



Nauka i technologia dla żywności

Projekt badawczy

Temat: Drobnoustroje wokół nas – czy naprawdę są i jak się ich pozbyć ?

Wprowadzenie:

Wszystkie związki zawarte w żywności nadają jej odpowiedni smak, zapach, barwę, i konsystencję (cechy sensoryczne), a także kształtują wartość odżywczą i dietetyczną. Składniki żywności sprawiają też, że te produkty są jednocześnie dobrą pożywką dla obecnych wokół nas drobnoustrojów (woda, gleba i powietrze). W ogromnej liczbie różnorodnych mikroorganizmów najgroźniejsze są te, które wytwarzają formy przetrwalne (np. niektóre bakterie) oraz te, które wydzielają niebezpieczne dla człowieka toksyny jak np. niektóre grzyby (mykotoksyny). Przetrwalniki (endospory) charakteryzują się dużą opornością na działanie czynników zewnętrznych: wysoką temperaturę i suszę, zamrażanie, promieniowanie a nawet na toksyczne czynniki chemiczne. Podczas, gdy komórki vegetatywne bakterii szybko giną po ogrzaniu ich do temperatury około 80 – 90°C, niektóre przetrwalniki przetrzymują dwugodzinne gotowanie, a nawet krótkie ogrzanie do temperatury powyżej 100°C. Niektóre też są przyczyną wielu groźnych chorób u ludzi, zwierząt i roślin. Szkodliwe mikroorganizmy również w surowcach i gotowych produktach wywołują wiele niekorzystnych zmian, przez co skracają ich termin przydatności do spożycia a niekiedy eliminują z dalszego przerobu oraz konsumpcji. Z tych powodów wytworzoną żywność należy zabezpieczyć, aby uniemożliwić rozwój niepożądanych mikroorganizmów. W procesach wytwórczych jest wiele sposobów konserwowania żywności. Do ważniejszych z nich zalicza się m. in. stosowanie wysokiej temperatury (pasteryzacja, sterylizacja), niskiej temperatury (chłodzenie, zamrażanie) produkowanie konserw, suszenie, marynowanie a także dodatek soli i cukru.

Cel projektu:

Celem praktycznym projektu jest poznanie zasad przygotowania szkła laboratoryjnego do wyjaławiania, ponadto, uzyskanie wiedzy o drobnoustrojach i metodach ich usuwania nie tylko z żywności. Wymiernym efektem pracy ucznia będzie przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint zatytułowanej „Usuwanie złych mikroorganizmów z żywności i otoczenia”.

PROJEKT REALIZOWANY W PARTNERSTWIE:



Cele kształcenia:

Uczeń:

- wymienia źródła zanieczyszczenia żywności,
- wymienia warunki sprzyjające rozwojowi drobnoustrojów w żywności,
- podaje przykłady pozytywnego i negatywnego oddziaływania mikroorganizmów w produkcji żywności,
- wymienia i opisuje podstawowe sposoby zabezpieczania żywności przed zepsuciem,
- charakteryzuje podstawowe metody termiczne utrwalania żywności,
- stosuje właściwy materiał biologiczny oraz przyrządy do oznaczania ilości bakterii w wybranych produktach spożywczych i mediach produkcyjnych,
- wykonuje proste badanie czystości szkła laboratoryjnego i rąk,
- analizuje i opisuje obserwowane hodowle w płytkach Petriego,
- analizuje i opisuje wpływ wybranych metod utrwalania na drobnoustroje,
- stosuje kamerę mikroskopową do rejestrowania obrazów mikroskopowych,
- analizuje i porównuje obrazy gotowych oraz wykonanych samodzielnie posiewów,
- wykonuje proste obliczenia ilości drobnoustrojów w surowcach i produktach spożywczych,
- zbiera materiały (zdjęcia) z realizacji poszczególnych zadań do przygotowywanej w PowerPoint prezentacji pt. „Usuwanie złych mikroorganizmów z żywności i otoczenia”.

Pytanie kluczowe:

Jak eliminować niebezpieczne drobnoustroje?

Usuwanie złych mikroorganizmów z żywności i otoczenia

Mikroorganizmy są wszędzie, chociaż gołym okiem ich nie widać. Są w wodzie, glebie i powietrzu. Z łatwością też, dostając się do żywności, zaznaczają swoją obecność skracając termin jej przydatności do spożycia, powodując nawet konieczność wycofania jej z obrotu handlowego. Źródłem zanieczyszczenia żywności mogą być surowce stosowane do jej wytworzenia, proces produkcji, w tym linia technologiczna, personel i pomieszczenia produkcyjne. Surowce roślinne jak warzywa, owoce i zboża, dostarczane do zakładu produkcyjnego mogą być skażone różnymi drobnoustrojami a w tej grupie - bakteriami z rodzaju *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium* *Micrococcus*, *Bacillus*, drożdżami oraz pleśniami - *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Rhizopus*.

Drobnoustroje, powodujące zepsucie mięsa i drobiu (surowce zwierzęce) to zazwyczaj *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus* oraz pleśnie: *Penicillium* i *Mucor*.

Ryby i surowce pochodzenia morskiego często zanieczyszczają *Pseudomonas*, *Achromobacter* i *Micrococcus* a wodę bakterie siarkowe, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Achromobacter*, *Vibrio* i grzyby np. *Mucor*.

Powietrze, otaczając linię produkcyjną, może stać się źródłem zanieczyszczenia produktu i swego rodzaju przenośnikiem mikroorganizmów. Najczęściej w powietrzu spotykane są ziarniaki *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, przetrwalniki bakterii (*Bacillus sp.*), zarodniki grzybów strzępkowych z rodzaju *Altenaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Mucor*, drożdże z rodzaju *Candida* a także bakterie chorobotwórcze

rozprzestrzeniające się drogą kropelkową.

Podczas zajęć uczniowie poznają różne rodzaje drobnoustrojów oraz ich rolę i znaczenie dla przemysłu. Dzięki wykorzystaniu w laboratorium kamery mikroskopowej uczniowie będą mogli zapisać obrazy wykonanych przez siebie preparatów m.in. bakteryjnych. Zarejestrowane obrazy będą mogli wykorzystać podczas opracowywania wyników badań i przygotowywania prezentacji w programie PowerPoint. Zastosowanie kamery pozwoli znacznie usprawnić proces dydaktyczny i ułatwi współpracę z uczniami. Będą oni mogli znacznie sprawniej odnaleźć, zaobserwować i zarejestrować właściwe obrazy mikroskopowe, bez konieczności ich ręcznego odwzorowywania a jednocześnie nauczą się przekazywać wiedzę w atrakcyjniejszy i nowocześniejszy sposób.

Na rozwój mikroorganizmów w żywności wpływa wiele czynników. Najważniejsze z nich to temperatura, kwasowość (pH), wilgotność, dostępność tlenu oraz składników odżywczych.

Produkcja żywności wymaga zminimalizowania liczby lub całkowitego usunięcia z niej drobnoustrojów patogenicznych i powodujących jej zepsucie. Można to osiągnąć poprzez ograniczenie skażenia mikrobiologicznego w czasie produkcji i przechowywania żywności, zahamowanie lub ograniczenie wzrostu drobnoustrojów i kiełkowania zarodników obecnych w żywności a także zabicie komórek wegetatywnych i spor. Człowiek jest zobowiązany przestrzegać higienicznych warunków wytwarzania żywności. Wskaźnikiem braku przestrzegania zasad higienicznych przez personel są tzw. drobnoustroje wskaźnikowe, do których należą bakterie jelitowe, gronkowce, beztlenowe laseczki oraz drożdże i pleśnie. Wskazują one na skażenie odchodami ludzi i zwierząt, gnijącymi i rozkładającymi się resztkami organicznymi oraz na złe warunki higieniczne w miejscu wytwarzania żywności. Spośród bakterii jelitowych (bakterie z grupy coli, enterokoki oraz *Clostridia* redukujące siarczyny), dla człowieka najbardziej niebezpieczne jest skażenie żywności bakteriami z grupy coli, z których wprawdzie nie wszystkie są patogenami, ale sama ich obecność świadczy o kontakcie badanej żywności z kałem ludzkim.

