükkumise põhjused.

[2] Vajaduse korral asetatakse pealmine kiht steriilsesse nõusse ja analüüsitakse eraldi.

piima. Iga karbi sisu uuritakse eraldi. Juhul, kui piim on pakitud tünni, analüüsitakse igast partiist üht tünni. Kui analüüs tehakse tööstuses, tuleb proov võtta keeduse villimise keskelt.

Enne avamist pestakse karbid sooja veega puhtaks ja pühitakse täiesti kuivaks. Seejärel põletatakse karbi kaant, tünni korki ja korgi ümber olevat uuret hoolikalt piirituses niisutatud ja leegil süüdatud vatiga. Karbid avatakse steriilse konserviavajaga, tünnid augulööjaga. Pärast avamist suletakse karp ja tünni avaus kohe steriilse Petri tassi kaanega.

Karbist võetakse pärast segamist steriilse lusikaga 10 g kaalutist ja pannakse steriilsesse kuiva nõusse. Lisatakse 90 ml 40—45° C-ni soojendatud steriilset vett ja loksutatakse, kuni piim lahustub.

Tünnist viiakse steriilse toruga või kopsikuga steriilsesse kuiva nõusse ligikaudu 100 g toodet, sellest võetakse 10 g ja tehakse esimene lahjendus, nagu ülalpool näidatud.

Kondenseeritud steriliseeritud piim. Igast partiist võetakse pärast 10-päevast 37° C juures hoidmist 2 konservikarpi. Pestakse soojas vees, pühitakse täiesti kuivaks ja kontrollitakse hermeetilisust (karbid asetatakse üleni 80° C-ni soojendatud vette). Karpidest veepinnale suunduvate õhumullikeste esinemine näitab nende mittehermeetilisust. Mittehermeetilistest karpidest, samuti karpidest, millel on kaas või põhi välja paisunud, bakterioloogilist analüüsi ei tehta.

Bakterioloogilise analüüsi tegemiseks avatakse konservikarbid boksis, kus on absoluutne puhtus ja steriilsus.

Enne avamist loksutatakse karpe ja pühitakse piiritusega puhtaks. Karbi ülemist kaant põletatakse kas leegi kohal või piirituses niisutatud ja leegil süüdatud vatiga. Karbid avatakse augulööjaga. Põletatud augulööja teravik suunatakse 35—40° all karbi kaanele ja ettevaatlikult vajutatakse kaande auk. Augulööjat eemaldamata laiendatakse kaande löödud auku ettevaatlikult, kuni selle läbimõõt on 1—1,5 cm. Karp kaetakse steriilse Petri tassi kaanega.

Pärast avamist tehakse 1 ml-st steriliseeritud kondenseeritud piimast kohe külv toiteagarisse Petri tassil.

Piimapulber, koorepulber suhkruga ja suhkruta. Kasti eri kohtadest võetakse steriilse lusikaga 20 g toodet. Proov pannakse vattkorgiga suletud steriilsesse kuiva kolbi. Suurest taarast võetud proov või metallkarbi sisu segatakse segi steriilse lusikaga. Siis kaalutakse välja 1 g piima- või koorepulbrit ja paigutatakse kaalutud kuiva steriilsesse keeduklaasi või steriilsele pärgamendile. Seejärel puistatakse kaalutis steriilse lusika või spaatliga 40—45° C-ni soojendatud 9 ml-sse steriilsesse vette. Loksutatakse 5—10 minutit täieliku lahustumiseni. Saadakse esimene lahjendus, millest tehakse kõik järgmised.

UURIMISMEETODID

Bakterite üldiduarvu määramine

T a s s i m e e t o d. Bakterite üldiduarv uuritavas tootes määratakse väljakasvanud mikroobide kolooniate hulga alusel 1 ml või 1 g toote või tema lahjenduse külvil toiteagarile Petri tassil. Enne külvi lahjendatakse uuritavat toodet steriilse veega (tabel 16).

Lahjendusastme valik sõltub toote oletatavast mikroobide sisaldusest. Igast lahjendusest külvatakse eraldi Petri tassi 1 ml ning valatakse peale ülessulatatud ja jahutatud toiteagar. Tassid jäetakse agari tardumiseni paigale.

Pärast agari tardumist pööratakse Petri tassid kaantega alla ja asetatakse sellises asendis 2—3 päevaks termostaati temperatuuril 30° C. Pärast kauemat piimakonservide säilitamist hoitakse nende külve termostaadis pikemat aega (3—4 ööpäeva).

Väljakasvanud kolooniate arv loendatakse igal tassil eraldi. Selleks pööratakse tassi põhi üles. Vaadeldakse palja silmaga või kasutatakse luupi suurendusega 8—10 korda. Loendatud kolooniad märgitakse tassil tindiga.

Kui kolooniaid on palju, jaotatakse Petri tassi põhi võrdseteks sektoriteks, loendatakse 2—3 sektori kolooniate arv ja leitakse kolooniate keskmine arv ühe sektori kohta. Korrutades selle sektorite arvuga, saame kogu Petri tassi põhjal olevate kolooniate arvu.

Kolooniate loendamisel Petri tassil peetakse paremateks lahjendusteks selliseid, mis annavad mitte vähem kui 10 kolooniat ja mitte rohkem kui 500. Kui kolooniaid on vähem kui 5, võib arvata, et toode saastus õhust külvi ajal. Liiga tiheda kasvu korral, kui kolooniaid on rohkem kui 500, polnud kõigil proovis olnud mikroorganismidel võimalust välja kasvada. Sel juhul on lõpptulemus ligikaudne. Kui näiteks väikseim lahjendus $^1/_{100}$ andis vähem kui 10 kolooniat, loetakse, et 1 ml-s (g-s) tootes on vähem kui 1000

T a b e l 16

Toode	Lahjendused		
	I	II	III
Toorpiim ja -koor, hapukoorevõi	1/10 000	1/100 000	1/1000 00 0
Pastöriseeritud piim ja koor, linnasepiim, suflee, jäätis	1/10	1/100	1/1000
Kondenseeritud piim suhkruga, kakao ja kohv kondenseeritud piimaga	1/10	1/100	1/1000
Steriliseeritud kondenseeritud piim	1 g	—	—
Piimapulber ja koorepulber (valmistatud pihustusmeetodil), piimapulber suhkruga	1/100	1/1000	—
Piimapulber, valmistatud kiles kuivatamise meetodil	1/10	1/100	—
Rõõsakoorevõi	1/100	1/1000	1/10 000

kolooniat; kui suurim lahjendus $^1/_{10\,000}$ andis rohkem kui 500 kolooniat, loetakse, et 1 ml-s (g-s) on rohkem kui 5 000 000 kolooniat.

Kolooniate arv igal tassil korrutatakse murru nimetajaga, mis tähistab vastavat lahjendust. Lõpptulemus, mis iseloomustab uuritava toote idusisaldust, s. o. 1 ml (g) toote külvil väljakasvanud kolooniate üldiduarv, arvutatakse igal tassil väljakasvanud kolooniate arvu ja võetud lahjenduse korrutamisel saadud arvude aritmeetilise keskmisena.

Ükski tuntud meetoditest (välja arvatud mikroplaadi meetod) ei anna bakteriaalsest saastumisest nii täpset tulemust kui tassimeetod. Kuid sellel on ka puudusi.

Meetod on seotud raskustega ja kulukas, sest massiliste analüüside tegemisel vajatakse palju laboratooriuminõusid, söötmeid ja steriilseid materjale. Meetod on töömahukas, analüüside ettevalmistamiseks ja läbiviimiseks kulutatakse palju aega. Ka külvide kasvatamine kestab kaua aega (kuni kaks ööpäeva). Peale selle pole täpset ettekujutust uuritava toote mikroobidesisaldusest, sest pole sellist unikaalset söödet, millel kõik mikroobide grupid kasvaksid ühtviisi hästi. Ka ei saa olla kindel, et kõik väljakasvanud kolooniad on moodustunud ühest rakust. Järelikult on külvimeetodite korral söötmele tulemused ebatäpsemad.

Nimetatud puudusi on vähem mikroobirakkude otsese loendamise meetodil, kuid siin tekitab raskusi elavate rakkude mitteeraldamine surnud rakkudest tavaliste värvainete kasutamise korral, minimaalse vedelikuhulga väljamõõtmine jms.

Mikroplaadi meetod (Frosti meetod) on modifitseeritud tassimeetod. Meetodi positiivseks küljeks on hinnaliste ja raskete Petri tasside asendamine esemeklaasidega. Täpsuselt meetod tassimeetodist peaaegu ei erine, kuid on vaba selle puudustest. Soovitatakse kasutada toore ja pastöriseeritud piima bakterite üldiduarvu määramisel.

Piirituse või ksülooliga töödeldud alusklaasil märgitakse spetsiaalse tindiga[1] ära 1 cm^2 suurune pind (mikroplaat). Selleks asetatakse klaasi alla millimeetripaber. Piiritletud kontuur takistab plaadile kantava piima ja agari segu laialivalgumist. Enne segu klaasile kandmist see flambeeritakse.

Söötmena võib kasutada lihapeptoonagarit või hüdrolüüsitud piima agarit.

Gradueeritud pipetiga kantakse 1 ml uuritavat piima kuiva steriilsesse katseklaasi, mis paigutatakse 2 minutiks veevanni[2], kus temperatuur on 45—48° C. Seejärel kantakse samasse katse-

---

[1] Tindi valmistamiseks lahustatakse 1 g aluselist fuksiini 15 ml piirituses. Lahust lastakse seista mõni tund, seejärel filtreeritakse. 2 g tanniini lahustatakse 15 ml destilleeritud vees, kuumutatakse keemiseni ja filtreeritakse. Pärast seda lahused segatakse.

[2] Võib kasutada igasugust kaanega veevanni, milles on katseklaaside mõõtmetele vastavad ümarad avad ning üks ava termomeetri jaoks. Veevannis asetsevad katseklaasid ei tohi kokku puutuda vanni põhjaga.

klaasi 1 ml ülessulatatud söödet temperatuuriga 45—48° C. Segu segatakse hästi läbi ja paigutatakse 2 minutiks sama temperatuuriga veevanni.

Kergelt soojendatud gradueeritud pipetiga kantakse mikroplaadile 0,03 ml segu. Segu kantakse läbi leegi tõmmatud plaatinatraadiga, mille ots on 1—2 mm ulatuses täisnurga all painutatud, hoolikalt ja ühtlaselt kogu pinnale. Segu hangumiseks jäetakse klaasid 30 sekundiks horisontaalasendisse. Seejärel paigutatakse nad termostaati asetatud niiskuskambrisse[1] ja hoitakse seal 37° C juures 17—18 tundi. Pärast seda kuivatatakse mikroplaate 60—70° C juures 20 minutit ning värvitakse Heifetzi meetodil valmistatud metüleensinise lahusega[2] kahe minuti jooksul. Pärast seda pestakse värv maha väikese veejoaga (klaasi tagaküljelt). Värvitud mikroplaate kuivatatakse kapis 5 minutit.

Mikrokolooniad loendatakse 10 vaateväljas. Kolooniate loendamisel võib kasutada mitmesuguseid suurendusi olenevalt mikroskoobi margist. Tassimeetodile lähedased tulemused saadakse siis, kui ühes vaateväljas esineb 1—20 mikrokolooniat.

Bakterite arv *(K)* uuritava toote 1 ml-s arvutatakse järgmiselt:

$$K = Fn,$$

kus F on püsivkoefitsient, mis sõltub mikroskoobi suurendusest,

n — ühe vaatevälja mikrokolooniate aritmeetiline keskmine.

Püsivkoefitsient saadakse näiteks mikroskoobi M-9 korral 400-kordsel suurendusel (10×40) järgmise arvutusega. Objektmikromeetri abil, mille jaotusvahed on 0,01 mm, määratakse vaatevälja läbimõõt, mis mikroskoobil M-9 vastab 37-le mikromeetri jaotusele ehk 0,37 mm.

Vaatevälja S pindala määratakse valemiga $S = \pi r^2$. Vaateväljade arv Q mikroplaadil arvutatakse valemiga

$$Q = \frac{S_1}{S},$$

kus S_1 on mikroplaadi pindala.

Püsivkoefitsient F määratakse valemiga

$$F = \frac{Q}{q},$$

kus q on uuritava vedeliku kogus.

Eri marki mikroskoopide püsivkoefitsiendi arvutus on toodud tabelis 17.

---

[1] Niiskuskambrina võib kasutada eksikaatorit või mõnda muud nõu, kuhu on valatud steriilne destilleeritud vesi. Aurustunud niiskuse eemaldamiseks hoitakse kaas pisut lahti. Alusklaasid asetatakse eksikaatori portselanplaadile või spetsiaalsesse statiivi.

[2] 3 g metüleensinist (bakterioloogilist) lahustada 20 ml etüülalkoholis. Lahust hoitakse 2...3 päeva termostaadis 40—45°C juures. Iga päev segu loksutatakse. Seejärel lahus filtreeritakse ja 1 osa filtraati segatakse 9 osa destilleeritud veega.

Tabel 17

Suurendus	Vaatevälja raadius (r) mm	Vaatevälja pindala (S) mm²	Mikroplaadi pindala (S_1) mm²	Vaatevälja de arv mikroplaadil (Q)	Uuritava vedeliku hulk (q) ml	Püsivkoefitsient (F)	Mikroskoobi mark
450 (5×90)	0,09	0,0254	100	3 937	0,015	262 466	МБИ-3
100 (10×10)	0,48	0,7234	100	138,5	0,015	9 233	МБИ-3
400 (10×40)	0,185	0,1075	100	93 012	0,015	62 013	М-9
400 (10×40)	0,17	0,0907	100	1 102	0,015	73 466	МБР-1
400 (10×40)	0,17	0,0907	100	1 102	0,015	73 466	МБР-4
900 (10×90)	0,075	0,0175	100	5 714	0,015	380 953	МБР-4
900 (10×90)	0,075	0,0176	100	5 681	0,015	378 733	МБИ-1
400 (10×40)	0,17	0,0907	100	1 102	0,015	73 466	МБИ-1
280 (7×40)	0,22	0,1519	100	658	0,015	43 866	МБИ-1
630 (7×90)	0,09	0,0254	100	3 937	0,015	262 466	МБИ-1

Mikroplaadi meetodi peamiseks eeliseks plaadimeetodi ees on see, et termostaadis hoidmise aeg väheneb üle kahe korra. Seega saame piima saastumise astme teada kaks korda kiiremini. Mikroplaadi meetod ei ole nii töömahukas kui tassimeetod.

Mikroobide arvu otsese määramise meetodid on lihtsad ja tulemused kiiresti kättesaadavad.

Võib soovitada toore piima bakteriaalse saastumise, samuti mõningate hapupiimatoodete mikrofloora kiireks määramiseks. Alljärgnevalt mõned antud meetoditest.

Bride meetod. Mikropipetiga mõõdetakse 0,01 ml uuritavat toodet ja kantakse ühtlaselt alusklaasi 1 cm² suurusele pinnale (mikroplaadile). Igale alusklaasile kantakse 2—3 1 cm² suurust tootepinda. Pind kuivatatakse õhu käes (leegil kuumutamata), seejärel fikseeritakse, värvitakse ja rasvatustatakse. Selleks asetatakse alusklaas algul 5 sek., teist korda 10 sekundiks järgmise koostisega lahusesse:

absoluutne piiritus[1] ml	50
kloroform ml	50
jää-äädikhape ml	20
aluseline fuksiin g	0,1
metüleensinine g	1,0

[1] Eelnevalt vabastatakse piiritus veest želatiiniga.

Lahus valmistatakse järgmiselt. Värvained lahustatakse 50° C-ni soojendatud piirituse ja kloroformi segus. Pärast jahutamist 18—20° C-ni lisatakse jää-äädikhape. 12—16 tunni pärast on lahus tarvitamiskõlblik.

Lahuses hoidmisel värvuvad preparaadi rakud helesiniseks ja on heleroosal foonil selgelt eraldatavad. Immersioonobjektiiviga vaadates loendatakse teatud arv preparaadile tüüpilisemaid vaatevälju ja arvutatakse bakterite keskmine arv ühe vaatevälja kohta. Bakterite arv 1 ml tootes määratakse nagu mikroplaadi meetodi korral.

Bride'i meetodi olulisteks puudusteks on tulemuste ebatäpsus uuritava piima madala iduarvu juures ning minimaalse vedelikuhulga (0,01 ml) väljamõõtmine ja selle ühtlane jaotamine piiritletud pinnal (1 cm^2).

Koroljov-Dreieri meetod. 1929. a., võttes aluseks Dreieri standardse suspensiooni valmistamise põhimõtte mikroobide otseseks loendamiseks mikroskoobi all, tegi S. A. Koroljov ettepaneku kasutada aafrika pärmseente *(Schizosaccharomyces pombe)* surmatud kultuuri standardset suspensiooni. Need pärmseened on kepikujulised. Välise kuju poolest erinevad nad piimas tavaliselt esinevatest leukotsüütidest ja teistest pärmseentest tunduvalt. Pärmseente suspensioon valmistatakse nii, et 1 ml-s on 10 miljonit rakku.

Preparaat valmistatakse järgmiselt. Suspensiooni loksutatakse hoolikalt ja 0,5—1 ml sellest viiakse väikesesse katseklaasi. Lisatakse 0,5—1 ml uuritavat proovi (piima, hapupiimasaadusi või juuretist). Katseklaasi sisu raputatakse hoolikalt segi.

Kohe pärast raputamist kantakse saadud segu hästi pestud rasvavabale esemeklaasile ja hõõrutakse kiiresti aasaga suuremale pinnale. Preparaat kuivatatakse, rasvatustatakse, fikseeritakse ja värvitakse. Valmis preparaate vaadeldakse immersioonobjektiiviga.

Pärmseened loendatakse igas vaateväljas. Seejärel loendatakse kõik ülejäänud rakud. Iga vaatevälja kohta kirjutatakse tulemused kahel viisil (miinimum 50 rakku, orienteerival loendusel 10—20).

Bakterite üldiduarv K 1 ml piimas määratakse järgmiselt:

$$K = \frac{\delta}{\gamma} 10\,000\,000,$$

kus δ on kõikides vaateväljades loendatud bakterite arv;
γ — kõikides vaateväljades loendatud pärmseente arv;
10 000 000 — pärmseente tiiter suspensioonis.

Kui vaateväljas on üle 10 raku, soovitatakse kasutada okulaarvõrku.

Koroljovi-Dreieri meetod on täpne ja lihtsam kui Bride'i meetod. Pole tarvis täpselt kalibreeritud pipette ega aasasid, samuti ei tarvitse väikest hulka uuritavat proovi ühtlaselt täpselt piiritletud pinnale jaotada.

Kolibakterite määramine

Tootmisprotsessi ja toodangu realiseerimise sanitaarhügieeniliste tingimuste iseloomustamiseks määratakse kolibakterite rühma mikroobide idusisaldus, s. o. määratakse kolitiiter[1].

Standardne uurimismeetod viiakse läbi järgmiselt. Külv Kessleri söötmesse on esimene kolibakterite käärimisproov. Toodete külvid Kessleri söötmesse tehakse allpool toodud lahjendustest.

Toode	Lahjendus	Külvidega katseklaaside arv igast lahjendusest
Toores piim ja koor	1 : 10 — 1 : 100 000	1
Pastöriseeritud piim ja koor, kondenseeritud piim suhkruga	1, 1 : 10	3
Keefir, atsidofiilpiim, hapupiim, atsidofiil-pärmipiim, rjazenka, hapupiimajook «Lõunamaine», jogurt, jäätis	1 : 10	3
Või	1, 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000	2
Juust	1 : 10 — 1 : 100 000	2
Kohupiim, hapukoor	1 : 10 — 1 : 100 000	1

Antud lahjendustest külvatakse 1 ml toodet Kessleri söötmega katseklaasidesse ja asetatakse 18—24 tunniks termostaati, kus temperatuur on 43° C. Seejärel vaadatakse külvidega katseklaasid üle ja määratakse kindlaks kolibakterite käärtiiter.

Tooraine, poolfabrikaatide ja valmistoodangu tööstusesisesel mikrobioloogilisel kontrollil lubatakse kolibakterite rühma mikroobide määramisel piirduda ainult käärtiitriga (I käärimisproovi järgi).

Kui 18—24 tunni pärast käärimistunnused (gaasi tekkimine) puuduvad, pole toode kolibakteritega saastunud.

Gaasi tekkimisel viiakse läbi kolibakterite identifitseerimine. Käärinud katseklaasidest tehakse külv Endo söötmele sellise arvestusega, et saadakse üksikud kolooniad. Aasaga võetakse minimaalne kogus materjali ja külvatakse tiheda joonena söötmele. Enne külvi jaotatakse Endo söötmega tassi põhi vahapliiatsiga 6—8 sektoriks. Igast Kessleri söötmega katseklaasist tehakse külv ühte sektorisse. Külvidega tasse hoitakse (kaaned allpool) 18—24 tundi termostaadis 37° C juures.

Kui suurema lahjendusega katseklaasides gaasi tekib, eelmiste lahjendustega katseklaasides aga mitte, külvatakse Endo söötmele kõikidest eelmiste lahjendustega katseklaasidest.

Kui Endo söötmel tüüpiliste kolibakterite kolooniaid (punased, tihti metalse läikega, roosad, heleroosad) ei ole, loetakse toode kolibakteritega mittesaastunuks. Endo söötmel tüüpiliste kolibakterite rühmale omaste kolooniate, samuti värvuseta kolooniate esinemise korral uuritakse neid edasi.

[1] Kolitiiter on väikseim toote hulk, väljendatud grammides või milliliitrites, kus esineb kolibakter.

Kui piimatööstusettevõtte laboratooriumis leitakse Endo agariga tassidel värvuseta kolooniaid süstemaatiliselt, antakse need tassid sanitaar-epidemioloogiajaama laboratooriumisse patogeensete kolibakterite rühma esinemise kindlakstegemiseks.

Isoleeritud kolooniatest, mis on iseloomulikud kolibakterite rühma mikroobidele, tehakse preparaadid, värvitakse Grami järgi ja mikroskopeeritakse.

Külv Simmonsi ja laktoosiga Hissi söötmesse. Endo söötme iga sektori ühest ja samast kontrollitud graamnegatiivsete kepikeste kolooniast tehakse aasaga külv Simmonsi ja laktoosiga Hissi söötmesse. Söötmega katseklaase hoitakse 18—24 tundi termostaadis 37° C juures.

Kui gaasi ja hapet ei teki, siis laktoosiga Hissi söötmes kolibaktereid ei ole. Gaasi ja happe teke laktoosiga Hissi söötmes ja kasvu puudumine Simmonsi tsitraatsöötmel näitab tsitraatnegatiivsete kolibakterite puudumist. Simmonsi söötme oliivrohelise värvuse muutumine rukkilillesiniseks näitab, et on tegemist tsitraatpositiivsete kolibakteritega, mida kolitiitri määramisel ei arvestata.

Identifitseerimise tulemusena arvestatakse kõiki kolibakterite vorme, mis ei värvu Grami järgi ja mis moodustavad hapet ning gaasi laktoosiga Hissi söötmes 43° C juures; ei arvestata Simmonsi ja Koseri tsitraatsöötmel kasvu andvaid vorme.

Kolitiitri arvutamine. Pastöriseeritud piimal ja koorel määratakse kolitiiter järgmiselt.

Kui mitte üheski külvidega katseklaasis kolibaktereid ei avastatud, loetakse kolitiiter suuremaks kui 3 ml.

Kui kolmest 1-ml külvidega katseklaasidest avastati kolibaktereid ühes, loetakse kolitiiter võrdseks 3 ml-ga. Kui kolibaktereid avastati rohkem kui ühes kolmest 1-ml külvidega katseklaasidest või ühes 0,1-ml külviga katseklaasis, loetakse kolitiiter võrdseks 0,3 ml-ga.

Kui kolibaktereid avastati viies katseklaasis või kõikides külvatud katseklaasides, loetakse kolitiiter väiksemaks kui 0,3.

Keefiril, atsidofiilpiimal, hapupiimal, atsidofiil-pärmipiimal ja joogil «Lõunamaine» arvutatakse kolitiiter järgmiselt.

Kui kolibaktereid ei avastatud üheski kolmest 0,1-ml külviga katseklaasist, loetakse kolitiiter suuremaks kui 0.3.

Kui kolibaktereid avastati ühes kolmest 0,1-ml külviga katseklaasist, loetakse kolitiiter võrdseks 0,3-ga. Kui kolibaktereid avastati rohkem kui ühes kolmest 0,1-ml külviga katseklaasist, on kolitiiter väiksem kui 0,3.

Ülejäänud toodetel määratakse kolitiiter järgmiselt.

Kui mitte üheski külvidega katseklaasis ei avastatud kolibaktereid, loetakse kolitiiter suuremaks külvatud toote mahu summast. Kui kolibaktereid avastati kõikides külvidega katseklaasides, loetakse kolitiiter väiksemaks kui külvatud kõige väiksem toote hulk milliliitrites või grammides.

Kolibakterite avastamisel ühes külvatud katseklaasis loetakse kolitiiter võrdseks kogu külvatud toote mahu või kaaluga. Kui kolibaktereid avastati mitmes toote külviga katseklaasis, on kolitiiter võrdne kõige suurema lahjendusega, mis andis kolibakterite kasvu.

Indikaatorpaberid. Viimastel aastatel on hakatud kolibaktereid määrama trifenüültetrasoolkloriidi sisaldavates söötmetes. Trifenüültetrasoolkloriidil on omadus taanduda formasaaniks. Formasaanil on punane värvus ja see on silmaga kergesti märgatav. Omadus taandada trifenüültetrasoolkloriide formasaaniks, mis annab punase värvuse, on ainult elavatel, intensiivselt kulgeva ainevahetusega rakkudel.

Trifenüültetrasoolkloriidi taandab enamik mikroorganisme, kuid nende vastupidavus talle on mitmesugune. Erinevalt enamikust piimas esinevatest mikroorganismidest areneb kolibakter 0,2%-lise trifenüültetrasoolkloriidisisalduse korral söötmes. Sellel põhineb tema määramine söötmeis, mis sisaldavad 0,2% indikaatorit.

