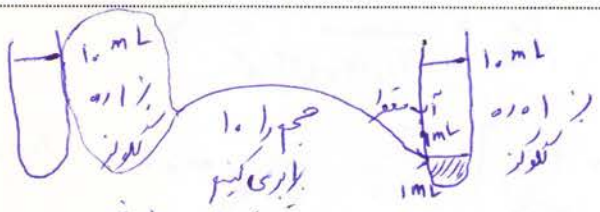
الف- محلول سازی و غلظت درصدی

ایده پردازی ها فعالیت های عملی و مسئله ها تئوری هستند.

ایده پردازی۱- ۵۰ میلی لیتر از محلول حاوی۲ درصد نمک طعام و ۱ درصد سولفات مس را بسازید.

برای ۲٪ یعنی ۲g در ۱۰۰mL محلول ← ۱g نمک وزن می کنیم
برای ۱ " ۱g " " ← ۰/۵g سولفات مس وزن می کنیم
← چون ۵۰mL محلول می خواهیم از بالون ژوژه ۵۰mL استفاده کنیم
← نمک ها را داخل بالون ریخته و مقداری آب ریخته و حل می کنیم ← سپس با احتیاط به حجم ۵۰mL می رسانیم

مسئله مقدماتی- چگونه ۱۰ سی سی از محلول ۰.۰۱ درصد گلوگز را بسازیم؟ گلوگز نداریم اما ۱۰ سی سی محلول ۰.۱ درصد گلوگز داریم(محلول استوک).



مسئله جمع بندی- چگونه ۱۰ سی سی محلول ۰.۰۱ درصد گلوگز را از محلول ۰.۴ درصد گلوگز بسازیم؟

$C_1V_1 = C_2V_2$

$\frac{0/4\,gr}{100\,mL} \times V_1^{mL} = \frac{0/01\,gr}{100\,mL} \times 10^{mL} \rightarrow V_1 = \frac{1}{4}\,mL$

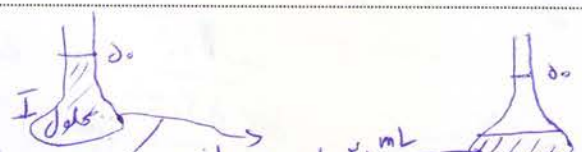
$V_1 =$ ۰/۲۵mL یعنی برمی داریم و به حجم ۱۰mL می رسانیم تا غلظت $\frac{1}{40}$ برابر شود

۰/۴g / ۱۰۰mL محلول

۰/۰۱g / ۱۰۰mL محلول

ایده پردازی۲- ۵۰ میلی لیتر از محلول دو برابر رقیق شده ی محلول اول را تهیه کنید. غلظت آن چقدر است؟ ← غلظت ها نصف می شوند.

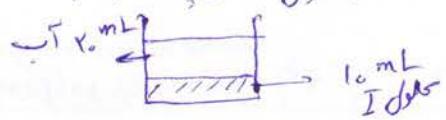
یکی از راه های ممکن:



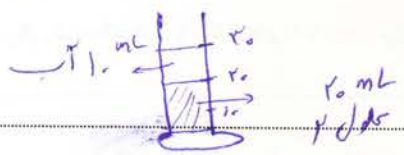
+ آب ← تا ۵۰mL با آب به حجم می رسانیم

ایده پردازی۳- ۳۰ میلی لیتر از محلول ۳ برابر رقیق شده محلول اول را تهیه کنید. اگر محلول اول را ندارید از محلول دوم استفاده کنید!

راه ۱ ← با استفاده از محلول I و پیپت و پیشر



راه ۲ ← با استفاده از محلول ۲ و استوانه مدرج



← راه های دیگر با وسایل دیگر هم ممکن است

مسئله نهایی- محلول ۷۰ درصد الکل-آب حاوی چه مقدار الکل و چه مقدار آب است؟

$V\% \rightarrow \frac{V\,mL\ \text{الکل}}{100\,mL\ \text{محلول}}$

۷۰mL الکل

۳۰mL آب

مایع در مایع
حجمی - حجمی

$$x\% = \frac{x\,mL\ \text{مایع}\ /\ gr\ \text{ماده جامد}}{100\,mL\ \text{مایع}\ /\ gr\ \text{محلول}}$$

در کار ما مرسوم نیست!

ب- محلول سازی و غلظت مولار

یادآوری ها-

تعریف محلول: حل شونده ها + حلال= محلول

تعریف غلظت : مقدار مواد پخش شده(حل شونده) در مقدار معینی حلال یا محلول را در یک نسبت، به نام غلظت بیان می کنیم.

مسئله مقدماتی-با توجه به این که ۱ مول ماده، (6.022×10^{23}) تا ذره می باشد.

الف-۴۰ عدد سدیم کلراید(NaCl) چند مول است؟

$$40 \text{ تا } NaCl \times \frac{1 \text{ mol}}{6.022 \times 10^{23} \text{ تا}} = X \text{ mol}$$

ب-با حل شدن ۴۰ عدد NaCl در آب، چند مول ذره ایجاد می شود؟

$$\left[1 \text{ تا } NaCl \rightarrow 2 \text{ تا ذره } (Na^+ + Cl^-)\right] \rightarrow 2X \text{ mol}$$

ج-به قسمت ب در مورد همان مقدار کلسیم کلراید $CaCl_2$ پاسخ دهید.

$$\left[1 \text{ تا } CaCl_2 \rightarrow 3 \text{ تا ذره } (Ca^{2+} + 2Cl^-)\right] \rightarrow 3X \text{ mol}$$

مسئله جمع بندی-مهره های شکل روبرو را در نیم لیتر آب حل می کنیم. با توجه به اینکه هر مهره ۲ میلی لیتر حجم دارد، به سوالات زیر پاسخ دهید.