Oprócz grup wskaźnikowych ważny jest też poziom drobnoustrojów, należących do drobnoustrojów charakteryzujących się określonymi cechami fizjologicznymi (zdolnością do degradacji białek, skrobi, tłuszczu, rozwojem w niskich temperaturach czy przy ograniczonym dostępie tlenu). Żywność przeznaczona do spożycia powinna być bezpieczna. Aby nie stwarzać zagrożenia dla człowieka powinna być utrwalona.

Znanych jest wiele różnych metod jej utrwalania. Pozwalają one nie tylko odpowiednio zabezpieczyć produkt przed zepsuciem, ale także wydłużyć w czasie przydatność konsumpcyjną wielu z nich. Przy wyborze metod utrwalania konieczne jest uwzględnienie oporności bakterii na działanie szkodliwych czynników środowiskowych.

Do hamowania i niszczenia drobnoustrojów wykorzystywana jest między innymi wysoka temperatura. Czynnikiem decydującym o efektywności utrwalania cieplnego jest dawka ciepła (temperatura i czas ogrzewania). Wysokie temperatury podczas utrwalania żywności są wykorzystywane w procesach pasteryzacji i sterylizacji. Pasteryzacja jest prowadzona w temperaturze poniżej 100°C, przeważnie temp. 65-85°C i jej celem jest zniszczenie wszystkich wegetatywnych komórek patogenów oraz większości komórek bakterii, drożdży i pleśni, które mogłyby spowodować zepsucie. W praktyce przemysłowej stosuje się dwie metody pasteryzacji:

- ogrzewanie w 60-85°C przez 1-30 minut (LTLT-Low Temperature, Low Time),
- ogrzewanie w 71-74°C przez 15-40 sekund (HTST-High Temperature, Short Time).

Odmianą pasteryzacji jest też tyndalizacja (pasteryzacja frakcjonowana), polegająca na trzykrotnej pasteryzacji, w odstępach 24 godzinnych oraz termizacja, prowadzona 15 sek w temp. 55-65°C, najczęściej połączona z hermetycznym pakowaniem.

W temperaturze od 100°C do 121,1°C pod ciśnieniem, przez okres od kilku do kilkudziesięciu minut, prowadzona jest sterylizacja. W procesie sterylizacji zniszczeniu ulegają wszystkie formy drobnoustrojów, łącznie z przetrwalnikami bakterii oraz zarodnikami grzybów pleśniowych.

Metody utrwalania żywności wykorzystujące wysokie temperatury wywołują tak korzystne jak i negatywne zmiany w żywności. Do pozytywnych należy inaktywacja drobnoustrojów i enzymów powodujących psucie się żywności, niszczenie toksyn oraz przeprowadzanie niektórych związków zawartych w żywności z formy nieprzyswajalnej w przyswajalną. Podstawowym założeniem utrwalania żywności przez ogrzewanie jest osiągnięcie jej mikrobiologicznej stabilności. Postacie wegetatywne drobnoustrojów są zawsze mniej ciepłooporne od form przetrwalnikowych, przy czym największymi różnicami ciepłooporności charakteryzują się bakterie. Temperatura letalna dla wegetatywnych bakterii mezofilnych wynosi ok. 50 – 60°C a dla przetrwalników 90 -100°C. Najmniej odporne na ogrzewanie są drożdże i to zarówno formy wegetatywne, jak i przetrwalnikowe. Zarodniki drożdży giną zwykle już w temperaturze poniżej 100°C, chociaż i tu trafiają się wyjątki, jak np. drożdże osmofilne, wytrzymujące ogrzewanie w temperaturze 100°C przez ponad 20 minut. W technologii żywności unika się zbyt długiego ogrzewania w wysokich temperaturach, gdyż składniki żywności są wrażliwe na wysoką temperaturę. Najbardziej wrażliwe na ogrzewanie są niektóre witaminy. Nawet umiarkowane ogrzewanie do temperatury 70 – 80°C przez kilka minut, powoduje wyraźne obniżenie działania biologicznego witamin C, B₁ i B₁₂. Na ogrzewanie mało odporne są też niektóre białka np. albuminy i globuliny a także aminokwasy siarkowe i lizyna. Wyraźne zmiany, prowadzące do obniżenia wartości biologicznej żywności występują podczas długotrwałego ogrzewania w temperaturach przekraczających 100°C w czasie sterylizacji, smażenia i prażenia. Korzystnie natomiast na trawienie cukrowców złożonych, np. skrobi, wpływają takie procesy i operacje cieplne, jak pieczenie czy gotowanie.

W technologii żywności, chociaż stosuje się źródła ciepła o znacznej rozpiętości temperatur od około – 196°C (zamrażanie w ciekłym azocie), do około 1200°C (temperatura gazów spalinowych), to jednak surowce i produkty spożywcze osiągają temperatury stosunkowo niewysokie z reguły takie, które nie przekraczają minus 30°C i 100 do 120°C. Znane są jednak procesy, podczas, których temperatura może dochodzić do 160°C, ale na bardzo krótki czas, np. 1sek. w procesie ciągłej sterylizacji mleka, czy nawet do 220°C, przy prażeniu ziarna zbóż, buraków cukrowych i cykorii w produkcji kawy. Wyjątkowo wysokie temperatury można stosować przy obieraniu (czyszczeniu) niektórych surowców np. ziemniaków i warzyw, gdy chodzi o nadwęglenie łupin za pomocą gazów spalinowych i usunięcie ich przez splukanie wodą.

W utrwalaniu mikrobiologicznym, opartym na działaniu wyższych temperatur bardzo ważna jest kwaśność żywności.

Żywność mało kwaśna (pH>4,6) np. mleko, mięso, drób, ryby, skorupiaki, groszek, fasola, szpinak, szparagi, buraki do termicznego utrwalenia wymaga ogrzewania w temperaturze

powyżej 100°C, kwaśna (pH 3,7 – 4,6) gruszki, morele, pomidory, czerwona kapusta w temperaturach poniżej 100°C, natomiast żywność bardzo kwaśna (pH<3,7) kiszona kapusta i ogórki, większość owoców, w niektórych przypadkach może odznaczać się znaczną trwałością.

Stosowanie niskich temperatur (chłodzenie i mrożenie) jest obecnie jedną z najpowszechniej wykorzystywanych metod utrwalania żywności. Przechowywanie żywności schłodzonej jak też mrożonej zapewnia w dużym stopniu zachowanie jej wartości żywieniowej.

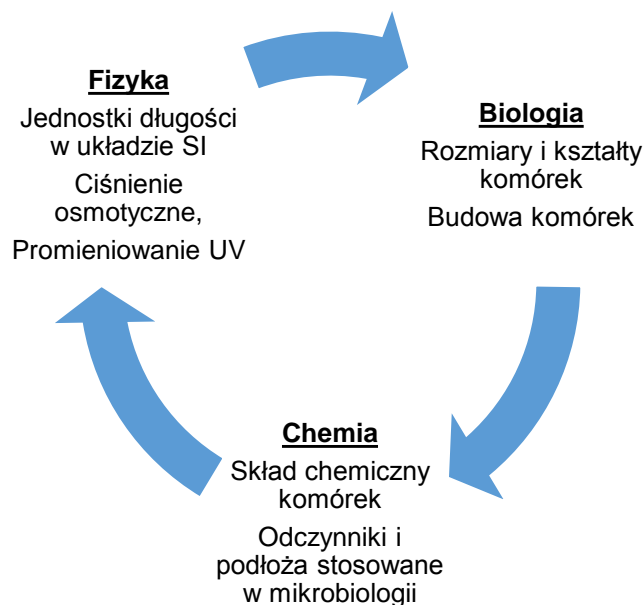
Metody chemiczne są związane z użyciem substancji konserwujących a biologiczne wynikają z aktywności mikroorganizmów prowadzących procesy fermentacyjne. Biologiczne utrwalanie, czyli fermentacja żywności jest najstarszą a zarazem najskuteczniejszą metodą konserwacji, znaną w Europie już w czasach starożytnych (ok. 5000-9000 lat p.n.e.). Dzięki produktom metabolizmu i enzymom wytwarzanym przez drobnoustroje, żywność (przetwory mleczne, kiszonki warzywne, wędliny, pieczywo na zakwasach), uzyskuje charakterystyczne cechy sensoryczne, a także trwałość i bezpieczeństwo higieniczne. Istotnym elementem zabezpieczenia utrwalanej żywności jest stosowanie odpowiednich opakowań.