1955. a. tegi Ferg ettepaneku määrata kolibaktereid piimas nn. baktostripi meetodil. Meetod põhineb kolibakterite kasvamisel trifenüültetrasoolkloriidi sisaldava söötmega immutatud paberiribal. Kolibakterite esinemisel ilmuvad paberiribale punased täpikesed, mis näitavad mikroorganismide arenemise tagajärjel tekkinud hapendamis-taandamispotentsiaali muutumist. Sel meetodil on kolibaktereid võimalik piimas, piimatoodetes ja seadmetelt võetud proovides määrata tunduvalt kiiremini kui tavalistes trifenüültetrasoolkloriidiga söötmetes. Indikaatorpaberite valmistamise metoodika töötati välja Üleliidulises Piimanduse Teadusliku Uurimise Instituudis (ВНИИМИ).

Paberite valmistamiseks võetakse kromatograafiline paber (1 m² kaalub 200 g) imamisvõimega Klemmi järgi ligikaudu 50. Paberilehed lõigatakse ribadeks, mida on mugav kasutada, ja perforeeritakse. Paberilehti steriliseeritakse kuivatuskapis 105° C juures 30 minutit.

Seejärel immutatakse paberilehti järgmise koostisega steriilse söötmega: lihapuljong, kuhu on lisatud 5% hüdrolüüsitud piima, 0,5% laktoosi ja 0,1% agar-agarit; söötme pH 7,2—7,5. Söötmele on lisatud 2%-list 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi vesilahust arvestusega 110 ml 1 liitri söötme kohta.

Märga paberit hoitakse 14—16 tundi kuivatuskapis 40° C juures. Valmis lehed lõigatakse ribadeks, millest igaüks imab kas 1 ml või 0,5 ml uuritavat vedelikku.

Saadud pabereid nimetatakse kolibakterite määramiseks kasutatavateks indikaatorpaberiteks. Nad pakitakse polüetüleenkotikestesse ja asetatakse valguskindlast paberist pakikestesse. Polüetüleenist pakikeste valmistamiseks kasutatakse voolikukujulist kõrgsurve-polüetüleeni (laiusega 140 või 210 mm lahtipakkimata

Tabel 18

Toode	Lahjendus	Toode	Lahjendus
Piim:		Hapupiimatooted	1/10
pastöriseeritud	0,1/10	Juuretis	1/10
toores	1/100—1/10 000	Hapukoor	1/10—1/100
Koor:		Kohupiim ja kohupiimatooted	1/10—1/100
pastöriseeritud	1/10		
toores	1/100—1/1000		

kujul). Polüetüleenkotikesed liimitakse spetsiaalse seadisega temperatuuril 130—135° C.

Indikaatorpaberid on valged või õrnalt kreemikad. Valguse käes omandavad nad kergesti roosaka või punase värvuse ja muutuvad tarvitamiskõlbmatuks.

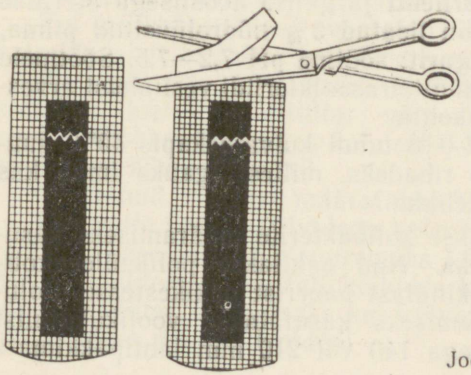
Kolibakterite määramiseks indikaatorpaberite abil tehakse toodetest lahjendused.

Piima uuritakse lahjendamata ja pärast füsioloogilise lahusega lahjendamist. Rasv ja hape takistavad kolibakterite avastamist indikaatorpaberil, mistõttu pastöriseeritud koores, hapupiimatoodetes ja juuretistes määratakse kolibaktereid vaid pärast lahjenduste tegemist.

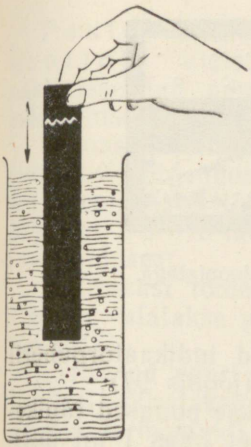
Indikaatorpaberid on tundlikud valguse toimele, mistõttu nad võetakse valguskindlast pakendist välja vahetult enne kasutamist. Töötamisel hoiduda päikesekiirte toime eest.

Polüetüleenist pakike lõigatakse kääridega indikaatorpaberi perforeeritud osa poolt lahti (joonis 93). Paber võetakse pakikesest välja ning kastetakse uuritavasse vedelikku 3 sekundiks (joonis 94). Selle aja jooksul imab paber vajaliku hulga uuritavat vedelikku (1 ml või 0,5 ml).

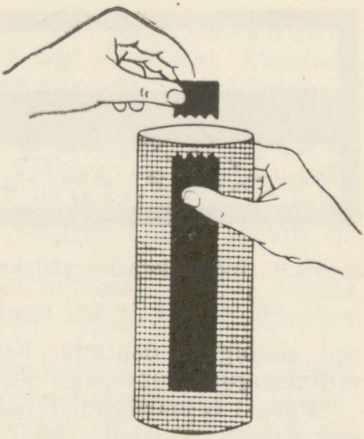
Seejärel asetatakse indikaatorpaber tagasi polüetüleenist pakikesse ja perforeeritud ots lõigatakse ära (joonis 95). Pakikest silu-



Joonis 93. Polüetüleenpakendi avamine.



Joonis 94. Indikaatorpaberi asetamine uuritavasse lahusesse.

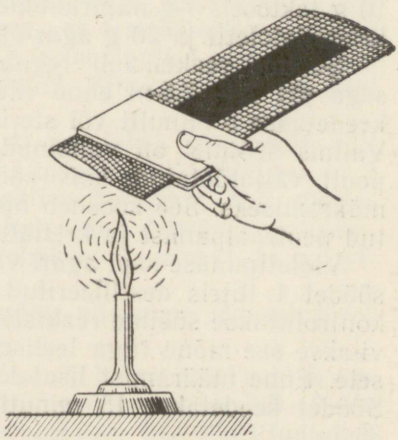


Joonis 95. Indikaatorpaberi asetamine polüetüleenpakendisse.

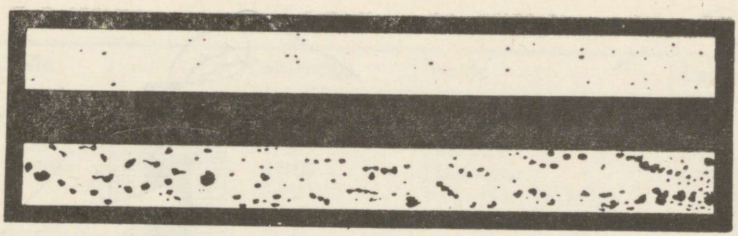
takse hoolikalt, et kile jääks tihedalt vastu niisutatud paberit ja et kogu õhk pakikesest eemalduks.

Pakikese lahtilõigatud ots surutakse kahe klaasplaadi vahele ja joodetakse piirituslambi leegil kinni (joonis 96). Indikaatorpaberiga polüetüleenist pakike asetatakse tagasi valguskindlasse paberisse ja hoitakse 11—12 tundi termostaadis 42—43° C juures. Kui indikaatorpabereid hoitakse termostaadis kauem (14 tundi ja rohkem), võivad kolibakterite kõrval välja kasvada ka teised mikroorganismid (näiteks mikrokokid ja leelist moodustavad kepid).

Indikaatorpaberid peavad termostaadis asetsema horisontaalasendis, et vedelik ära ei valguks. Vastasel juhul võivad tulemu-



Joonis 96. Polüetüleenpakendi kinnisulatamine.



Joonis 97. Indikaatorpaber väljakasvanud kolibakterite kolooniatega.

sed ebaõigeks osutuda. Kolibakterid kasvavad indikaatorpaberil mitmesuguse suurusega punaste täpikestena (joonis 97).

Pärast termostaadist väljavõtmist loendatakse punased täpikesed paberi mõlemal poolel. Kui indikaatorpaber imas 1 ml uuritavat vedelikku, korrutatakse punaste täpikeste arv uuritava toote lahjendusega, kui aga imas 0,5 ml, siis korrutatakse täpikeste arv enne kahega ja alles seejärel proovi lahjendusega. Niiviisi saadakse teada bakterirakkude arv 1 ml või 1 g uuritavas tootes või käte ja seadmete uhtevees.

Indikaatorpaberitel arvestatakse kõiki kolibaktereid. Kolibakterite diferentseerimiseks tsitraatide kääritamise järgi viiakse plaatina-aasaga uuritav koloonia Simmonsi vedelsöötmesse.

Indikaatorpaberite meetod annab analüüsi tulemused neli korda kiiremini kui standardne meetod.

Kolibakterite otsene määramine violettpunase-sapi agaril. Piimas ja piimasaadustes võib kolibaktereid määrata loendamise teel violettpunase-sapi agaril. Reas maades on see meetod piimasaaduste väljastamisel tööstusest standardsuse kontrolli meetodiks, kuid see sobib ka toore piima kontrollimiseks.

Violettpunase-sapi agari valmistamiseks lisatakse 1 l destilleeritud veele 30 ml pärmiautolüsaati, 10 g peptooni, 15 ml sappi, 10 g laktoosi, 5 g naatriumkloriidi, 0,03 g neutraalpunast, 0,002 g kristallvioletti ja 20 g agar-agarit.

Söötme reaktsiooni reguleeritakse 20%-lise NaOH vesilahusega pH 7,4—7,5-ni enne värvide ja agar-agari lisamist. Söödet keedetakse 5 minutit või steriliseeritakse 0,5 at juures 30 minutit. Valmis söötmel on valminud kirsside värvus. V. M. Bogdanovi poolt väljatöötatud kuiv sööde sobib ka kolibakterite otseseks määramiseks. See koosneb hüdrolüüsitud piimast, millele on lisatud neutraalpunast ja kristallvioletti.

Violettpunase-sapi agari valmistamiseks lahustatakse 2 g kuiva söödet 1 liitris destilleeritud vees, mida soojendatakse. Seejärel kontrollitakse söötme reaktsiooni. Kui söötme pH on alla 7,4—7,5, viiakse see mõne tilga leeliselahuse lisamisega nõutavale väärtusele. Enne määramist lisatakse 15 ml sappi ja 20 g agar-agarit. Söödet keedetakse 15 minutit või steriliseeritakse 0,5 at juures 30 minutit.

Pastöriseeritud piima ja piimasaaduste kontroll. Violettpunase-sapi agarit on soovitatav kasutada pastöriseeritud piima, koore ja hapupiimasaaduste kolibakterite määramiseks.

Piimast ja koorest tehakse külv söötmesse vahetult, samuti ka esimesest lahjendusest füsioloogilises lahuses. Hapupiimasaadused neutraliseeritakse enne pH 7,2—7,4-le. Selleks lisatakse 20%-list NaOH lahust. Pärast seda tehakse külv vahetult ka I lahjendusest.

Uuritavast tootest ja I lahjendusest külvatakse Petri tassile 3 ml ja valatakse peale 15—20 ml valmis söödet temperatuuriga 44—46° C.

Tardunud agari pinnale valatakse õhuke kiht steriilset söödet. Seejärel pööratakse tardunud söötmega Petri tassid ümber ja asetatakse termostaati, kus neid hoitakse 42—43° C juures 20—24 tundi.

Piimasaadustes esinevate kolibakterite kolooniad on tumepunase värvusega. Nende ümber moodustub punane oreool. Teiste mikroorganismide kolooniatel on teistsugune välimus. Igal Petri tassil loendatakse ainult kolibakteritele iseloomulikud kolooniad. Iga tassi kolooniate arv korrutatakse lahjendusega. Saadakse kolibakterite arv 3 ml uuritavas tootes.

Kolibakterite identifitseerimiseks tuleb tingimata uurida kolooniate laktoosi ja tsitraatide käärimisvõimet, kuid ka Grami järgi värvumist. Seepärast tuleb violettpunase-sapi agaril väljakasvanud kolibakteritele iseloomulikust 3—5 kolooniast teha külv laktoosi puljongisse (Hissi söötmele) ja Simmonsi söötmele.

Ühest kolooniast tehakse külv samaaegselt laktoosi puljongisse ja Simmonsi söötmele. Kontrolli skeem on toodud allpool. Tulemused saadakse kiiremini, kui Simmonsi sööde valmistatakse vedelsöötmena (agarit lisamata).

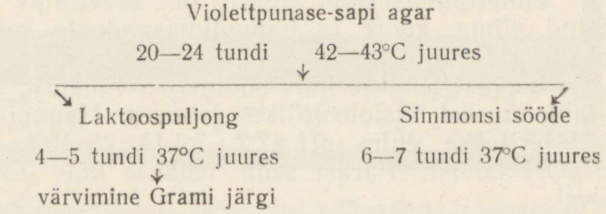
Umbes 2 ml Simmonsi söödet ja laktoospuljongit valatakse väiksematesse katseklaasidesse ja tehakse külv. Katseklaase soojendatakse veevannil 38—39° C juures, et termostatiseerimisaeg lühem oleks. Seejärel paigutatakse nad termostaati. Laktoospuljongit hoitakse 37° C juures kuni 4—5 tundi, Simmonsi söödet kuni 6—7 tundi.

Tulemusi Simmonsi vedelsöötmel arvestatakse järgmiselt. Kui söötme tumeroheline värvus muutub siniseks, siis väljakasvanud kolooniad on kolibakterite tsitraatpositiivsed vormid. Kui söötme värvus jääb muutumatuks, loetakse kolooniad tsitraatnegatiivseteks vormideks. Laktoospuljongist tehakse preparaat ja värvitakse Grami järgi.

Piimatoodete kolibakterite määramine niisuguse skeemi järgi kestab vähem kui 2 ööpäeva.

Toore piima kontrollimise lihtsustatud meetod. Petri tassidele valatakse violettpunase-sapi agar 1,5—2 cm paksuse kihina. Tassid asetatakse termostaati, kus neid hoitakse

Kolibakterite määramise skeem



40—45° C juures 20 minutit, et söötme pind kuivaks. Iga tassi põhi jaotatakse 4—6 sektoriks.

Uuritava toore piima $^1/_{100}$ lahjendusest kantakse kalibreeritud aasaga joon ühele sektoritest. Tassid pööratakse ümber ja asetatakse termostaati, kus neid hoitakse 37° C juures 24 tundi.

Toore piima kvaliteedi hindamiseks ei ole vaja loendada iga külvi kolooniate arvu. Välise vaatluse järgi jaotatakse külvid 3 gruppi (tabel 19).

Tabel 19

Grupid	Külvi väliskuju	Kolibakterite arv 1 ml-s
I	Kasv puudub	Vähem kui 100
II	Esinevad üksikud kolooniad	100—20 000
III	Tihe kasv, kolooniaid ei ole võimalik loendada	Rohkem kui 20 000

See meetod sobib toore piima massilisteks analüüsideks.

Nitraatproov. Piimhappebakterid ei taanda nitraate nitrititeks, nagu teevad seda teised piimas esinevad mikroorganismid. Samal ajal on kolibakterid mitmesugustele mikroobe hävitavatele vahenditele ja antibiootikumidele vastupidavamad kui teised nitraate nitrititeks taandavad bakterid. Nitraatproov võimaldab määrata kolibaktereid pastöriseeritud piimas.

Otse pastörisaatorist steriilsesse nõusse võetud piimaproov jahutatakse kiiresti umbes 40° C-ni.

Vattkorgiga suletavasse steriilsesse katseklaasi võetakse 10 ml uuritavat piima, lisatakse 0,5 ml 6%-list KNO_3 (keemiliselt puhas) vesilahust, 0,5 ml hüdrolüüsitud piima (valmistatud V. M. Bogdanovi järgi) ja 0,1 ml 2%-list tümoolilahust[1].

Segu raputatakse, soojendatakse veevannil 42—43° C-ni ja asetatakse termostaati samale temperatuurile 6 tunniks. Igasse piimaga katseklaasi lisatakse ettevaatlikult 2—3 tilka Griess-Losvi reaktiivi nii, et reaktiiv piimaga ei seguneks. Kui 10 minuti pärast

[1] Tümool lisatakse kõikide nitraate nitrititeks taandavate mikroorganismide kasvu pidurdamiseks, välja arvatud kolibakterid.

ilmub reaktiivi ja piima kokkupuute pinnale punane või roosa värvus, siis moodustus nitrit, mis näitab kolibakterite olemasolu.

0,2%-lise tümoolilahuse valmistamiseks viiakse 1 g tümooli 500-ml mahuga kolbi, lisatakse 25 ml 25%-list NaOH vesilahust ja täidetakse destilleeritud veega märgini.

Griess-Losvi reaktiivi saamiseks valmistatakse kaks lahust, mida hoitakse kollasest klaasist pudelis ja mis enne kasutamist segatakse erisugustes kogustes. Esimese lahuse saamiseks lahustatakse 0,5 g sulfanüülhapet 150 ml 30%-lises äädikhappes.

Teise lahuse valmistamiseks segatakse 0,2 g α-naftüülamiini 20 ml destilleeritud veega ja keedetakse. Seejärel filtreeritakse lahus violettsinisest sademest ja filtraadile lisatakse 150 ml 5%-list äädikhapet.

Heifetzi sööde. Kolibakterite kindlakstegemiseks piimas ja hapupiimasaadustes võib kasutada vedelat elektiivsöödet, mis annab Kessleri söötmele lähedased tulemused.

Söötme valmistamiseks lisatakse 1 l destilleeritud veele 10 g peptooni, 5 g keedusoola ja 5 g manniiti. Söötme pH viiakse 7,4 ... 7,6-le. Sööde filtreeritakse, lisatakse 1 ml 5%-list rosoolhappe piirituslahust ja 2,5 ml 0,1%-list metüleensinise vesilahust. Söötme värvus õhukeses kihis (katseklaasis) on violettpunane.

Et rosoolhappe lahus peab olema värske (seisnud mitte üle 1 kuu), tuleb seda valmistada väikeses koguses. 0,5 g rosoolhappele valatakse 10 ml piiritust ja jäetakse ööpäevaks seisma.

Metüleensinise lahuse valmistamiseks lisatakse 0,1 g värvi 100 ml destilleeritud veele. Segu kuumutatakse ja keedetakse 1 minut. Jahtunud lahus on tarvitamiskõlblik.

Kuna Heifetzi sööde on elektiivsete omadustega, pole seda vaja steriliseerida, vaid võib piirduda keetmisega kolbides 5 min. või ühekordselt kuumutada voolavas aurus.

Sööde valatakse ujukiteta katseklaasidesse 8—10 ml kaupa. Mõnedesse katseklaasidesse paigutatakse ujukid.

Hapupiimasaadused neutraliseeritakse enne pH 7,2—7,4-le 20%-lise NaOH-lahuse lisamisega.

Uuritavast tootest tehakse lahjendus steriilse füsioloogilise lahusega. Hapupiimasaaduste ja pastöriseeritud piima kontrollimisel tehakse külvid kohe toodetest ja nende I lahjendusest. Toorpiima korral tehakse lahjendused sõltuvalt selle värskusest.

1 ml toodet külvatakse ujukitega söötmesse. 1 ml lahjendatud söödet külvatakse samasse söötmesse, kuid ujukiteta katseklaasi. Katseklaasid asetatakse termostaati, kus neid hoitakse 16 ... 18 tundi 42—43° C juures. Kolibakterite olemasolu korral muutub sööde violettpunasest rohekaskollaseks.

Toote lahjendusteta külvides tehakse kolibakterite olemasolu kindlaks gaasi tekke järgi. Kolibakterite hulk Heifetzi söötmes arvutatakse nii nagu Kessleri söötmes. Heifetzi söötme kasutamine võimaldab 3 korda kiiremini määrata kolibaktereid kui Kessleri sööde.

VIII PEATÜKK

TEHNILISELT TÄHTSA MIKROFLOORA KONTROLL

Õige mikrobioloogiline kontroll tootmises võimaldab välja töötada abinõud kõrvalise mikrofloora vähendamiseks aparatuuril, seadmetel, nõudel ja teenindava personali kätel. Peale selle annab mikrobioloogiline kontroll võimaluse toodangu kvaliteedi languse korral välja selgitada mikroobide infektsiooni allika, otsustada kasutatavate pesemis- ja desinfitseerimisvahendite efektiivsuse astme üle, hinnata pesemisbrigaadide tööd.

Selleks et kindlustada kõrgekvaliteedilise toodangu väljalase, tuleb tingimata kontrollida tehniliselt tähtsa mikrofloora arenemist. Seejuures uuritakse juuretistega sisseviidavate mikroorganismide ja tootmisprotsessis toodetesse sattuva kõrvalise mikrofloora arengut. Kõrvalise mikrofloora intensiivne areng (eriti juuretistega sisseviidavate mikroorganismide aktiivsuse langemisel) kutsub toodetel esile mitmesuguseid vigu.

Hapupiimasaaduste tootmisel puutume kõige rohkem kokku järgmiste vigadega: kohupiima, keefiri ja hapukoore liiga kõrge happesus; keefiri, hapukoore, kohupiima ja kohupiimasaaduste kerkimine; juuretise, hapupiima, kohupiima ja piima aeglane hapnemine või mittehapnemine; keefiri ja hapukoore limaseks muutumine. Juustu tootmisel on juustu sagedasemad vead augustuse puudumine, varane või hiline kerkimine jms., hapukoorevõi tootmisel aroomi puudumine, mitteväljendunud maitse jne.

Hapupiimasaaduste kvaliteeti kontrollitakse enamasti vahetu mikroskopeerimise teel. Seda meetodit on soovitatud GOST-ides ja tehnoloogilistes instruktsioonides piimhappestreptokokkide või -keppide puhaskultuuridega valmistatud juuretiste ja hapupiimatoodete mikrobioloogilise puhtuse määramiseks, samuti segajuure-

tiste kasutamisel mikrofloora komponentide suhte kindlakstegemiseks.

Tuleb aga silmas pidada, et mikroskopeerimine annab toote puhtusest ja ta mikrofloora koostisest suhtelise ettekujutuse. Seepärast on antud meetod vajalik juhul, kui juuretises või tootes ületab võõra mikrofloora hulk kümme tuhat rakku 1 ml-s või 1 g-s. Oletame, et põhimikrofloora rakke (näiteks piimhappestreptokokke on 1 ml-s või 1 g-s 1 miljard, võõral mikroflooral aga tuhat. Mikroskoopilise preparaadi valmistamises jaotuvad rakud nii, et iga võõra mikrofloora raku kohta tuleb miljon põhimikrofloora rakku. Seda rakku on preparaadi vaatlemisel praktiliselt võimatu leida.

Kui valmistoodangus (kohupiim, hapukoor, hapupiim) selline hulk võõrast mikrofloorat, näiteks termoresistentseid piimhappekepikesi, ei avalda mõju toote kvaliteedile, siis piimhappestreptokokkide juuretises on see hulk väga oluline, sest edasises hapendamisprotsessis võib nende hulk tunduvalt suureneda.

Juuretistes ja hapupiimatoodetes on ühte või teist viga põhjustavaid mikroorganisme alati tunduvalt vähem kui juuretisega sisseviidud põhimikrofloorat. Mõned piimhappekepikesed, eriti termoresistentsed, kasvavad halvasti tardsöötmetel. Seepärast on tardsöötmete kasutamise korral raske otsustada juuretistega sisseviidud ja võõra mikrofloora tegeliku suhte üle.

Sel juhul osutub otstarbekaks piirlahjenduste meetod. Söötmeks võib olla steriilne lõss, kuid sobivad ka teised (vedelsöötmed (vt. lk. 62).

Külve hoitakse temperatuuril, mis vastab uurimise eesmärgile. Kui on tarvis määrata piimhappestreptokokkide, pärmseente ja äädikhappebakterite arvu, peab temperatuur olema 30° C. Kui on tarvis kindlaks teha termofiilsete piimhappekepikeste olemasolu, hoitakse külve 40—45° C juures. Kui on vaja määrata nii ühtede kui ka teiste mikroorganismide grupid, on külve otstarbekas hoida 30—35° C juures, sest streptokokkide juuresolekul kasvavad ka piimhappekepikesed sellel temperatuuril üsna hästi. Kõrgem temperatuur võib avaldada hävitavat mõju streptokokkide kasvule.

PIIMHAPPEBAKTERITE ARENGU KONTROLLIMINE

Hapupiimasaaduste õige mikrobioloogiline kontroll annab võimaluse avastada võõrmikrofloorat — kepikujulisi piimhappebaktereid, millel on kõrgem happe tekitamise võime kui piimhappestreptokokkidel. Selle mikrofloora areng piimhappestreptokokkide puhaskultuuridega valmistatud toodangus (kohupiim, hapukoor) põhjustab tihti liiga kõrget happesust.

Seda viga põhjustab termoresistentne piimhappekepike. Ta on jääkmikrofloora esindaja pastöriseeritud piimas, kust satub

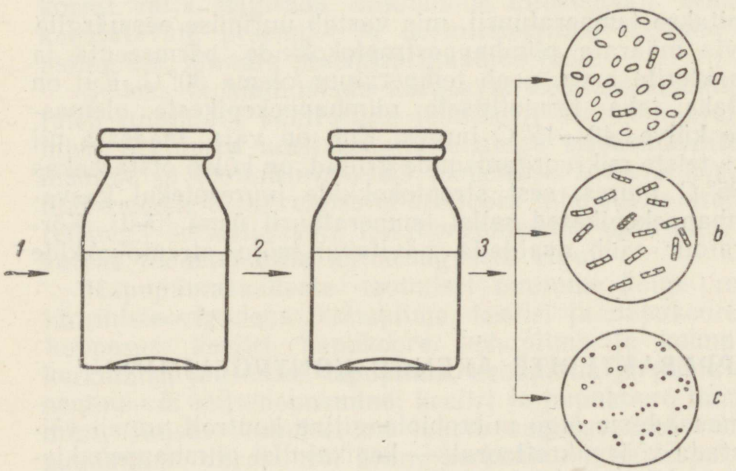
tehnoloogilistele seadmetele. Hooletu pesemise ja desinfitseerimise korral võib seadmetelt leida suurel hulgal termoresistentseid piimhappekepikesi. Real juhtudel võib ka piimhappestreptokokkide juuretis sisaldada termoresistentseid piimhappekepikesi.

Juuretisepiima pastöriseerimise efektiivsuse kontrollimine

Juuretisepiima pastöriseerimise efektiivsust on väga lihtne kontrollida. Pärast piima pastöriseerimist võetakse aseptiliselt väike kogus piima ja pannakse steriilsesse katseklaasi või purki (joonis 98). Proovi hoitakse 24—48 tundi 40—45° C juures. Pärast seda tehakse kindlaks katseklaasist saadud kalgendi iseloom ja vaadatakse mikroskoopilist preparaati.