الف-غلظت محلول نهایی چقدراست ؟ حداقل به ۲ شکل ممکن غلظت را بیان کنید.

$$\frac{30 \text{ mL مهره}}{500 \text{ mL حلال}} \quad , \quad \frac{30 \text{ mL مهره}}{530 \text{ mL محلول}} \quad , \quad \frac{15 \text{ تا مهره}}{530 \text{ mL محلول}}$$

ب-غلظت هر مهره چقدر است؟

$$\frac{5 \text{ تا سفید}}{530 \text{ mL محلول}} \quad , \quad \frac{5 \text{ تا سیاه}}{530 \text{ mL محلول}}$$

$$x\, M_{\text{مولار}} = \frac{x \text{ mol}}{1000 \text{ ml محلول}}$$

ج-غلظت را به شکل مولاریته بیان کنید.

$$\frac{5 \text{ مهره} \times \frac{1 \text{ mol}}{6.022 \times 10^{23}}}{530 \text{ mL محلول}} \xrightarrow{\text{تناسب}} \frac{\frac{1000 \times X \text{ mol}}{530}}{1000 \text{ mL}}$$

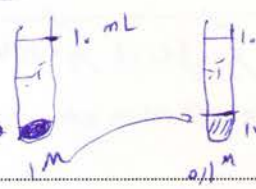
د-غلظت مولار محلول ایده پردازی ۳ را بدست آورید!

تبدیل واحد درصد به مولار

ایده پردازی۴- سریال رقت- ۴ محلول با غلظت های ۱ تا ۰.۰۰۱ مولار و هر کدام در حجم ۱۰ میلی لیتر تهیه کنید.

$$\frac{1}{100} \times \frac{1 \text{ mol}}{58.5 \text{ gr}} \quad (\text{gr}) \longrightarrow \text{این گرم را وزن می کنیم}$$

نمک $\frac{1 \text{ mol}}{100}$



$$\xrightarrow{1\text{mL} + 9\text{mL آب}} 0/01 \text{ M} \xrightarrow{1\text{mL} + 9\text{mL آب}} 0/001 \text{ M}$$

مسئله نهایی-با توجه به این که جرم مولی گلوگز ۱۸۰ گرم بر مول است، چگونه ۲۵۰ سانتی متر مکعب از محلول M ۰.۱ گلوکز را ساخت؟

$$0/1 \text{ M} = \frac{0/1 \text{ mol}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{250 \text{ mL}}{1} = \frac{0/1 \text{ mol}}{4} \times \frac{180 \text{ gr}}{1 \text{ mol}} = \frac{18}{4} \text{ gr}$$

گلوکز وزن می کنیم و در بالون ژوژه ۲۵۰ به حجم می رسانیم

الف-

ایده پردازی- یکی از عجیب ترین فرآیندهای زیستی، بالارفتن آب از ساقه ی گیاهان می باشد. چگونگی رخداد این پدیده در درختان بلند همواره سوال برانگیز بوده است.

با توجه به اطلاعات زیر، آزمایشی برای پاسخ دادن به سوال زیر طراحی کنید:

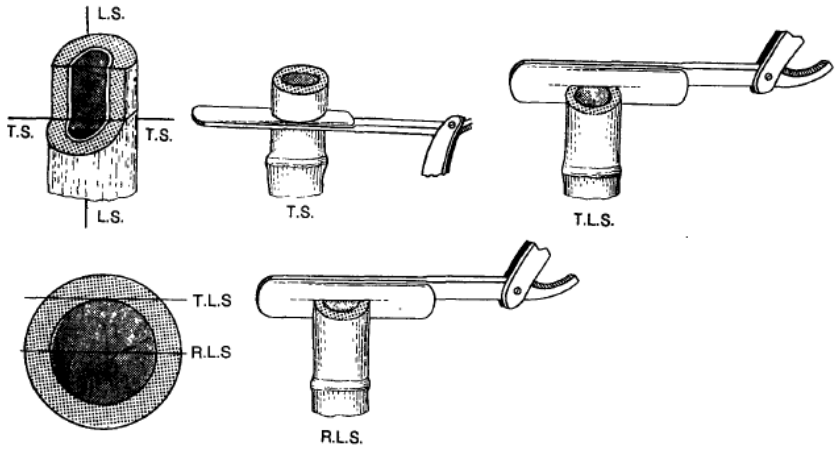
آب از داخل ساقه بالا می رود یا از روی ساقه؟ چه قسمتی از ساقه کاندیدای محل عبور آب است؟

اطلاعات:

-آب به مواد قطبی(آبدوست) می چسبد ولی از مواد ناقطبی(آبگریز) به راحتی جدا می شود و رویشان سر می خورد.

-سافرانین رنگ قرمزی است که به مواد ناقطبی(آبگریز) می چسبد و آنها را رنگ می کند.

لیگنین پلمیر ناقطبی موجود در آوند هاست که توسط سافرانین رنگ می شود- ناقطبی بودن فضای داخلی آوند ها به حرکت آب درون آوند ها کمک می کند.



Planes for section cutting.

سوال۱- چه ضرورتی دارد که از ساقه برش بگیریم؟ آیا بدون برش گرفتن نمی توان آنرا با میکروسکوپ بررسی کرد؟

نه زیرا نور رد نمی شود

سوال۲- چه برشی "خوب" محسوب می شود؟

برشی که زیر میکروسکوپ تک لایه باشد تا نور از آن عبور کند

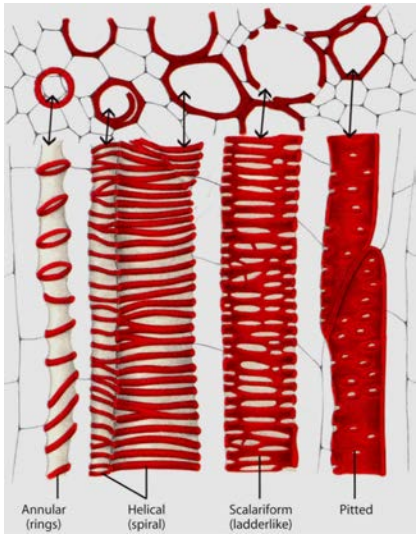
سوال۳- از چه مقاطعی می توان برش تهیه کرد؟ با توجه به تصویر روبرو به این سوال پاسخ دهید.