Do dezynfekcji powierzchni urządzeń produkcyjnych, narzędzi i opakowań (foliowych, tekturowych) w przemyśle znajduje też zastosowanie promieniowania ultrafioletowego (UV). To promieniowanie jest wykorzystywane także do dezynfekcji ścian, sufitów, powietrza w otoczeniu produkcji oraz całych pomieszczeń, w których odbywa się pakowanie gotowych wyrobów. Naturalnym źródłem emisji promieni UV jest słońce, a sztucznym - lampy rtęciowe. Szczególnie zabójczą aktywnością charakteryzuje się promieniowanie UV w zakresie długości fal 240-280 nm. To promieniowanie działa letalnie na formy wegetatywne i przetrwalniki bakterii, a także wirusy. Człowiek jest źródłem zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza podczas mówienia, kaszlu czy kichania.

Generalnie efektywność hamowania i niszczenia drobnoustrojów, niezależnie od zastosowanej metody utrwalania, jest tym większa, im mniejsze jest zanieczyszczenie żywności drobnoustrojami.

Najefektywniejszą z wymienionych metod utrwalania wydaje się być wysoka temperatura, stosowana w procesach sterylizacji, jednak ta temperatura pozbawia żywność cennych składników (witaminy, aminokwasy, węglowodany), czyniąc produkt mniej wartościowym. Producenci żywności poszukują w związku z tym odpowiedniejszych i mniej drastycznych metod utrwalania.

Integracja treści przedmiotowych:



Wykorzystanie matematyki i technologii informacyjnej:

- gromadzenie i porządkowanie informacji i danych niezbędnych podczas wykonywania kolejnych zadań,
- wykorzystywanie formuł matematycznych do opracowywania wyników badań, dotyczących obliczania ogólnej ilości drobnoustrojów w produktach spożywczych oraz rękach,
- interpretacja uzyskanych wyników,
- wykorzystanie kamery mikroskopowej oraz programu komputerowego do rejestrowania oraz obróbki wykonanych samodzielnie preparatów mikroskopowych i posiewów,
- tworzenie prezentacji efektów pracy w laboratorium z mikroskopem przy wykorzystaniu programu PowerPoint.

Materiały i środki dydaktyczne:

- mikroskop laboratoryjny,
- kamera mikroskopowa wraz z oprogramowaniem,
- komputer,
- podłoża hodowlane w formie płynnej i zestalonej,
- materiał biologiczny: bakterie,
- barwniki do barwienia preparatów,
- szkło, szablony i drobny sprzęt laboratoryjny,
- instrukcje do ćwiczeń laboratoryjnych,
- karty pracy

Metody pracy:

- praca z mikroskopem (obserwacje mikroskopowe),
- praca z kamerą mikroskopową i programem komputerowym do rejestrowania i obróbki obrazów mikroskopowych,
- praca z podłożem mikrobiologicznym

- praca z materiałem biologicznym (przygotowanie hodowli mikroorganizmów na podłożach stałych w płytkach Petriego),
- barwniki do barwienia preparatów,
- dyskusja i porównanie wyników,
- praca z komputerem oraz przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint.

Etapy projektu:

etap	działania	czas
Organizacja	- ustalenie stanowisk pracy, - poznanie podstawowych urządzeń oraz narzędzi niezbędnych podczas realizacji zadań	10 minut
Planowanie	- przedstawienie zadań do realizacji podczas zajęć - ustalenie kolejności i czasu wykonywania poszczególnych zadań	10 minut
Realizacja	1. Przygotowanie szkła laboratoryjnego do wyjaławiania.	20 minut
	2. Sprawdzanie skuteczności mycia szkła laboratoryjnego przed wyjaławianiem.	15 minut
	3. Ocena skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych na bakterie <i>Escherichia coli</i> i <i>Bacillus subtilis</i> .	30 minut
	4. Badanie skuteczności działania promieniowania ultrafioletowego na drobnoustroje.	35 minut
	5. Ocena czystości mikrobiologicznej rąk i powierzchni surowców roślinnych (np. jabłka) metodą odciskową oraz tamponową.	15 minut
	6. Obserwacja preparatów mikroskopowych oraz hodowli drobnoustrojów przy użyciu kamery mikroskopowej i rejestracja obrazów w komputerze i na przenośnym dysku.	15 minut
	7. Przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint z wykonanych badań i obserwacji w ramach zajęć oraz wyciągniętych wniosków.	90 minut
Prezentacja	- karty pracy, - prezentacja wykonana w programie PowerPoint.	-
Ocena	- samoocena (uczeń), - ocena opisowa (nauczyciel).	-

Szczegółowy opis zadań na etapie realizacji projektu:

Zadanie 1.

Przygotowanie szkła laboratoryjnego do wyjaławiania

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Wyjaławianie albo sterylizacja polega na zniszczeniu lub oddzieleniu drobnoustrojów od materiałów i sprzętu stosowanych w badaniach mikrobiologicznych. Rozróżnia się wyjaławianie całkowite oraz częściowe. W zależności od rodzaju materiału i rodzaju drobnoustrojów są stosowane różne metody wyjaławiania.

Szko laboratoryjne wyjaławia się suchym i gorącym powietrzem w suszarkach elektrycznych -2 godziny w temperaturze 160⁰C. Szkło musi być wcześniej przygotowane. Kolby z gotowym podłożem hodowlanym, podobnie jak próbówki powinny być odpowiednio zabezpieczone korkami z waty, aby nie dopuścić do ich wtórnego zakażenia mikroorganizmami z powietrza. Górne otwory pipet wypełnia się również watą. Pipety i płytki Petriego umieszcza się w specjalnych puszkach Schimmelbuscha lub pakuje w papier, który nie powinien dotykać ścian suszarki.

W autoklawach wyjaławia się korki gumowe i inne przedmioty z gumy oraz końcówki do pipet automatycznych z tworzywa sztucznego, które najpierw zbiera się do szklanych naczyń (np. zlewki) a następnie zalewa wodą i przykrywa folią aluminiową.

Drobny sprzęt laboratoryjny jak ezy i igły, wyjaławia się bezpośrednio przed użyciem przez opalenie w płomieniu palnika.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Podstawowe trudności, na które uczeń może natknąć się podczas realizacji tego zadania mogą wynikać z niewłaściwego sporządzania korków z waty do kolb i probówek.

Niewłaściwe zrolowanie korków może spowodować, że korek rozpadnie się podczas wkładania czy wyciągania z probówek, czy kolb.

Najlepszym rozwiązaniem, które będzie skutkowało wyeliminowanie takich trudności jest skupienie się podczas ich wykonywania i współpraca z prowadzącym.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

Przy jednym stanowisku znajduje się jeden uczeń, każdy pracuje indywidualnie, w oparciu o instruktaż, nadzór i pomoc prowadzącego ćwiczenia oraz w oparciu o informacje znajdujące się w instrukcji przygotowanej dla ucznia.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 1** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć ...)