Kui pastöriseeriti temperatuuril alla 90° C, on kalgend rohkem või vähem tihe ja mikroskoobi all leitakse arvukalt streptokokke. Kui pastöriseerimine toimus 90—95° C juures, kuid lühikest aega või hoolikalt segamata, võib kalgend katseklaasis olla nõrk. Mikroskopeerimisel leitakse preparaatides teralisi või mitteteralisi kepikesi.

Piimas peptonisatsiooni tekkimise, aga ka mikroskopeerimisel spooridega kepikeste leidmise korral tehakse järeldus, et piim pastöriseeriti õigesti (90—95° C juures 10—30 min. jooksul). Esimesel pilgul võib näida, et peptonisatsiooni tekitav mikrofloora



Joonis 98. Juuretisepiima pastöriseerimise efektiivsuse kontrollimise skeem:

1 — piimaproovi võtmine pärast pastöriseerimist steriilsesse nõusse; *2* — proovi hoidmine 40—45°C juures 24—48 tundi; *3* — saadud kalgendi mikroskopeerimine; *a* — mikroskoopilises preparaadis spoorid ja tugevalt värvunud jämedad kepikesed (pastöriseeritud õigesti); *b* — mikroskoopilises preparaadis on teralised kepikesed (pastöriseerimine on olnud lohakas); *c* — mikroskoopilises preparaadis on streptokokid (pastöriseerimistemperatuur on olnud alla 90°C).

on pastöriseeritud piimas halb nähe. Kuid juuretiste valmistamisel ei ole roisubakterid hädaohtlikud, sest nad pole võimelised arenema madala pH juures, mis tekib piimhappebakterite aktiivsel kasvul.

Tunduvalt suuremat hädaohtu kujutab endast pastöriseerimise üleelanud termoresistentne piimhappekepike, mis kuulub hapupiimasaadustes liiga kõrget happesust esilekutsuva mikrofloora hulka.

Pastöriseerimise efekti hinnatakse joonisel 98 kujutatud skeemi järgi. Kasutades seda skeemi, on võimalik välja selgitada juuretiste saastumise põhjused võõrmikroflooraga ja püstitada antud seadme optimaalne pastöriseerimisrežiim, arvestades piima tegelikku kvaliteeti.

Juuretisepiima pastöriseerimise temperatuur on tavaliselt 90—95° C piirides. Mida suurema mahutavusega on pastöriseerimiseks kasutatavad nõud, seda kauem hoitakse piima antud pastöriseerimistemperatuuril. Suurt tähelepanu tuleb pöörata ka piima hoolikale läbisegamisele pastöriseerimise ajal, et kindlustada piima ühtlane läbikuumutamine nõutava temperatuurini kogu nõu ulatuses.

Skeemi võib kasutada kepikeste kindlakstegemiseks hapupiimasaaduste tootmiseks määratud piimas. Kõikidel juhtudel on toodete liiga kõrge happesuse tekitamise põhjuste väljaselgitamisel eriti kasulik uurida piimas termoresistentsete piimhappekepikeste olemasolu.

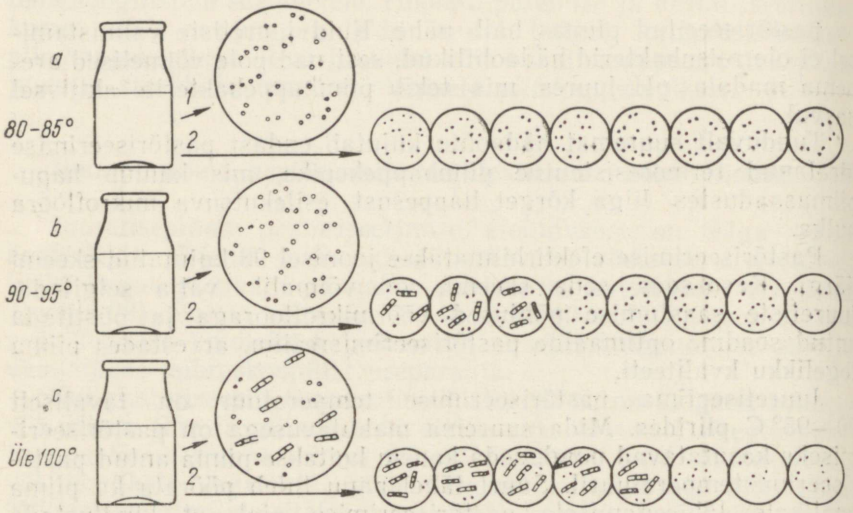
Piimhappestreptokokkide juuretise puhtuse kontrollimine

Juuretiste igapäevasel kontrollil vaadatakse värvitud preparaate otse mikroskoobi all ja määratakse juuretise happesus. Juuretise happesuse järgi võib kaudselt otsustada piimhappebakterite üksikute rühmade arengu ja juuretise puhtuse üle.

Happe tekitamise võime ja piir on piimhappestreptokokkidel ja -keppidel erinev. Liiga kõrge happesus piimhappestreptokokkide juuretisega valmistatud toodetes näitab nende saastumist keppidega. Hinnates äsja valminud streptokokkide tarbejuuretist, peame eelkõige pöörama tähelepanu happesusele, mis ei tohi olla üle 80—90 Th°. Üle 90 Th° happesus näitab juuretises piimhappekepikeste esinemist ja juuretise kasutamiskõlbmatust. Isegi väheste resistentsete piimhappekeppide esinemine juuretises on piima nendega saastamise allikaks.

Täpsema otsuse tegemiseks juuretise puhtuse kohta on soovitatav kasutada piirlahjenduste meetodit steriilses lõssis.

Et analüüsi põhieesmärgiks on juuretise puhtuse kontroll, streptokokkide lõplik sisaldus aga ei paku huvi, siis on küllaldane võtta lahjendus kuni 1:10 000 ja isegi 1:1000. Kui keppe on 1 ml-s üle kümnete tuhandete, tehakse nende esinemine kindlaks



Joonis 99. Mesofiilse streptokokkide juuretise kontrollimise skeem termoresistentsete piimhappekepikeste avastamiseks:

1 — mikroskopeerimine; *2* — piirlahjenduste meetod piimas; *a* — mikroskopeerimisel ja piirlahjenduste meetodil kepikesi ei leitud, järelikult on juuretis puhas; *b* — mikroskopeerimisel juuretises kepikesi ei leitud, piirlahjenduste meetodil leiti 1 ml-s 2500 kepikest; *c* — kepikesi leiti nii piirlahjenduste meetodil (250 000 ml) kui ka mikroskopeerimisel.

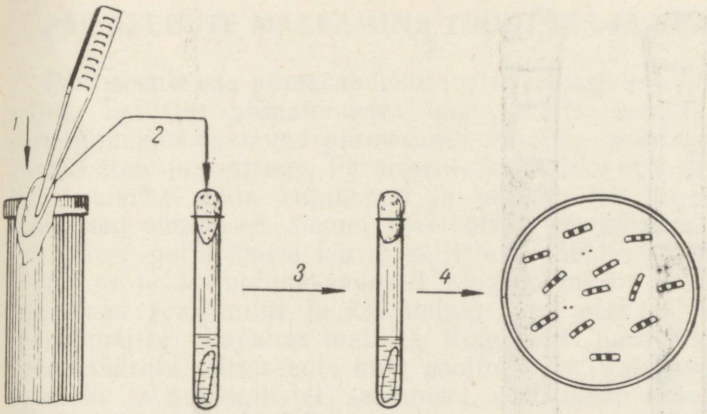
juuretiste otsese mikroskopeerimise teel. Juuretise puhtuse kontrollimise skeem on näidatud joonisel 99.

Piirlahjenduste meetodiga võib steriilses piimas määrata ka piimhappekeppide (atsidofiilkepike, bulgaaria kepike) juuretise puhtust. Külve hoitakse 30—35° C juures. Saadud kalgendid mikroskopeeritakse. Juuretiste saastumisel leitakse juba esimestes lahjendustes streptokokke.

Piirlahjenduste meetodit soovitatakse kasutada juuretiste kontrollimisel vaid siis, kui streptokokkide juuretistes või toodetes täheldatakse liiga suurt happesuse tõusu või tekib kahtlus piimhappekepikeste puhaskultuuride juuretise saastumises streptokokkidega. Igapäevasel juuretiste ja toodete kontrollil piisab mikroskoopilise preparaadi vaatamisest ja happesuse määramisest.

Termoresistentsete piimhappekepikeste kindlakstegemine tehnoloogilistel seadmetel

Kõige lihtsam viis termoresistentsete piimhappekepikeste kindlakstegemiseks tehnoloogilistel seadmetel on teatud seadmeosa hõõrumine steriilse veega niisutatud vatt-tampooniga. Seadmeosa suurusel ei ole tähtsust. Tampoon lastakse steriilse piimaga katse-



Joonis 100. Seadmete kontrollimise skeem termoresistentsete piimhappekepikeste avastamiseks:

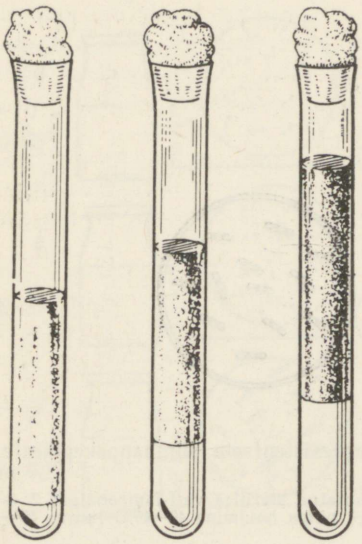
1 — seadme sisepinna hõõrdumine steriilses vees niisutatud steriilse vatt-tampooniga; *2* — tampooni asetamine steriilsesse piima; *3* — tampooniga piima hoidmine 40—45°C juures 16—24 tundi; *4* — saadud kalgendi mikroskopeerimine.

klaasi ja hoitakse seal 16— 24 tundi 40—50° C juures. Seejärel katseklaasi sisu mikroskopeeritakse ja määratakse kepikeste esinemine. Termoresistentsete piimhappekepikeste kindlakstegemise skeem on näidatud joonisel 100.

Aroomimoodustajate bakterite määramine juuretises

Juustu ja hapukoorevõi valmistamiseks kasutatavad juuretised peavad sisaldama küllaldasel hulgal aroomimoodustajaid baktereid. Madala II järelsoojendusega juustu juuretise koosseisu viiakse aroomimoodustajatest *Str. paracitrovorus* ja *Str. diacetilactis,* võile — *Str. diacetilactis.* ВНИИМС-i bakteriaalsete juuretiste laboratooriumi töötajate A. Manenkovi, L. Zalaško, E. Derjabini poolt on välja töötatud lihtne metoodika, mis võimaldab tootmistingimustes kiiresti ja piisava täpsusega määrata aroomimoodustajate bakterite olemasolu juuretises nende elutegevuse tagajärjel tekkinud süsihappegaasi ning atsetoiini ja diatsetüüli järgi.

Süsihappegaasi määramine juuretises. Tarbejuuretis segatakse hästi läbi. 20 ml juuretist valatakse 15-mm läbimõõduga katseklaasi ja märgitakse juuretise tase. Katseklaas asetatakse kruusi külma vette. Kruusi põhja pannakse vatt. Vee temperatuur kruusis viiakse kuni 90° C-ni ja katseklaase välja võtmata märgitakse ära kalgendi tõusu tase. Kui juuretis sisaldab süsihappegaasi, mis näitab juuretises *Str. diacetilactis*'e ja *Str. paracitrovorus*'e esinemist, muutub kalgend käsnataoliseks ja tõuseb vadaku kohal üles 0,6—3 cm või enam (joonis 101). Süsi-



Joonis 101. Katseklaasid juuretisega, milles määratakse aroomimoodustajate bakterite esinemine:

1 — kalgend tõusis ainult 0,5 cm (juuretis ei sisalda aroomimoodustajaid); *2* ja *3* — kalgend tõusis vastavalt 1,7 ja 4,9 cm (juuretis sisaldab aroomimoodustajaid).

happegaasi puudumisel ei tõuse kalgend üldse või tõuseb kõigest 0,3—0,5 cm ja on selgelt väljendunud käsnataolise struktuuriga.

Atsetoiini määramine koos diatsetüüliga. Juuretis filtreeritakse läbi paberfiltri. Kolm tilka filtraati segatakse portselankausikeses kolme tilga 40%-lise KOH-lahusega. Kui juuretises on vajalik hulk aroomiaineid (atsetoiini ja diatsetüüli), muutub see 10...15 minuti pärast tugevalt roosaks. Hilisemat roosa värvuse tekkimist (30 minuti pärast ja hiljem) ei arvestata.

Analüüsi lihtsustamiseks võib juuretise filtraadi asemel kasutada süsihappegaasi määramisel saadud vadakut.

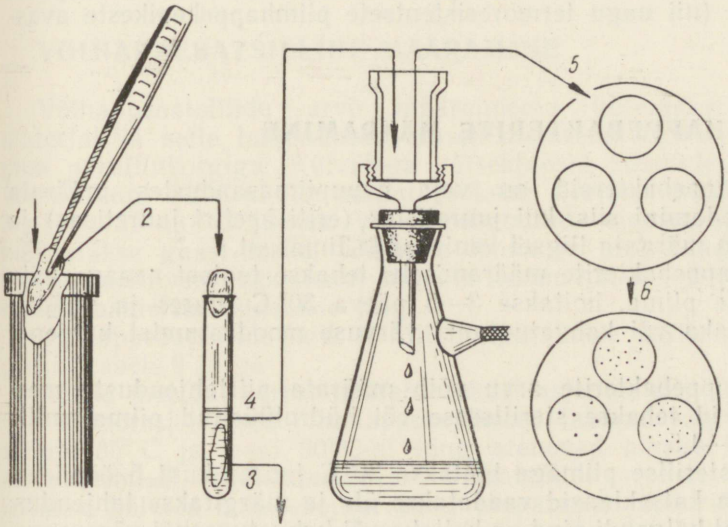
Kui juuretises leitakse süsihappegaasi, kuid puudub atsetoiin või diatsetüül või vastupidi, siis juhul, kui teised näitajad on head (kalgenemisaeg, mikroskoopiline preparaat, maitse ja lõhn), peab ВНИИМС-i juuretiste laboratoorium selliseid juuretisi tootmises kasutamiskõlblikeks, sest need puudused võivad olla tingitud mittetäisväärtuslikust piimast.

Antud meetodid annavad õigeid tulemusi vaid siis, kui juuretis ei sisalda kolibaktereid, sest ka need võivad moodustada süsihappegaasi ja atsetoiini ning pärmseeni, mis kutsuvad esile gaasi moodustumise.

PÄRMSEENTE MÄÄRAMINE TOODETES JA SEADMETEL

Pärmseente osa piimasaaduste tootmisel tegi kindlaks S. A. Koroljov. Sellistes piimatoodetes nagu keefir, kumõss, atsidofiilpärmipiim moodustavad pärmseened vajaliku mikrofloora ja neid viiakse sisse juuretisega. Pärmseente puuduliku arengu korral pole tootel maitse välja kujunenud ja vahetevahel langevad nende dieetilised omadused. Samal ajal võivad «metsikute» pärmseente intensiivse paljunemise korral selliste produktide tootmisel nagu kohupiim ja kohupiimasaadused ning hapukoor tekkida konsistentsivead (paisumine ja käärimine) ning maitse- ja lõhnavead (pärmimaitse, ebapuhas maitse). Kõigil neil juhtudel tuleb tingimata määrata pärmseente hulk pooltoodetes, valmistoodangus ja vahel ka tehnoloogilistel seadmetel, mis lubab kasutusele võtta abinõud pärmseente paljunemise pidurdamiseks või intensiivistamiseks.

Kõik eelöeldu mikroskopeerimismeetodi sobivusest ja täpsusest termoresistentsete piimhappekepikeste avastamiseks käib ka pärmseente kohta. Nii õnnestub valminud keefiri mikroskopeerimisel leida üksikuid pärmirakke mitte igas mikroskoobi vaateväljas. Vahel ei leita neid ka paljude vaateväljade läbivaatamisel, sellal kui külvid tardsöötmetel näitavad, et 1 ml valminud keefiri sisaldab kümneid tuhandeid pärmirakke.



Joonis 102. Seadmete kontrollimise skeem pärmseente avastamiseks:

1 — seadme sisepinna hõõrumine steriilses vees niisutatud steriilse vatt-tampooniga; *2* — tampooni asetamine steriilsesse vette; *3* — tampooni eemaldamine; *4* — saadud loputusvee filtreerimine läbi membraanfiltri; *5* — membraanfiltrite asetamine tardunud õllevirdeagarile Petri tassil; *6* — külvide hoidmine 30°C juures 3 ööpäeva.

Pärmseente arvu on soovitatav määrata õllevirdeagaril. Sel juhul on väga mugav kasutada membraanfiltreid. Uuritavast tootest tehakse lahjendused (arvestades oletatavat pärmseente hulka) steriilses vees ja kogu vastav lahjendus (mitte alla II lahjenduse) filtreeritakse läbi membraanfiltrite Zeitzi küünlas (vt. lk. 152).

Membraanfilter asetatakse Petri tassil tardunud õllevirdeagari pinnale ja hoitakse 3 ööpäeva 30° C juures. Filtril väljakasvanud pärmseente kolooniad loendatakse ja võetud lahjendust arvestades tehakse kindlaks pärmseente hulk toote 1 ml-s.

Ühele tassile võib korraga paigutada 3—5 filtrit.

Kui tuleb määrata seadmetel esinevaid pärmseeni, asetatakse seadmelt võetud materjaliga tampoon 100 ml steriilse veega kolbi. Kolvi sisu loksutatakse hoolikalt ja filtreeritakse läbi membraanfiltri. Filter asetatakse õllevirdeagari pinnale ja hoitakse seal 30° C juures 3 ööpäeva (joonis 102). Seejärel kontrollitakse pärmseente esinemist.

Membraanfiltrite ja Zeitzi küünla puudumise korral võib pärmseente esinemist hapupiimasaadustes ja juuretistes määrata piirlahjenduste meetodiga piimas ja saadud kalgendi mikroskopeerimisega. Selline meetod on vähem täpne, sest eri pärmseened reageerivad piimhappebakteriga kooskasvule erinevalt ja real juhtudel tõrjuvad streptokokid pärmseened täielikult välja.

Pärmseente avastamiseks seadmetel asetatakse tampoon pärast seadme töötlemist otse steriilsesse lõssi ja pärast 30° C juures hoidmist, kui on tekkinud kalgend, vaadeldakse mikroskoopilist preparaati (nii nagu termoresistentsete piimhappekepikeste avastamisel).

ÄÄDIKHAPPEBAKTERITE MÄÄRAMINE

Äädikhappebaktereid on vaja hapupiimasaadustes määrata kõige sagedamini siis, kui juuretistes (eriti keefiri juuretises) ja toodetes on märgata liigset venivust ja limasust.

Äädikhappebakterite määramiseks tehakse tootest aasaga külv steriliisesse piima, hoitakse 3—5 päeva 30° C juures ja vaadeldakse kollaka või kahvatuoranži värvuse moodustumist kalgendi pinnale.

Äädikhappebakterite arvu võib määrata piirlahjenduste meetodil. Külvid tehakse steriilsesse või hüdrolüüsitud piima, mille pH on 4,0—4,5.

Külve steriilse piimaga hoitakse 30° C juures kuni 5 ööpäeva. Kalgendiga katseklaasid vaadatakse üle ja märgitakse lahjendus, mille korral kalgendi pind on kollaka või kahvatuoranži värvusega.

Kui kasutatakse hüdrolüüsitud piima, viiakse söötme reaktsioon pH 4,0—4,5-le. Selleks lisatakse 10%-list steriilset piimhapet. Pärast 3-ööpäevast 30° C juures hoidmist vaadatakse külvid läbi ja märgitakse lahjendus, mille korral söötme pinnal esineb kile.

Kui kile on põhja vajunud, jääb katseklaasi seinale kergesti märgatav jälg.

Suurtes lahjendustes kilet sageli ei moodustu, kuid sööde muutub häguseks. Külv kilest ja hägust steriilsesse piima näitab, et mõlemal juhul piim kalgendub, ainult et kilest tehtud külv piimas annab oranži värvuse. Kilest tehtud elava preparaadi mikroskopeerimisel täheldatakse rakkude aktiivset liikumist, rakud hägust on liikumatud ja kuuluvad alati streptokokkide hulka. Seepärast tuleb arvestada vaid neid lahjendusi, mille kõrral esines kile.

Piirlahjenduste meetod steriilses lõssis on mugav seepärast, et piimasaaduste kompleksel uurimisel annab ta ühtlasi ettekujutuse nendes leiduvate piimhappebakterite arvust. Tulemused võivad aga olla ebatäpsed, sest mõned äädikhappebakterid ei tekita piimhappebakteritega koos kasvades piimas oranži värvust. See võib analüüsi täpsust mõjutada sel juhul, kui uuritakse tooteid, mille mikrofloora koostis on tundmatu.

Kui määratakse piimas oranži värvust tekitavate juuretistega tootesse viidavate äädikhappebakterite hulka, tagab antud meetod üsna täpsed tulemused.

Äädikhappebakterite suurim hulk määratakse piirlahjenduste meetodil hüdrolüüsitud piimas pH-ga 4,0—4,5. Selle meetodiga ei õnnestu määrata äädikhappebaktereid, mis ei anna vedelsöötme pinnal kilet, samuti liikumatuid ja piimhappebakteritega koos kasvades oranži värvust mittetekitavaid äädikhappebaktereid.

VÕIHAPPEBATSILLIDE MÄÄRAMINE

Võihappebatsillide arvu määramiseks külvatakse uuritav materjal ja selle lahjendused katseklaasidesse, kus on steriilne piim parafiinkorgiga. Külvidega katseklaasid kuumutatakse veevannil kuni 85° C-ni 10 minuti jooksul. Seejärel hoitakse neid 3 päeva 35—37° C juures. Võihappebatsillide olemasolu külvides määratakse gaasi tekke, võihappe lõhna ja preparaadis granuloosile positiivset reaktsiooni andvate trumminuiakujuliste ja spooridega bakterite esinemise järgi.

Võihappebatsillide hulk ja tiiter määratakse uurimistulemuste põhjal tabeli 9 järgi.

Antud meetodi korral tekitab raskusi asjaolu, et piimas leiduvad termoresistentsed piimhappekepikesed taluvad sageli kuumutamist 85° C ja isegi 90° C-ni ning arenevad piimas ka termostatiseerimisel, viies alarindesse võibatsillide arengu. Sel juhul leitakse külvide mikroskopeerimisel preparaadis spooridega kepikeste asemel teralisi ja mitteteralisi spoorideta kepikesi. Neil juhtudel tuleb kuumutada 95° C-ni.

Võihappebatsillide määramiseks juustus soovitab ВНИИМС kasutada ka 1%-lise glükoosisisaldusega lihapeptoonagarit. Katseklaasides olevasse ülessulatatud ja 40° C-ni jahutatud söötmesse

viiakse rida üksteisele järgnevaid lahjendusi juustust. Söötmega katseklaasid kuumutatakse veevannil 90° C-ni ja isegi 100° C-ni ning jahutatakse agari tardumiseni. Söötme pinnale valatakse 1—2 cm paksune lihapeptoonagari kiht, et luua võihappebatsilli arenguks vajalik anaeroobne keskkond. Külve hoitakse 35—37° C juures. Võihappebatsillide arenedes moodustuvad süsihappegaas ja vesinik, mille tagajärjel agar rebeneb.

IX PEATÜKK

BAKTERIOFAAGIDE JA ANTIBIOOTIKUMIDE MÄÄRAMINE PIIMAS

BAKTERIOFAAGIDE MÄÄRAMINE

Bakteriofaagid on viirused, parasiidid, mis on võimelised purustama (lahustama) bakterite rakke.

Faag koosneb peast ja sabast, mis on vahel väga väike. Faag kleepub oma saba abil raku seinale ja purustab selle. Seejuures voolab bakteriofaagi pea sisu (desoksüribonukleiinhape) rakku. Bakteriofaag paljuneb raku sees. Pärast seda bakteriraku seinad lüseeruvad ja vabastavad paljuneva bakteriofaagi osakesed.

Bakteriofaagid erinevad üksteisest oma spetsiifilise toime poolest. On olemas monovalentseid faage, mis toimivad ühele teatud tüvele, ja polüvalentseid faage, mis toimivad paljudele tüvedele ja ka nende sugulasliikidele. Tootmises esinevad kõige sagedamini polüvalentsed faagid.

Uus-Meremaa teadlased Whitehead ja Koks eraldasid ja õppisid 1934. aastal tundma piimhappestreptokokkide bakteriofaagi. Käesolevaks ajaks on kindlaks tehtud mitmesuguste piimhappestreptokoki tüvede *(Str. lactis, Str. cremoris, Str. diacetilactis, Str. citrovorus, Str. paracitrovorus)* bakteriofaagid ja mõningate piimhappekepikeste tüvede *(Lactob. casei, Lactob. bulgaricum* ja *Lactob. plantarum)* bakteriofaagid.

Bakteriofaagi toimet piimhappekepikestele on puudulikult uuritud, kuid on kindlaks tehtud, et mõned limaseid kapsleid omavad piimhappekepikeste tüved on bakteriofaagikindlad.

Piimhappestreptokokkide bakteriofaag on looduses levinud niisama laialdaselt nagu antud piimhappebakteridki, olles üheks piimhappekäärimisprotsessi rikkumise põhjuseks. Kõige sageda-

mini täheldatakse bakteriofaagi juuretiste valmistamisel, aga ka juustu ja kohupiima tootmisel.

3—4 tundi pärast juuretise lisamist hakkab energiliselt paljunevate streptokokirakkude kultuur bakteriofaagi toimel lüseeruma. Lüseerumine on kas täielik — hävinevad kõik rakud, piima happesus ei tõuse, piim ei kalgendu — või osaline — lüseeruvad vaid mõned rakud. Järelejäänud faagikindlad rakud hakkavad paljunema, piim kalgendub, kuid kalgendumisaeg pikeneb.

Mõnikord avaldub bakteriofaagi esialgne toime rakkude aglutinatsioonis, s. o. kleepumises. Sel juhul võib mikroskopeerimisel näha rakkude kogumikke, mis edaspidi lüseeruvad.

Piimhappestreptokokkide seas esineb faagitundlikke ja faagiresistentseid tüvesid.

Resistentseid tüvesid võib saada looduslikest allikatest (piim, hapupiimatooted, taimed jne.) isoleeritud kultuuride valiku teel, samuti kunstlikult, s. o. faagitundlike kultuuride immuniseerimise teel faagiga. Faagi suhtes tundlikud võivad olla ka kõrgema happetekitamisvõimega piimhappestreptokokid.