عرضی- طولی(به دو شیوه مانند شکل)

اقدام تکنیکی- چندین برش عرضی از ساقه گیاه برگ بیدی تهیه کنید و بهترین برش را زیر میکروسکوپ پیدا کنید.

اقدام۱-با تهیه برش های طولی و عرضی مناسب به ایده پردازی ۱ پاسخ دهید.

اقدام۲- شکلی حدودی از برش خود بکشید و دسته جات آوندی را در شکل خود مشخص کنید. با اندازه گیری قطر برش، مقیاس شکلی که کشیده اید را بدست بیاورید. طول و عرض یک آوند بزرگ، یک آوند کوچک، و یک سلول عادی را بدست آورید و یادداشت کنید.



سوال۴- چرا در تمام قسمت های برش طولی که گرفته اید، آوند های چوبی وجود ندارند؟

زیرا دسته های آندی همه جای ساقه نیستند

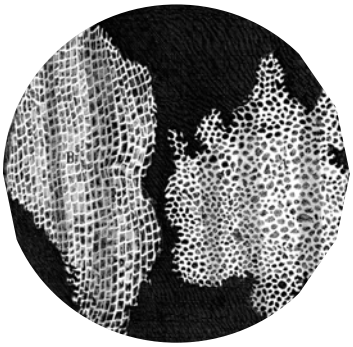
سوال۵- در شکل روبرو، قسمت های مربوط به برش عرضی و قسمت های مربوط به برش طولی را تعیین کنید. سپس با توجه به شکل روبرو، نوع آوندی که در برش های طولی خود دیده اید را تعیین کنید.

بالای تصویر عرضی و پایین آن طولی است

سوال۶- در برش هایی که تهیه کردید، چند رنگ وجود داشت؟ رنگ در این آزمایش چه فایده ای داشت؟

رنگ قرمز-آوند ها- رنگ سبز کلروپلاست سلول های فتوسنتزی- رنگدانه های بنفش خود گیاه برگ بیدی در برخی سلول های بیرونی- رنگ زمینه نیز روشن است و با همه کنتراست دارد.

ب-



ایده پردازی-رابرت هوک در سال ۱۶۶۴ مشاهدات جدیدی که با میکروسکوپ دست سازش بدست آورده بود را انتشار داد. در این کتاب او بعد از توضیح مشاهداتش در مورد تنه چوبی و اجسام چوبی شده، برشی از یک چوب پنبه را ترسیم می کند و برای اولین بار از واژه سلول برای نامیدن حفره های موجود در چوب پنبه استفاده می کند. او دلیل شناور بودن چوب پنبه و همچنین جاذب آب بودن آنرا این سلول های پر از هوا می داند.

آیا این موضوع برای سلول های زنده نیز صحت دارد؟ این موضوع را در رابطه با سلول های پوششی دهان بررسی کنید.

برای پاسخ دادن به ایده پردازی، اقدام تکنیکی زیر را انجام دهید.

اقدام تکنیکی- با استفاده از سواپ از داخل لُپ خود سلول بگیرید و آنها را روی یک قطره آب، روی لام بگذارید و رویشان یک لامل قرار دهید و سپس آنرا زیر میکروسکوپ ببینید. سلول ها بسیار شفاف و بی رنگ اند؛ در نتیجه در صورت عدم بستن دیافراگم به سختی دیده می شوند.

اقدام۱-اجزایی که در داخل سلول های دهان می بینید را بکشید و تا جایی که می توانید نام گذاری کنید.

اقدام۲- قطر یک سلول را اندازه بگیرید و یادداشت کنید.

اقدام۳- یک قطره سافرانین اضافه کنید. تغییراتی که مشاهده می کنید را به شکل خود اضافه کنید.

سوال-رنگ و دیافراگم چه کمکی می کنند؟ رنگ و دیافراگم هر دو باعث ایجاد کنتراست می شوند

ج-

اقدام۱-قطعه ای پوست پیاز را زیر میکروسکوپ ببینید. سلول ها واجزای داخل سلول را در عدسی چهل بررسی کنید. قطر یک سلول پیاز را اندازه بگیرید و یادداشت کنید:

همین کار را برای خون انجام دهید: قطر یک سلول پیاز= قطر یک گلبول=

اقدام تکنیکی۱- . انگشت خود را با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی کنید و سپس با استفاده از لنست، از انگشت خود یک قطره کوچک خون تهیه کنید.

اقدام۲-دو قطره خون روی یک لام قرار دهید و روی یکی یک قطره آب و روی دیگری یک قطره آب نمک غلیظ قرار دهید و بلافاصله لامل گذاری کنید. همین کار را برای پوست پیاز انجام دهید.

شکل سلول ها را در جدول زیر بکشید.

	آب نمک	حالت عادی	آب
گلبول قرمز			
سلول پوست پیاز			

سوال۱- آیا سلول ها رفتار مشابهی نسبت به تغییر غلظت محیط از خود نشان می دهند؟

بسلول ها در محیط های غلیظتر از خودشان پلاسمولیز و در محیط های رقیق تر تورژسانس می شوند- با این حال گلبول های قرمز بعد از تورژسانس متلاشی می شوند. سلول های پیاز نه- در پلاسمولیز پیاز غشا از دیواره جدا می شود و سایز سلول کاهش می یابد

سوال۲-با توجه به اینکه غشای سلول به نمک نفوذ ناپذیر است، توضیح دهید دلیل این اتفاقات چه می تواند باشد؟

آب انتشار پیدا می کند تا غلظت دو طرف یکسان شود-

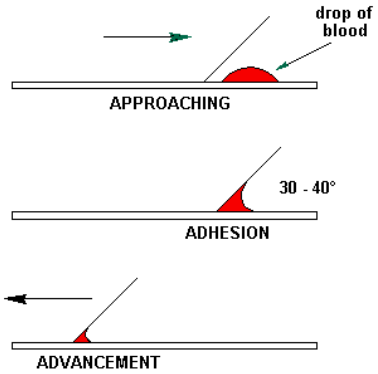
خون شناسی

اقدام ۱- انگشت خود را با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی کنید و سپس با استفاده از لنست، از انگشت خود یک قطره کوچک خون تهیه کنید.