Do probówek i kolb sporządzamy korki z waty w ten sposób, że rozkładamy na stole laboratoryjnym cienką warstwę waty i zwijamy ciasno w rulon, przymierzając grubość korka do otworu probówki. Gdy nasz korek wpada zbyt lekko do probówki to oznacza, że jest za cienki. Wtedy dołączamy kolejną warstwę waty, pamiętając by podczas zwijania ją ugniatać. W taki sam sposób wykonujemy korki do kolby szklanej. Właściwie wykonane korki powinny ciasno „wchodzić” do probówki i kolby. Nie powinny się też rozdwajać przy wkładaniu i wyjmowaniu ze szkła. Powinny zabezpieczać płyny i pożywki hodowlane przed wtórnym zakażeniem drobnoustrojami z otoczenia.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

W efekcie pracy ucznia podczas wykonywania zadania 1 oczekuje się, że uczeń opanuje nie tylko wiedzę teoretyczną związaną z wyjaławianiem szkła i drobnego sprzętu laboratoryjnego ale także wiedzę praktyczną, związaną ze sporządzaniem korków z waty, do probówki oraz kolby. Poprawność właściwego wykonania korków uczeń będzie mógł sprawdzić przy okazji kolejnego zadania, związanego z wylewaniem płynnego podłoża (kolba zatkana korkiem) do sterylnych płytek Petriego.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie i szkolenie ucznia, nadzorowanie wykonywanych przez niego czynności, wspieranie go, zachęcanie do cierpliwej i spokojnej pracy. Nauczyciel powinien nadzorować pracę ucznia, jednak powinien unikać wykonywania pracy za niego, nawet wtedy, gdy jakieś zadanie zajmuje uczniowi więcej czasu, niż pozostałym uczestnikom zajęć. Uczeń powinien mieć szansę sprawdzenia się, wykazania samodzielnością, kreatywnością, jednocześnie jednak nie powinien bać się i prosić go o radę. Rolą nauczyciela jest również przydzielanie każdemu z uczniów, probówek czy kolby w razie konieczności.

Zadanie 2.

Sprawdzanie skuteczności mycia szkła laboratoryjnego przed wyjaławianiem

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Wyjaławianie (sterylizacja) to czynności polegające na zniszczeniu lub oddzieleniu drobnoustrojów od materiałów i sprzętu stosowanych w badaniach mikrobiologicznych. Szkło stosowane w laboratorium mikrobiologicznym takie jak np. płytki Petriego, probówki, czy zlewki i pipety powinno być dostatecznie odporne na zmiany temperatury oraz obojętne. Najprostszym sposobem sprawdzenia czy szkło jest obojętne jest próba z błękitem bromotymolowym.

Gdy woda w płytce pod wpływem dodanego błękitu bromotymolowego zabarwi się na kolor zielony, bądź żółtozielony wtedy szkło wykazuje właściwy tj. obojętny odczyn. Gdy woda przyjmuje zabarwienie niebieskie, wówczas szkło wykazuje odczyn alkaliczny, co oznacza, że do celów mikrobiologicznych szkło nie jest wystarczająco czyste.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Nie przewiduje się specjalnych trudności w czasie realizacji tego zadania. Jest to metoda, polegająca na dodaniu roztworu barwnika do wody znajdującej się w badanym szkle laboratoryjnym.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

To zadanie uczniowie wykonują w zespołach. Sprawdza się czystość płytek podanych przez prowadzącego zajęcia. Każdy uczeń pracuje w oparciu o instruktaż, nadzór i pomoc prowadzącego ćwiczenia oraz w oparciu o informacje znajdujące się w instrukcji przygotowanej dla ucznia.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 2** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć ...)

Szczególną uwagę podczas wykonywania zadania należy zwrócić na to, by dodać właściwą ilość wody i roztworu barwnika do płytek Petriego.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

W efekcie pracy ucznia podczas wykonywania zadania 2 oczekuje się, że uczeń opanuje umiejętność sprawdzania w prosty sposób przygotowania szkła laboratoryjnego do sterylizacji. Wymiernym efektem jego pracy będzie zapisanie spostrzeżeń w karcie pracy do zadania 2.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie i szkolenie ucznia, nadzorowanie wykonywanych przez niego czynności, wspieranie go, zachęcanie do cierpliwej i spokojnej pracy. Nauczyciel powinien nadzorować pracę ucznia, jednak powinien unikać wykonywania pracy za niego. Uczeń powinien mieć szansę sprawdzenia się, wykazania samodzielnością, kreatywnością, jednocześnie jednak nie powinien bać się i prosić o radę, gdy jej potrzebuje. Rolą nauczyciela jest również pomoc w przydzielaniu uczniom szkła i sprzętu laboratoryjnego.

Zadanie 3.

Ocena skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych na bakterie *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis*

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Wskaźniki higieniczne żywności są to grupy bakterii dostające się do żywności w wyniku niewłaściwej higieny produkcji i braku higieny osobistej pracowników. Przez wiele lat podstawowymi wskaźnikami higienicznymi w produkcji żywności były bakterie pochodzenia kałowego. Często są one i dzisiaj, obok nowych wymagań, nadal stosowane, jako wymagania norm zakładowych. Obecność bakterii coli świadczy o możliwości zanieczyszczenia kałowego, a więc o możliwej obecności bakterii chorobotwórczych. Często oznaczanymi są też bakterie z rodzaju *Bacillus*, które potrafią niekorzystne warunki środowiskowe wykorzystać do wytworzenia form przetrwalnych, a w sprzyjających okolicznościach z łatwością ponownie się rozwijają i rozmnażają. Przetrwalniki są niezwykle odporne na wysoką temperaturę. Sprawdźmy w związku z tym, czy środki dezynfekcyjne jak np. woda utleniona, alkohol, incidur, octenisept i inne chemiczne substancje są skuteczne w walce z tymi drobnoustrojami.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Trudności podczas realizacji tego zadania mogą wynikać przede wszystkim z braku wprawy w posługiwaniu się drobnym sprzętem laboratoryjnym (głaszczką) a także braku doświadczenia jak i znajomości przez uczniów podstawowych technik stosowanych podczas posiewu drobnoustrojów. Najlepszym rozwiązaniem pozostaje tutaj spokój i cierpliwość a także skupienie podczas zajęć i współpraca z prowadzącym. Uczeń powinien starać się wykonywać polecenia nauczyciela i nie wahać się prosić o pomoc w sytuacjach, kiedy ma jakiegokolwiek wątpliwości.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

To zadanie uczniowie wykonują w zespołach. Jeden zespół wprowadza do płytki z

zestalonym podłożem zawiesinę bakterii *Escherichia coli* a drugi - *Bacillus subtilis*. Osobno też uczniowie na swoich stanowiskach wycinają krążki z bibuły oraz nasączają je środkami dezynfekcyjnymi a następnie kładą je na podłoża i opisują płytki.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 3** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć ...)

Szczególną uwagę podczas wykonywania zadania 3 należy zwrócić na następujące kwestie:

- posiewu należy dokonać przy włączonym palniku gazowym,
- wprowadzamy materiał biologiczny za pomocą jałowej pipety,
- głaszczką rozprowadzamy zawiesinę po zastygłym podłożu a jej nadmiar usuwamy z płytki,
- za każdym razem głaszczkę przesuwamy nad płomieniem palnika,
- wycinamy odpowiednie krążki z bibuły i nasączamy je środkiem dezynfekcyjnym,
- nasączone krążki przenosimy za pomocą pincety na podłoża i delikatnie przyciskamy je do podłoża, uważając by go nie uszkodzić

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

W efekcie wykonania zadania 3 uczeń powinien opanować technikę posiewu drobnoustrojów metodą płytek tartych. Oczekiwany efekt pracy ucznia będzie również wyhodowanie bakterii oddalonych w różnej odległości od krążków nasączanych różnymi środkami dezynfekcyjnymi. Wykonane posiewy będą wykorzystywane przez uczniów do oceny skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych na bakterie *Escherichia coli* (nie wytwarzają przetrwalników) oraz *Bacillus subtilis* (wytwarzające przetrwalniki). Wymiernym efektem pracy ucznia będzie zapisanie spostrzeżeń w karcie pracy do zadania 3, z posiewów po inkubacji w cieplarni (temp. 37°C) płytek wcześniej dla nich przygotowanych. Będą mogli również wykonać zdjęcia z otrzymanych gotowych posiewów.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie i szkolenie ucznia, nadzorowanie wykonywanych przez niego czynności, wspieranie go, zachęcanie do cierplivej i spokojnej pracy. Nauczyciel powinien nadzorować pracę ucznia, jednak powinien unikać wykonywania pracy za niego. Uczeń powinien mieć szansę sprawdzenia się, wykazania samodzielnością, kreatywnością, jednocześnie jednak nie powinien bać się i prosić o radę, gdy jej potrzebuje. Rolą nauczyciela jest również sprawdzenie czy płytki zostały przed posiewem odpowiednio oznakowane oraz dopilnowanie, żeby płytki po posiewie trafiły do cieplarki i były inkubowane w temperaturze 37°C. Od nauczyciela oczekiwana jest pomoc w przydzielaniu uczniom gotowych, po inkubacji, posiewów.