Välismaa teadlaste andmetel on piimhappestreptokokkide limatekitavad rassid *(Str. cremoris)* bakteriofaagikindlad. Et Jakovlevi uurimised neid andmeid ei kinnita, on järelikult tingimata vaja kontrollida kõiki juuretise koostises olevaid piimhappestreptokokkide tüvesid bakteriofaagitundlikkusele, esmajärjekorras juustu ja kohupiima juuretisi, ning eemaldada tundlikud kultuurid.

Sel eesmärgil kontrollivad tööstusi juuretiste ja tüvedega varustavad laboratooriumid piimhappestreptokokkide bakteriofaagitundlikkust Jakovlevi meetodil.

Kahte katseklaasi, kus on 10 ml steriilset lõssi ja kuhu on lisatud metüleensinist, viiakse 3% uuritavat kultuuri. Ühte katseklaasi lisatakse 1 ml faagi või faagide segu sisaldavat filtraati. Proove hoitakse 30° C juures 18 tundi. Vaatlusi tehakse 3, 6, 12 ja 18 tunni järel. Pärast vaatlust raputatakse katseklaase. Kui faagiga katseklaasis jääb piim siniseks või metüleensinise redutseerimine toimub aeglasemalt kui kontrollkatseklaasis, on kultuur antud faagile tundlik.

Tüvesid kontrollitakse polüvalentse bakteriofaagiga, mida võib tellida ВНИМИ-st või ВНИИМС-ist.

Faagiresistentsete kultuuride pikaajaline kasutamine tootmises nõrgendab nende resistentsust, mistõttu neid on vaja aeg-ajalt välja vahetada.

Paljud autorid on eksperimentaalsel teel saanud faagitundlikele kultuuridele resistentsed kultuurid, mis sobivad tootmises kasutamiseks. Nad omandasid täieliku immuniteedi antud faagi suhtes, samaaegselt ise produtseerides faagi paljude ümberistutamiste jooksul. Käesoleva ajani ei ole selliseid resistentseid tüvesid praktikas veel kasutatud.

Bakteriofaagi algallikaks piimas on söödad, loomade udar ja karvkate, sõnnik jms. Piim saastub faagiga teist korda säilitami-

sel ja transportimisel. Piimatööstustes on põhiliseks ja alaliseks faagi lähtekohaks toores segupiim.

Piimhappestreptokokkide bakteriofaagi optimaalseks arengutemperatuuriks on kultuuri optimaalne temperatuur. Temperatuuridel alla optimaalse selle areng seiskub. Viimaste andmete järgi ei ole piima hapendamisel alla 21° C bakteriofaag tootmises hädaohtlik. Faagi täielik inaktiveerimine tootmistingimustes saavutatakse voolava piima kuumutamisega üle 100° C. Kuumutamisel suurtes mahutites tuleb temperatuuri hoida 30 minutit 90° C juures. Pärast piima termilist töötlemist on piima tähtsamaks faagiga saastumise allikaks seadmed ja ruumide õhk.

Tootmistingimustes piim bakteriofaagiga ootamatult ei saastu. Bakteriofaagi toime tugevneb aegamööda ja avaldub hiljem. Varjatud protsessi olemus seisneb faagi kasvavas virulentsuses. Kõige tõhusam abinõu võitluses faagi vastu tootmistingimustes on resistentsete kultuuride kasutamine ja nende perioodiline vahetamine.

Samaaegselt tuleb rakendada järgmist abinõude kompleksi: vältida piima laialipritsimist tootmisruumides; juuretisepiima kõrge termiline töötlemine; seadmete hoolikas pesemine ja desinfitseerimine; tootmisruumide õhu ventileerimine; ära hoida juuretiste saastumist faagiga.

Juuretiste osakonna õhku võib faagist puhastada klooraerosooliga töötlemise või ultravioletkiirtega kiiritamise teel (lamp Був-15). Desinfitseerimisvahenditest mõjuvad faagile kõige tugevamini kloori sisaldavad preparaadid (kaltsium- või naatriumhüpokloriid ja tetraammooniumühendid). Head desinfitseerivat toimet avaldab 0,1%-line formaliin.

Bakteriofaagi määramiseks on välja töötatud rida meetodeid. Enne aga peatume analüüsiks ettevalmistamisel.

Proovide ettevalmistamine

Bakteriofaagi kindlakstegemiseks valmistatakse proovid ette järgmiselt.

P i i m. Steriilsesse nõusse võetakse piimaproov, kuumutatakse veevannil 40° C-ni ja lisatakse 10%-list piim- või äädikhapet valkude sadenemiseni. Kalgendunud piim filtreeritakse läbi steriilse paberfiltri, seejärel läbi Zeitzi filtri.

V a d a k j a j u u r e t i s. Steriilsesse kolbi võetud proov filtreeritakse läbi steriilse paberfiltri, seejärel läbi Zeitzi filtri.

J u u s t. 25 g juustu peenestatakse hoolikalt flambeeritud uhmris. Juustumassile lisatakse vähehaaval 45°-st steriilset vett koguses, mis ületab juustu kaalu 1,5—2,5 korda. Peenestamine lõpetatakse pärast rasvakerakeste eraldumist uhmri seintele. Suspensioon viiakse steriilsesse keeduklaasi ja jäetakse seal

15—20 tunniks 6—10° C juures seisma. Vedelik filtreeritakse läbi steriilse paberfiltri, seejärel läbi Zeitzi filtri.

Seadmed ja nõud. Katseklaasist võetud niiske steriilse vatt-tampooniga pühitakse hoolikalt uuritava objekti pinda. Seejärel asetatakse tampoon tagasi samasse katseklaasi 10 ml steriilsesse lihapeptoonpuljongisse, kuhu on lisatud 1 aasatäis faagitundlikku piimhappestreptokokkide kultuuri[1].

Katseklaase hoitakse 30° C juures 6 tundi ja filtreeritakse seejärel läbi Zeitzi filtri.

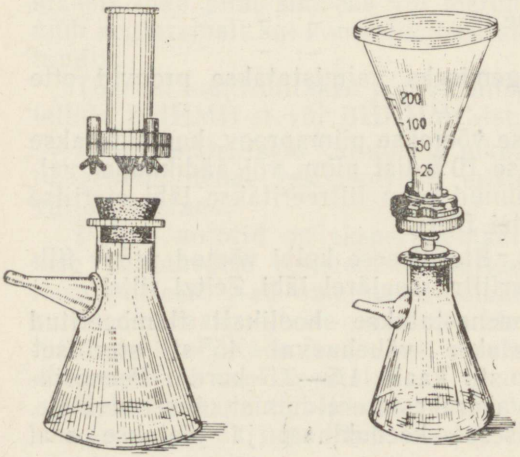
Filtraadi saamine

Bakteriofaagi määramiseks on tarvis saada filtraati, mis ei sisalda resistentseid bakterirakke, sest need võivad takistada bakteriofaagi määramist. Kõige paremini sobivad membraanfiltrid nr. 3, mida keedetakse enne tarvitamist 10 minutit destilleeritud vees. Võib kasutada ka spetsiaalseid papist filterplaate, kuid need adsorbeerivad bakteriofaage osaliselt. Sellised plaadid steriliseeritakse koos filterseadmega.

Filtreeritakse Zeitzi filtril, mis on asetatud läbi kummikorgi Bunseni kolbi (joonis 103). Steriilsuse hoidmiseks pannakse Bunseni kolvi nokale lühike kummitoru, mille otsa on asetatud vatiga klaastoru. Töökorda seatud aparaat pakitakse paberisse ja steriliseeritakse 1,5 at juures 30—40 minutit.

Enne tööle asumist asetatakse Zeitzi filtrile membraanfilter või filterplaat. Aparaat ühendatakse kummitoru abil veejoapumbaga või õlipumbaga vaakumi tekitamiseks kolvis, seejärel filtreeritakse. Nüüd võetakse kummi- ja klaastoru ära ning filtraat valatakse läbi kolvi noka steriilsesse katseklaasi.

[1] Bakteriofaagitundlikku piimhappestreptokokkide kultuuri võib saada ВНИИМС-ist või ВНИМИ-st.



Joonis 103. Zeitzi seade.

Bakteriofaagi kvalitatiivne määramine toodetes

Vedelsöötme kasutamine. 10 ml steriilsesse metüleensinisega lõssi[1] viiakse 1 aasatäis piimhappestreptokoki faagitundlikku kultuuri ja 1 ml filtraati. Kontrolliks viiakse teise katseklaasi sama söötmega (10 ml) ainult 1 aasatäis faagitundlikku kultuuri.

Uuritav ja kontrollkatseklaas asetatakse termostaati, kus neid hoitakse 30° C juures. Kultuuri kasvu vaadeldakse 6—8 ja 24 tunni pärast.

Kui 24 tunni möödudes kultuur uuritavas katseklaasis ei kasva, s. t. puljong jääb selgeks või piima sinine värvus ei muutu, võib tinglikult oletada, et filtraadis oli tugeva lüütilise toimega bakteriofaag.

Kui 6—8 tunni möödudes jääb puljong uuritavas katseklaasis selgeks või muutub nõrgalt häguseks, kuid piim metüleensinisega ei muutu, 24 tunni pärast on aga puljong hägune ja piim metüleensinisega on redutseerunud ega ole kalgendunud, siis esines filtraadis nõrgema lüütilise toimega bakteriofaag.

Kontrollkatseklaasis täheldatakse 6—4 tunni pärast puljongi hägusust või piimas metüleensinise taandumist, 24 tunni möödudes aga tugevat hägusust puljongis või piima värvuse taandumist ja piima kalgendumist.

Kui tekib kahtlus, kas piimas pole peale bakteriofaagi ka antibiootikume või teisi termostabiilseid inhibitoorseid aineid, tehakse teine kontrollproov. 10 ml steriilsesse metüleensinisega lõssi või puljongisse viiakse 1 aasatäis faagitundlikku kultuuri ja 1 ml kuumutatud (5 minuti jooksul 80—85° C-ni) ja jahutatud filtraati. Katse tehakse ülalkirjeldatud viisil.

Tardsöötme kasutamine. Hüdrolüüsitud piima agar valatakse steriilsesse Petri tassi, lastakse tarduda ja paigutatakse seejärel termostaati, kus hoitakse 15—20 minutit 40—45° C juures, et söötme pind kuivaks. Söötme pinnale viiakse 1 tilk 16—18 tunnist piimhappestreptokoki faagitundlikku kultuuri, mis aetakse Drigalski spaatliga ühtlaselt laiali kogu tassi pinnale.

Steriilse pipetiga viiakse tassi serva tilk uuritavat filtraati. Tassi kallutatakse veidi, nii et tilk voolab tassi diameetrit pidi teise serva.

Kui analüüse tehakse arvukalt, võib söötme ja Petri tasside kokkuhoiu mõttes ühel tassil uurida 4—6 filtraati. Sel juhul jaotatakse söötmega ja piimhappestreptokoki faagitundliku kultuuriga tassi pind 4—6 sektoriks. Iga sektori ülaserva viiakse steriilse pipetiga tilk uuritavat filtraati. Tassi kallutatakse veidi, nii et tilk voolab tassi diameetrit pidi tassi keskkohta.

Filtraadiga söötme plaate hoitakse 24 tundi termostaadis 30° C

[1] Võib kasutada samas koguses lihapeptoonpuljongit või hüdrolüüsitud piima.

juures. Sõltuvalt filtraadis esineva bakteriofaagi aktiivsusest tekib sinna, kust tilk alla voolas, steriilne jäljend või tekivad üksikud steriilsed laigud. Vahel täheldatakse jäljendil kultuuri väga nõrka kasvu.

Kui tekib kahtlus, kas piimas esineb bakteriofaagi kõrval ka antibiootikume või teisi termoresistentseid aineid, viiakse läbi paralleelne uurimine läbikuumutatud filtraadiga (80—85° C juures 5 minutit). Enne analüüsi algust jahutatakse filtraat maha. Kui kuumutatud filtraadi korral steriilne jäljend või üksikud steriilsed laigud puuduvad, kuumutamata filtraadi korral aga esinevad, näitab see bakteriofaagi esinemist.

Bakteriofaagi määramine kiirendatud meetodil. Tööstustes, kus filtreerimisaparaati pole, võib bakteriofaagi määrata juustu- ja kohupiimavadakust, ilma et neid filtreeritaks läbi peenepooriliste filtrite.

Filtreerimata vadaku uurimine ei ole soovitatav, sest see võib sisaldada faagikindlaid rakke, mis raskendavad faagitundlike bakterite avastamist. Seepärast on selliste määramiste tulemused vaid orienteerivad.

Katse toimub järgmiselt. Võetakse 4 kummikorkidega steriilset katseklaasi (2 kontroll- ja 2 uuritavat katseklaasi). Igasse neist viiakse 10 ml juuretise valmistamiseks kasutatavat piima ja 1 ml juuretist.

Uuritavatesse katseklaasidesse, mis sisaldavad 0,01% juustu- või kohupiimavadakut, lisatakse 1 ml 1 normaalset 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi vesilahust. Kontrollkatseklaasidesse lisatakse 1 ml 1 n 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi vesilahust.

Katseklaase hoitakse 3 tundi 30° C juures. Seejärel lisatakse igasse katseklaasi 0,5 ml 2,4%-list 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi vesilahust ja hoitakse veel 30 minutit 30° C juures valguse eest kaitstult. Seejärel vaadatakse, kuidas on muutunud piima värvus uuritavates katseklaasides kontrollkatseklaasidega võrreldes.

Piimal on kontrollkatseklaasides katse lõpul intensiivne roosa värvus. Kui piim jääb uuritavates katseklaasides värvusetuks või muutub kahvaturoosaks, näitab see bakteriofaagi esinemist. Piima kahvaturoosa värvus kontrollkatseklaasides 3 ja 5 tunni järel 30° C juures näitab juuretiste madalat aktiivsust.

2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi lahust hoitakse tumedast klaasist pudelis. Lahus on kasutamiskõlblik mõne nädala jooksul, kui seda säilitatakse külmutuskapis umbes 4° C juures.

Bakteriofaagi määramine õhus

Et tööstustes saastub pastöriseeritud piim bakteriofaagiga sageli tsehhide õhust, siis on seda tingimata vaja aeg-ajalt kontrollida.

Steriilsele Petri tassile valatakse hüdrolüüsitud piima agarit või lihapeptoonagarit. Agaril lastakse tarduda ja söötme pinda kuivatatakse termostaadis 40—45° C juures 20 minuti vältel. Seejärel kantakse steriilse söötme pinnale 2 tilka 16—18 tunnist piimhappestreptokokkide faagitundlikku kultuuri, mis aetakse hoolikalt laiali Drigalski spaatliga.

Ruumides, kus uuritakse õhku, avatakse Petri tassid 15—30 minutiks, suletakse siis ja asetatakse 24—48 tunniks termostaati. Kui tiheda kasvuga kultuuri pinnale ilmuvad steriilsed laigud, on õhus bakteriofaag.

ANTIBIOOTIKUMIDE MÄÄRAMINE

Mastiitide ravimisel kasutatavad antibiootikumid penitsilliin, streptomütsiin, aureomütsiin ja pesemisel ning desinfitseerimisel kasutatavad ained võivad sattuda piima ja pidurdada piimhappe käärimist.

Antibiootikumid satuvad piimasse mastiidihaigete lehmade lüpsil. Seepärast ei ole piim 72 tunni jooksul pärast antibiootikumi kasutamist tarvitamiskõlblik. Antibiootikumid ning suurem osa pesemis- ja desinfitseerimisvahendeist on termoresistentsed ega lagune pastöriseerimisel. Penitsilliin ei inaktiveeru isegi kuumutamisel 120° C juures 30 minuti jooksul.

Antibiootikumid ja pesemisvahendid pidurdavad suurel määral hapupiimatoodete, juustude ja hapukoorevõi valmistamisel kasutatavate piimhappebakterite arenemist. Kõige tundlikum antibiootikumide ja pesemisvahendite suhtes on termofiilne streptokokk.

Antibiootikumid ja pesemis-desinfitseerimisvahendid tehakse piimas kindlaks kaudsetel ja otsestel meetoditel.

Kaudsed meetodid on kiirmeetodid, mis võimaldavad antibiootikume avastada lüpsi ajal. Kaudsete meetodite korral manustatakse loomale koos antibiootiliste preparaatidega värvaineid (klorofülli, trifenüülmetaanvärve, briljantsinist ja teisi), mis koos antibiootikumidega väljutatakse piima ja mis annavad sellele iseloomuliku värvuse.

Otsestel meetoditel määratakse antibiootikume segupiimas. Suurimat tähelepanu väärivad antibiootikumide määramisel mikrobioloogilised meetodid, mis on tundlikumad ja võimaldavad määrata antibiootikumi kontsentratsiooni.

Test-mikroorganismidena kasutatakse piimhappebaktereid, kõige sagedamini termofiilse streptokoki tüve ja ka teisi mikroorganisme.

Otsene mikroskopeerimismeetod.

Otsese mikroskopeerimismeetodi korral vaadeldakse rakkude kasvu pidurdumist ja nende morfoloogilisi muutusi, mida on põhjustanud antibiootikumid. Sel meetodil on antibiootikume lihtne määrata piimas.

Katseklaasi võetakse 10 ml uuritavat piima. Katseklaas suletakse õrnalt tavalise või kummist korgiga, asetatakse veevannile ja hoitakse seal 80—85° C juures 5 minutit. Pärast seda jahutatakse kiiresti 40° C-ni.

Niisamuti valmistatakse ette kontrollkatseklaas, kusjuures eeldatakse, et võetud 10 ml piima ei sisalda antibiootikume.

Kontroll- ja uuritavasse katseklaasi lisatakse 3—4 tilka lõssis või hüdrolüüsitud piimas kasvatatud värsket antibiootikumitundlikku termofiilse streptokoki kultuuri. Katseklaasid suletakse tihedalt korgiga.

Et kultuur piimaga hästi seguneks, raputatakse katseklaase ja pööratakse 3—4 korda ümber. Katseklaasid asetatakse veevannile või termostaati. Seal hoitakse neid 90 minutit 40° C juures. Seejärel vaadatakse kontroll- ja uuritavast piimast valmistatud värvitud preparaati mikroskoobi immersioonsüsteemiga.

Rakkude arvu järsk vähenemine uuritavas piimaproovis, võrreldes kontrollprooviga, kuid ka involutsioonivormide (paksenenud rakk) ja rakkude kogumike esinemine näitab antibiootikumide olemasolu.

Antibiootikumide määramine indikaatorite abil

Antibiootikumide määramise meetod indikaatorite värvuse taandamisega põhineb test-mikroorganismi rakkude paljunemise mahasurumisel, mis on seotud hapendus-taanduspotentsiaali aeglase langusega. Piima viiakse kergesti taanduvaid värvaineid ja hapendus-taanduspotentsiaali nihkumine fikseeritakse värvuse muutumise teel.

Indikaatoritena kasutatakse metüleensinist, resasuriini, 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi või kloorfenüülpunase ja broomkresoolrohelise segu.

Katseklaase kontroll- ja katseproovidega valmistatakse ette nii nagu otsese mikroskopeerimismeetodi korral.

Metüleensinise kasutamine. Igasse uuritava ja kontrollpiimaga katseklaasi lisatakse enne kultuuri lisamist 1 ml metüleensinise töölahust (valmistatud nagu reduktaasproovi korral) ja seejärel 3—4 tilka termofiilse streptokoki antibiootikumitundlikku värsket kultuuri. Katseklaasid raputatakse läbi, pööratakse 3—4 korda ümber ja asetatakse veevannile või termostaati, kus neid hoitakse 5,5 tundi 38—40° C juures.

Pärast seda võrreldakse uuritava piima värvust kontrollproovi

värvusega, mis peab olema redutseerunud. Uuritava piima sinine värvus näitab antibiootikumide esinemist.

Resasuriini kasutamine. Katseklaasi uuritava ja kontrollpiimaga lisatakse enne kultuuri lisamist 1 ml resasuriini töölahust (vaata resasuriinproov) ja 3—4 tilka termofiilse streptokoki antibiootikumitundlikku kultuuri. Pärast segamist hoitakse katseklaase 45 minutit veevannil 40° C juures. Seejärel võrreldakse uuritava piima värvust kontrollproovi värvusega. Piima terashall või violettroosa värvus näitab antibiootikumide esinemist.

2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi kasutamine. Igasse katseklaasi uuritava ja kontrollpiimaga viiakse 1 ml piimhappestreptokoki antibiootikumitundlikku värsket (16—18-tunnist) kultuuri, mis on lahjendatud 1:1 kontrollproovis kasutatava piimaga.

Katseklaasid pööratakse kaks korda ümber ja hoitakse 2 tundi termostaadis 37° C juures. Seejärel lisatakse 0,3 ml 2, 3, 5-trifenüültetrasoolkloriidi lahust (lahjendatud destilleeritud veega 1:25) ja pannakse uuesti termostaati, kus hoitakse 30 minutit 37° C juures.

Piima kontrollproov peab olema punast värvi.

Antibiootikumide või teiste inhibitoorsete ainete esinemisel piimas jääb piim värvusetuks või omandab roosaka tooni. Selle proovi abil võib 1 ml piimas avastada 0,3 ühikut penitsilliini või aureomütsiini või 0,6 ühikut streptomütsiini.

Kombineeritud indikaatori kasutamine. Kombineeritud indikaatori valmistamiseks lahustatakse 50 mg kloorfenüülpunast ja 15 mg broomkresoolrohelist 100 ml destilleeritud vees keeval veevannil. Raskesti lahustuv broomkresoolrohelise sade filtreeritakse välja.

Uuritava ja kontrollpiimaga katseklaase hoitakse 5 minutit 80—85° C juures ja jahutatakse 45° C-ni. Lisatakse 0,5 ml kombineeritud indikaatorit ja 1 ml termofiilse streptokoki antibiootikumitundlikku värsket (16—18-tunnist) kultuuri, mis on lahjendatud destilleeritud veega 1:1. Katseklaasid asetatakse veevannile või termostaati ja hoitakse seal 60—90 minutit.

Seejärel võrreldakse uuritava ja kontrollpiima värvust. Kontrollproov muutub rohekaskollaseks, mis näitab kultuuri kasvu.

Antibiootikumide või teiste termoresistentsete inhibiitorite olemasolu korral on piim hallikassinine.

X PEATÜKK

TOOTMISE MIKROBIOLOOGILINE KONTROLL

Süstemaatiline mikrobioloogiline kontroll kõikides tootmislõikudes on eelkõige sanitaar-hügieeniline kontroll, mille eesmärgiks on tagada toidu infektsiooni ja mürgistust põhjustava mikroobidevaba toodangu väljalase.

Tootmise sanitaar-hügieenilise olukorra hindamisel tehakse kõigepealt kindlaks, kas toodangus esineb kolibaktereid. Need mikroorganismid hävivad täielikult õigel pastöriseerimisel, kuid võivad saastata piima ja piimatooteid ka seadmetest läbiminekul ning edasises tootmisprotsessis. Seepärast kontrollitakse kolibakterite olemasolu kõikides tootmislõikudes. Mõningatel juhtudel määratakse ka bakterite üldiduarv.

Bakterite üldiduarv määratakse uhteproovides 1 ml uhtevee külvil steriilsele Petri tassile, kuhu valatakse sulatatud ja mahajahutatud toiteagar.

Kolibakterid määratakse 1 ml külvil Kessleri vedelsöötmesse käärimise järgi või indikaatorpaberite abil. Käärimist esilekutsunud mikroorganisme rohkem ei identifitseerita. Sõltumata mikrofloora üldarvust analüüsitud objektil, on gaasi tekkimine Kessleri vedelsöötmel 1 ml uhtevee külvil aparaatide, seadmete jne. ebarahuldava sanitaarse olukorra näitajaks.

Enamikul juhtudel võib igapäevasel plaanipärasel nõude ja seadmete pesemise puhtuse kontrollimisel piirduda kolibakterite määramisega Kessleri vedelsöötmel.

Pesemispuhtuse hinne on mitterahuldav gaasi tekkimisel ja rahuldav selle puudumisel.

Kui seadmete puhtusele esitatakse erilised nõuded ja kontrollimisel Kessleri vedelsöötmes ei täheldata kunagi käärimist (juure-

tisevannid ja -torud jne.), siis hinnatakse pesemise kvaliteeti bakterite üldiduarvu järgi uhtevees.

Kui ühesuguseid analüüsitavaid esemeid (pudelid, kapslid) on palju, siis võetakse uhteproov 10 esemelt.

Toodanguvigade kindlakstegemisel määratakse ka neid vigu põhjustavad mikroorganismid seadmetel ja aparatuuril (vt. VIII peatükk).

APARAADID JA SEADMED

Aparaate ja seadmeid kontrollitakse pärast pesemist ja desinfitseerimist (kloorimist või aurutamist) vahetult enne töö algust.

K a a l u d, e e l s o o j e n d i d, v a n n i d, t a n k i d, k a t l a d, p a a g i d, p i i m a t s i s t e r n i d, l a h t i s e d j a h u t i d. Proovid aparatuurilt ja avatud välispinnaga seadmetelt võetakse kindlaksmääratud kohtadest vatt- või marlitampooniga. Seejuures vajatakse ka käepidemega metalltrafaretti pinnaga 100 cm^2 (10×10).

Trafarett kuumutatakse ja asetatakse uuritavale pinnale. Piiritletud pinna seest võetakse läbi leegi tõmmatud pintsettidega steriilsesse vette kastetud tampooni abil proov. Proov võetakse põhjalt, külgpindadelt, kraani ümber olevalt seinalt, kaanelt ja segajalt, kui neid esineb. Proov segajalt võetakse ilma trafaretita. Suuremahulistest tankidest, kus luugi kaudu pole tagumistelt ja ülemistelt seintelt käega võimalik proovi võtta, võetakse proovid pika metallvarda otsa pandud pintsettidega. Varda pikkus on reguleeritav, sest see seisab koos üksteise otsa pandud õõnsatest torudest. Tankide kaugematest kohtadest võetakse proovid samuti trafaretita, kuid umbes 100 cm^2 suurune pind püütakse enne üle hõõruda.

Tampoonid paigutatakse 10 ml steriilse veega või füsioloogilise lahusega katseklaasidesse, kust pärast hoolikat segamist tehakse külvid Kessleri söötmesse ja vajaduse korral määratakse bakterite üldiduarv. Väjakasvanud kolooniate arv korrutatakse lahjendusega (×10) ja saadakse 100 cm^2 suurusel pinnal olev mikrofloora.