اقدام۲- شکل نمونه خود را در عدسی ۱۰ بکشید و سعی کنید سلول ها را در حاشیه نمونه پیدا کنید و یک سلول را بکشید.

سوال۱-چرا در قسمت های مرکزی نمونه سلول ها به سختی دیده می شوند؟ چرا تصویر تیره است؟

اگر اسمیر نگیریم این اتفاق می افتد یعنی سلول های توده ای هستند و نور رد نمی شود و جزئیات دیده نمی شوند.



اقدام تکنیکی- چند اسمیر خون تهیه کنید.

سوال۱- چه اسمیری "خوب" محسوب می شود؟

اسمیر تک لایه که نور رد شود و جزئیات سلول ها مشخص باشد.

اقدام۱-یکی از اسمیر های تان را بدون انجام رنگ آمیزی نگه دارید.

اقدام۲-بعد از خشک شدن خون در سطح لام، به مدت چند ثانیه روی سطح لام متانول بریزید و صبر کنید تا خشک شود.

سپس به مدت ۲۰ دقیقه آنرا در محلول رنگی گیمسا قرار دهید.

سوال۲-درباره علت انجام کارهای زیر توضیح دهید:

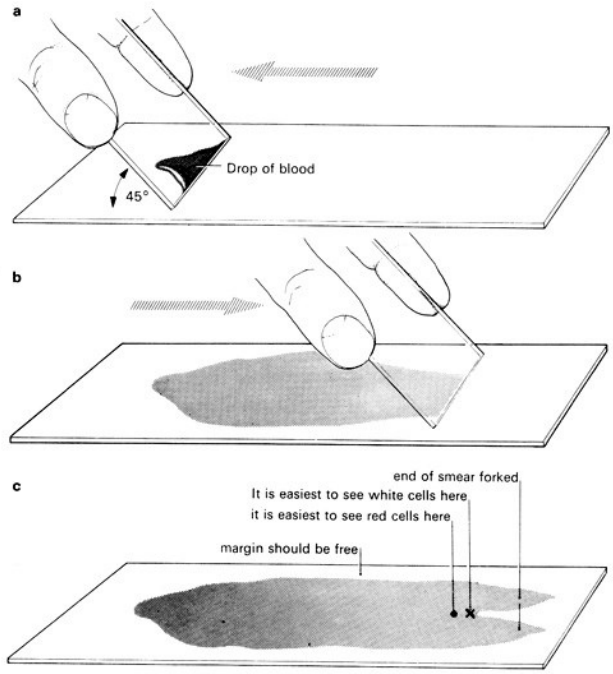
-اسمیر گرفتن: تک لایه شدن نمونه پرتراکم

-خشک کردن: چسبیدن سلول ها روی لام و شسته نشدن آنها هنگام رنگ آمیزی

-متانول: تثبیت شدن اجزای سلول ها و انجام شدن رنگ آمیزی به طور کامل

-رنگ آمیزی: تفکیک و افتراق انواع سلول های خونی از هم -خصوصا گلبول های سفید

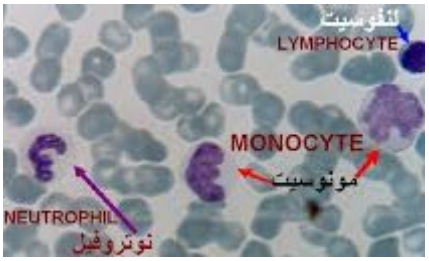
-مدت رنگ آمیزی(چرا ۲۰ دقیقه): این وابسته به غلظت رنگ است- اگر زیاد تر باشد مدت را کمتر می کنیم. به هر حال یک غلظت استندارد وجود دارد که برای آن ۲۰ دقیقه کفایت می کند.

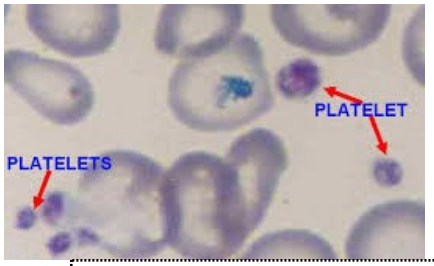


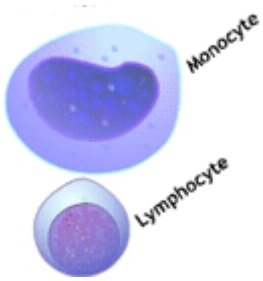
اقدام۳-بعد از گذشت ۲۰ دقیقه، رنگ اضافی را با آب مقطر خارج کنید و بگذارید لام خشک شود تا آنرا زیر میکروسکوپ بررسی کنید.

اقدام۱- لام رنگ نشده را با لام رنگ شده مقایسه کنید. چه تفاوت هایی وجود دارند؟ سپس هر یک از سلولهای زیر را در اسمیر خود بیابید.

سوال۲-ویژگی های اختصاصی هریک را با توجه به مشاهدات خود جلوی تصویر مربوطه یادداشت کنید.







بدون گرانول

هسته ها آبی

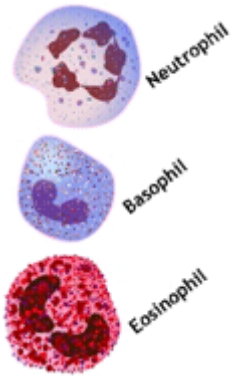
لنفوسیت هسته کروی و بزرگ نسبت به سایز سلول

مونوسیت هسته نعل اسبی شکل

نوتروفیل –چند هسته ای–گرانول های خنثی بازو فیل–گرانول های بازی– آبی رنگ می شوند

ائوزینوفیل گرانول های اسیدی که رنگ ائوزین اسیدی را جذب می کنند و قرمز می شوند

هسته ها همیشه آبی اند –چون هسته اسید نوکلئیک دارد



سوال۳-شباهتها و تفاوتهایشان این سلولهای را بنویسید و کارکرد احتمالی آنها در خون را حدس بزنید

اقدام۲- لام خود را طوری روی صفحه نگه دارنده میکروسکوپ قرار دهید که محل قرار گیری قطره خون اولیه در سمت راست باشد. گوشه جلو سمت راست لام را به عنوان نقطه مرجع انتخاب کنید. مختصات نقطه مرجع را با کمک خط کش ها طولی و عرضی پیدا کنید. سپس سلول های مناسبی را از گستره خود انتخاب کنید و مختصات آنها را نیز در جدول زیر یادداشت کنید.

