بيئات الزرع
Culture media

- تعرف بيئات تنمية الميكروبات على أنها أى مادة مغذية سائلة او صلبة يمكن ان تستخدم معملياً لتنمية الكائنات الحية الدقيقة.

وبيئات الزرع عادة ما تتشابه فى تركيبها مع البيئات التى تنمو عليها الكائنات الحية الدقيقة طبيعياً (مثل سيرم الدم للميكروبات الممرضة للحيوانات و اللبن للميكروبات التى تعيش طبيعيا فى اللبن).

- وأياً كانت البيئة فإنها يجب أن تحتوى على كل المواد الغذائية اللازمة لنمو الميكروبات والتى تختلف على أساس الميكروب المراد تنميته. إلا ان كل البيئات تشترك فى أنها يجب أن تحتوى على المكونات التالية:

١- المـــــــاء water :

- وظائفه فى البيئة:

- ❖ إذابة باقى مكونات البيئة.
- ❖ يجب أن يكون ماء مقطر وذلك لأن الماء العادى يحتوى على أملاح الكالسيوم والماغنسيوم التى إذا ما وجدت فإنها تتفاعل مع الفوسفات الموجود فى البيتون أو مستخلص اللحم ويتكون أملاح فوسفات الكالسيوم و الماغنسيوم والتى تكون غير ذائبة وأيضاً تسبب إعاقة لنمو الكائنات الحية الدقيقة .

٢- مصدر النيتروجين Nitrogen source :

- (مصادر عضوية : مثل البيتون أوالبروتينات أو الأحماض الأمينية) .
- (مصادر غير عضوية : مثل الأملاح المعدنية المحتوية على النيتروجين) .
- فى معظم الحالات يفضل إستخدام البيتون (وهو عبارة عن ناتج وسطى من التحلل الإنزيمى للبروتينات).
- وظائف البيتون فى البيئة:

- ❖ يعتبر مصدر للنيتروجين.
- ❖ يعمل كعامال منظم للبيئة لإحتوائه على الأحماض الأمينية والتى لها تأثير أمفوتيرى حيث تساعد على ضبط pH الوسط .

٣- مصدر الطاقة أو (مصدر الكربون) Energy sources or Carbon source :

- (من أمثلتها المواد الكربوهيدراتية والبيتيدات والأحماض الأمينية والبروتينات) وعادة ما يفضل إستخدام المواد الكربوهيدراتية لسهولة تمثيلها غذائيا بواسطة الميكروبات ومن أشهر الكربوهيدرات المستخدمة لهذا الغرض هو الجلوكوز (الدكستروز).

٤- مصدر لعوامل النمو Accessory growth factors :

- (وهى تشمل أى مصدر يحتوى على الفيتامينات والأملاح المعدنية التى قد تلزم لنمو أجناس بعينها من الميكروبات) ومن أشهر مصادر عوامل النمو مستخلص اللحم beef extract ومستخلص الخميرة yeast extract .

٥- المواد التصلبية solidifying agents :

- وهى تضاف للبيئات السائلة لتغيير قوامها إلى القوام الصلب أو نصف الصلب و تستخدم فى حالة البيئات الصلبة القابلة للإسالة فقط .

- ومن أمثلتها (الجيلاتين والآجار).

أ- الجيلاتين Gelatin:

- الجيلاتين عبارة عن بروتين يضاف للبيئة بتركيز ١٠-١٢ % من حجم البيئة السائلة .
- ينصهر عند ٢٥-٣٠ درجة مئوى ويتصلب تحت حرارة ٢٥ درجة مئوى.
- إذا سخن إلى ١٠٠ درجة أو اعلى فإنه ينصهر ويفقد قدرته على التصلب.

ب- الأجار Agar agar :

- عبارة عن مادة كربوهيدراتية تضاف بتركيزات ١.٥-٢ % (وزن / حجم) إلى البيئة السائلة .
- يكون سائلا عند ٩٨ درجة مئوى ويتصلب على ٤٢-٤٥ درجة.