V i l l i m i s - k o r k i m i s a u t o m a a d i d (PVA). Reservuaari kaas tõstetakse ära ja proovid võetakse trafareti abil reservuaari seintelt ja ilma trafaretita silindrilt, kraanilt, õhutorult ning ühenduskummi mansetilt (kogu sisepinnalt). Seejärel toimitakse nagu lahtiste pindadega seadmete kontrollimisel.

P i i m a t o r u s t i k. Torude ja voolikute pesemise kvaliteeti määratakse torude 100 cm^2 suurusel sisepinnal esinenud mikrofloora järgi. Tööks kokkupandud torustik võetakse uurimiseks määratud kohast lahti.

Proov 50-mm läbimõõduga toru 100 cm^2 suuruselt pinnalt võetakse steriilse veega niisutatud tampooniga. Selleks viiakse tam-

poon 6,5 cm sügavusele toru sisse, 36-mm läbimõõduga toru puhul aga 9 cm sügavusele. Tampooniga tehakse nüüd ringliigutusi suunaga ava poole. Võetud materjaliga tampoon asetatakse 10 ml steriilsesse vette. Pärast hoolikat loksutamist võetakse 1 ml uhtevett bakterite üldiduarvu määramiseks ja 1 ml Kessleri söötmesse külvamiseks. Kolooniate hulk arvutatakse 100 cm^2 suuruse pinna kohta.

V a a k u m a p a r a a t. Vaakumaparaadilt proovi võtmise metoodika on kombineeritud. Kalorisaatori seintelt ja torudelt võetakse proov avatud kaane või luugi ava kaudu. Kalorisaatori torusid kontrollitakse eraldi. Proov võetakse kahelt torult, ühelt keskpaiga lähedalt, teiselt pinna lähedalt. Proov võetakse iga toru alumiselt ja ülemiselt küljelt.

Torude sisemistelt osadelt võetakse proov spetsiaalsete pikkade pintsettidega. Pintseti või varda otsa keeratakse steriilse veega niisutatud marli- või vatitükike ja tehakse märk 10 cm kaugusel varda otsast. Tampooniga hõõrutakse kalorisaatori toru 10 cm sügavuselt. Mikroorganismide hulk arvestatakse toru 10 cm^2 suuruse sisepinna kohta.

Vaakumaparaadi siseseintelt võetakse umbes 100 cm^2 suuruselt pinnalt proov metallvarda otsa kinnitatud steriilse vatiga. Mikroorganismide hulk arvestatakse 100 cm^2 suuruse pinna kohta.

NÕUD JA INVENTAR.

P u d e l i d j a p u r g i d. Pestud pudelite ja purkide puhtuse kontrollimiseks võetakse pudelipesemismasina konveierilt 10 pudelit või purki. Esimesse pudelisse (purki) valatakse 10 ml steriilset vett. Pudelit hoitakse leegi kohal 45°-se nurga all, et ei toimuks õhust saastumist. Pudeli pööramisel märgub veega kogu selle sisepind. Uhtevesi valatakse järgmisse pudelisse. Sel viisil töödeldakse ühe annuse steriilse veega läbi kõik 10 pudelit või purki.

Viimasest pudelist valatakse uhtevesi tagasi kolbi, kus oli steriilne vesi. Proovid tuuakse laboratooriumisse, kus neist ilma lahjendamata tehakse külv (1 ml) bakterite üldiduarvu määramiseks ja 1 ml Kessleri söötmesse. Mikroorganismide hulk arvestatakse 10 pudeli (purgi) sisepinna kohta 10 ml uhtevees (s. o. saadud tulemus korrutatakse 10-ga).

P i i m a k a n n u d, p i i m a n õ u d j a t o o b r i d. Kannupiima tehnoloogilise protsessi analüüsid näitavad, et piim saastub kõige sagedamini halvasti pestud piimakannude kaudu. Seepärast tuleb kannude pesemist, eriti aga nende desinfitseerimist, hoolikalt kontrollida. Piimakannude, piimanõude ja toobrite üldine idusisaldus määratakse kontroll-loputuse meetodil või tampoonimeetodil (pinnalt).

Piimakannude (-nõude, toobrite) pesemise puhtusastme pideval kontrollimisel on eelis kontroll-loputuse meetodil, sest piima-

kannude (nõude, toobrite) mikrofloora jaotub sisepinnal ebaühtlaselt ja 2—3 tampoonimeetodil võetud proovi ei anna õiget ettekujutust nõu saastunud mikrofloorast, loputusega vette sattunud bakterite hulk vastab aga tegelikule bakterite arvule palju enam.

Piimakannude (-nõude, toobrite) pesemist kontrollitakse kontroll-loputuse meetodi korral järgmiselt. 500 ml steriilset vett valatakse uuritavasse nõusse, mis suletakse kaanega. Piimakannu kallutatakse ja pööratakse nii, et kogu sisepind saaks veega niisutatud. Uhtevesi valatakse tagasi steriilse vee nõusse. Kessleri söötmesse külvatakse 1 ml lahjendamata uhtevett. Tampoonimeetodi korral toimitakse nii, nagu on kirjeldatud vannide, tankide ja teiste seadmete puhul.

J ä ä t i s e h ü l s i d. Hülsse loputatakse 100 ml steriilse veega. Analüüs tehakse nii nagu piimakannude pesemise kontrollimisel.

P i i m a k o n s e r v i d e m e t a l l k a r b i d. Metallkarpide pesemise puhtuse kontrollimisel valatakse karpi 10 ml steriilset vett, suletakse kaanega ja loputatakse nii, et oleks niisutatud kõik seinad ja põhi. Vesi valatakse spetsiaalsesse purki.

Konservikarpide kaante sisepinda hõõrutakse märja marli- või vatitükiga, mida hoitakse läbi leegi tõmmatud pintsettidega. Vatt või marli asetatakse samasse katseklaasi, kuhu valati karbi uhtevesi.

Pärast uhtevee hoolikat loksutamist tehakse 1-ml külv bakterite üldiduarvu, kolibakterite, pärm- ja hallitusseente määramiseks.

Bakterite arv arvestatakse karbi kogu sisepinna kohta, kaasa arvatud kaas, s. o. saadud mikroobide arv korrutatakse kümnega.

T s e h h i i n v e n t a r. Pestud inventari hindamisel võetakse proovid siis, kui inventar on tööks ette valmistatud. Inventari pesemise kvaliteeti hinnatakse Kessleri vedelsöötme käärimise järgi.

Väikeinventarilt (segajad, käsisegajad, lusikad, sõelad, noad, termomeetrid jne.) võetakse vatt-tampooniga proov kogu eseme pinnalt. Tampoon asetatakse 5 ml Kessleri söötmesse. Laudadelt ja mitmesuguse sügavusega alustelt võetakse vatt-tampooniga proov läbi leegi tõmmatud pintsettide ja trafareti abil 100 cm^2 suuruselt pinnalt ning asetatakse 5 ml Kessleri söötmesse. Liudade pesemise kontrollimisel võetakse proov nurkade, seinte ja põhjade pinnalt eraldi.

P u u s t t a a r a. Taara (tünnide, vaatide, kastide) pesemise kvaliteedi hindamisel võetakse proov siis, kui taara läheb kasutamisele. Proov võetakse vatt-tampooniga läbi leegi tõmmatud pintsettide ja trafareti abil eraldi seina, põhja ja nurga 100 cm^2 suuruselt pinnalt ning asetatakse 5 ml Kessleri söötmesse.

TÖÖTAJATE ISIKLIK HÜGIEEN

K ä t e p u h t u s e k o n t r o l l. Proov kätelt võetakse eraldi pakikestes steriliseeritud vatt- või marlitampooniga. Leegil põletatud pintseti abil niisutatakse tampoon katseklaasis oleva steriilse veega. Proov võetakse mõlema käe peopesalt, käeseljalt, küünte alt ja sõrmede vahelt.

Võetud materjaliga tampoon paigutatakse katseklaasi 10 ml steriilsesse vette. Pärast hoolikat loksutamist tehakse 1-ml külv 5 ml Kessleri söötmesse kolibakterite määramiseks.

T ö ö r õ i v a s t u s e p u h t u s e k o n t r o l l. Kitlite, kuubede, põllede ja käte puhtust kontrollitakse enne töö algust. Proov vahariidest põlledelt annab üsna täpse ettekujutuse tööriivaste puhtusest, kuna mittesileda pinnaga poorsete kitlite, kuubede puhul saame kaudse ettekujutuse. Seepärast hinnatakse tööriivaste puhtust ainult kolibakterite esinemise või puudumise järgi, s. o. Kessleri söötmes käärimise ilmnemisel 1-ml külvi korral 10 ml-st steriilsest veest, kuhu oli pistetud tööriivastuse pinnalt võetud mikrobioloogilise materjaliga tampoon.

VESI

Piimatööstusettevõtetes tehnoloogilisteks vajadusteks kasutatavale veele esitatakse samasugused nõuded nagu joogiveele. Seetõttu tuleb vee mikrobioloogilisele analüüsile tõsist tähelepanu pöörata.

Vee uurimisel määratakse bakterite üldiduarv lihapeptoonagaril ja kolibakterite arv membraanfiltrite või käärimisproovi abil koos järgneva identifitseerimisega.

GOST-i järgi ei tohi 1 ml joogivees olla üle 100 bakteri. Kolibaktereid ei tohi 1 liitris vees olla üle 3.

Analüüsi tulemused väljendatakse kolibakterite arvuna 1000 ml vees, s. o koli-indeksina või väikseima veehulgana, mis sisaldab kolibakterit (kolitiitrina).

Vee analüüsi tehakse kord kuus.

Veeproovi võtmine

Veeproov võetakse steriilsetesse 0,5-l klaas- või vattkorgiga pudelitesse. Proovid puurkaevudest ja kaevudest võetakse maksimaalse veekulu tundidel. Veeproov veevärgist võetakse pärast kraani põletamist puhkpõleti või piirituses niisutatud vati leegil ja vee joosta laskmist täiesti avatud kraanist 10 minuti jooksul.

Lahtistest veekogudest, basseinidest ja paakidest võetakse proov 10—15 cm altpoolt veepinda, madala veetaseme korral mitte madalamalt kui 10—15 cm põhjast.

Analüüs tuleb teha mitte hiljem kui 2 tundi pärast proovi võtmist. Võetud proovi lubatakse hoida 6 tundi 1—5° C juures.

Kui vett uuritakse väljaspool tööstuse laboratooriumi, koostatakse proovi võtmisel saatedokument, mis peab sisaldama järgmisi võtukoha andmeid:

veeallikas ja selle asukoht;
proovi võtmise kuupäev (aasta, kuu, kuupäev ja kellaaeg);
proovi võtmise koht ja punkt;
meteoroloogilised tingimused (õhutemperatuur, sademed);
vee uurimise eesmärk;
proovi võtnud isiku töökoht, amet ja allkiri.

Uurimismeetodid

Bakterite üldiduarvu määramine. Bakterite üldiduarvu määramiseks tehakse külv lihapeptoonagarile. Puhtal veel võetakse lahjendused 1 ja 0,1 ml, saastunud veel 0,01 ja 0,001 ml. Külve hoitakse 37° C juures 24 tundi ja loendatakse kolooniate arv.

Kolibakterite määramine. Membraanfiltrite meetod (standardne meetod). Filtreerimisaparaadi (vaata joonis 103) steriliseerimiseks seda põletatakse või keedetakse. Pärast jahtumist asetatakse filtreerimisaparaadi alumisele osale peale steriilne membraanfilter[1], mis võetakse läbi leegi tõmmatud pintsettidega nõust, kus steriliseeriti. Et membraanultrafilter ei rebeneks, asetatakse selle alla steriliseeritud ja steriilse veega niisutatud filterpaberi ketas.

Filtri peale kinnitatakse seadme ülemine osa — lehter ja mahuti. Puhta vee korral filtreeritakse läbi 300—500 ml vett. Saastunud vett tuleb enne lahjendada: 100 ml steriilsesse vette viiakse 1 ml uuritavat vett. Pärast segamist filtreeritakse 1 ml ja 10 ml saadud lahjendust, mis vastab 0,01 ja 0,1 ml uuritavale veele.

Filtreerimisaparaadi lehtrisse valatakse uuritav kogus vett ja vastuvõtunõus tekitatakse vaakum. Filtreerimise lõppedes võetakse seadme ülemine osa ära, leegil põletatud pintsettidega haaratakse ettevaatlikult membraanultrafiltri servast ja asetatakse tassil olevale Endo söötmele. Seda tuleb teha nii, et agari pinna ja ultrafiltri vahele ei tekiks õhumullikesi.

Tassid paigutatakse, kaaned allapoole, termostaati, kus temperatuur on 37° C. 18—24 tunni pärast loendatakse kolibakteritele iseloomulikud kolooniad. 2—3 tüüpilisest kolooniast tehakse preparaat ja värvitakse Grami järgi. Kui preparaadis esineb graamnegatiivseid spoorideta kepikesi, minnakse edasi analüüsi II etapile.

Kolooniatest, millest tehti preparaat Grami järgi värvimiseks, tehakse külv 10 ml glükoospeptoonsöötmesse. Külvid kasvatatakse välja 24 tunni jooksul 43° C juures. Gaasi teke kinnitab kolibakte-

[1] Kasutatakse ultrafiltreid nr. 3. Pakendist väljavõetud ultrafiltritel kontrollitakse lõhede, aukude jne. esinemist. Filtrid asetatakse steriliseerimiseks Petri tassi või keeduklaasi sooja vette ja keedetakse 2 korda. Et õhk ja valmistamisel kasutatavate lahustite jäägid paremini eralduksid, tuleb vett vahetada.

rite esinemist lõplikult. Analüüsi tulemus väljendatakse koli-indeksina ja kantakse protokolli.

K ä ä r i m i s p r o o v. Kolme 10 ml kontsentreeritud glükoospeptoonsöötmega kolbi külvatakse igasse 100 ml vett ja kolme 1 ml kontsentreeritud glükoospeptoonsöötmega katseklaasi igasse 10 ml vett.

Selle meetodi korral ei tohi kolibaktereid olla vähemas kui 350 ml vees. Joogivesi loetakse joogikõlbmatuks, kui kolibaktereid esineb 300 ml ja vähemas hulgas. Sel juhul tuleb vett tingimata kloorida.

K ü l v E n d o s ö ö t m e l e. Täpselt mõõdetud 1 ml uuritavat vett või lahjendust külvatakse tardunud Endo söötmele. Vesi jaotatakse ühtlaselt kogu söötme pinnale. Söötme pinda kuivatatakse termostaadis 30 minuti kuni 1 tunni jooksul. Selleks avatakse veidi Petri tassi kaant. Seejärel kaaned suletakse ja külvid asetatakse termostaati, kus neid hoitakse 24 tundi 43° C juures.

24 tunni pärast täheldatakse tassidel tüüpiliselt värvunud ja värvusetuid kolooniaid, millest tehakse preparaat, värvitakse Grami järgi ja uuritakse mikroskoobi all. Kui preparaadis esineb graamnegatiivseid lühikeste spoorideta kepikesi, näitab see kolibakterite olemasolu.

TOOTMISES KASUTATAVAD MATERJALID

P ä r g a m e n t. Tihti sisaldab pärgament lahustuvaid süsivesikuid ja vastava niiskusesisalduse juures võib seega osutuda heaks söötmeks mikroorganismidele.

Pärgamendi puhtuse määramiseks lõigatakse läbi leegi tõmmatud kääridega rullist välja kaks 10 cm^2 suurust proovi. Üks proov asetatakse flambeeritud pintsettidega steriilsesse Petri tassi ja valatakse üle õllevirdeagariga hallitusseente määramiseks. Teine proov pannakse 100 ml vedelasse Kessleri söötmesse kolibakterite kindlakstegemiseks.

Kui vedelas Kessleri söötmes täheldatakse 24 tunni pärast gaasi teket, hinnatakse pärgament halvaks, sõltumata teiste mikroobide arvust. Vastava töötluseta sellist materjali tootmisse lubada ei tohi. Kui käärimist pole märgata, hinnatakse pärgamenti hallitusseente arvu järgi vastavalt tabelile 20.

L i i m. Ka liim võib olla hallitusseentega saastunud. Bakteriaalse saastumise määramiseks tehakse õhuke kaabe 10 cm^2 suuruselt pinnalt.

Üks osa kaabet pannakse steriilsesse Petri tassi ja valatakse üle sulatatud õllevirdeagariga. Teine osa asetatakse 100 ml Kessleri vedelsöötmesse. Tulemusi hinnatakse nagu pärgamendi analüüsi korral.

S o o l. Soola puhtuse kontrollimiseks lahustatakse 5 g soola 100 ml destilleeritud steriilses vees. Selle lahuse 1 ml-st tehakse külv bakterite üldiduarvu määramiseks. Rahuldava kvaliteediga

soola 1 grammis ei tohi olla üle 100 mikroorganismi. Kui mikroorganisme on palju, ei tohi soola ilma kuumutamata tootmisse lubada.

Suhkur. Suhkru analüüsimiseks asetatakse 10 g suhkrut 90 ml steriilsesse vette. Sellest lahjendusest tehakse 1-ml külv steriilsele Petri tassile ja valatakse üle õllevirdeagariga. Kui 2—3 ööpäeva pärast ilmuvad hallitusseente ja pärmseente kolooniad, ei tohi suhkrut ilma pastöriseerimata tootmisse suunata.

Laapferment ja pepsiin. Laapfermendist või pepsiinist määratakse bakterite üldiduarv ja kolibakterite esinemine. Sel juhul, kui laapfermenti ja pepsiini kasutatakse juustu tootmiseks, määratakse täiendavalt võihappebatsillid, mis põhjustavad juustudel vigu.

Laapfermendi ja pepsiini bakterite üldiduarvu määramisel võetakse 1 g pulbrit, millest tehakse lahjendused 0,1 ja 0,01 g. I ja II lahjendus külvatakse Petri tassile ja valatakse üle sulatatud ja jahutatud lihapeptoonagariga.

Kolibakterite olemasolu määramiseks kasutatakse samasuguseid lahjendusi. Võihappebatsillid tehakse kindlaks 0,1-g ja 0,01-g külvil steriilsesse piima.

Bakterite üldiduarv 1 grammis laapfermendis ja pepsiinis ei tohi ületada 10 000.

TOOTMIS- JA LAORUUMIDE ÕHK

Tootmis- ja laoruumide õhu mikrobioloogilisel kontrollil määratakse mikrofloora arv ja omadused, mis langeb 5 minuti jooksul 9,0—9,5-cm diameetriga Petri tassi lihapeptoon- ja õllevirdeagari pinnale.

Ühe väljapääsuga väikeste ruumide õhu kontrollimisel võib piirduda ühe paari Petri tasside kasutamisega. Suurtes tsehhiruumides asetatakse tassid laiali õhuvoolu teedele teistest ruumidest või väljast ja õhu liikumisest eemalolevatesse kohtadesse, samuti sinna, kus asub lahtine toodang.

Steriilsetele Petri tassidele valatakse sulatatud söötmed ja jäetakse sinna 2—3 päevaks steriilsuse kontrollimiseks. Analüüsi tegemisel asetatakse Petri tassid paarikaupa — toiteagariga ja õllevirdeagariga — paberile, milles neid steriliseeriti. Tasse hoitakse avatult 5 minutit. Seejärel nad suletakse. Bakterite üldiduarvu määramiseks hoitakse neid kaks päeva 37° C juures, hallitus- ja pärmseente arvu määramiseks aga 5 päeva toatemperatuuril.

Ruumide õhu hindamisel võetakse kõikidel tardsöötmega Petri tassidel väljakasvanud kolooniate arvust aritmeetiline keskmine ning eraldi bakterite, hallitus- ja pärmseente arv.

* * *

Tootmise mikrobioloogilise kontrolli tulemusi hinnatakse tabelis 20 toodud normide järgi.

Mikrobioloogilise kontrolli tulemused kannab laborant-mikrobioloog vormikohastesse kaustikutesse.

Tabel 20

Mikrobioloogilise kontrolli tulemuste hindamise normid

Kontrollitavad objektid ja nende osad	Määratakse		Uuritava objekti suurus ja arv	Kolibakterite käärimisproovi või üldiduarvu tulemuste orienteeriv hindamine	
	üldiduarv	kolibakterite käärimisproov		hea	halb
1	2	3	4	5	6
Raudtee-piimatsisternid (kaas, sein, põhi, nurk)	—	+	100 cm²	Kolibaktereid ei esine	Kolibaktereid esineb
Auto-piimatsisternid (kaas, sein, nurk, põhi)	—	+	100 cm²	„	„
Piimatsisternid linnasiseseks piima müügiks (kaas, sein, põhi, nurk, segaja, kraan)	—	+	100 cm²	„	„
Piimakannud, toobrid (kaas, sein, nurk, põhi)	—	+	Kogu pind	„	„
Torustik (kraanid)	+	+	100 cm²	Kuni 500 bakterit	Üle 500 bakteri
Tankid (kaas, sein, nurk, põhi)	+	+	100 cm²	Kuni 1000 bakterit	Üle 1000 bakteri
Tankid (kumm, segaja, proovi võtmise kraan, ülemine kraan, alumine kraan, kolmikkraan, klaastoru avaus)	—	+	Kogu pind	Kolibakterite puudumine	Kolibakterite esinemine
Piima ja piimatoodete villimis-korkimisautomaadid				Kuni 500 bakterit	Üle 500 bakteri
reservuaar	+	+	100 cm²		
silindrid, kraanid	+	+	Kogu sisepind	Kuni 500 bakterit	Üle 500 bakteri

Tabel 20, järg

1	2	3	4	5	6
õhutoru, kumm	—	+	Kogu sisepind	Kolibaktereid ei esine	Kolibaktereid esineb
Pudelid ja purgid	+	+	Kogu sisepind (10 tk.)	Kuni 100 bakterit	Üle 100 bakteri
Pudelite ja purkide kapslid	—	+	10 kapsli pind	Kolibaktereid ei esine	Kolibaktereid esineb
Tööliste käed	—	+	Mõlema käe kogupind (1 ml-s uhtevees)	„	„
Hapupiima- ja dieettoodete vannid (kaas, sein, nurk, põhi, segaja, kraan)	—	+	100 cm²	Kuni 250 bakterit	Üle 250 bakteri
Piimatoodete pakkekastid (kaas, sein, põhi)	—	+	100 cm²	Kolibaktereid ei esine	Kolibaktereid esineb
Kohupiimavannid (põhi, sein, nurk, kraan)	—	+	100 cm²	Kolibaktereid ei esine	Kolibaktereid esineb
Kohupiimakotid	—	+	100 cm²	„	„
Piimatoodete pakkeautomaat O3K (punker, segaja, dosaator, puanson, pakitud toote 2 pesa, paber, transportöör)	—	+	100 cm²	„	„
Kohupiima pakkeautomaat OΦ3 (punker, segaja 1, segaja 11, dosaator, puanson, pakitud toote 2 pesa, paber, transportöör 1, transportöör 2, kopa põhi, kopa sein)	—	+	100 cm²	„	„

Tabel 20, järg

1	2	3	4	5	6
Mitrovanovi pressjahuti (trumli seinad, valtsid)	—	+	100 cm²	Kolibaktereid ei esine	Kolibaktereid esineb
Kohupiima isepressimisvannid (sein, põhi, nurk, sõel)	—	+	100 cm²	,,	,,
Või- ja juustutsehhi seadmed (piimatorustik, juustuvannid, juustuvalmistajad, võimasinad)	—	+	100 cm²	,,	,,
Puidust esemed	—	—	100 cm²	Hallitust ei esine	Hallitust esineb
Pärgament ja liim	—	—	100 cm²	0...5 hallituskolooniat	Üle 10 hallituskoloonia
Sool	+	—	1 g	Kuni 100 mikroobi	Üle 100 mikroobi
Suhkur	—	—	1 g	Sahharoosi kääritavaid pärmseeni ei esine	Sahharoosi kääritavaid pärmseeni esineb
Laapferment ja pepsiin	+	+	0,1 g	Kuni 1000 mikroobi Võihappebatsille ja kolibaktereid ei esine	Üle 1000 mikroobi Võihappebatsille ja kolibaktereid esineb

Märkused. 1. Iga objekti kontrollitakse vähemalt kolm korda kuus.

2. Kolibakterite käärproovis gaasi tekkimise korral antakse hinnang «halb» ja üldiduarvu arvesse ei võeta.

KONTROLLTULEMUSTE DOKUMENTATSIOON

Abimaterjalide kontrollimise tulemused

Jrk. nr.	Kuupäev	Saatelehe nr.	Toote nimetus	Mikrofloora 1 g-s			Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi
				bakterite üldiduarv	hallitusseente arv	kolibakterite käärimisproov	

Materjalide kontrollimise tulemused

Jrk. nr.	Kuupäev	Saatelehe nr.	Analüüsi objekt	Kolibakterite käärimisproov	Hallitusseente esinemine	Hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

Taara ja väikeinventari mikrobioloogiline puhtus

Jrk. nr.	Kuupäev	Vahetuse number ja brigadiri nimi	Analüüsi objekt	Kolibakterite käärimisproov	Hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

Tootmisruumide õhu kontrollimise tulemused

Jrk. nr.	Kuupäev	Ruumi nimetus	Mikrofloora hulk Petri tassi pinnal		Hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi
			bakterite üldiduarv	hallitusseente arv		

Vee kvaliteedi kontrollimise tulemused

Jrk. nr.	Kuupäev	Proovi võtmise koht	Bakterite üldiduarv 1 ml-s	Kolibakterite tiiter	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

Tööliste käte puhtuse kontrollimise tulemused

Jrk. nr.	Kuupäev	Tsehh	Kontrollitava nimi	Tehtav töö	Kolibakterite käärimisproov	Hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

Laboratoorsete söötmete kvaliteedi kontrollimise tulemused

Kontrollimise kuupäev	Söötme nimetus	Söötme valmistamise aeg ja seeria nr.	Söötme valmistaja nimi	Analüüsi tulemus	Söödet kontrollinud mikrobioloogi nimi

Seadmete puhtuse kontrollimise tulemused

Jrk. nr.	Kuupäev	Vahetuse number ja brigadiri nimi	Analüüsi objekt	Töölise nimi, kes vastutab seadmete puhtuse eest	Bakterite üldiduarv	Kolibakterite käärimisproov	Hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

XI PEATÜKK

MIKROBIOLOOGILINE KONTROLL PIIMATÖÖSTUSETTEVÕTETES

KONTROLL ALLETTEVÕTETES

Kõikide piimatööstusharude allettevõtetes toimub mikrobioloogiline kontroll ühtemoodi.

