

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. АЛЬ-ФАРАБИ
ФАКУЛЬТЕТ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
КАФЕДРА БИОТЕХНОЛОГИИ

Лекция 9. Краткий конспект

Тема: Питательные среды для культивирования микроорганизмов

Цель: ознакомить с видами, составом, требованиями и применением питательных сред в микробиологии и биотехнологии, научить правильному выбору и использованию среды для выделения и идентификации микроорганизмов.

Основные вопросы:

- Определение и назначение питательных сред
- Основные требования к питательным средам
- Компоненты питательных сред
- Классификация питательных сред
- Индикаторы pH и их применение
- Выбор среды

Краткие тезисы:

Питательные среды нужны для выращивания микроорганизмов.

Выбор среды зависит от потребностей микроорганизмов.

Основные требования: питательность, изотоничность, оптимальный pH и окислительно-восстановительный потенциал, прозрачность, стерильность.

Состав: макро- и микроэлементы, углеродные и азотные источники.

Классификация: жидкие, полужидкие, плотные; основные, обогащённые, селективные, дифференциально-диагностические, специальные; натуральные, синтетические, полусинтетические.

Индикаторы pH: феноловый красный, бромтимоловый синий, метиловый красный, лакмус.

Специфические среды позволяют выделять и идентифицировать микроорганизмы.

Выбор среды зависит от целей исследования, биохимических свойств микроорганизмов, необходимости подавления сопутствующей микрофлоры и условий культивирования.

Правильный подбор среды обеспечивает достоверность результатов, скорость роста и точность диагностики.

Хромогенные и селективно-диагностические среды ускоряют идентификацию возбудителей.

Питательные среды - это специальные жидкые или плотные субстраты, предназначенные для выращивания микроорганизмов в лабораторных и промышленных условиях.

На них культивируют бактерии, дрожжи, микроскопические грибы, водоросли, простейших, а также клеточные культуры растений и животных.

Каждый вид микроорганизмов имеет определённые потребности в питательных веществах и условиях окружающей среды, поэтому выбор и состав питательной среды имеет решающее значение для успешного роста культуры.

Один из важнейших инструментов микробиологии - чашка Петри, изобретённая немецким бактериологом Юлиусом Рихардом Петри в 1877 году, ассистентом Роберта Коха.

Чашка Петри представляет собой прозрачную посуду из стекла или пластмассы (чаще прозрачного полистирола), диаметр которой обычно составляет 50-100 мм, а высота - около 15 мм.

На её дне располагается слой плотной питательной среды, на котором можно наблюдать рост колоний микроорганизмов.

Основные требования к питательным средам

1. Питательность.

Среда должна содержать все необходимые компоненты: источник углерода, азота, минералы, витамины и ростовые факторы.

2. Изотоничность.

Поддержание осмотического давления обеспечивает нормальное функционирование клеток. Для этого добавляют оптимальные концентрации солей, в частности NaCl.

3. Оптимальный pH.

Кислотность среды обеспечивает активность ферментов.

Для большинства бактерий оптимальный pH составляет 7,2-7,6, для грибов - 5,0-6,0.

4. Оптимальный окислительно-восстановительный потенциал.

Он отражает наличие растворённого кислорода. У аэробов должен быть высоким, у анаэробов - низким.

5. Прозрачность.

Особенно важна для жидких сред, чтобы визуально наблюдать рост.

6. Стерильность.

Необходимо исключить присутствие посторонней микрофлоры, иначе результаты эксперимента будут искажены.

Компоненты питательных сред

Питательные среды включают:

- Основные биоэлементы: углерод, водород, кислород, азот, фосфор, сера.
- Минеральные элементы: калий, кальций, магний, натрий, железо.

- Микроэлементы: марганец, цинк, медь, бор, молибден, никель, селен.

Источником углерода обычно служат глюкоза, глицерин, крахмал или органические кислоты.

Азот поступает в виде пептонов, белков, солей аммония или нитратов.

Классификация питательных сред

1. По консистенции

- Жидкие среды - не содержат агар; используются для наращивания биомассы, изучения ферментативной активности (например, мясо-пептонный бульон).
- Полужидкие среды - содержат 0,2-0,5% агара; применяются для определения подвижности бактерий.
- Плотные среды - содержат 1,5-2% агара; позволяют выделять и идентифицировать отдельные колонии.

2. По назначению

- Основные (простой состав) - универсальные, обеспечивают рост большинства микроорганизмов (МПБ, МПА).
- Обогащённые - дополнительно содержат кровь, сыворотку, витамины (например, кровяной агар, шоколадный агар).
- Селективные - способствуют росту определённых видов и подавляют другие (агар Плоскирева, висмут-сульфит агар).
- Дифференциально-диагностические - позволяют отличить виды по их биохимической активности (агар Эндо, среда Гисса).
- Специальные (индикаторные, транспортные) - применяются для специфических исследований, хранения или определения физиологических свойств.