Zadanie 4.

Badanie skuteczności działania promieniowania ultrafioletowego na

drobnoustroje

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Promienie ultrafioletowe mają właściwości bakteriobójcze. Siła zabójczego działania energii promienistej ultrafioletu zależy od długości fali. Najsilniej działają promienie UV o długości fali około 250 nanometrów. Uszkadzają one struktury nukleinowe drobnoustrojów.

O sile zabójczego działania promieni UV przekonamy się poddając zawieszinę drożdży promieniowaniu w komorze laminarnej. W próbie kontrolnej (bez promieniowania UV) oraz stosując 10 i 30 minutowe naświetlanie promieniami ultrafioletowymi określimy za każdym razem procent żywych i martwych komórek drożdży, sporządzając preparat przyżyciowy, barwiony błękitem metylenowym. Martwe komórki barwią się na niebiesko a żywe są bezbarwne.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Podstawowe trudności, na które uczeń może natknąć się podczas realizacji tego zadania wynikają z:

- niedostatecznego opanowania przez ucznia podstaw teoretycznych dotyczących znajomości budowy i zasady działania mikroskopu oraz niezadowolającego opanowania techniki mikroskopowania,
- braku podstaw teoretycznych, dotyczących przygotowania preparatu przyżyciowego, barwionego w kropli spłaszczonej,
- braku staranności podczas sporządzania takiego preparatu,
- braku cierpliwości, skupienia i opanowania ze strony ucznia podczas pracy z mikroskopem.

Najlepszym rozwiązaniem pozostaje tutaj niezmiennie spokój i cierpliwość a także skupienie podczas zajęć i współpraca z prowadzącym. Uczeń powinien starać się wykonywać polecenia nauczyciela i nie wahać się prosić o pomoc w sytuacjach, kiedy ma jakiegokolwiek wątpliwości.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

Naświetlanie drobnoustrojów promieniami UV w komorze laminarnej grupa uczniów wykonuje jednocześnie. Po naświetleniu zawiesziny drożdży każdy uczeń pracuje już samodzielnie, samodzielnie też wykonuje preparaty przyżyciowe, barwi je i liczy żywe oraz martwe (niebieskie) komórki w próbie kontrolnej oraz naświetlanych promieniami UV. Wszystkie czynności wykonuje w oparciu o instruktaż, nadzór i pomoc prowadzącego oraz w oparciu o informacje znajdujące się w instrukcji przygotowanej dla ucznia.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 4** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć ...)

Szczególną uwagę podczas wykonywania zadania należy zwrócić na następujące kwestie:

- szkiełko przedmiotowe powinno być odtłuszczone, najlepiej suchym kawałkiem mydła,
- za każdym razem wprowadzamy materiał biologiczny za pomocą pipetki,
- barwnik nakrapiamy na kroplę zawiesiny drożdży,
- szkiełko przykrywkowe delikatnie i pod kątem upuszczamy na kroplę zawiesiny i barwnika,
- obserwujemy pod mikroskopem komórki drożdży, stosując powiększenie obiektywu 40x

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

W efekcie wykonania zadania uczeń powinien nie tylko opanować technikę sporządzania preparatu przyżyciowego, barwionego w kropli spłaszczonej, ale przede wszystkim na podstawie obserwacji ilości żywych i martwych komórek drożdży w zawieszynie kontrolnej bez naświetlania promieniami UV oraz poddanej promieniowaniu (10 minut i 30 minut) powinien określić skuteczność działania tego rodzaju promieniowania na dane drobnoustroje. Swoje spostrzeżenia i wnioski powinien też zapisać w **karcie pracy do zadania 4**.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest pomoc przy przenoszeniu na stanowiska zamkniętych płytek Petriego z zawiesziną drożdży z komory laminarnej a także instruowanie ucznia, nadzorowanie wykonywanych przez niego czynności, wspieranie go, zachęcanie do cierplivej pracy podczas przygotowywania preparatu, barwienia oraz pracy przy mikroskopie. Nauczyciel powinien nadzorować pracę ucznia, jednak powinien unikać wykonywania pracy za niego. Rolą nauczyciela jest również rozdanie uczniom szkiełek przedmiotowych oraz przykrywkowych, **Kart pracy do zadania 4** a także zebranie i nadzorowanie wypełniania tych kart.

Zadanie 5.

Ocena czystości mikrobiologicznej rąk i powierzchni surowców roślinnych (jabłka) metodą odciskową oraz tamponową

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Wszystkie osoby mające kontakt z żywnością zobowiązane są do przestrzegania zasad czystości i higieny, gdyż istotną część czynności związanych z jej wytwarzaniem jest wykonywana ręcznie. Drobnoustroje dostają się na skórę rąk ze środowiska zewnętrznego m.in. z wody, powietrza i urządzeń produkcyjnych a skład mikroflory zanieczyszczającej rękę zależy od przetwarzanego surowca, etapu technologicznego, czystości powierzchni roboczych oraz higieny osobistej pracowników. Ilościowy i jakościowy skład mikroorganizmów zanieczyszczających rękę zwykle dzieli się na mikroflorę przejściową oraz osobniczą. Pierwsza mikroflora jest usuwana podczas mycia rąk, natomiast osobnicza ma charakter stały i najczęściej ukrywa się w różnych zagłębieniach skóry oraz zachyłkach gruczołów łojowych. W tym ostatnim przypadku konieczne jest dokładne mycie rąk (szczotkowanie), przy użyciu mydeł antybakteryjnych o szerokim spektrum działania, aby nie przenosić drobnoustrojów z rąk na żywność. W celu określenia stopnia zakażenia rąk żywymi komórkami drobnoustrojów można

posłużyć się kilkoma metodami: odciskową, kontaktową, wyplukiwania oraz wymazów (tamponowa). Bardzo popularną w badaniach jest metoda wymazów, polegająca na ścieraniu badanej powierzchni, zwilżonym w płynie tamponem, który następnie wypłukuje się płynem. W nim określa się liczbę i rodzaj drobnoustrojów metodą płytkową Kocha.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

W czasie realizacji zadania nie przewiduje się wystąpienia szczególnych trudności. Właściwe przygotowanie się ucznia do zajęć, a także skupienie podczas ich trwania i współpraca z prowadzącym, najczęściej wystarczają, bez zakłóceń, zrealizować zadanie. Uczeń powinien starać się wykonywać polecenia nauczyciela i nie wahać się prosić o pomoc, gdy ma jakiegokolwiek wątpliwości

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

Przy jednym stole laboratoryjnym są dwa trzyosobowe zespoły uczniów. Gotową płytkę z zestalonym podłożem dzieli się na trzy strefy. Każdy uczeń w zespole realizuje jedno zadanie, polegające na odcisku lub wymazie dokonanym w swojej strefie. Każdy pracuje w oparciu o instruktaż, nadzór i pomoc prowadzącego ćwiczenia oraz w oparciu o informacje znajdujące się w instrukcji przygotowanej dla uczniów.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 5** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć, ...)