Piima vastuvõtu punktides ja piimakogujate poolt vastuvõetava piima kontrollimine. Piimakoguja kontrollib iga piimatooja piima puhtust vähemalt kaks korda kuus. Piimapunkti juhataja kontrollib iga piimatooja piima puhtust ja määrab reduktaasklassi vähemalt kaks korda kuus.

Mastiidi kahtluse korral, kui piimas esineb helbeid, verd, tagastatakse piim selle toojale ja juhtunust teatatakse vastavatele veterinaartöötajatele.

Koorejaamades vastuvõetava piima kontrollimine. Koorejaama juhataja või laborant kontrollib iga piimatooja piima puhtust ja määrab reduktaasklassi vähemalt kaks korda kuus.

Koorejaamade sanitaarse olukorra kontrollimine. Laborant-mikrobioloog ja rajooni sanitaararst kontrollivad kord kuus allettevõtete, aparaatide, piima ja koore hoidmise ning transpordi sanitaarset olukorda. Peale selle kontrollitakse kord kuus sovhoosi ja kolhoosi karjafarmide olukorda, kust võetakse piima juuretise valmistamiseks.

JUURETISTE KVALITEEDI KONTROLLIMINE

Juuretiste kvaliteeti kontrollitakse tihti. Määratakse aktiivsus, s. o. kalgendumisaeg, happesus, kõrvalise mikrofloora esinemine (mikroskoobi preparaadi vaatamine 10 vaateväljas), kalgendi omadused, lõhn, maitse, atsetoiini ja diatsetüüli olemasolu (juustu ja või mesofiilsete piimhappestreptokokkide juuretistes).

Kui tööstuses mikroskoopi pole, saadetakse juuretise proovid või mikroskoobi preparaadid kontrollimiseks oblasti kontrolltootmislaboratooriumisse vähemalt 2 korda kuus.

Igast keefirijuuretise nõust tehakse iga päev kolibakterite käärimisproov Kessleri söötmesse (1 ml ja 0,1 ml). Puhaskultuuride juuretisest ja lahjendustest tehakse kolibakterite käärimisproov vähemalt kord 5 päeva jooksul.

Kui tekib kahtlus juuretiste mikrobioloogilises puhtuses, kuid värvitud preparaadi mikroskopeerimisel kõrvalist mikrofloorat ei leita, tehakse juuretisest piirlahjenduste meetodil külv steriilsesse piima (4 esimest lahjendust). Piimhappestreptokokke sisaldavaid juuretiste külve hoitakse 3 ööpäeva 40—45° C juures, piimhappekepikesi sisaldavaid 30—35° C juures. Pärast termostatiseerimist kalgendid mikroskopeeritakse ja määratakse kõrvalise mikrofloora puudumine või esinemine ja hulk.

Proovide võtmine ning tooraine ja juuretiste tehno-keemiline ning mikrobioloogiline kontroll toimub tööstuse laboratooriumis vastavalt GOST-ides ettenähtud uurimismeetoditele, samuti VII peatükis kirjeldatud meetoditel.

Iga päev määratakse happesus ja mikroskopeeritakse.

KONTROLL TÄISPIIMATÖÖSTUSTES

Laekuva piima kontrollimine

Tööstusse laekuva piima mikrobioloogilise kontrolli ülesanne on üksikute piimapartiide kvaliteedi määramine bakteriaalse saastumise järgi.

Väikestes tööstustes võetakse piimaproovid igast piimakannust või tsisternist. Suure läbilaskevõimega tööstustes pole võimalik korraga kontrollida kogu laekuvat toorainet. Seepärast tuleb esmajärjekorras analüüsida suuremate piimapartiide piima. Tooraine igapäevane kontroll peab olema korraldatud nii, et iga piimatooja piima kontrollitaks vähemalt kord dekaadis.

Tööstusse laekuva toorpiima proovid võetakse pärast piimakannude sorteerimist partiideks, hoolikat segamist ja happesuse määramist. Piima segamiseks liigutatakse segajat piimakannus aeglaste liigutustega ülevalt alla 10—15 korda. Kooreproovi võtmisel segatakse veel hoolikamalt (20—25 korda). Ühe piimapartii keskmine proov võetakse pisteliselt 10—15% kogu kannude hulgast, kuid mitte rohkem kui 10 kannust.

Tabel 21

Mikrobioloogilise kontrolli skeem piimatööstustes

Kontrollitav ettevõte, tsehh	Kontrollitavad objektid	Mida kontrollitakse	Piima võtmise koht	Kontrolli sagedus	Täitja
1	2	3	4	5	6
		Piima vastuvõtu punktide ja koorejaamade kontroll			
Piima vastuvõtu punkt	Piimatoojate ja piimakogujate piim	Piima puhtuseproov	Piimakannudest	Vähemalt 1 kord kuus iga piimatooja piimast	Piima vastuvõtu punkti juhataja
Koorejaam või alltööstus	„	Piima puhtuseproov ja reduktaasproov	„	„	Koorejaama juhataja või laborant
Piimatootmisfarmid ja sovhoosid, kust võetakse juuretisepiima	„	Piima saamise ja hoidmise tingmused (lüpsjate käte puhtus, lüpsikute puhtus jne.), piima puhtuseproov	„	„	Laborant-mikrobioloog
		Tööstusesse laekuva tooraine (piima, koore) kontroll			
Piima vastuvõtu tsehh	Piimatoojate ja piima vastuvõtu punktide piim	Piima puhtuseproov ja reduktaasproov	Piimakannudest, auto- või raudteetsisternidest	Vähemalt kord dekaadis iga piimatooja piimast	Laborant-mikrobioloog
	Juuretisepiim	Organoleptiline hinne, happesus, reduktaasproov	„	2 korda nädalas	„
		Tehnoloogiliste protsesside kontroll			
Aparaaditsehh	Piim ja koor enne pastöriseerimist	Üldiduarv, kolibakterite käärimisproov	Vahepaagist enne pastöriseerimist	Vähemalt kord dekaadis	„

Tabel 21, järg

1	2	3	4	5	6
	Pastöriseeritud piim ja koor (kuumalt)	„	Pastöriseerimise sektsiooni kraanist	Üheaegselt toore piimaga	Laborant-mikrobioloog
		Termogrammide kontroll	Kõikidelt pastörisaatoritelt	Iga päev	„
Piimahoiu jaoskond ja villimistsehh	Pastöriseeritud piim ja koor	Üldiduarv, kolibakterite tiiter	2—5 tankist villimise ajal	„	„
	Pudeli- või kannupiim	„	2—5 pudelist villimistsehhis	Iga päev. Kontrollitavatest tankidest villimisel	„
	Pudeli- või kannupiim	„	2—3 pudelist väljastamisel	Iga päev	
Keefiri-, hapupiima-, atsidofiil- ja teiste dieettoodete tsehh	Pastöriseerimata piim	Üldiduarv, kolibakterite tiiter		Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
	Pastöriseeritud piim	„	Pastöriseerimise sektsiooni kraanist	Üheaegselt toore piimaga	„
		Termogrammide kontroll	Kõikidelt pastörisaatoritelt	Iga päev	„
	Pastöriseeritud juuretisepiim	Pastöriseeritavus	ВДП-vannidest, juuretisenõudest	Juuretises termoresistentsete piimhappekepikeste esinemise korral	„
	Keefiri juuretis	Kalgendumisaeg, happesus, organoleptiline hinne. Mikroskoopiline preparaat. Kolibakterite käärimisproov	Kõikidest ema- ja tarbejuuretisenõudest	Iga päev	„

		preparaat			
		Kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 1—3 nõust	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
	Piim enne juuretise lisamist	Üldiduarv, kolibakterite käärimisproov	1—2 vannist	„	„
	Piim juuretisega	Kolibakterite käärimisproov	1—2 vannist villimise ajal	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
	Hapendatud piim pärast villimist	„	Pisteliselt 1—2 pudelist villimistsehhis	Vähemalt kord 5 päeva jooksul üheaegselt kontrollitavatest vannidest villimisega	„
	Valmistoodang	„	Pisteliselt 1—2 pudelit	Iga päev	„
		Mikroskoopiline preparaat	„	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
Kohupiima- ja kohupiimatoodete tsehh	Pastöriseeritud piim vannist	Üldiduarv, kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 1—2 vannist	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
		Termoresistentsete piimhappekeppide esinemine	Pisteliselt 3—5 vannist	Toodangu kõrge happesuse korral	„
		Pärmseente esinemine	„	Toodangu kerkimise korral	„
	Pastöriseeritud juuretisepiim	Pastöriseeritavus	ВДП-vannidest, juuretisenõudest	Juuretises termoresistentsete piimhappekeppide esinemise korral	„

Tabel 21, järg

1	2	3	4	5	6
	Juuretis	Kalgendumisaeg, happesus, organoleptiline hinne. Mikroskoopiline preparaat.	Kõikidest tarbejuuretisenõudest	Iga päev	Laborant-mikrobioloog
		Kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 1—3 nõust	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
		Juuretise puhtuse kontrollimine piirlahjenduste meetodil	„	Toodangu kõrge happesuse korral	„
	Hapendatud piim	Kolibakterite käärimisproov	2—3 vannist	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
	Kohupiim pärast pressimist	„	Pisteliselt 1—3 partiist	„	„
	Kohupiim pärast jahutamist (valmistoodang)	Kolibakterite käärimisproov. Mikroskoopiline preparaat	„	„	„
	Juustukeste mass (valmistoodang)	Kolibakterite käärimisproov	„	„	„
	Juustukesed (valmistoodang)	Kolibakterite käärimisproov	„	„	„
Hapukooretsehh	Pastöriseerimata koor	Üldiduarv, kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 2—3 vannist	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
	Pastöriseeritud koor	„	„	Üheaegselt pastöriseerimata koore kontrolliga	„
	Koor enne ha-	Üldiduarv, kolibakterite		Vähemalt kord 5	

	Koor enne hapendamist	Termoresistentsete piimhappekeppide esinemine	Pisteliselt 2—3 vannist	Toodangu kõrge happesuse korral	Laborant-mikrobioloog
		Pärmseente esinemine	„	Toodangu kerkimise korral	„
	Pastöriseeritud juuretisepiim	Pastöriseeritavus	ВДП-vannidest, juuretisenõudest	Juuretises termoresistentsete piimhappekeppide esinemise korral	„
	Juuretis	Kalgendumisaeg, happesus, organoleptiline hinne, mikroskoopiline preparaat	Kõikidest tarbejuuretisenõudest	Iga päev	„
		Kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 2—3 nõust	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
		Juuretise puhtuseproov piirlahjenduste meetodil	„	Toodangu kõrge happesuse korral	„
	Koor pärast hapendamist	Kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 2—3 vannist	Vähemalt kord 5 päeva jooksul	„
	Normaliseerimiseks kasutatav koor	„	Pisteliselt 2—3 nõust, kannust	„	„
	Jahutatud ja villitud hapukoor (valmistoodang)	„	Pisteliselt 2—3 nõust, kannust, purgist	„	„
		Mikroskoopiline preparaat	„	„	„
Võitsehh	Pastöriseerimata juuretisepiim	Organoleptiline hinne, happesus	Igast partiist	Iga päev	„

Tabel 21, järg

1	2	3	4	5	6
		Reduktaasproov	Pisteliselt 1—2 nõust	2 korda nädalas	Laborant-mikrobioloog
	Pastöriseeritud juuretisepiim	Pastöriseeritavus	ВДП-vannidest, juuretisenõudest	Juuretises termoresistentsete piimhappekeppide esinemise korral	„
	Juuretis	Kalgendusaeg, happesus, organoleptiline hinne. Mikroskoopiline preparaat, süsihappegaas, diatsetüül ja atsetoiin	Igast partiist	Iga päev	„
		Kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 2—3 nõust	2 korda nädalas	„
	Koor, vastuvõtuvannist, paagist	Reduktaasproov	Paagist, vannist	2 korda kuus	„
	Pastöriseeritud koor	Üldiduarv, kolibakterite käärimisproov	Vannist ja pastörisaatorist	„	„
	Jahutatud koor (tünnimeetodi meetodi korral)	Kolibakterite käärimisproov	Pärast jahutamist	„	„
	Koor separaatorist (vooluliini meetodi korral)	„	Pärast separaatorit	„	„
	Koor vannist enne võimasinasse (võimoodustajasse) laskmist	„	Igast vannist	„	„
	Või (valmistoodang)	Üldiduarv; proteolüütiliste bakterite, hallitus- ja pärmseente arv ning	Pisteliselt ühest kastist	Iga tegu	„

Juustutsehh	Laekuv piim	Piima puhtuseproov, käärimisproov, laapkäärimisproov	Piimakannudest või autotsisternidest	Kord dekaadis	Laborant-mikrobioloog
		Kolibakterite käärimisproov			
		Võihappebatsillide esinemine	„	kõrge II järelsoojendusega juustude valmistamisel vähemalt kord dekaadis	„
	Juuretisepiim	Piima puhtuseproov, reduktaasproov, organoleptiline hinne, happesus	„	Kord dekaadis	„
	Juuretis	Kalgendumisaeg, happesus, organoleptiline hinne, mikroskoopiline preparaat, süsihappegaas, diatsetüül ja atsetoiin	Igast partiist	Iga päev	„
		Kolibakterite käärimisproov	Pisteliselt 1—3 nõust	2 korda nädalas	„
	Pastöriseeritud ja jahutatud piim enne hapendamist	Kolibakterite käärimisproov, võihappebatsillide ja pärmseente esinemine	Juustuvannist või juustuvalmistajast	Kord dekaadis	„
	Juust pärast pressimist või järelpressimist	Kolibakterite käärimisproov, võihappebatsillide ja pärmseente esinemine	Pisteliselt ühest juustust	Kord dekaadis	„

Tabel 21, järg

1	2	3	4	5	6
	Juust (valmistoodang)	Kolibakterite käärimisproov, võihappebatsillide ja pärmseente esinemine	Halvakvaliteedilisest juustust	Juustuvigade esinemise korral	Laborant-mikrobioloog
		Seadmete, aparaatide ja nõude puhtuse kontroll			
Tööstuse tsehhid	Pastöriseeritud piima, dieettoodete ja juuretise torustik				
	Pastöriseeritud piima torud, villimis-korkimisautomaadid, dieettoodete vannid, pudelid, purgid	Üldiduarv, kolibakterite käärimisproov		Üheaegselt vastava toote tehnoloogilise protsessi kontrolliga	„
	Ülejäänud seadmed, nõud, inventar	Kolibakterite käärimisproov		„	„
	Dieettoodete, kohupiima-, hapukooreseadmed	Termoresistentsete piimhappekeppide esinemine	Pisteliselt üksikutest nõudest	Toodangu kõrge happesuse korral	„
		Pärmseente esinemine	„	Toodangu kerkimise korral	„

Piimatooja üksikutest kannudest võetakse leegil põletatud kopsikuga 10—20-ml proov steriilsesse üldnõusse, mis suletakse vattkorgiga. Tsisternide korral võetakse igast sektsioonist 250 ml piima ja valatakse üldnõusse. Võetud keskmistest piimaproovidest tehakse kiiresti reduktaasproov.

Üksikutelt piimatoojatelt vastuvõetava toorpiima kontrolli tulemused märgitakse vastavatesse žurnaalidesse ja piima kvaliteedi andmed tehakse teatavaks selle toojale.

Tehnoloogiliste protsesside kontrollimine

Toodangu kvaliteet sõltub suurel määral puhtusepidamisest tehnoloogiliste protsesside käigus. Piim ja piimatooted on kõige soodsam arenemiskeskkond mikroobidele. Pastöriseerimisseadmete mittekülllaldane efektiivsus, halvasti pestud seadmed, nõud jne. võivad põhjustada mikroorganismide arvu tunduvat suurenemist valmistoodangus ja sordi alanemist bakterioloogiliste näitajate järgi.

Pastöriseeritud piima ja koore tootmine. Tööstustesse laekuv piim tuleb enne kaubandusvõrku saatmist tingimata vabastada lüpsmisel, hoidmisel ning transpordi mitmesugustel etappidel piima sattunud mikrofloorast. Sel eesmärgil piim puhastatakse filtrite abil või tsentrifuugis ja seejärel pastöriseeritakse (kõige sagedamini plaatpastörisaatorites).

Pastöriseerimisel (piima termiline töötlemine alla piima keemistäppi) hävib patogeenne mikrofloora ja suurem osa bakterite vegetatiivrakkudest.

Pastöriseerimine spoore ei hävita, kuid nende kasvuaktiivsus langeb järsult.

Pastöriseerimise väga oluline tingimus on täpne kinnipidamine temperatuurirežiimist ja pastöriseerimiskestusest antud temperatuuril.

Kõrge temperatuuri toime on väga tugev just pastöriseerimise esimestel momentidel, mil hävib ka mikrofloora põhimass. Edaspidi langeb kõrge temperatuuri mõju järsult ja töödeldavasse piima jääb teatud arv eoseid kandvat kuumakindlat mikrofloorat. Üleelanud mikrofloora protsent sõltub toorpiima spoore kandvate kuumakindlate mikroorganismide hulgast ja õigest temperatuurirežiimist kinnipidamisest pastöriseerimisel.

Pastöriseerimise efektiivsuseks loetakse mikrofloora hulga vähenemise astet, mida suudab kindlustada aparatuur. Tavaliselt väljendatakse seda esialgse ja jääkmikrofloora hulga suhtena. Pastörisaatori efektiivsus on normaalne, kui jääkmikrofloorat on 0,1% esialgsest idusisaldusest. Kui seda on tunduvalt rohkem, hinnatakse pastörisaatori tööd mitterahuldavaks.

Pastöriseerimise efektiivsusele avaldavad suurt mõju piimas esinevad limatükikesed, epiteelrakud, vaht jne., mis kaitsevad

mikroorganisme kõrgete temperatuuride eest. Nende puudumine on eriti oluline piima lühiajalisel pastöriseerimisel kõrgel temperatuuril. Sel juhul on piima puhastamine enne pastöriseerimist eriti vajalik.

Piima puhastamise seadmete, filtrite ja tsentrifuugide tööd tuleb jälgida niisama hoolikalt kui pastöriseerimisseadmete tööd.

Iga pastöriseerimisseadme toime efektiivsust normaalse töö korral on tarvis kontrollida vähemalt kord 5 päeva jooksul. Sel juhul määratakse bakterite üldiduarv ja kolibakterite tiiter pastöriseerimisele minevas toores piimas ja pastöriseeritud kuumas piimas. Kuuma piima proov võetakse pastöriseerimissektsioonist väljuvasse torusse paigutatud spetsiaalse kraani kaudu.

Pastöriseeritud piima tehnoloogilise protsessi kontrollimisel tuleb analüüse võtta selliselt, et protsessi iga moment ja iga aparaat saaks eraldi uuritud ja hinnatud. Pastörisaatori töö jälgimisel on vaja silmas pidada seda, et erimomentidel võib pastöriseerimise efektiivsus erinev olla. Seepärast tuleb analüüse teha nii töö algul, teatud aja jooksul pärast töö algust kui ka töö lõpul.

Pastöriseerimisseadmete töö hindamisel aitab mikrobioloogi igapäevane termogrammide kontrollimine. Regulaarsel vaatlusel ilmneb piima pastöriseerimisrežiimi rikkumine, mida mikrobioloogiliste analüüsidega ei ole alati võimalik kindlaks teha.

Õige pastöriseerimisrežiim ei kindlusta alati heakvaliteedilise piima ja koore saamist. Pärast pastöriseerimist ja jahutamist läheb piim torustikkupidi piimahoiutankidesse, siit villimisautomaatidesse.

Piima ja koore mikroflooraga saastumise allikaks võivadki olla seadmed. Seepärast kontrollitakse kõrvuti pastöriseerimise efektiivsusega seadmete ja pudelite pesemist.

Koore- ja piimaproovid pudelis võetakse villimis-korkimisautomaadi konveierilt üheaegselt proovidega tankidest, kust antud momendil läheb piim villimisele. See annab võimaluse avastada süüdlast, kui piim väljastatakse bakterioloogiliste näitajatega alla A-gruppi. Kui piimal on kõrge bakterisisaldus juba tankis, langeb süü aparaaditsehhile, kui pudelites, siis loetakse vastutavaks villimistsehh. Väljastataval pastöriseeritud piimal ja koorel kontrollitakse iga päev neid näitajaid, mis on antud vastavates tehnilistes tingimustes.

Hapupiimasaaduste tootmise kontroll. Hapupiimasaaduste tootmisel tehakse juuretisepiima bakterite üldiduarvu ja kolibakterite analüüs. Juuretises, pooltoodetes ja valmistoodangus määratakse kolibakterite esinemine. Peale selle etendab erakordselt suurt osa tehnoloogiliselt vajalik mikrofloora — juuretistega sisseviidavad ja pastöriseeritud piima mikroorganismid, mis kujundavad valmistoodangu füüsikalis-keemilisi ja organoleptilisi omadusi. Antud mikrofloora arengu kontrollimisel on hapupiimasaaduste tootmisel tähtis koht.

Keefiri, hapupiima jne. tootmise kontrollimine. Piima pastöriseerimise efektiivsust kontrollitakse bakterite üldiduarvu ja kolibakterite tiitri järgi vähemalt 5 päeva jooksul. Iga päev kontrollitakse kõikide töötavate pastöriseerimisseadmete termogramme. Juuretisest määratakse iga päev happesus ja tehakse mikroskoopiline preparaat.

Tehnoloogilise protsessi käigus määratakse vannipiimas enne juuretise lisamist bakterite üldiduarv ja kolibakterite esinemine. Juuretist ja piima kontrollitakse kolibakterite esinemise suhtes pärast juuretise lisamist käärimisprooviga.

Kontrollitud vannidest võetakse kalgendunud piima villimisel villimisautomaadi konveierilt pudelid ja määratakse samuti kolibakterite esinemine.

Valmistoodangut kontrollitakse iga päev kolibakterite esinemise suhtes. Vähemalt kord 5 päeva jooksul vaadeldakse mikroskoopilist preparaati.

Üheaegselt tehnoloogilise protsessi kontrollimiseks võetavate proovidega võetakse proovid ka tsehhi sanitaarse olukorra kontrollimiseks (seadmete ja nõude puhtus jne.).

Kohupiima tootmise kontroll. Pastöriseeritud vannipiimas kontrollitakse enne kalgendumist bakterite üldiduarvu ja kolibakterite esinemist, kuid ka juuretist ja piima pärast kalgendumist. Kolibakterite esinemine määratakse käärimisprooviga. Juuretisest määratakse iga päev happesus ja tehakse mikroskoopiline preparaat. Juhul kui valmistoodangu happesus on liiga kõrge, kontrollitakse pastöriseeritud piimas ja juuretises termoresistentsete piimhappekepikeste esinemist. Kui esineb toodangu kerkimist, tuleb määrata pärmseente esinemine.

Kohupiimas tehakse pärast pressimist kolibakterite käärimisproov. Pärast jahutamist tehakse samuti kolibakterite käärimisproov, ent valmistatakse ka mikroskoopiline preparaat.

Üheaegselt tehnoloogilise protsessi kontrollimiseks võetavate proovidega võetakse proovid ka tsehhi sanitaarse olukorra kontrollimiseks ning seadmetel esinevate termoresistentsete piimhappekepikeste ja pärmseente esinemise määramiseks juhul, kui toodang on liiga kõrge happesusega või esineb paisumist.

Hapukoore tootmise kontroll. Hapukoore tootmisel määratakse koore pastöriseerimise efektiivsus bakterite üldiduarvu ja kolibakterite käärimisproovi järgi. Koores määratakse enne hapendamist samad näitajad ja ka termoresistentsed piimhappekepikesed, kui koore happesus on liiga kõrge, ning pärmseened juhul, kui esineb paisumist.

Hapukoore juuretist kontrollitakse samade näitajate järgi, mille järgi kontrolliti kohupiima juuretist.

Tehnoloogilise protsessi käigus kontrollitakse juuretist, koort pärast hapnemist ja valminud koort pärast jahutamist. Juhul kui koort kasutatakse toorainena hapukoore normaliseerimiseks, tehakse kolibakterite käärimisproov ja määratakse termoresis-

tentsed piimhappekepikesed ning pärmseened, kui toodangul avastatakse vastavaid vigu. Tsehhi sanitaar-hügieenilist olukorda ja tehniliselt tähtsa mikrofloora esinemist seadmetel kontrollitakse tehnoloogilise protsessi käigus üheaegselt tooraine, poolfabrikaatide ja valmistoodangu kontrollimisega.

Tooraine, juuretiste, tehnoloogiliste protsesside, valmistoodangu ja materjalide mikrobioloogilise kontrolli skeem tootmises on toodud tabelis 21.

KONTROLL VÕITÖÖSTUSTES

Või tootmisel kontrollitakse juuretiste valmistamiseks kasutatava piima kvaliteeti organoleptiliste näitajate, happesuse ja reduktaasproovi järgi. Juuretistel määratakse kõik näitajad, kuid erilist tähelepanu tuleb pöörata atsetoiini- ja diatsetüüli- ning süsihappegaasisisaldusele, samuti organoleptilistele omadustele.

Tööstustesse laekuva koore kvaliteet määratakse reduktaasproovi abil. Koorest määratakse pärast pastöriseerimist, pärast jahutamist (võimasinas valmistamise korral) ja separaatorist (vooluliini korral), koorevannist enne võimasinasse (võimoodustajasse) laskmist bakterite üldiduarv ja kolibakterite esinemine.

Hapukoorevõis määratakse proteolüütiliste bakterite, pärmseente ja hallitusseente arv ning kolibakterid.

Rõõsakoorevõis määratakse eespool nimetatule lisaks veel bakterite üldiduarv.

Näidisnormid või hindamiseks mikrofloora sisalduse järgi 1 ml võis on toodud tabelis 22.

Üheaegselt tooraine, poolfabrikaatide ja toodangu kontrollimisega võetakse ka proovid tootmise sanitaar-hügieenilise olukorra hindamiseks.