3. По происхождению компонентов

- Натуральные (природные) - на основе природных продуктов (молоко, мясной экстракт, картофель).
- Синтетические (химически чистые) - состоят из точно известных химических веществ.
- Полусинтетические - содержат как природные, так и химически чистые компоненты.

Наиболее часто используемые индикаторы pH в питательных средах

Индикатор	Диапазон перехода цвета	Изменение цвета
Феноловый красный	pH 6,8-8,4	Желтый → Красный

Бромтимоловый синий	pH 6,0-7,6	Желтый → Синий
Метиловый красный	pH 4,4-6,2	Красный → Желтый
Лакмус	pH 4,5-8,3	Красный → Синий

Феноловый красный часто используется в среде Гисса для индикации брожения углеводов.

Агар Плоскирева

Селективная среда для выделения *Shigella* и *Salmonella*.

Готовая среда прозрачна, розовато-жёлтоватого цвета.

Относится к плотным средам для выделения чистых культур.

Содержит желчь, бриллиантовый зелёный и лактозу.

Колонии шигелл и сальмонелл - бесцветные, лактозоположительные бактерии - розовые.

Агар Эндо

Агар Эндо - слабоселективная дифференциально-диагностическая среда для выделения энтеробактерий.

Готовая среда прозрачная, бледно-розового цвета.

Относится к плотным средам для выделения чистых культур.

Содержит лактозу и фуксин, обесцвеченный сернистым натрием.

Лактозоположительные бактерии образуют тёмно-розовые колонии с металлическим блеском.

Висмут-сульфит агар

Строго селективная среда для выделения *Salmonella Typhi*.

Колонии с чёрным центром из-за образования сульфида железа.

Готовая среда непрозрачная, зеленовато-горохового цвета.

Относится к плотным средам для выделения чистых культур.

Тиогликоловая среда

Применяется для культивирования анаэробов.

Питательная среда для культивирования анаэробов.

Действующее начало - натрия тиогликолат, обладающий восстановительными свойствами.

Натрия тиогликолат восстанавливает кислород, создавая бескислородные условия.

Используется для *Clostridium*, *Bacteroides*, *Candida albicans*.

Среда Гисса

Бульонные среды с феноловым красным применяются для изучения ферментации различных углеводов с целью дифференциации чистых культур микроорганизмов.

Бульон с феноловым красным и определённым углеводом (глюкоза, лактоза и др.).

Используется для определения способности микроорганизмов к ферментации сахаров.

При образовании кислоты среда желтеет.

Среда Кесслера

Желчный агар с кристаллиолетом и нейтральным красным для выявления колиформных бактерий в воде и пищевых продуктах.

На Violet Red Bile Agar (VRBA):

E. coli образует розово-красные колонии;

Salmonella - бесцветные.

Хромогенные среды (например, CHROMagar OrientationTM)

Хромоген содержит «цветные молекулы» - хромофоры, которые высвобождаются после воздействия ферментов бактерий на субстрат и проявляют окраску, выпадая в нерастворимый осадок.

Позволяют быстро идентифицировать возбудителей инфекций мочевых путей по цвету колоний.

Выбор типа среды зависит от:

цели исследования (выделение, идентификация, количественный учёт);
биохимических особенностей микроорганизмов;
необходимости подавления сопутствующей микрофлоры;
условий культивирования (аэробные/анаэробные).

Правильный подбор и приготовление питательной среды является основой успешного выделения чистых культур и проведения микробиологических анализов.

Питательные среды — фундамент микробиологических исследований.

От их состава, качества и стерильности зависит достоверность результатов, скорость роста микроорганизмов и точность диагностики.

Современные хромогенные и селективно-диагностические среды позволяют не только выделить, но и быстро идентифицировать возбудителей заболеваний, что делает их незаменимыми в микробиологии, биотехнологии и санитарной практике.

Вопросы для контроля изучаемого материала:

1. Что такое питательная среда и для чего она используется?
2. Какие основные требования предъявляются к питательным средам?
3. Какие компоненты входят в состав питательных сред?

4. Как классифицируются среды по консистенции, назначению и происхождению компонентов?

5. Какие индикаторы pH чаще всего применяются в питательных средах и как они работают?

6. Для чего используют селективные и дифференциально-диагностические среды?

7. Приведите примеры хромогенных сред и объясните их принцип действия.

Рекомендуемый список литературных источников:

1. Чеснокова, М. Г. Биотехнологическая продукция микробного происхождения. – Омск : Изд-во ОмГТУ, 2020.
2. Артюхова, С. И. Биотехнология микроорганизмов: пробиотики, пребиотики, метабиотики. – Кемерово, 2019. – 224 с.
3. Марченко Б.И. Основы микробиологии и биотехнологии: учебное пособие. Ростов-на -Дону. – 2024. – 143 с.

СОСТАВИТЕЛЬ: к.б.н., профессор Игнатова Л.В. Алматы, 2025