Należy stosować się do zaleceń podanych w instrukcji i właściwie wykonać obliczenia, podstawiając do wzoru ustalone wartości.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

W trakcie wykonywania zadania uczeń opanowuje zasady prawidłowego wykonywania poszczególnych etapów badania czystości mikrobiologicznej rąk metodą odciskową a czystość mikrobiologiczną powierzchni jabłka - metodą tamponową, zgodnie z instrukcją nr 5. Swoje spostrzeżenia notuje w **Karcie pracy do zadania 5**. Wymiernym efektem pracy ucznia podczas realizacji tego zadania mogą być też zdjęcia wykonane za pomocą kamery mikroskopowej gotowych (po inkubacji) wyrostłych kolonii drobnoustrojów. Zdjęcia te uczeń będzie mógł zapisać na dysku przenośnym i wykorzystać w prezentacji komputerowej wykonanej w programie PowerPoint, w ramach jednego z kolejnych zadań

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie ucznia i nadzorowanie wykonywanych przez niego czynności. Nauczyciel powinien służyć uczniowi radą i pomocą, dawać wskazówki oraz zachęcać do samodzielnego działania. Rolą nauczyciela jest również czuwanie nad prawidłowo wykonywanym przez ucznia zadaniem a także przydzielenie na każdy stół laboratoryjny dwóch płytek Petriego z posianymi wcześniej drobnoustrojami, po inkubacji w cieplarni.

Zadanie 6.

Obserwacja preparatów mikroskopowych oraz hodowli drobnoustrojów przy użyciu kamery mikroskopowej i rejestracja obrazów w komputerze i na przenośnym dysku

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Obserwacje mikroskopowe pozwalają stwierdzić obecność drobnoustrojów w badanych materiałach, jednak z punktu widzenia poznawczego i edukacyjnego, ważna jest również możliwość zapisu i obróbki obrazów preparatów mikroskopowych. Uczniowie będą mieli taką możliwość dzięki wykorzystaniu w laboratorium kamery mikroskopowej umożliwiającej rejestrację obrazów wykonanych preparatów i hodowli drobnoustrojów. W pakiecie z kamerą znajduje się program komputerowy, który umożliwi uczniom zapisanie obrazu preparatu na komputerze, a następnie na własnym dysku przenośnym, co umożliwi wykorzystanie zapisanych zdjęć w prezentacji przygotowywanej w programie PowerPoint.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Nie przewiduje się szczególnych trudności w trakcie wykonywania tego zadania. Można wprawdzie napotkać na problemy ze strony samego programu komputerowego, programu czy samej kamery, jednak są to problemy natury technicznej i konstrukcyjnej, niezależne od ucznia czy nauczyciela.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

W laboratorium mikrobiologicznym znajduje się jeden komputer wyposażony w kamerę mikroskopową. Uczniowie pracują w parach, w oparciu o instruktaż, nadzór i pomoc prowadzącego ćwiczenia oraz w oparciu o informacje znajdujące się w instrukcji przygotowanej dla ucznia.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 6** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć, ...)

Szczególną uwagę podczas wykonywania tego zadania należy zwrócić na to, żeby preparat w mikroskopie był właściwie doświetlony i wyraźny, aby można było uzyskać zdjęcie najlepszej jakości, pozwalające na dokładną obserwację szczegółów preparatu.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

Wymiernym efektem pracy ucznia podczas realizacji zadania będą wykonane, za pomocą kamery, zdjęcia sporządzanych preparatów, które uczeń będzie mógł zapisać na dysku przenośnym, a następnie będzie mógł wykorzystać w przygotowywanej prezentacji komputerowej, w programie PowerPoint.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie ucznia i nadzorowanie jego pracy przy mikroskopie, kamerze i komputerze. Nauczyciel powinien nadzorować pracę ucznia, jednak powinien unikać wykonywania pracy za niego. Uczeń powinien mieć szansę wykazania się samodzielnością i umiejętnością wykonywania prostych zadań w komputerze, np. zapisywania danych na dysku przenośnym. Nauczyciel powinien służyć

uczniowi radą i pomocą, powinien dawać wskazówki pomagające w wykonaniu zadania oraz powinien nadzorować jego pracę.

Zadanie 7.

Przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint z wykonanych badań i obserwacji w ramach zajęć oraz z wyciągniętych wniosków

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Drugim zadaniem wykonywanym w laboratorium komputerowym zwieńczającym pracę w laboratorium mikrobiologicznym jest sporządzenie krótkiej prezentacji w programie PowerPoint, w której uczniowie zamieszczają najistotniejsze informacje związane z tematyką realizowanego projektu, zdjęcia wykonanych samodzielnie preparatów i posiewów drobnoustrojów oraz spostrzeżenia a także wnioski wynikające z realizacji tematu.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Realizacja tego zadania wymaga od uczniów znajomości podstaw programu PowerPoint, która pozwoli na stworzenie prezentacji stanowiącej podsumowanie wykonanych badań, analiz i obserwacji. Trudności w czasie realizacji tego zadania wynikać mogą przede wszystkim z niedostatecznej znajomości przez uczniów obsługi komputera i programu PowerPoint, który będzie niezbędny do prawidłowego wykonania tego zadania.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach, ...)

Przy jednym mikroskopie znajduje się jeden uczeń, każdy pracuje indywidualnie, w oparciu o instruktaż, nadzór i pomoc prowadzącego ćwiczenia.

Sposób wykonania

Zadanie to należy wykonać zgodnie z informacjami i wskazówkami zamieszczonymi w **Instrukcji nr 7** przygotowanej dla uczniów wykonujących zadanie. Instrukcja została umieszczona w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć, ...)

Ze względu na to, że czasu na wykonanie tego zadania jest stosunkowo niewiele, uczeń powinien przede wszystkim zwrócić uwagę na właściwe rozplanowanie sobie zadań, tak żeby zdążył wykonać zadanie w założonym czasie. Powinien się skupić na wykonywanej pracy, wykonywać prezentację samodzielnie i sam powinien szukać rozwiązań czy też pomysłów na zaprezentowanie zgromadzonego materiału i własnej wiedzy. W prezentacji uczeń powinien skupić się przede wszystkim na własnych obserwacjach, zdobytych podczas zajęć doświadczeniach, spostrzeżeniach i odczuciach, a nie na wiedzy książkowej i teoretycznej.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy, ...)

Efektom pracy ucznia wykonanej w ramach tego zadania będzie opracowanie wykonane w programie PowerPoint, zawierające obserwacje, wyniki badań, zdjęcia oraz wnioski wynikające z zadań realizowanych na zajęciach laboratoryjnych.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie ucznia oraz

nadzorowanie wykonywanych przez niego zadań. Uczeń powinien mieć szansę wykazania się samodzielnością i kreatywnością. Nauczyciel powinien służyć uczniowi radą i pomocą podczas wykonywania prezentacji, powinien dawać wskazówki, stymulować do działania, jednak nie powinien podsuwać gotowych rozwiązań. Rolą nauczyciela jest również zebranie wszystkich gotowych opracowań na jeden dysk przenośny w celu oceny pracy ucznia wykonanej podczas zajęć.

Instrukcja - krok po kroku dla ucznia (w języku ucznia)

Instrukcja nr 1.

Instrukcja przygotowania szkła laboratoryjnego do wyjąławiania

❖ Wyjąławianie szkła w suszarkach,

- ✓ Sporządzanie korków do probówek i kolb:
 - weź do ręki kawałek waty o długości około 20 cm i szerokości około 10 cm,
 - przetnij (urwij) watę w połowie jej szerokości, uzyskując dwa kawałki o długości około 20 cm i szerokości 5 cm,
 - jeden kawałek waty rozdziel na kilka warstw (2 - 3), aby łatwo ją było ciasno skręcać, drugi pozostaw na stanowisku – będzie na korek do kolby,
 - rozpocznij od początku jednej cienkiej warstwy ciasno skręcać watę w rulon podbierając do środka watę z obrzeży, by się nie rozkręcała, podczas jej wkładania do probówki,
po zwinięciu rulonu, „przyglądź” go palcami i sprawdź czy jego grubość jest odpowiednia, przymierzając do otworu probówki. Gdy korek jest za cienki (wpada do środka) należy nawijać kolejną warstwę waty, gdy jest trudno go włożyć należy część waty z korka zdjąć,
 - podobnie postępuj z korkiem do kolby z tą różnicą, że w zależności od wielkości otworu kolby, rozdzielamy watę na dwie warstwy i ciasno zwijamy, podbierając watę na brzegach,
 - po zwinięciu rulonu, „przyglądź” go palcami i sprawdź czy jego grubość jest odpowiednia, przymierzając do otworu kolby,
 - Probówki zatkać korkami umieścić w statywie lub koszyku.
 - Kolby zatkać korkami odstawić obok statywu na stole laboratoryjnym.