Tabel 22

Või liik	Hinne														
	väga hea					hea					rahuldav				
	kolibakterite käärtiiter	üldiduarv tuh.	proteolüütilis-te bakt. arv	pärmseente arv	hallitusseen-te arv	kolibakterite käärtiiter	üldiduarv tuh.	proteolüütilis-te bakt. arv	pärmseente arv	hallitusseen-te arv	kolibakterite käärtiiter	üldiduarv tuh.	proteolüütilis-te bakt. arv	pärmseente arv	hallitusseen-te arv
Rõõsakoorevõi (tünnimeetodil), värske	>1 ml	Kuni 10	Kuni 500	—	—	Kuni 0,1	Kuni 100	500—1000	Kuni 10	Kuni 10	Mitte alla 0,1	Kuni 1000	Kuni 10 000	Kuni 100	Kuni 100
Rõõsakoorevõi (vooluliinil), värske	„	Kuni 5	Kuni 500	—	—	Kuni 0,1	Kuni 10	500—1000	Kuni 10	Kuni 10	Mitte alla 0,1	Kuni 100	Kuni 10 000	Kuni 100	Kuni 100
Vologda või (6—8-päevane)	„					>1 ml	Kuni 1	Kuni 300	—	—					
Hapukoorevõi, värske	„	Ei piiritleta	Kuni 500	—	—	Kuni 0,1	—	500—1000	Kuni 10	Kuni 10	Mitte alla 0,1	Ei piiritleta	Kuni 10 000	Kuni 100	Kuni 100

Märkus. Kui mõne võiliigi tootmisel kasutatakse pärmseeni, siis lahtrisse «pärmseente arv» kirjutatakse «ei piiritleta».

KONTROLL PIIMAKONSERVITÖÖSTUSTES

Tabel 23

Kondenseeritud piimakonservide (kõik suhkruga liigid) mikrobioloogilise kontrolli skeem

Kontrollitavad punktid või objektid	Proovi võtmine	Analüüsi maht	Analüüsi sagedus
1	2	3	4
I. Tehnoloogilise protsessi kontroll	Piima vastuvõtu paakidest, kõikidest piimahoiutankidest ja -seguvannidest võetakse toruga pärast hoolikat segamist steriilsesse kolbi 4—5 kohast 20 ml. Kinnistest tankidest võetakse piimaproov selle täitumisel ja väljavoolul pastörisaatorisse, nagu on näidatud punktis 2	Bakterite üldiduarvu ja kolibakterite käärimisproovi määramine	Perioodiline kontroll 2 korda kuus. Bakterite üldiduarvu suurenemisel valmistoodangus kontrollitakse 2 korda nädalas
1. Piim vastuvõtupaagist 2. Piim pärast piimapuhastajat 3. Piim enne jahutajasse voolamist 4. Piim enne normaliseerimist piimahoiutankist või -vannist 5. Piim pärast normaliseerimist piimahoiutankist või -vannist 6. Piim pärast pastöriseerimist pastöriseerimise algul 7. Piim pärast pastörisaatorit pastöriseerimise kestel	Piim pärast piimapuhastajat, enne jahutajat, pastörisaatorist väljavoolamisel, siirup seguvanni voolamisel, kohvi- ja kakaolahus vaakumaparaati või seguvanni voolamisel ja pärast kondenseerimist vaakumaparaadis kogutakse kolbi, mis on asetatud torustiku kraani või ühenduskoha alla		

9. Siirup seguvanni voolamisel			
10. Kohvi- või kakaolahus vaakumaparaati voolamisel			
11. Kondenseeritud piim (suhkruga) vaakumaparaadist (kakao või kohviga)			
12. Kondenseeritud piim jahutusvannist pärast täitumist	Võetakse kolbi steriilse kopsikuga 2—3 kohast		
13. Pastöriseeritud vesi kondenseeritud piima lahjendamiseks			
14. Kondenseeritud piim jahutusvannist enne väljalaskmist			
15. Kondenseeritud piim pärast villimismasinat	Proov võetakse enne kaanetamist 3—4 steriilsest metallkarbist keeduse jooksul, suletakse ajutiselt steriilse kaanega, valatakse kokku ühte steriilsesse kolbi		
16. Kondenseeritud piim pärast kaanetamist			
II. Aparaadid ja seadmed			
1. Kaalud	Punktides 1, 2, 3, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18 kirjeldatud juhtudel kasutatakse flambeeritud trafaretti pinnaga 25 cm² (5×5); sellega võetakse neljast kohast steriilse vatt- või marlitampooniga proov, mis pannakse kolbi 100 ml steriilsesse vette	Üldiduarvu määramine	Aparatuuri ja kõiki seadmeid kontrollitakse kord kahe kuu jooksul, suvekuudel aga iga kuu
2. Vastuvõtupaak			
3. Eelsoojendi			
4. Separaator			
5. Piimapuhasti			
6. Jahuti pump			
7. Plaat- ja torujahuti			
8. Tank või piimahoiuvann	Mikroobid arvestatakse 100 cm² suuruse pinna kohta	„	„
9. Pastörisaatori pump			
10. Pastörisaator			
11. Seguvann			
12. Suhkrusiirupi katel			

1	2	3	4
13. Kohvi- ja kakaolahuste katel			
14. Suhkrusiirupi filter			
15. Vaakumaparaadi filter			
16. Vaakumaparaat			
17. Valmistoodangu jahutusvanni pump			
18. Jahutusvann			
19. Villimismasin			
20. Torud: pumbalt jahutile	Torudest ja kraanidest lastakse läbi steriilset vett (2 m pikkuse toru või ühe kraani kohta 1 liiter)	Üldiduarvu määramine	Kogu aparatuurilt ja seadmetelt võetakse proov kord 2 kuu jooksul, suvekuudel iga kuu
jahutilt tanki või piimahoiuvanni			
tsisternist või vannist pastörisaatorisse	Mikroobid arvestatakse 10 ml uhtevee kohta	„	„
pastörisaatorist seguvanni	Sama mis p. 7: torujahutilt võetakse trafaretiga, plaatjahutilt steriilse uhteveega (vt. p. 4, 5, 6 jne.)	„	„
seguvannist vaakumaparaati			
vaakumaparaadi pumbalt jahutusvanni	Sama mis p. 16: kalorisaatori torudest võetakse proov ülalt ja alt steriilses vees niisutatud marli- või vatttampooniga 10 cm sügavuselt ja asetatakse 100 ml steriilsesse vette		
jahutusvannist villimismasinasse	Mikroobid arvestatakse 10 cm pikkuse toru kohta		
21. Kraanid: tanki või piimahoiuvanni juurest	Vaakumaparaadi siseseinte 100 cm² suuruselt pinnalt võetakse proov vardaga, mille otsas on steriilne vatt		
pastörisaatori juurest	Mikroobid arvestatakse 100 cm² koh-		

seguvanni juurest			
vaakumaparaadi juurest (väljalaskekraan) jahutusvanni juurest	Sama mis p. 8; kui on lahtine tank, võetakse proov nii nagu vaakumaparaadi siseseintelt		
III. Abimaterjalid, taara, vesi, õhk ja tööliste käed		1. Üldiduarv 2. Pärm- ja hallitusseente arv	
a) abimaterjalid: suhkur, kakao, kohv	Igast kotist võetakse kuiva steriilsesse nõusse 100 g (ühe partii korral 2—5 kotist)		Igast partiist vähemalt kaks korda kuus
b) taara: kannud ja tsisternid Pärast pesemist ja aurutamist — kaks Vahetult enne väljasaatmist tööstusest — kaks	Taara sisepinda uhutakse kindla koguse steriilse veega ja loksutatakse, vesi valatakse kuiva steriilsesse nõusse.		Kogu taarat kontrollitakse kord kuus, suvel (maist septembrini) 2 korda kuus
Pärast aurutamist või kloorimist võetakse 3 korda ühe keeduse villimise jooksul (algul, keskel ja lõpul) kaks paralleelproovi	Taarat uhutakse järgmise koguse steriilse veega: piimakannu 1 liitriga, tsisterni toobri- või pangetäiega, karpi ja toosi 50 ml-ga. Kaane ülemiselt sisepinnalt võetakse proov vatiga, mis asetatakse katseklaasi 10 ml steriilsesse vette	1. Üldiduarv 2. Kolibakterite käärimisproov	
c) vineer (liim ja etiketid)	Väline vaatlus	Nähtav hallitus Pärm- ja hallitusseente arv	Igatööstusse saabuv partii
d) pärgament	Rullist lõigatakse läbi leegi tõmmatud kääridega 2 sellise suurusega pärgamenditükki, et nad mahuksid kõrvuti Petri tassile õllevirdeagarile, üks tükk alumise, teine ülemise poolega		„
e) vesi	Vesi võetakse kraanist liitrisesse kolbi või pudelisse (lastakse joosta 10 min.). Kraan peab olema hoolikalt steriliseeritud	1. Üldiduarv 2. Kolibakterite käärimisproov	2 korda kuus

Tabel 23, järg

1	2	3	4
f) õhk	Tardunud lihapeptoonagari või õllevirdeagariga Petri tasse hoitakse 5 min. lahtiselt	1. Üldiduarv 2. Pärm- ja hallitusseente arv	„
g) käed	Steriilse või läbi leegi tõmmatud liua kohal pestakse mõlemad käed 100 ml steriilse veega. Vesi valatakse steriilsesse kolbi. Arvestus tehakse mõlema käe kogu pinna kohta	Kolibakterite tiiter	„
IV. Valmistoodangu kontrollimine 1. Kondenseeritud piim suhkruga ja kohviga või kakaoga karpides või toosides. Analüüs tehakse keeduse 1 karbist või 1 toosist eraldi 2. Kondenseeritud piim (suhkruga) tünnides. Analüüsitakse iga keeduse 1 tünn	Karp või toos pestakse ja kuivatatakse. Kontrollitakse hermeetilisust. Kaas tõmmatakse läbi leegi ja avatakse steriilse noaga. Pärast kondenseeritud piima segamist võetakse spetsiaalse lusikaga 10-g kaalutis steriilsesse kuiva kolbi ja lisatakse 90 ml steriilset vett esimese lahjenduse saamiseks. 1 ml toodet külvatakse pipetiga otse karbist vedelsöötmesse, pipett puhutakse tühjaks ja uhutakse söötmega läbi	1. Üldiduarv 2. Kolibakterite tiiter 3. Kolibakterite kääritamisproov	Igast keedusest Ühest keedusest päevas

Tabel 24

Piimapulbrikonservide mikrobioloogilise kontrolli skeem

Kontrollitavad punktid või objektid	Proovi võtmine	Analüüsi meetod ja maht	Analüüsi sagedus
1	2	3	4
I. Üksikute piimatoojate piim (kõikide kannude keskmine)	Ühe piimatooja igast kannust steriilse proovivõtlaga 10—20 ml steriilsesse kolbi	Reduktaasproov	Igalt piimatoojalt kord kuus
II. Tehnoloogilise protsessi kontrollimine	Vastuvõtupaakidest, kõikidest vannidest, kus hoitakse või pastöriseeritakse üheks keeduseks minevat piima; kondenseeritud piima vannist võetakse proovivõtlaga pärast hoolikat segamist 4—5 kohast 20 ml steriilsesse kolbi	Üldiduarv ja kolibakterite käärimisproov	Perioodiliselt 2 korda kuus
1. Piima vastuvõtu paakidest 2. Piim pärast piimapuhastit 3. Piim enne jahutisse minekut 4. Piim piimahoiuvannist või tankist enne normaliseerimist 5. Piim piimahoiuvannist või tankist pärast normaliseerimist (vahetult enne pastöriseerimist) 6. Pastörisaatorist väljumisel töö algul 7. Pastörisaatorist väljumisel töö kestel 8. Pastöriseerimisvannist enne väljalaskmist vaakumaparaati 9. Vaakumaparaadist pärast kondenseerimist	Kinnistest tankidest võetakse proov täitumisel ja väljavoolul pastörisaatorisse, nagu näidatud p. 2 pärast piimapuhastit Piim pärast piimapuhastit, enne jahutit, pastörisaatorist ja vaakumaparaadist väljumisel pärast kondenseerimist kogutakse kolbi, mis on asetatud jahutieelse ja vaakumaparaadist väljuva torustiku alla		Valmistoodangu suure saastumise korral kontrollitakse 2 korda nädalas

Tabel 24, järg

1	2	3	4
10. Kondenseeritud piima vannist kohe pärast täitumist			
11. Vannist enne väljalaskmist			
12. Piimapulber pärast kuivatuskambrit kolu alt	Piimapulber kogutakse pärast kuivatuskambrit kuiva steriilsesse purki (nr. 6) osade kaupa kogu kuivatuse jooksul vahetult kolu alt, kokku umbes 100 g		
13. Piimapulber pakendis	Pärast segamist võetakse proov steriilse lusika või puuriga kuiva steriilsesse purki (nr. 6) 3—5 kastist või tünnist (mitmest kohast)		
A. Aparaadid ja seadmed	Punktides 1, 2, 3, 8, 10, 11, 12, 14 kirjeldatud juhtudel kasutatakse läbi leegi tõmmatud trafaretti pinnaga 25 cm² (5×5)	Üldiduarv	Aparaate ja seadmeid kontrollitakse kord kahe kuu jooksul, suvel iga kuu
1. Kaalud 2. Vastuvõtupaak 3. Eelsoojendi 4. Separaator 5. Piimapuhasti 6. Jahuti pump 7. Plaat- või torujahuti 8. Tank või piimahoiuvann 9. Pastörisaatori pump	Neljast kohast võetakse läbi leegi tõmmatud trafareti ja steriilse vatt- või marlitampooniga proov, mis asetatakse kolbi 100 ml steriilsesse vette Mikroobid arvestatakse 100 cm² pinna kohta Sama mis p. 4, 5, 6, 9 ja 15: uuritav objekt võetakse ülejäänud aparaadi küljest lahti ja uhutakse läbi 2—3 l steriilse veega, mis kogutakse steriilsesse kolbi. Mikroobid arvestatakse 10 ml uhtevee kohta		
10. Pastörisaator 11. Pastöriseerimisvann 12. Vaakumaparaat 13. Kondenseeritud piima	Sama mis p. 7: torujahutilt võetakse proov trafaretiga nii, nagu ülalpool näidatud, plaatjahutilt nii, nagu on näidatud punktides 4, 5, 6 jne.		

14. Pump kondenseeritud piima löömiseks kuivatuskambrisse	Sama mis p. 12: kalorisaatori torudest võetakse ülalt ja alt steriilses vees niisutatud vatt- või marlitampooniga proov 10 cm sügavuselt ja asetatakse kolbi 100 ml ja steriilsesse vette Mikroobid arvestatakse 10 cm pikkuse toru kohta Vaakumaparaadi siseseinte 100-cm² pinnalt võetakse proov vardaga, mille otsas on steriilne vatt Mikroobid arvestatakse 100-cm² pinna kohta. Sama mis p. 8; kui on lahtine tank, võetakse proov nagu vaakumaparaadi siseseintelt	Üldiduarvu määramine	Aparaate ja seadmeid kontrollitakse kord kahe kuu jooksul, suvel iga kuu
15. Torud pumbalt jahutile, jahutilt tanki ja piimahoiuvanni, tankist või vannist pastörisaatorisse	Torudest ja kraanidest lastakse läbi steriilne vesi (2 m pikkuse toru või ühe kraani kohta 1 liiter) Mikroobid arvestatakse 100 ml uhtevee kohta		
B. Õhk	Tardunud lihapeptoonagari või õllevirdeagariga Petri tasse hoitakse 5 minutit lahtiselt ruumis, kus määratakse mikrofloorat	1. Üldiduarv 2. Pärm- ja hallitusseente arv	Kaks korda kuus
C. Käed	Steriilse või läbi leegi tõmmatud liua kohal pestakse mõlemat kätt 100 ml steriilse veega. Vesi valatakse steriilsesse kolbi. Arvestus tehakse mõlema käe kogu pinna kohta	1. Üldiduarv 2. Kolibakterite tiiter	”

Tabel 24, järg

1	2	3	4
D. Kuivatuskambri tööliste spetsiaalriietus	Tööliste spetsiaalriietus (kombinesoon, peakate, riidest jalanõud) pannakse toobrisse või piimakannu 5 l pastöriseeritud vette. Viieminutise raputamise järel valatakse uhtevesi steriilsesse kolbi Mikroobid arvestatakse 10 ml uhtevee kohta	Üldiduarv	Kord kuus
III. Valmistoodangu kontrollimine (pakendis piimapulber)	Proov võetakse steriilse lusikaga kolmest kastist ja tünnist või 10 konservikarbist. Ühest partiist võetakse umbes 100 g piimapulbrit ja asetatakse steriilsesse kolbi. Pärast segamist kaalutakse kolvist 1 g piimapulbrit kuiva steriilsesse büksi, kust puistatakse katseklaasi 9 ml steriilsesse vette I lahjenduse saamiseks. 1 g piimapulbri külvil puistatakse kaalutis steriilsesse söötmesse	1. Üldiduarv 2. Kolibakterite tiiter	Igast partiist

KONTROLL JUUSTUTÖÖSTUSTES

Juustutööstustesse laekuva piima kontrollimiseks tehakse puhtuseproov, reduktaas-käärimisproov ja laap-käärimisproov ning uuritakse mastiidi esinemist. Kui tööstus toodab kõrge II järelsoojendusega juustusid, tuleb piimas süstemaatiliselt määrata ka võihappebatsillide esinemist. Tulemuste järgi selgitatakse välja piimatoojad, kellel on parimate näitajatega piim. Selline piim võetakse juuretiste valmistamiseks, kuid enne kontrollitakse veel piima happesust ja organoleptilisi näitajaid.

Iga päev määratakse juuretisest kõik kvaliteedinäitajad.

Juustuvannist või juustuvalmistajast võetud pastöriseeritud ja jahutatud piimast määratakse bakterite üldiduarv, kolibakterite, võihappebatsillide ja pärmseente esinemine. Juustust määratakse pärast pressimist või pärast järelpressimist kolibakterite, võihappebatsillide ja pärmseente esinemine. Samad näitajad määratakse ka valminud juustul, kui sel esineb vigu.

Üheaegselt juustu tehnoloogilise protsessi kontrollimisega kontrollitakse ka tsehhi sanitaar-hügieenilist olukorda.

KONTROLLIMISTULEMUSTE DOKUMENTATSIOON

Laborant-mikrobioloog kirjutab iga toote analüüsi tulemused vastavasse žurnaali allpool toodud vormi järgi.

Vastuvõetava tooraine (piima) kontrollžurnaal

Jrk. nr.	Kuupäev	Piimatooja nimi	Reduktaasproov			Sort (klass)	Puhtuseproov	Piima kvaliteedi hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi
			algus	lõpp	kestus				

Koore kontrollžurnaal

Jrk. nr.	Kuupäev	Koorejaam, jaoskond	Reduktaasproov			Sort (klass)	Hinne	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi
			algus	lõpp	kestus			

Juuretise kvaliteedi kontrollžurnaal

Steriliseeritud piimas valmistatud juuretis		Esimene tarbejuuretis									Teine tarbejuuretis								
								Hapendamisproov								Hapendamisproov			
Kuupäev	Kultuuri või segukultuuri nr.	Kuupäev	Kalgendumisaeg tundides	Mikroskoopiline pilt	Happesus Th°	Kalgendi iseloom	Käärimisproov	Kalgendumisaeg tundides	Kalgendi iseloom	Maitse ja lõhn	Otsus juuretise kohta	Kuupäev	Kalgendumisaeg tundides	Mikroskoopiline pilt	Happesus Th°	Kalgendi iseloom	Käärimisproov	Kalgendumisaeg tundides	Kalgendi iseloom	Maitse ja lõhn	Otsus juuretise kohta

Märkus. Juuretise kvaliteedi määramisel tuleb kasutada kontrollkolbide meetodit vastavalt antud tehnoloogilisele protsessile.

Keefiriseente juuretise kvaliteedi kontrollžurnaal

Kuupäev	Nõu number	Mikroskoopiline pilt	Maitse ja lõhn	Happesus Th°	Kasv Kessleri söötmel		Otsus juuretise kohta
					1,0 ml	0,1 ml	

Keefiri tarbejuuretise kvaliteedi kontrollžurnaal

Kuupäev	Nõu number	Hapendamisnõu nimetus	Kalgendumisaeg tundides	Happesus Th°	Kalgendi iseloom	Maitse ja lõhn	Mikroskoopiline pilt	Kasv Kessleri söötmel		Otsus juuretise kohta
								1,0 ml	0,1 ml	

Kondenseeritud ja piimapulbrist toodetud täispiima saaduste tehnoloogilise protsessi kontrollžurnaal

Jrk. nr.	Kuupäev	Proovi võtmise koht	Proovi nimetus	Üldiduarv 1 ml-s või 1 g-s	I käärimisproov	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

Või ja juustu tehnoloogilise protsessi kontrollžurnaal

Jrk. nr.	Kuupäev	Proovi võtmise koht	Redukt-aasproov	Laap-käärimis-proov ja käärimis-proov	Võihappe-batsillide arv 1 ml-s või 1 g-s	Kolibak-terite käärimis-proov	Analüüsi teinud mikrobio-loogi nimi

Žurnaali teisele leheküljele jäetakse lahter ettepanekute ja märkuste jaoks järgmise vormi kohaselt.

Kuupäev	Märkused tehnoloogilise protsessi kohta	Ettepanekud tsehhile	Märkused laboratooriumi ettepanekute täitmise kohta

Täispiimatoodete ja piimakonservide kvaliteedi kontrollžurnaal

Jrk. nr.	Kuupäev	Proovi võtmise koht	Proovi nimetus	Üldiduarv 1 ml-s või 1 g-s	Käärimistiiter	Identifitseerimise tulemus, kolitiiter	Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi

Või ja juustu kvaliteedi kontrollžurnaal

Jrk. nr.	Kuupäev	Partii, teo number	Tootmise kuupäev	Üldiduarv 1 ml-s või 1 g-s	Kolibakterite käärimisproov	Kolibakterite tiiter	1 ml-s või 1 g-s			Analüüsi teinud mikrobioloogi nimi	Märkused
							proteolüütilisi baktereid	võihappe-batsille	pärm- ja hallitusseeni		

ALDOKUMENTATSIOON

...tusse üleantava piima ja koore kontrollimise tulemustest teatatakse piimatoojale järgmise vormi kohaselt.

Teie poolt üleantud ..... kvaliteedi kontrollimise tulemused

Kuupäev	Kontrollitav tooraine	Reduktaas-proov	Puhtuse-proov	Otsus kvaliteedi kohta

Laborant-mikrobioloog

Tööstuses sanitaarrežiimi või tehnoloogilise protsessi kontrollimisel avastatud puudustest teatatakse peainsenerile või vastavale meistrile allpool toodud vormi kohaselt.

Signaalleht nr. .....
(peainsenerile või tsehhi meistrile)

Kuupäev	Tsehh	Avastatud puudused	Tarvituselevõetavad abinõud

Laborant-mikrobioloog

XII PEATÜKK

KONTROLL-TOOTMISLABORATOORIUMI POOLT TEHTAV MIKROBIOLOOGILINE KONTROLL

LABORATOORIUMI MIKROBIOLOOGILISE OSAKONNA NÄIDISTÖÖSKEEM ÜHE AASTA KOHTA

Tootmise kontroll

Või- ja juustutööstuste täielik mikrobioloogiline analüüs. Aasta jooksul tehakse vähemalt kuus analüüsi (tööstuste arvu ei näidata, sest nende hulgas võib olla korduvalt analüüsitavaid tööstusi).

Iga analüüsi tulemused on soovitatav saata kõikidele tööstustele.

Analüüsi teeb kontroll-tootmislaboratooriumi mikrobioloog.

Tööstuste sanitaarset olukorda võib analüüsida laboratooriumi juhataja või mikrobioloog, samuti tehnoloogilis-keemilise kontrolli inspektor.

Juuretiste kontroll seisneb meistrite poolt laboratooriumisse saadetavate preparaatide läbivaatamises ja juuretiste proovide hindamises.

Preparaadid saadetakse kaks korda, juuretiste proovid kord kuus.

Reduktaasproov. Kõikides tööstustes hinnatakse piima ja koore kvaliteeti reduktaasproovi järgi.

Lattu laekuva valmistoodangu kontroll

Igast tööstusest lattu laekuvat võid ja juustu kontrollitakse vähemalt kolm korda aastas.

Igast lattu laekuvast toodangupartiist, millel on mikrobioloogiliste näitajate kohta normid, tehakse analüüs vastavalt GOST-ile.

Tootmises kasutatavate materjalide kontroll

Kontrollitakse igat lattu laekuvat partiid.

MIKROBIOLOOGILISE ANALÜÜSI SKEEM VÕI- JA JUUSTUTÖÖSTUSTES

Või tootmise tehnoloogilise protsessi kontroll

Analüüsitav toode	Proovi võtmise koht	Analüüsi maht
Juuretisepiim	Igast kannust	Reduktaasproov
Koor	Igast koorejaamast	„
	Kogumispaagist	„
	Keskmine proov pärast pastöriseerimist võetakse vahetult pastörisaatorist väljumisel või enne jahutit (proov jahutatakse kohe)	Bakterite üldiduarv, kolibakterite käärimisproov
Juuretis	Enne koorele lisamist igast juuretisenõust	Kolibakterite käärimisproov; mikroskoopiline preparaat
Koor	Koorevannist enne hapendamist hapukoorevõi valmistamisel ja enne võimasinasse laskmist rõõsakoorevõi valmistamisel	Bakterite üldiduarv; kolibakterite käärimisproov
Või	Kokkulöömise momendil (võetakse plastist)	Bakterite üldiduarv; roisubakterite arv; kolibakterite käärimisproov; hallitus- ja pärmseente arv

Juustu tootmise tehnoloogilise protsessi kontroll

Analüüsitav toode	Proovi võtmise koht	Analüüsi maht
Piim	Kõikidelt piimatoojatelt	Puhtuseproov; reduktaasproov
	Keskmine proov kogumispaagist	Reduktaasproov
	Pärast pastöriseerimist	Bakterite üldiduarv; kolibakterite käärimisproov
Piim	Vannist enne puhaskultuuride lisamist	Kolibakterite käärimisproov
Juuretis	Enne piimale lisamist	Kolibakterite käärimisproov; mikroskoopiline preparaat
Piim	Vannist pärast puhaskultuuride lisamist	Kolibakterite käärimisproov; võihappebatsillide arv
Juust	Pärast pressimist või järelpressimist	Kolibakterite käärimisproov; võihappebatsillide arv

Kõrvaltoodangu kontroll

Toode	Analüüsi maht
Jäätis	Bakterite üldiduarv; kolibakterite käärimisproov
Kohupiim ja juustukeste mass	Kolibakterite käärimisproov
Keefir ja hapupiim	Mikroskoopiline preparaat; kolibakterite käärimisproov
Kondenseeritud lõss	Bakterite üldiduarv
Lõssipulber	Bakterite üldiduarv

Tagavarad ja materjalid

Toode	Analüüsi maht
Pärgament	Hallitusseente eostega saastatus
Liim	Väline vaatlus luubi all

Sanitaar-hügieeniline kontroll

Analüüsi objekt	Proovi võtmine	Analüüsi maht
Võimasinad	Tampooniga (saastumisohtlikud kohad)	Kolibakterite käärimisproov
Vannid	„	„
Pastörisaatorid, jahutid, torustik	„	„
Piimakannud ja -nõud	„	„
Tööliste käed	Proov võetakse töö ajal steriilse märja vatt-tampooniga mõlemalt peopesalt; tampoon asetatakse Kessleri söötmesse	Kolibakterite käärimisproov
Vesi	Veeallikast Vee analüüs enne ja pärast kloorimist	Bakterite üldiduarv; kolibakterite käärimisproov; fluorestseeruvate bakterite esinemine
Ruumide õhk tööstuses (võitsehh ja võihoiuruum)	Õllevirdeagariga Petri tassid avatakse töö ajal 5 minutiks	Hallitusseente arv
Tööstuse kõikide tsehhide, valmistoodanguladude, tagavara- ja materjaliladude, veeallika ja territooriumi sanitaar-hügieeniline olukord	Kohalesõidu esimesel päeval	Hinne kinnitatud skeemi kohaselt

Piima vastuvõtupunktide ja koorejaamade kontroll

(igal väljasõidul kontrollitakse 1 või 2 piima vastuvõtupunkti või koorejaama).