تحضير البيئات

أولا : تحضير بيئات النمو من بيئات سابقة التحضير او مجففة :

- عادة فان تحضير مثل هذه البيئات يتطلب الدقة والانتباه اثناء عمليات التجهيز ، وفيما يلي بعض الملاحظات للمساعدة في تحضير البيئات بطريقة صحيحة ودقيقة :

أ) بالنسبة للبيئات المجففة و المكونات الاخرى :

١- يفضل ان يتم حفظها في مكان رطب على درجة حرارة حوالي ١٥ ــ ٣٠ ° م ومظلم وجاف ، الا اذا تم ذكر غير ذلك .

٢- ملاحظة تاريخ فتح العبوة واستخدامها .

٣- التأكد من تاريخ الصلاحية وسلامة العبوة .

٤- التأكد من سلامة المادة الكجففة ومطابقتها للمواصفات .

ب) المعدات و الأدوات المستخدمة :

- مراعاة استخدام الأدوات الملائمة من ادوات قياس واجهزة تقدير حموضة والاوتوكلاف وايضا استخدامها بدقة وحرص .

ج) الماء :

- يفضل استخدام الماء المقطر او الماء الخالي من الايونات ، ويكون ليه رقم حموضة يتراوح ما بين ٥,٥ ــ ٧,٥ .

د) عملية اذابة البيئات المجففة :

١- لابد من مراعاه الدقة في عملية وزن الكمية المطلوبة من البيئة المجففة .

٢- لابد من التأكد من تمام الذوبان مع الرج اثناء عملية الذوبان لتمام الاذابة .

٣- تجنب استخدام الحرارة الزائدة ، حيث ان بعض البيئات المستخدمة تكون حساسة جدا للحرارة وقد يؤدي ايضا الى اغمقاق لونها ، ويجب تجنب استخدام الميكروويف في عملية التسخين .

هـ) عملية التعقيم :

١- يجب الا تزيد درجة حرارة الاوتوكلاف عن ١٢١ ° م .

٢- التأكد من سلامة ودقة عمل الاوتوكلاف وعمل الصيانة الدورية له للتأكد من صحة عمله .

٣- المدة الزمنية لعملية التعقيم التي تم تحديدها بحوالي ١٥ دقيقة هي محسوبة لحجم واحد لتر فقط ، وفي حالة اجراء التعقيم لكميات أكبر لابد من مراعاة اطاله عملية التعقيم ، مع مراعاة انه قد يحدث نتيجى لاطاله عملية التعقيم تغير في تركيزات المغذيات الموجودة في البيئة او قد تؤدي الى تكوين مواد اخرى مثبطة للنمو .

و) اضافة المغذيات و المواد المساعدة :

١- عادة هذه المواد تكون حساسة للحرارة ، فيجب مراعاة ذلك عند اجراء اي معاملة حرارية .

٢- لابد من اجراء تبريد للبيئة الى درجة حرارة ٤٥ ــ ٥٥ ° في حمام مائي قبل اضافة هذه المواد الى البيئات .

٣- التأكد من تمام ذوبان هذه المواد مع البيئة وتمام تجانسهم مع بعض .

ز) رقم الحموضة pH :

١- عادة فان البيئات المجففة تكون مجهزة بحيث ينخفض رقم حموضتها بعد عملية التعقيم بحوالي ٠,٢ .

٢- لكن عند استخدام المرشحات في عملية التعقيم فلابد من اجراء تعديل للحموضة بعد عملية التعقيم ، وفي بعض الاحيان يتم تعديل الحموضة قبل عملية التعقيم .

٣- مراعاة الدقة عند ضبط pH .

ح) عملية توزيع البيئات للاستخدام :

١- مراعاة التأكد من الخلط الجيد اثناء عملية التوزيع .

٢- التأكد من تبريد البيئة ووصول درجة الحرارة الى ٥٠ ــ ٥٥ ° م قبل اجراء عملية التوزيع لتقليل معدل تبخر الماء .

٣- اجراء خطوة التوزيع بسرعة .

٤- بعد اجراء عملية التوزيع لابد من سرعة تغطية العبوة الموجودة فيها البيئة والانابيب ايضا التي تم نقل البيئة اليها بهدف تقليل احتمالية تعرضها للتلوث .

ي) التخزين ومدة الصلاحية :

- بصفة عامة يتم تخزين البيئات المعقمة بعد توزيعها في أطباق بتري في صورة مقلوبة مع وضعها في عبوة بلاستيكية او اي عبوة اخرى وتخزينها في الثلاجة في الظلام لمدة تصل الى ١ ــ ٢ اسبوع .