 - ✓ Górne końce pipet zatkać małymi tamponami z waty i umieścić je w metalowych puszkach Schimmelbuscha.
 - ✓ Płytki Petriego umieścić w puszkach Schimmelbuscha lub owinąć w papier (po 6 sztuk).
- Wyjąławiać w suszarce 2 godziny, w temperaturze 160⁰C.

❖ Wyjąławianie w autoklawie:

- ✓ Końcówki pipet automatycznych,

- Do zlewki z wodą wrzucić końcówki pipet automatycznych a następnie przykryj zlewkę folią aluminiową i odstaw do sterylizacji w autoklawie,
- ✓ Korki gumowe
- Zbierz korki gumowe ze stanowiska i odstaw do zlewki z wodą, przykryj zlewkę folią aluminiową i odstaw do sterylizacji w autoklawie.

Wyjaławiać w autoklawie 20 minut w temperaturze 121°C.

Instrukcja nr 2.

Instrukcja sprawdzania skuteczności mycia szkła laboratoryjnego przed sterylizacją

- Pobierz dwie płytki Petriego,
- Do wymytych i przepłukanych wodą destylowaną płytek dodaj pipetą automatyczną 5 cm³ wody destylowanej,
- Dodaj do obu płytek po 10 kropli 0,04% roztworu wodnego błękitu bromotymolowego,
- ✓ Niebieskie zabarwienie wody wskazuje na odczyn alkaliczny szkła,
- ✓ Zielone lub żółto – zielone zabarwienie wody występuje, gdy szkło jest obojętne.

Instrukcja nr 3.

Instrukcja wykonania oceny skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych na bakterie *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis*

- Pobierz dwie płytki Petriego z zestalonym, gotowym do posiewu podłożem,
- Opisz płytki, podając następujące dane na każdej z nich:
 - **Płytki nr 1** – *E.c.* – posiewane będą bakterie nie wytwarzające przetrwalników tj. *Escherichia coli*, data posiewu, inicjały wykonującego posiew,
 - **Płytki nr 2** – *B.s.* - posiewane będą bakterie wytwarzające przetrwalniki tj. *Bacillus subtilis*, data posiewu, inicjały wykonującego posiew,

❖ Posiew bakterii *Escherichia coli* oraz *Bacillus subtilis* na zestalone podłoża

- przygotuj płytki nr 1 i nr 2 do posiewu,
- za pomocą pipety pobierz z kolby 1cm³ zawiesiny bakteryjnej *Escherichia coli*, wprowadź ją do płytki nr 1 i rozprowadź materiał przy pomocy głaszczki po całej powierzchni podłoża a nadmiar płynu usuń z płytki,
- podobnie postępuj z płytką nr 2 pobierz z kolby 1cm³ zawiesiny bakteryjnej *Bacillus subtilis*, wprowadź ją do płytki nr 2 i rozprowadź materiał przy pomocy głaszczki po całej powierzchni podłoża a nadmiar płynu usuń z płytki,
- wytnij krążki z bibuły filtracyjnej,

❖ Wycinanie krążków z bibuły (4 sztuki o średnicy 2-3 cm)

- Nasączenie krążków, każdego innym środkiem, spośród: 3% H₂O₂, incidur-środek bakterioobójczy, octenisept- środek do przemywania i odkażania ran oraz alkohol (70% lub 90%),

- Posiew krążków na zastygłe podłoża z materiałem biologicznym w płytkach Petriego nr 1 – *E.c.* i nr 2 - *B.s.*
- Płytki inkubować 24 godziny w temperaturze 37⁰C,

Po okresie inkubacji określić w mm strefy zahamowania wzrostu bakterii wokół krążków i porównać wrażliwość badanych szczepów na różne środki dezynfekcyjne. Wyniki zapisać w **karcie pracy do zadania 3.**

Instrukcja nr 4.

Instrukcja badania skuteczności działania promieniowania ultrafioletowego na drobnoustroje

❖ Przygotowanie prób do naświetlania promieniami UV i naświetlanie

- opisz dwie płytki Petriego pisakiem na spodzie, podając nr zespołu i czasy naświetlania zawiesiny drożdży (10 lub 30 minut),
- do obu opisanych płytek wprowadź pipetą po 3 cm³ zawiesiny drożdży z próby kontrolnej,
- wstaw jedną płytkę do komory laminarnej (nr 1), w której czas naświetlania promieniami UV wynosi 10 minut i otwórz płytkę,
- drugą płytkę wstaw do komory laminarnej (nr 2), w której czas naświetlania promieniami UV wynosi 30 minut i ją również otwórz,
- włącz równocześnie lampy UV w komorach laminarnych (nr 1 i nr 2) i mierz czas ekspozycji płytek z zawiesiną drożdży,

❖ Określenie liczby żywych komórek drożdży w próbie kontrolnej (bez naświetlania promieniami UV)

- na odtłuszczone szkiełko przedmiotowe, z kolby kontrolnej, pobierz kroplę zawiesiny drożdży, dodaj barwnik – błękit metylenowy, przykryj szkiełkiem nakrywkowym (preparat w kropli spłaszczonej) i stosując powiększenie obiektywu 40x, w 10 polach widzenia policz komórki żywe (niezabarwione) oraz martwe (zabarwione na niebiesko),
- wynik zapisz w tabeli, **w karcie pracy do zadania 4.**
- **po upływie 10 minut** wyłącz promieniowanie UV w komorze laminarnej nr 1,
- zamknij płytkę i przenieś na stół laboratoryjny,
- wykonaj preparat drożdży w kropli spłaszczonej z dodatkiem błękitu metylenowego,
- zastosuj powiększenie obiektywu najpierw 5 lub 10x a następnie odszukaj obrazu komórek drożdży stosując powiększenie obiektywu 40x,
- w 10 różnych polach widzenia policz komórki żywe (niezabarwione) i martwe (zabarwione na niebiesko),
- wynik zapisz w tabeli, **w karcie pracy do zadania 4.**
- **po 30 minutach** wyłącz promieniowanie UV w komorze laminarnej nr 2,
- przykryj płytkę Petriego i zabierz na swoje stanowisko,

- wykonaj preparat drożdży w kropli spłaszczonej z dodatkiem błękitu metylenowego
- zastosuj powiększenie obiektywu najpierw 5 lub 10x a następnie odszukaj obrazu komórek drożdży, stosując powiększenie obiektywu 40x,
- w 10 różnych polach widzenia policz komórki żywe (niezabarwione) i martwe (zabarwione na niebiesko),
- wynik zapisz w tabeli, **w karcie pracy do zadania 4.**

Oblicz procent komórek żywych i martwych w zawiesinie, która nie była poddana naświetlaniu promieniami UV, w zawiesinie drożdży naświetlanej 10 minut oraz 30 minut.

Wyniki z obliczeń zapisz w tabeli, **w karcie pracy do zadania 4.**

Instrukcja nr 5.

Instrukcja wykonania oceny czystości mikrobiologicznej rąk i powierzchni surowców roślinnych (jabłka) metodą odciskową oraz tamponową.