1. Ruumide ja veeallika sanitaarse olukorra kontroll; vaadatakse ka vett basseinides.
2. Seadmete ja nõude puhtuse kontroll.
3. Tooraine kontroll: piima puhtuseproov ja reduktaasproov; koore reduktaasproov.
4. Isiklik hügieen.

Kontrollimistulemuste kokkuvõte

Üksikute tööstuste mikrobioloogilise kontrolli materjalid paigutatakse kogu aasta jooksul kontrolliobjektide järgi tabelisse järgmise vormi kohaselt.

Toorpiim ja koor

Tööstus	Toode	Proovide arv reduktaasklaaside järgi			
		I	II	III	IV
	Piim Koor				

Pastöriseeritud koor

Tööstus	Bakterite arv 1 ml-s koores				Kolibakterite käärimisproov
	kuni 100	100—1000	1000—5000	üle 5000	

Või

Tööstus	Bakterite üldiduarv	Proteolüütilis-te bakterite arv	Hallitus- ja pärmseente arv	Kolibakterite käärimisproov

Juust

Tööstus	Võihappebatsillide arv	Kolibakterite käärimisproov

Kondenseeritud lõss ja lõssipulber

Tööstus	Bakterite üldiduarv

Keefir ja hapupiim

Tööstus	Mikroskoopiline preparaat	Kolibakterite käärimisproov

Kohupiim ja juustukeste mass

Tööstus	Kolibakterite käärimisproov

Jäätis

Tööstus	Bakterite üldiduarv	Kolibakterite käärimisproov

Laapferment ja pepsiin

Tööstus	Bakterite üldiduarv	
	Laapferment	Pepsiin

Pärgament ja liim

Tööstus	Pärgament	Liim
	Hallitusseente eostega saastatus	Hallitusseente esinemine

Vesi

Tööstus	Bakterite üldiduarv	Kolibakterite tiiter	Fluorestseeruvate bakterite esinemine

Sanitaar-hügieeniline kontroll

a. Aparaatide ja nõude puhtus

Kontrollitav objekt	Kolibakterite käärimisproov
Piimakannud ja -nõud Vannid Pastörisaatorid, jahutid, torustik Võimasinad	

b. Käte puhtus
c. Ruumide õhk tööstuses
d. Tööstuse sanitaar-hügieeniline olukord

Piima vastuvõtu punktide ja koorejaamade olukord.

Kontroll-tootmislaboratooriumi mikrobioloogilise osakonna aastaaruande vorm

Mikrobioloogilise osakonna aastaaruanne koostatakse järgmise vormi kohaselt.

Vorm nr. 1

Tööstuste või mikrofloora iseloomustus kontrollanalüüside põhjal

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Tööstus	Aastas tehtud proovide arv	Või liik	Vanus päevades	Hinne üleandmisel (pallides)	Bakterite üldiduarv	Proteolüütiliste bakterite arv	Hallitusseente arv	Kolibakterite käärimisproov

Vorm nr. 2

Juustu mikrofloora iseloomustus kontrollanalüüside põhjal

Jrk. nr.	Tööstus	Aastas tehtud proovide arv	Juustu liik	Juustu vanus kuudes	Hinne üleandmisel (pallides)	Võihappebatsillide arv	Kolibakterite käärimisproov

Vorm nr. 3

Kondenseeritud lõss ja lõssipulber

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Tööstus	Aastas tehtud proovide arv	Kondenseeritud lõss		Lõssipulber	
				sort	bakterite üldiduarv	sort	bakterite üldiduarv

Vorm nr. 4

Juuretis

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Tööstus	Aastas tehtud proovide arv	Organoleptiline hinne	Mikroskoopiline preparaat	Kolibakterite käärimisproov

Vorm nr. 5

Toidukaseiin

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Tööstus	Aastas tehtud proovide arv	Kolibakterite käärimisproov

Vorm nr. 6

Vesi

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Tööstus	Bakterite üldiduarv	Kolibakterite käärimisproov	Fluorestseeruvate bakterite arv

Vorm nr. 7

Pärgament ja liim

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Pärgament	Liim
		hallitusseente eoste arv	hallitusseente esinemine (vaatlus luubiga)

Vorm nr. 8

Laapferment ja pepsiin

Jrk. nr.	Analüüsi kuupäev	Bakterite üldiduarv	
		laapferment	pepsiin

Vorm nr. 9

Jäätis, keefir ja hapupiim

Tööstus	Jäätis		Keefir		Hapupiim	
	bakterite üldiduarv	kolibakterite tiiter	mikroskoopiline preparaat	kolibakterite tiiter	mikroskoopiline preparaat	kolibakterite käärimisproov

Vorm nr. 10

Kohupiim ja juustukeste mass

Tööstus	Kolibakterite käärimisproov

Või- ja juustutööstuste sanitaarne hindamine
(välja töötatud ВНИИМС-is)

Või- ja juustutööstused peavad sanitaarsel hindamisel vastama teatud nõuetele.

Tööstuse territoorium ja ruumid. Tööstuse territooriumil tuleb vaadata õue puhtust, prügikastide puhastamist, käimlate puhtust, haljastust ja tarastatust.

Tootmisruumid, sealhulgas juustukeldrid ja võilaod, peavad olema puhtad ja tähtajaliselt lubjatud. Ei tohi esineda hallitust, ämblikuvõrke ega kärbseid. Põrandad, uksed, aknad ja seinad peavad olema puhtad. Kanalisatsioon peab olema korras ja puhas. Tootmisruumides ei tohi olla kõrvalisi asju ega liigset inventari.

Materjalilaod peavad olema puhtad, materjalid asetsema riiulitel.

Seadmed, nõud, inventar. Seadmeid, nõusid ja inventari tuleb hoida puhtalt. Täita separaatorite, pastörisaatorite, piimatorustiku, vannide, võimasinate, juusturiiulite jne. pesemise eeskirju. Seadmeid desinfitseerida ja steriliseerida kloorimise või aurutamisega. Inventari, nõude jne. kuivatamiseks peavad olema riiulid.

Isiklik hügieen. Töötajate isikliku hügieeni nõuete täitmisel tuleb kinni pidada käte ja riiete puhtusest. Kord kuus käia meditsiinilisel läbivaatusel.

Sanitaarriietus (kitlid, rätid, peakatted) peavad olema puhtad. Igal töötajal peab olema vähemalt kaks komplekti sanitaarriietust.

Nõutav on kraanikausside, käterättide, seebi, harjade, kloorlubjalahuse olemasolu tsehhi ruumides. Tsehhis võib viibida ainult kitlites.

T ö ö s t u s e v e s i v a r u s t u s. Sanitaareeskirjadest kinnipidamisega kindlustatakse tööstusele heakvaliteediline vesi. Heas sanitaarses korras peavad olema ka veevõtukohad ja veehoiupaagid. Halvakvaliteedilist vett tuleb kloorida.

Või- ja juustutööstuste sanitaarse olukorra hindamise skeem

Hinne	Näitajad
Hea	Kõikide sanitaarnõuete täitmine vastavalt või- ja juustutööstuste sanitaareeskirjadele
Rahuldav	Territooriumil, ladudes ja tootmisruumides esineb mitteolulisi sanitaareeskirjade rikkumisi: ebapiisav riiulite arv, töötajate ebaregulaarne meditsiiniline järelevaatus; rahuldava hinde korral peavad seadmed, aparaadid ja inventar heas sanitaarses seisukorras olema.
Halb	Seadmete, aparatuuri ja inventari halb sanitaarne olukord. Tsehhides ja juustukeldrites esineb hallitust ja mustust. Kõikides eespool loetletud punktides esineb sanitaarnõuete jämedat rikkumist.

Märkused. 1. Tsehhide sanitaarset olukorda võib hinnata antud skeemi järgi, ilma et arvestataks territooriumi ja ladude olukorda, mis asetsevad väljaspool tööstust.

2. Piima vastuvõtupunktide ja koorejaamade sanitaarset olukorda hinnatakse sama skeemi järgi.

Allpool on toodud akti vorm, mis koostatakse tööstuse sanitaarse olukorra hindamisel.

A K T

..... kombinaadi, tsehhi, alltööstuse, koorejaama, piima vastuvõtu punkti sanitaarse olukorra kohta

..... 19... a.

Hindas komisjon koosseisus .....

.....

.....

Sanitaarne olukord hinnati: hea, rahuldav, halb (mitte vajalik läbi kriipsutada).

Peamised puudused:

.....

.....

Ettepanekud:

.....

Allkirjad:

Lisa 1

TÄIENDAVAID NÄPUNÄITEID

Klaasitindi valmistamine:

a) 2,5 g šellakit lahustatakse 20 g piirituses ja valatakse aeglaselt lahusesse, mis koosneb 4,5 g booraksist ja 30 g destilleeritud veest; lisatakse 0,1 g mingisugust aniliinvärvi;

b) 1 osa tanniini, 1 osa vett. Tanniin lahustatakse vees. Kuumutatakse ettevaatlikult, kuni tekib siirupitaoline mass. Lisatakse kuni 4 osa värvipiirituse lahust (üheks ühikuks võetakse vee maht).

Klaasipliiatsi valmistamine:

a) nõrgal tulel sulatatakse 3 osa vaha, 1 osa searasva ja 2 osa tärpentini; lisatakse segades 1 osa värvi;

b) 3 osa vaha ja 1 osa loomarasva sulatatakse ja lisatakse värv. Segu valatakse paberist torudesse.

Pliiatsite valmistamiseks võib kasutada ükskõik millist rasvas lahustuvat värvi (indigo, sudaan III, sarlakpunane jt.).

Etikettide liim.

100 ml vett kuumutatakse peaaegu keemiseni ja lisatakse segades 100 g dekstriini. Filtreeritakse läbi riide.

Plaatinatraadi asendamine mikrobioloogilisteks töödeks.

Plaatinatraadi asemel võib kasutada nikkeltraati või elektripirni hõõgniiti hoidvat traati (sobivamad on 50—100-vatised pirnid).

Plekkide eemaldamine kätelt:

a) aniliinvärvid eemaldatakse 70%-lise piirituslahusega, millele on lisatud 0,1% soolhapet;

b) metüleensinise ja karboolfuksiini plekke on kõige parem eemaldada seebipiiritusega;

c) joodiplekke eemaldatakse hüposulfiti kange lahusega või nuuskpiiritusega;

d) hõbenitraadi plekke pleegitatakse algul joodilahusega, seejärel hüposulfiti kange lahusega;

e) kaaliumpermanganaati eemaldatakse oblikhappelahusega.

Reaktiiviplekkide eemaldamine riietelt. Reaktiivi sattumisel riidele tuleb antud kohta kohe märja käterätikuga hõõruda, seejärel niisutada happeplekke nuuskpiirituse lahusega ja leeliseplekke nõrga happelahusega, näiteks äädikhappelahusega.

Põletusevastane vahend. Põletusevastaste vahenditena kasutatakse linaseemne- või mõnda muud õli võrdses koguses lubjaveega (lubjavesi valmistatakse vahetult enne kasutamist), söögisoodat, kaaliumpermanganaadi küllastatud lahust.

Põletust tekitava reaktiivi nahale sattumisel tuleb reaktiiv kohe veega maha pesta. Kange väävelhappe korral tuleb pärast pesemist nahka määrida 3%-lise söögisoodalahusega. Kange leelise nahale sattumisel tuleb pesta veega seni, kuni nahk pole käega katsudes enam libe. Pärast pesemist määritakse nahka nõrga happelahusega (äädikhappega).

Lisa 2

KONTROLL-TOOTMIS- JA TÖÖSTUSE LABORATOORIUMI MIKROBIOLOOGIAOSAKONNA SEADMETE LOETELU

1.	Laud mikrobioloogilisteks töödeks	1
2.	Laboratooriumilaud	1
3.	Mikroskopeerimislaud	1
4.	Külvilaud	1
5.	Pesulaud	1
6.	Tiitrimisriiul	1
7.	Nõudekuivatusrest	1
8.	Taburetid	4
9.	Nõudepesuvann	1
10.	Reaktiivide, söötmete ja nõude kapp	1
11.	Autoklaav (kuni 3 at)	1
12.	Kuivõhksterilisaator	1
13.	Bioloogiline mikroskoop suurendusega 1350 korda	1
14.	Termostaadid, 30—37°C ja 43°-ni (elektrivoolul töötavad)	3
15.	Tehno-keemilised kaalud koos kaaluvihtidega	1
16.	Tehnilised kaalud	1
17.	0,37—0,40 mm jämedune plaatinatraat	2 tükki
18.	Petri tassid läbimõõduga 10 cm	300
19.	Nõelahoidikud	2
20.	Esemeklaasid	100
21.	Katteklaasid	50
22.	Randita katseklaasid, 16×1,5 cm	500
23.	Randita katseklaasid, 18×2,0 cm	500
24.	Pipetid, 1 ml (laiendita)	200
25.	Pipetid, 5 ml	10
26.	Pipetid, 10 ml	10
27.	Lamedapõhjalised ümarkolvid, 100 ml	10
28.	Lamedapõhjalised ümarkolvid, 250 ml	20
29.	Lamedapõhjalised ümarkolvid, 500 ml	10
30.	Lamedapõhjalised ümarkolvid, 1000 ml	5
31.	Lamedapõhjalised ümarkolvid, 3000 ml	5
32.	Lamedapõhjalised ümarkolvid, 5000 ml	3
33.	Erlenmeyeri koonilised kolvid, 100 ml	10
34.	Erlenmeyeri koonilised kolvid, 250 ml	10
35.	Büretid, jaotusega 0,1 ml, 50 ml	4
36.	Keemilised keedu-klaasid, 250 ml	10
37.	Keemilised keedu-klaasid, 300 ml	10
38.	Keemilised keedu-klaasid, 500 ml	5
39.	Mõõtesilindrid, 100 ml	2
40.	Mõõtesilindrid, 250 ml	2
41.	Mõõtesilindrid, 500 ml	2
42.	Mõõtesilindrid, 1000 ml	2
43.	Klaaskorgiga tilgutid	6
44.	Termomeetrid, 60—70°C	2
45.	Termomeetrid, 100°C	5
46.	Termomeetrid, 200°C	2
47.	Uuriklaasid, paaris, 6 cm	5
48.	Portselanuhmrid, 6 cm	2

49.	Pintsetid preparaadi hoidmiseks	2
50.	Luubid	2
51.	Piirituslambid	2
52.	Väikesed klaaslehtrid	3
53.	Keskmised klaaslehtrid	3
54.	Liebigi jahutid	2
55.	Pudel seedriõli jaoks	1
56.	Büksid	10
57.	Areomeetrid	2
58.	Reaktiivipudelid, 100 ml	5
59.	Reaktiivipudelid, 250 ml	5
60.	Reaktiivipudelid, 500 ml	2
61.	Söötmete keetmise kastrulid, 3000 ml	3
62.	Roostevabast plekist või traadist korvid nõude steriliseerimiseks	5
63.	Sinised ja punased klaasipliiatsid	2 karpi
64.	Puust statiiv	2 tükki
65.	Puust statiiv katseklaaside jaoks, 24 kohaga	4
66.	Filterpaber	2 kg
67.	Neutraalne lakmuspaber	2 karpi
68.	Emaileeritud kruusid, jaotustega, 1000 ml	1 tk.
69.	Kergesti sulavad klaastorud, mitmesuguse läbimõõduga	1 kg
70.	Punasest kummist torud, mitmesuguse läbimõõduga	1 kg
71.	Mitmesuguse suurusega kummikorgid	100 tükki
72.	Mitmesuguse suurusega korgipuukorgid	100 tükki
73.	Kolmetahuline viil	1
74.	Käärid	1
75.	6 pesaga korgipuur	1
76.	Harjad katseklaaside pesemiseks	3
77.	Harjad kolbide pesemiseks	3
78.	Priimus	1
79.	Elektripliidid	2
80.	Asbestrõngaga metallvõrgud	4
81.	Hügroskoopiline vatt	2 kg
82.	Vatt	5 kg
83.	Valged kitlid	4 tk.
84.	Kummipõlled	1
85.	Majapidamisseep	2 kg
86.	Petrooleumilamp	1 tk.
87.	Käterätid	6
88.	Marli	10 m
89.	Tehniline sooda	5 kg
90.	Kriit	500 g
91.	Petrooleum	10 l

Värvid ja reaktiivid

92.	Metüleensinine (pulber)	g 10
93.	Gentsiaanviolett	10
94.	Broomtümoolsinine	10
95.	Glükoos	100
96.	Laktoos	100
97.	Maltoos	100
98.	Sahharoos	100
99.	Manniit	100
100.	Naatriumkloriid	100
101.	Pesusooda	500
102.	Naatriumhüdroksiid	500
103.	Piimhape	250
104.	Väävelhape	500
105.	Kaaliumjodiid	50
106.	Naatriumatsetaat	200
107.	Hüdroksüülammooniumkloriid	200
108.	Nikkelkloriid	200
109.	Naatriumdifosfaat	50
110.	Kaaliumfosfaat	50
111.	Kaaliumtsitraat	50
112.	Metalne naatrium	50
113.	Lakmus	10
114.	Magneesiumsulfaat	50
115.	Fenoolftaleiin	10
116.	Kristalne jood	10
117.	Seedriõli	50
118.	Agar-agar	1000
119.	Pankreatiin	100
120.	Kaltsiumtsitraat	1000
121.	Piiritus, rektifikaat	2 l
122.	Denatureeritud piiritus	5 l

KASUTATUD KIRJANDUS

Аристовская Т. В. и др. Большой практикум по микробиологии. Издательство «Высшая школа», 1962.

Пожарисская Л. С., Коган М. Б., Рындина В. П., Фрейдлин Е. М. Физикохимический и бактериологический контроль в мясной промышленности. Изд-во «Пищевая промышленность», 1964.

Разумовская З. Г., Лойцянская М. С., Чижик Г. Я., Митюшова Н. М. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии. Изд-во Ленинградского университета, 1955.

Скородумова А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. Издательство «Пищевая промышленность», 1963.

Под редакцией проф. Захарьевского А. Н. Вопросы микроскопии. Государственное научно-техническое издательство машиностроительной литературы. М.-Л., 1956.

SISUKORD

Eessõna 3

ÜLDOSA

I peatükk. **Mikrobioloogialaboratooriumi organiseerimine ja sisustamine** .. 5
Laboratooriumi ehitus 5
Laboratooriumi sisustus 6
Termostaadid 6
Steriliseerimisaparaadid 8
Mikroskoobid 11
Nõud ja inventar 23
II peatükk. **Söötmed, värvid ja indikaatorid** 29
Söötme reaktsiooni määramine 29
Põhisöötmete valmistamine 37
Vedelsöötmed 37
Tardsöötmed 39
Valiksöötmete valmistamine 41
Söötmed mikroobide proteolüütiliste omaduste määramiseks 41
Söötmed süsivesikute kääritamise ja redutseerimise võime määramiseks .. 41
Sööde mikroobide lipolüütiliste omaduste määramiseks 42
Söötmed kolirühma bakterite määramiseks 42
Söötmed aroomibakterite eraldamiseks 43
Söötmed *Str. lactis*'e ja *Str. cremoris*'e diferentseerimiseks 44
Kuivsöötmed 44
Kasutatavamate värvide ja indikaatorite valmistamine 45
Värvid 45
Indikaatorid 46
III peatükk. **Mikroobide omaduste uurimine** 47
Mikroskoopiliste preparaatide valmistamine 47
Värvimata preparaadid 47
Värvitud preparaadid 48
Mikroskopeerimine 50
Mikroobide rakkude mõõtmine 52
Mikroobide omaduste kirjeldamine 53
Morfoloogilised tunnused 53
Kultuuritunnused 53
Biokeemilised tunnused 57
Mikroobide omaduste kirjeldamise lühike skeem 57
IV peatükk. **Mikroobide arvu määramise meetodid** 60
Kolonnide loendamise meetodid 60
Üksikute mikroobirühmade määramine 62

Piimhappebaktereid 62
Proteolüütilised bakterid 65
Võihappebatsillid 66
Pärm- ja hallitusseened 66
V peatükk. **Piimas ja piimatoodetes sagedamini esinevate mikroorganismide iseloomustamine** 67
Piimhappebakterid 67
Piimhappestreptokokid 67
Kepikujulised piimhappebakterid 75
Propioonhappebakterid 81
Bakterid, mis moodustavad piimas väikestes kogustes hapet 82
Kolibakterid 82
Mikrokokid 83
Mikrobakterid 86
Bifidobakterid 86
Bakterid, mis ei moodusta piimas hapet 87
Bacterium vulgare 87
Fluorestseeruvad bakterid 87
Bacterium linens 87
Äädikhappebakterid 88
Aeroobsed eostega kepid 89
Võihappebatsillid 91
Anaeroobsed roisubakterid 91
Pärmseened 91
Hallitusseened 94
Piimatoodetes sagedamini esinevaid hallitusseeni 95
Hallitusseente määraja (Gilmeni järgi) 104

ERIOSA

VI peatükk. **Piima kvaliteedi kontrollimise meetodid** 112
Piima puhtuse määramine 112
Reduktaasproov 113
Resasuriinproov 115
Nitraat-reduktaasproov 117
Käärimisproov 117
Reduktaas-käärimisproov 118
Piima kõlblikkuse määramine juuretiste valmistamiseks 118
Piima hügieeniline hindamine 118
VII peatükk. **Piima ja piimatoodete mikrobioloogiline uurimine** 121
Proovide võtmine ja analüüsiks ettevalmistamine 121
Uurimismeetodid 124
Bakterite üldiduarvu määramine 124
Kolibakterite määramine 129
VIII peatükk. **Tehniliselt tähtsa mikrofloora kontroll** 138
Piimhappebakterite arengu kontrollimine 139
Juuretisepiima pastöriseerimise efektiivsuse kontrollimine 140
Piimhappestreptokokkide juuretise puhtuse kontrollimine 141
Termoresistentsete piimhappekepikeste kindlakstegemine tehnoloogilistel seadmetel 142
Aroomimoodustajate bakterite määramine juuretises 143
Pärmseente määramine toodetes ja seadmetel 145
Äädikhappebakterite määramine 146
Võihappebatsillide määramine 147
IX peatükk. **Bakteriofaagide ja antibiootikumide määramine piimas** 149
Bakteriofaagide määramine 149
Proovide ettevalmistamine 151
Filtraadi saamine 152
Bakteriofaagi kvalitatiivne määramine toodetes 153
Bakteriofaagi määramine õhus 155
Antibiootikumide määramine 155

Otsene mikroskopeerimismeetod 156
Antibiootikumide määramine indikaatorite abil 156
X peatükk. **Tootmise mikrobioloogiline kontroll** 158
Aparaadid ja seadmed 159
Nõud ja inventar 160
Töötajate isiklik hügieen 162
Vesi 162
Veeproovi võtmine 162
Uurimismeetodid 163
Tootmises kasutatavad materjalid 164
Tootmis- ja laoruumide õhk 165
Kontrollimistulemuste dokumentatsioon 169
XI peatükk. **Mikrobioloogiline kontroll piimatööstusettevõtetes** 171
Kontroll allettevõtetes 171
Juuretiste kvaliteedi kontrollimine 172
Kontroll täispiimatööstustes 172
Laekuva piima kontrollimine 172
Tehnoloogiliste protsesside kontrollimine 181
Kontroll võitööstustes 184
Kontroll piimakonservitööstustes 186
Kontroll juustutööstustes 195
Kontrollimistulemuste dokumentatsioon 195
Signaaldokumentatsioon 198
XII peatükk. **Kontroll-tootmislaboratooriumi poolt tehtav mikrobioloogiline kontroll** 199
Laboratooriumi mikrobioloogilise osakonna näidistööskeem ühe aasta kohta 199
Tootmise kontroll 199
Lattu laekuva valmistoodangu kontroll 199
Tootmises kasutatavate materjalide kontroll 199
Mikrobioloogilise analüüsi skeem või- ja juustutööstustes 200
Või tootmise tehnoloogilise protsessi kontroll 200
Juustu tootmise tehnoloogilise protsessi kontroll 200
Kõrvaltoodangu kontroll 201
Tagavarad ja materjalid 201
Sanitaar-hügieeniline kontroll 201
Kontrollimistulemuste kokkuvõte 202
Kontroll-tootmislaboratooriumi mikrobioloogilise osakonna aastaaruande vorm 204
Või- ja juustutööstuste sanitaarne hindamine 206
Lisa 1 208
Lisa 2 210
Kasutatud kirjandus 212

Вячеслав Богданов, Наталья Королева, Людмила Банникова.
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

На эстонском языке. Перевели с русского В. Стумбур и К. Тюрк.
Художественное оформление Т. Ару.
Издательство «Валгус», Таллин, Пярнуское шоссе, 10.

Toimetaja A. Kalm. Kunstiline toimetaja R. Tungla. Tehniline toimetaja T. Linkvist. Korrektorid E. Kask ja M. Sepp.

Laduda antud 7 .VI 1972. Trükkida antud 19. XII 1972. Kohila Paberivabriku trükipaber nr. 2, 60×90/16. Trükipoognaid 13,5. Arvestuspoognaid 14,33. Trükiarv 1500. Tellimuse nr. 1464. Trükikoda «Ühiselu», Tallinn, Pikk t. 40/42. Hind 50 kop.

50 kop.

A
32954
81 305

TÜ RAAMATUKOGU
1 0300 00381030 8