اندازه سلول ها را بدست آورید.

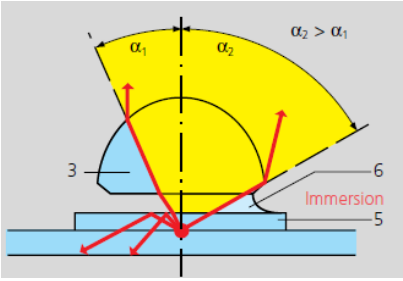
برای پوشش دادن کامل لام به صورت زیگزاگ حرکت کنید.

در صورتی که تعداد سلول های سفید کافی بود، ستون آخر جدول را نیز کامل کنید.

	خط کش طولی(راست–چپ) (میلی متر)	خط کش عرضی(جلو–عقب) (میلی متر)	اندازه سلول	فراوانی نسبی
نقطه مرجع				
نوتروفیل				
بازوفیل				
ائوزینوفیل				
مونوسیت				
لنفوسیت				
تجمع پلاکت ها				

تکنیک-عدسی روغنی

عدسی ۱۰۰ مسئول ایجاد بیشترین بزرگنمایی تصویر در میکروسکوپ های نوری معمول می باشد. لازمه ایجاد یک تصویر واضح که در آن اجزا از هم تفکیک شده باشند، در چنین بزرگنمایی بالایی، غوطه ور شدن عدسی در روغن و پر شدن فضای بین نمونه و عدسی می باشد.



سوال- با توجه به شکل روبرو توضیح دهید چرا لازم است هنگام کار با عدسی ۱۰۰ از روغن استفاده کنیم؟

(راهنمای شکل: ۳: عدسی ۱۰۰– ۵: نمونه روی لام– ۶: روغن– α_1: بزرگترین زاویه پرتویی که می تواند وارد عدسی شود، در هنگام عدم استفاده از روغن– α_2 : با روغن)

ضریب شکست روغن با شیشه برابر است در نتیجه پرتو های کمتری دچار شکست و بازتاب کلی می شوند بنابرین وضوح تصویر بیشتر خواهد شد و راحتتر اجزای ریز را تفکیک خواهیم کرد.

اقدام تکنیکی-ابتدا عدسی ۴۰ را تنظیم کنید و بعد تصویر عدسی ۱۰۰ را بدون استفاده از روغن مشاهده کنید. سپس دوباره به عدسی چهل بازگردید و از تنظیم بودن اطمینان حاصل کنید. سپس مانند شکل روبرو در فاصله تعویض عدسی ۴۰ با ۱۰۰، روغن بزنید و سپس به عدسی ۱۰۰ منتقل شوید.

نکات خیلی مهم

۱– عدسی ۴۰ روغنی نشود.

۲–در پایان کار عدسی ۱۰۰ را با الکل تمیز شود.

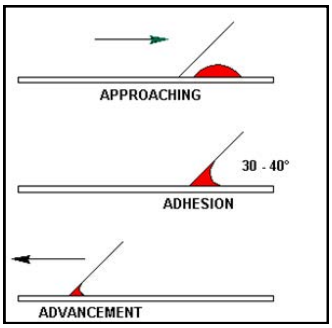
الف-آز-فلور نرمال

طبق یک باور قدیمی در طب سنتی ایرانی، بهترین درمان برای برونروی و اسهال، کته ماست می باشد. موثر بودن این غذا هم اکنون از لحاظ علمی و با انجام آزمایشات بالینی تایید شده است. با این حال دلیل علمی موثر بودن آن هنوز مشخص نیست. اکثر محققان ماده درمانی اصلی را ماست دانسته اند. در صورتی که باکتری های مفید روده به هر دلیلی از بین بروند و جایشان را باکتری های مضر اشغال کنند یا به هر صورت دیگری فلور نرمال روده به هم بخورد، فرد دچار اسهال می شود. با توجه به این موضوع این محققان در مورد کارکرد ماست و دلیل موثر بودن آن فرضیات زیر را مطرح کرده اند:

۱– اینکه باکتری های مفیدی در ماست وجود دارند که جایگزین باکتری های مضر روده می شوند

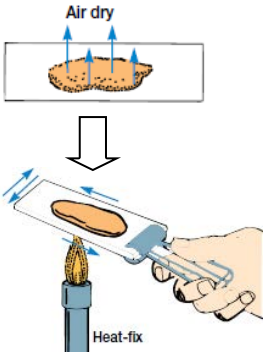
۲–اینکه مواد غذایی موجود در ماست چنین تاثیری می گذارد

طراحی آزمایش- با طراحی آزمایشات مناسب و انجام بررسی های اولیه، در مورد صحت فرضیات بالا نظر دهید و دلیل احتمالی موثر بودن ماست را مشخص کنید.



وسایل و تجهیزات: میکروسکوپ، سانتریفیوژ، سافرانین، چراغ بونزن، سواپ

اطلاعات:



۱. با انجام سانتریفیوژ می توان اجزای موجود در یک محلول را بر اساس اندازه تفکیک کرد.

۲. اسمیر گرفتن و پخش کردن نمونه های غلیظ و متراکم بر روی لام، برای گرفتن یک تصویر میکروسکوپی مناسب، لازم و ضروریست. برای تهیه یک اسمیر خوب مقدار کمی نمونه بر میداریم و با کمک یک لام دیگر آنرا روی لام پخش می کنیم.

۳. با انجام رنگ آمیزی می توان ساختار های میکروسکوپی موجود در نمونه را به دلیل ایجاد کنتراست به راحتی مشاهده کرد.

۴. برای جلوگیری از شسته شدن نمونه از روی لام در حین رنگ آمیزی، می توان از شعله استفاده کرد، به این صورت که بعد از خشک شدن نمونه روی لام در نتیجه تبخیر(در هوای آزاد یا روی هات پلیت)، با حرارت دادن، نمونه را به لام چسباند.

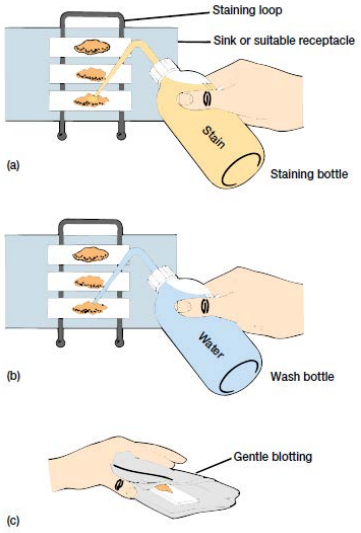
۵. برای انجام رنگ آمیزی باید به مدت یک دقیقه رنگ روی نمونه بماند و سپس لام با آب شست و شو شود تا رنگ اضافه خارج شود.

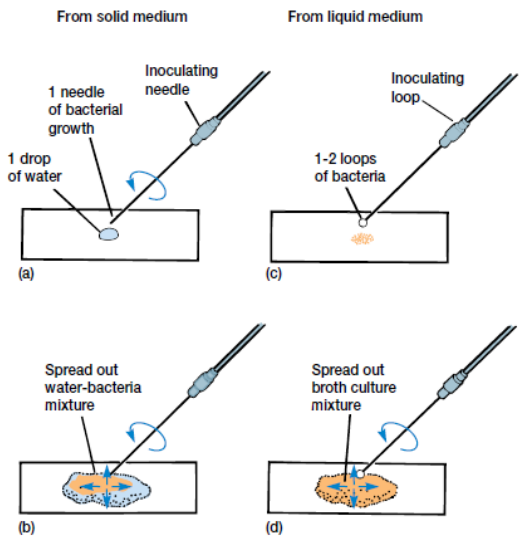
تکنیک-رنگ آمیزی ساده و تهیه اسمیر با فیلدوپلاتین

۱. لوازم مورد نیاز: فیلدوپلاتین، ظرف رنگ آمیزی، پیپت(آب فشان)، ظرف حاوی ساولن

۲. به دلیل لود(حجم) بالای باکتری، فیلدوپلاتین های آغشته شده به باکتری را روی شعله بسوزانید، همچنین لام های آلوده را در انتها درون ظرف ساولن بیاندازید.

۳. تصویر سمت راست مربوط به تهیه اسمیر از باکتری محیط کشت مایع یا جامد و تصویر سمت چپ مربوط به رنگ آمیزی می باشد.





پ-آز-بار دیواره باکتری

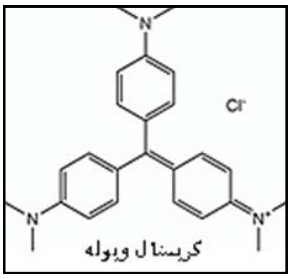
اقدام-با انجام رنگ آمیزی و تهیه لام های مناسب تعیین کنیدکه بار کلی باکتری هایی که در اختیار دارید، از لحاظ فیزیکی چیست؟ مثبت یا منفی؟

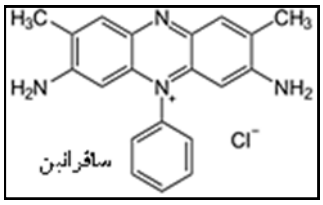
وسایل و تجهیزات: ظرف مخصوص رنگ آمیزی، ۳ نوع رنگ، میکروسکوپ، فیلدوپلاتین

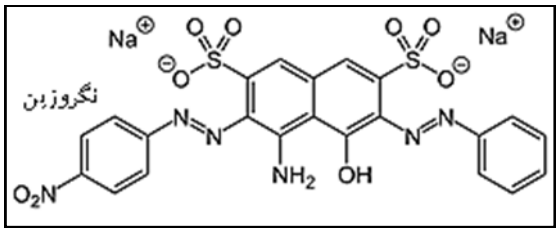
رنگ۱- کریستال ویوله: رنگی بازی است.

رنگ۲-سافرانین: رنگی بازی است.

رنگ۳-نگروزین: رنگی اسیدی است.







پاسخ- با دیواره باکتری ها منفی است زیرا رنگی با بار منفی و اسیدی(نگروزین) را دفع می کند و رنگ های بازی و دارای بار مثبت را جذب می کند.

جمع بندی

رنگ آمیزی منفی و مثبت

- رنگ های بازی را پس از گرفتن اسمیر و رنگ های اسیدی را پیش از گرفتن اسمیر به نمونه باکتریایی روی لام اضافه می کنند.
- بعد از انجام هرگونه رنگ آمیزی با رنگ های بازی شست و شو با آب الزامی است. رنگ های اسیدی نیاز به شست و شو ندارند.

سوالات-

در کدام رنگ آمیزی شکل طبیعی باکتری حفظ می شود؟ چرا؟

در رنگ آمیزی منفی که زمینه رنگ می شود و سلول ها بی رنگ اند شکل طبیعی حفظ می شود زیرا مرحله حرارت دهی را نداریم

چرا بعد از انجام هرگونه رنگ آمیزی با رنگ های بازی شست و شو با آب الزامی است؟ چرا در رنگ آمیزی اسیدی از آب و شعله استفاده نمی کنیم؟ زیرا قرار نیست رنگ اضافه را شست و شو دهیم بلکه رنگ اضافه در زمینه باقی می ماند و سلول های بی رنگ با آن کنتراست خواهند داشت.

ج-آز-رنگ آمیزی گرم

اقدام- نمونه های رنگ شده زیر را تهیه کنید و بعد از یادداشت کردن مشاهدات خود در جدول، به سوال زیر پاسخ دهید.

	باکتری A	باکتری B
سافرانین.		
کریستال ویوله		
سافرانین+اسید الکل		
کریستال+اسید الکل		
سافرانین+لوگول+اسید الکل		
کریستال+لوگول+اسید الکل		

نکات تکنیکی

۱-چند قطره اسید الکل را به طور عمودی روی لام بچکانید.

۲-لوگول مثل بقیه رنگ ها باید به مدت یک دقیقه روی لام باقی بماند.

سوال- برای یک رنگ آمیزی افتراقی چگونه و با چه ترتیبی از این دو رنگ استفاده کنیم؟

کریستال-شست و شو-لوگول- شست وشو- اسید الکل یا رنگبر- سافرانین-شست و شو- این روش رنگ آ«یزی گرم است و در آن گرم مثبت ها بنفش و گرم منفی ها قرمز رنگ می شوند- زیرا لوگول باعث می شود تا کریستال ویوله از دیواره باکتری های گرم مثبت(فقط همین باکتری ها) شسته نشود.

الف-تحقیق امتیازی

گروه دیگری از محققان ادعای دیگری را مطرح کرده اند و معتقدند برنج موجود در کته ماست نقش اساسی تری ایفا می کند. ادعای آنها به صورت زیر می باشد:

((سلولز موجود در برنج در سیستم گوارشی انسان تجزیه نمی شود و باعث سفت شدن محتویات روده و جلوگیری از اسهال می شود.))

این ادعا را از حیث منطقی و علمی بودن پی گیری کنید و نتیجه افکار و بررسی های خود را در چند خط بنویسید.

ب-تحقیق امتیازی

آیا باکتری های شیر و ماست یکسان هستند؟ آیا باکتری ها سبب تبدیل شیر به ماست می شوند؟

ج-تحقیق امتیازی

مهمترین تفاوت ساختار دیواره باکتری های گرم منفی و گرم مثبت چیست؟

تکنیک های استریل کردن

استریل کردن یعنی تمام باکتری های یک جسم را کشتن و نابود کردن.

سوال-هرکدام از موارد زیر را چگونه استریل کنیم؟

-ارلن داری آب مقطر- درش را پنبه می گذاریم و فویل می پیچیم و بعد اتوکلاو

-پیپت-فویل پیچ می کنیم و اوون

-فیلدوپلاتین- نوک سعله

-محیط های کشت- اتوکلاو

-میز آزمایشگاه- پرتو دهی با UV و الکل هفتاد- صددرصد استریل نمی شود ولی خوب است

-هوا- پرتودهی-گازهای استریل کننده مثل کلر -اتیلن اکساید

-پلیت ها و سرنگ های تزریق پلاستیکی- پرتودهی با گاما یا با گازهای استریل کننده

الف-آز-شوینده ها

شوینده های تجاری موادی صابونی هستند که لکه های چربی و مواد غذایی دیگر را در آب حل می کنند و موجب پاک سازی و تمیز شدن می شوند. با این حال تنها چیزی که از این شوینده ها انتظار می رود پاک سازی صرف نیست، باکتری کش بودن آنها نیز در بسیاری از اوقات مد نظر هستند. این موضوع به طور خاص در رابطه با مایع دستشویی مصداق پیدا می کند، چراکه در صورتی که آنتی باکتریال نباشند تنها میتوانند با کمک به شسته شدن باکتری ها از سطح پوست موجب پاکسازی شوند و باکتری های باقی مانده در سطح پوست بعدا باعث ایجاد بیماری شوند، در صورتی که اگر باکتری کش باشند باعث می شوند بسیاری از باکتری هایی که لابه لای چین های پوست هستند نیز در جا کشته شوند. این موضوع راجع به مایع ظرفشویی نیز صحیح است...

جهت کنترل کیفیت شوینده های موجود در بازار هر ساله بررسی های کیفی انجام می شود. یکی از این بررسی ها راجع به قدرت باکتری کش بودن این شوینده هاست. جهت بررسی این خصیصه نیاز است تا آزمایشات دقیق و حساب شده ای انجام شود. وظیفه ی شما در اداره کنترل استاندارد، طراحی آزمایش مناسبی جهت این بررسی هاست! آزمایشاتی که طراحی می کنید باید با امکانات آزمایشگاه مدرسه قابل انجام باشد.

وسایل: پلیت های حاوی محیط کشت نوترینت آگار استریل شده- سواپ های استریل، فیلدوپلاتین، انکوباتور، چراغ بونزن، گاز استریل، شوینده ها و ...

مسیر آزمایش را طوری بچینید که باکتری های محیطی در نتایج تداخل نکنند(مسیر کار استریل باشد) و نتایج را برای یک شوینده غیر باکتری کش، یک شوینده باکتری کش و یک شوینده استریل کننده پیش بینی کنید.

تذکر نهایی: تاثیر قدرت شوینده را بر روی یک جسم مثل میز آزمایشگاه یا روی دست خودتان بیازمایید.

ب-آز- محیط کشت ریزی استریل

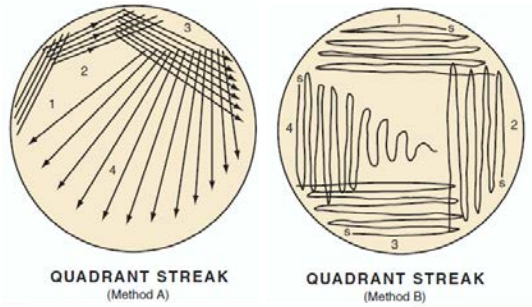
دو لوله ی آزمایش استریل شده در اتوکلاو، در اختیارتان قرار داده می شود، یکی ژلاتین و دیگری آگار دارد، برای ریختن آنها در پلیت لازم است تا ذوبشان کنید. بعد از انجام این کار، جواب سوال زیر را پیدا کنید و محیط کشت آگار دار را به طور استریل درون پلیت بریزید.

سوال- ژله در چند درجه ذوب میشود و در چند درجه منجمد می شود؟ آگار چطور؟

ژله– ۱۵ انجماد–۲۵ ذوب

آگار–۴۰ انجماد–۸۰ ذوب

تکنیک کلنی تک گرفتن به طور استریل با روش streak plate



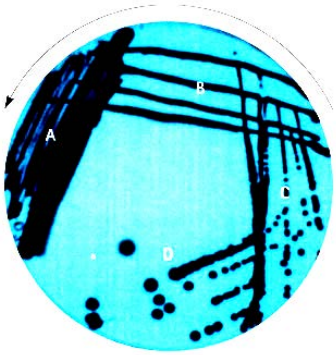
اقدام تکنیکی۱- یک پلیت شیشه ای پر از آب را در دست چپ بگیرید و درش را با انگشت شصت باز و بسته کنید.

اقدام تکنیکی۲- سرد کردن فیلدوپلاتین استریل شده با شعله.

اقدام تکنیکی۳- با فیلدوپلاتین سطح محیط کشت را تی بکشید! بدون اینکه محیط کشت را پاره کنید.

سوال- چرا در روش زیر به کلنی تک می رسیم؟

زیرا باکتریها را تا حد ممکن روی سطح پخش می کنیم و در نتیجه باکتری ها از هم جدا می افتند و رشد می کنند و کلنی های مستقلی ایجاد می کنند.



ج-آز-جداسازی باکتری های یک نمونه محیطی

یک نمونه ی محیطی در اختیارتان قرار داده شده است. درون آن چندین نوع باکتری وجود دارد. با به کار گیری تکنیک استریک پلیت باکتری های آن را از هم جدا کنید.

هر گروه دو پلیت تهیه کند.

یکی از پلیت ها را در انکوباتور ۳۷ درجه و دیگری را بیرون از انکوباتور در دمای عادی قرار دهید.

در اولین فرصت به آزمایشگاه بیایید و پلیت هایی که رشدشان کامل شده را در یخچال قرار دهید. در این مرحله به سوال زیر پاسخ دهید:

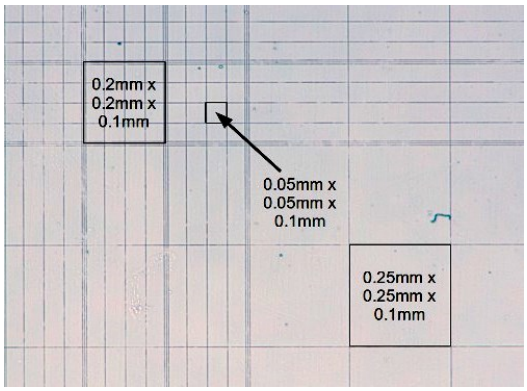
سوال–چند نوع کلنی تک مختلف در هر پلیت رشد کرده اند؟ آیا این تعداد واقعی انواع باکتری هایی است که درون نمونه محیطی وجود داشته است؟

خیر زیرا همه باکتری ها قابلیت کشت پیدا کردن روی محیط کشت را ندارند و پارامتر های زیاد و حتی ناشناخته ای مانع این موضوع می شود.

تراکم سنجی با لام نئوبار

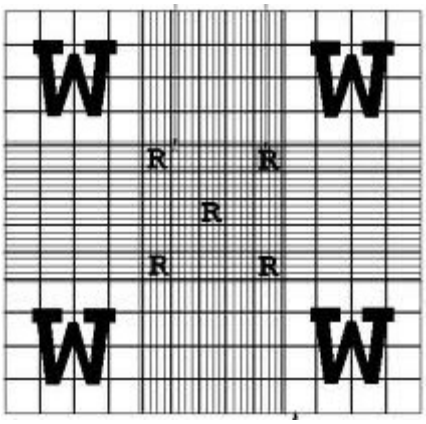
اقدام تکنیکی- لام شمارش را زیر میکروسکوپ گذاشته و صفحه مدرج آن را بیابید.

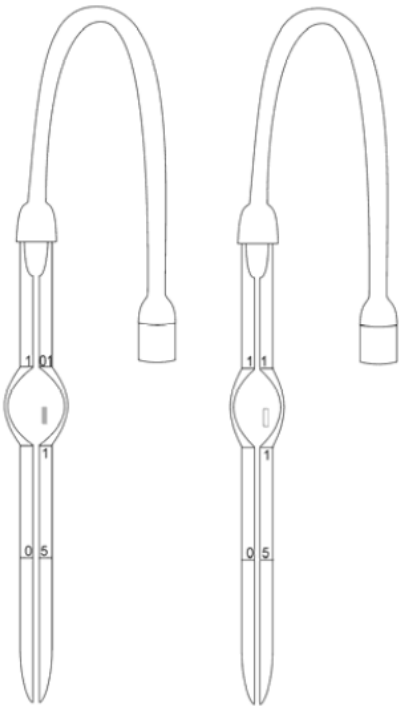
سوال۱- با توجه به شکل روبرو و آنچه زیر میکروسکوپ دیده اید، برای تراکم سنجی حجمی چه کار هایی باید انجام شود؟ در مورد هریک از موارد زیر در مسیر پیشنهادی خود نظر دهید.



- اندازه گیری حجم(اندازه ها روی لام نوشته شده است)
- اندازه گیری تعداد و یکنواخت بودن (برای سلول هایی که روی خطوط اند، چه کار کنیم؟)
- آمار گیری

سوال۲- در تراکم سنجی حجمی موارد زیر، استفاده از مربع های بزرگ را پیشنهاد می کنید یا کوچک؟



- گلبول های قرمز خون
- گلبول های سفید خون
- باکتری

اقدام تکنیکی۲- با کمک ملانژور سفید و قرمز مقداری خون رقیق شده، تهیه کنید. ابتدا تا درجه ۰.۵ میکرو لیتر، خون را به داخل ملانژور کشیده و سپس تا درجه ۱۱ میکرو لیتر، برای ملانژور سفید و ۱۰۱ میکرو لیتر، برای ملانژور قرمز، محلول رقیق کننده را به داخل بکشید. سپس بهم بزنید تا خون یکنواختی تهیه شود. لوله های لاستیکی برای ایجاد مکش هستند.