- płytkę Petriego z zestalonym podłożem (agar odżywczy) podzielić na trzy części (połówka i dwie ćwiartki), rysując pisakiem kreski na spodzie płytki (na jej zewnętrznej stronie),
- w jednej ćwiartce (strefa 1) wykonać odcisk palca, starając się by odciskana część palca dokładnie przylegała do podłoża, a jednocześnie by go nie uszkodziła,
- w drugiej ćwiartce (strefa 2) wykonać też odcisk kolejnego palca, ale wcześniej wymytego płynem bakterio - i grzybobójczym, pobranym z dozownika płynu. Wykonywać tę czynność jak wyżej tzn. delikatnie by nie uszkodzić podłoża,
- jałowy tampon z waty zamoczyć w kolbie z wodą destylowaną, odcisnąć nadmiar płynu o ścianki naczynia, a następnie za pomocą wacika potrzyj badaną i odkrytą powierzchnię jabłka (np. powierzchnia kwadratu o boku 2 cm),
- na połówce płytki (strefa 3) wykonaj posiew, rysując linię falistą tamponem na powierzchni zestalonego podłoża,
- płytkę Petriego z posiewami inkubuj w cieplarni, w temperaturze 30⁰C,
- obejrzyj i opisz w **karcie pracy do zadania 5** wyniki wcześniej wykonanych posiewów w ten sam, jak wyżej opisany, sposób.

Instrukcja nr 6.

Instrukcja obserwacji preparatów mikroskopowych oraz hodowli drobnoustrojów przy użyciu kamery mikroskopowej, rejestracji obrazów w komputerze i na przenośnym dysku

- w mikroskopie wyposażonym w kamerę mikroskopową ustaw pokrętko potencjometru na najmniejszy wskaźnik jasności,
- za pomocą śruby makrometrycznej opuść stolik mikroskopu w najniższe położenie,
- umieść obserwowany obiekt (preparat) na stoliku mikroskopu,
- włącznikiem włącz oświetlenie mikroskopu,
- pokrętkiem potencjometru zwiększ oświetlenie,
- za pomocą urządzenia rewolwerowego z obiektywami ustaw obiektyw powiększający 5 – krotnie w osi optycznej mikroskopu,

- stolik z preparatem podnieś maksymalnie do góry; czynność tę koniecznie obserwuj na poziomie stolika, czyli patrząc z boku, a nie w okular mikroskopu,
- obserwując preparat (hodowlę) przy małym powiększeniu (obiektyw 5x), aparat oświetlający Abbego opuść maksymalnie w dół,
- po ustawieniu stolika z preparatem (hodowlą) uruchom program Motic Images Plus 2.0, klikając odpowiednią ikonę na monitorze komputera,
- najedź kursorem na okienko uchwyć obraz i kliknij dwukrotnie,
- patrząc w monitor komputera powoli opuszczaj stolik z preparatem za pomocą śruby makrometrycznej, aż do chwili znalezienia obrazu na monitorze komputera,
- jeżeli obraz nie zostanie znaleziony, wówczas należy podnieść stolik ponownie do góry i ponownie, powoli opuszczać stolik z preparatem, aż do chwili uzyskania obrazu,
- za pomocą śruby mikrometrycznej uzyskaj ostry obraz preparatu (hodowli),
- kliknij ikonę zaawansowane ustawienia, znajdującą się w lewej górnej części ekranu,
- na dole wyświetlającej się listy kliknij polecenie szybkiej kalibracji One-Click Calibration, upewniając się, że w okienku obok wyświetla się słowo Biological, oznaczające kalibrację preparatów biologicznych,
- kliknij ikonę aparatu fotograficznego, znajdującą się w lewej górnej części ekranu,
- kliknij polecenie przechwytny,
- nazwij zdjęcie i zapisz, jako plik na swoim przenośnym dysku,

Instrukcja nr 7.

Instrukcja wykonania prezentacji komputerowej w programie PowerPoint zatytułowanej „Drobnoustroje wokół nas – czy naprawdę są i jak się ich pozbyć,” podsumowującej zadania i obserwacje wykonane w ramach projektu

Na podstawie zadań wykonywanych w laboratorium mikrobiologicznym należy przygotować prezentację podsumowującą projekt. W prezentacji powinny znaleźć się zdjęcia wykonanych hodowli na podłożach stałych w płytkach Petriego oraz obserwacje, wnioski i własne spostrzeżenia uczniów podczas ćwiczeń. Przy realizacji prezentacji pozostawia się uczniom dużą dowolność i swobodę w sposobie jej wykonania. Każda prezentacja powinna być indywidualnym opracowaniem, zarówno pod względem treści, jak i formy, która pokaże twórczy charakter ucznia, jego indywidualność, zaangażowanie w realizowane zadania oraz indywidualne podejście do prezentowanego zagadnienia. W związku z tym, podczas przygotowywania prezentacji uczeń powinien skupić się przede wszystkim na własnych obserwacjach, zdobytych podczas zajęć i spostrzeżeniach w trakcie wykonywania doświadczeń a znacznie mniej na wiedzy książkowej i teoretycznej.

Czas na realizację tego zadania jest stosunkowo krótki, dlatego należy właściwie rozłożyć siły i zaplanować realizację poszczególnych elementów prezentacji, aby zmieścić się w wymaganym czasie.

Karta pracy do zadania 3.

Karta pracy do zadania 4.

Karta pracy do zadania 5.

Imię i nazwisko ucznia, klasa

Miejscowość, data

KARTA PRACY DO ZADANIA 3

Ocena skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych na bakterie *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis*

- ✓ Określić w mm strefy zahamowania wzrostu bakterii wokół krążków i porównać wrażliwość badanych szczepów bakterii na różne środki dezynfekcyjne .

Środek dezynfekcyjny	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1		
2		
3		
4		

- 1 – 3% H₂O₂,
2 – Incidur - środek bakteriobójczy,
3 – Octenisept,
4 – Alkohol.

Wnioski:

KARTA PRACY DO ZADANIA 4**Badanie skuteczności działania promieniowania ultrafioletowego na drobnoustroje**

- ❖ Obejrzyj w mikroskopie, pod obiektywem powiększającym 40-krotnym, preparaty drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w kropli spłaszczonej z dodatkiem błękitu metylenowego.
- ❖ W 10 różnych polach widzenia (pole widzenia w mikroskopie zmieniać, przesuując preparat na stoliku) policzyć ilość komórek żywych oraz martwych.
- ❖ Oblicz udział komórek martwych (X) w zawieszynie, która nie była poddana naświetlaniu promieniami UV, w zawieszynie drożdży naświetlanej 10 minut oraz 30 minut:

$$X = \frac{b}{(a + b)} \cdot 100\%$$

gdzie:

a – średnia liczba (z dziesięciu pomiarów) komórek żywych, b – średnia liczba (z dziesięciu pomiarów) komórek martwych

- ❖ Wyniki obserwacji i obliczeń zapisać w tabeli.

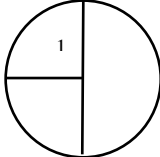
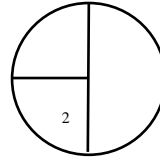
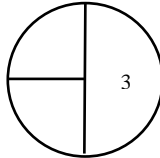
Pole widzenia	Zawieszyna drożdży nie poddana naświetlaniu promieniami UV		Zawieszyna drożdży naświetlana 10 minut		Zawieszyna drożdży naświetlana 30 minut	
	Liczba komórek żywych	Liczba komórek martwych	Liczba komórek żywych	Liczba komórek martwych	Liczba komórek żywych	Liczba komórek martwych
1.						
2.						
3.						
4.						
5.						
6.						
7.						
8.						
9.						
10.						
Suma						
% komórek martwych						

Wnioski:

KARTA PRACY DO ZADANIA 5

Ocena czystości mikrobiologicznej rąk i powierzchni surowców roślinnych (jabłka) metodą odciskową oraz tamponową.

- ✓ **Policz liczbę kolonii wyrosłych na poszczególnych częściach płytki Petriego i zapisz wyniki w tabeli.**

Część płytki	Liczba kolonii
	
	
	

Wnioski: