

**КОНКУРС ЮНЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
НОМИНАЦИЯ: «ЮНЫЕ ИССЛЕДОВАТЕЛИ»**

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗДУХА
ШКОЛЬНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ
на примере школы № 53 г. Сочи**



Выполнила: Пингус Дарья Романовна,
ученица 7 «А» класса МОУ СОШ № 53 г. Сочи.

Руководитель: Серебрякова Наталья Николаевна,
учитель биологии и географии МОУ СОШ № 53

г. Сочи, 2017-2018г.г.

Содержание	
Введение	стр. 3
Глава 1. Обзор источников информации по теме исследования	стр. 4
1.1. Микрофлора воздуха закрытых помещений	
1.2. Распространение болезнетворных микроорганизмов через воздух	
1.3. Признаки колоний микроорганизмов	
Глава 2. Методы и материалы эксперимента	стр. 6
2.1. Приготовление искусственной агаризированной питательной среды	
2.2. Приготовление посуды	
2.3. Культивирование микроорганизмов	
2.4. Санитарная оценка воздуха школьных помещений	
2.5. Влияние противомикробных препаратов на рост и развитие микроорганизмов	
Глава 3. Результаты исследования.	стр. 8
Заключение	стр.14
Литература	стр.15
Приложение	стр.16

Введение

Здоровье человека напрямую зависит от окружающей среды, и в первую очередь от воздуха, которым он дышит. Качество воздуха влияет на жизнедеятельность человеческого организма, его работоспособность и общее самочувствие. Высокая работоспособность учащихся сохраняется длительное время, если учебная и производственная деятельность протекает при благоприятных микроклиматических условиях и световом режиме помещения, правильном подборе мебели. Особое внимание нужно уделять состоянию воздуха в школе. Повышенная температура и влажность, бактериальная загрязненность, повышенное содержание органических веществ, пыли способствуют нарастанию утомления и снижению работоспособности учащихся. Многочисленные бактериологические анализы воздуха установили нахождение микроорганизмов, как в атмосферном воздухе, так и в воздухе закрытых помещений. Микрофлора организмов очень разнообразна, а воздух является для них естественным путем распространения. [9,10,5]. Учитывая этот факт, влиянию микроорганизмов мы подвергаемся на улице, дома и на рабочих местах, а взаимосвязь между чистотой воздуха и здоровьем населения очевидна. В связи с этим, проблема качества воздуха школьных помещений, в которых мы проводим по 6-7 часов в день, является для нас **актуальной**.

Цель работы: на основе микробиологических исследований определить степень загрязнения воздуха и динамику содержания микроорганизмов закрытых помещений школы.

Для реализации поставленной цели нам необходимо решить ряд **задач**:

- 1.изучить различные источники информации по рассматриваемой проблеме;
- 2.познакомиться с общими положениями и методикой работы с микроорганизмами;
3. провести наблюдения за процессом роста бактериальных колоний;
4. провести анализ микрофлоры воздуха по количеству колоний;
5. оценить эффективность противомикробных средств на рост микроорганизмов.

Возникла гипотеза: мы предполагаем, что воздух различных помещений в течение дня подвергается загрязнению, в том числе и микробному, причем количество микроорганизмов разное.

Объект исследования: атмосферный воздух в разных помещениях школы.

Предмет исследования: микрофлора воздуха школьных помещений.

Методы исследования:

- теоретический;
- экспериментальный - опыты, наблюдения, сравнения;
- математический - проведение расчетов.

Оборудование: чашки Петри с плотной питательной средой, термометр, лупа, линейка, фотоаппарат.

Глава 1. Обзор источников информации по теме исследования

1.1. Микрофлора воздуха закрытых помещений.

Воздух кажется нам совершенно прозрачным. Как будто в нем нет никаких твердых частиц, кроме невидимых молекул газов. Но так ли это на самом деле?

Закроем ставни или опустим шторы на окнах в комнате, оставив лишь едва заметную щель. Сквозь эту щель тоненькой струей проникнут солнечные лучи. И тотчас в светлой полосе мы увидим миллионы танцующих пылинок. Тут и крупинки сажи, и крохотные частички земли, обрывки растительной ткани, пыльца растений. На этих пылинках, точно на воздушных кораблицах, странствуют невидимые путешественники — мельчайшие организмы: различные бактерии, споры дрожжевых и плесневых грибов. В течение суток поверхность наших органов дыхания омывает около 10—11 тысяч литров воздуха. С этим потоком в рот и в нос попадают десятки и сотни тысяч микроскопических существ и их зачатков сайт [de-ussr/ru]

Воздух является неблагоприятной средой для развития микроорганизмов, так как в нем не содержатся или содержится очень мало питательных веществ, необходимых для размножения микроорганизмов. Кроме того, на них сильнее действуют такие неблагоприятные факторы, как высушивание и ультрафиолетовые лучи солнечного света. Степень загрязненности воздуха зависит от очень многих факторов: время года (зима – лето), городская или сельская местность, равнина или горы, воздух открытых пространств или закрытых помещений.

Микрофлора воздуха представлена в основном кокками (стафилококки, стрептококки), сапрофитными бактериями, грибами. В воздухе закрытых помещений накапливается микрофлора, выделяемая от человека (дыхательные пути). Патогенная микрофлора попадает в воздух при кашле, чихании (при акте чихания в воздух попадает 10^4 – 10^6 мт.). В виде аэрозолей в воздухе могут быть возбудители ОРЗ, гриппа, дифтерии, коклюша, туберкулеза, кори, легочной чумы и др. Бактерии в виде высушенных частиц размером от 1 до 100 мкм могут быть в пыли.[1,8].

Микрофлора воздуха закрытых помещений более однообразна и относительно стабильна. Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки человека. Уровень микробного загрязнения зависит главным образом от плотности заселения, активности движения людей, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других условий. Так, регулярные проветривания и влажная уборка помещений снижает обсеменённость воздуха в 30 раз. Самоочищения воздуха закрытых помещений не происходит [2,4,5].

1.2. Распространение болезнетворных микроорганизмов через воздух.

Патогенные микроорганизмы попадают в воздух из мокроты и слюны при кашле, разговоре и чихании. Даже здоровый человек при каждом акте чихания выбрасывает множество капелек жидкости, внутри которых содержатся микроорганизмы, выделяет до 10 000-20 000 микробных тел, а больной — иногда во много раз больше, Особенно важно, что эти мельчайшие капельки могут часами удерживаться в воздухе во взвешенном состоянии, т. е. образуют стойкие аэрозоли. В этих капельках за счет влаги микроорганизмы выживают дольше. Таким воздушно-капельным способом происходит заражение многими острыми респираторными заболеваниями, в том числе гриппом и корью.

Помимо капельного способа, распространение патогенных микробов через воздух может осуществляться «пылевым» путем. Находясь в помещениях или на открытом воздухе, мы всегда окружены невидимым облаком пыли, а именно пылевая частица, как правило, является благоприятной средой для жизнедеятельности микроорганизмов и их колоний. Находящиеся в выделениях больных (мокроте, слизи и т. п.) микроорганизмы окружены белковым субстратом, поэтому они более устойчивы к высыханию и другим факторам. Когда такие капли высыхают, они превращаются в своеобразную бактериальную пыль (внутри белкового субстрата сохраняются и выживают многие патогенные бактерии). Скорость переноса бактериальной пыли зависит от интенсивности перемещения воздуха. Пылевой путь играет особенно важную роль в эпидемиологии туберкулеза.[6]

1.3.Признаки колоний микроорганизмов.

Колония— изолированные скопления клеток, образующиеся на поверхности плотных сред. Важные признаки колоний — их размеры и форма. Колонии могут быть большими или мелкими. Величина колоний, размеры колоний – признак, позволяющий различать различные виды, роды и даже типы бактерий. Колонии бактерий могут быть плоскими, приподнятыми, выпуклыми, иметь вдавленный или приподнятый центр.



Рис.1. Формы колоний бактерий.(сайт <https://infopedia.su>)

Другой важный признак – форма краёв колоний. При изучении формы колоний учитывают характер её поверхности: матовый, блестящий, гладкий или шероховатый. Края колоний могут быть ровными, волнистыми, дольчатыми (глубоко изрезанными), зубчатыми, эрозированными, бахромчатыми и т.д.[3]



Рис. 2. Формы краев колоний бактерий

Глава 2. Методы и материалы эксперимента

Исследование микрофлоры воздуха проводилось в октябре 2017 года в помещениях МБОУ СОШ №53 г. Сочи и включало в себя ряд этапов:

1. Приготовление искусственной питательной среды и посуды.
2. Выращивание микроорганизмов методом осаждения из воздуха.
3. Количественный расчет микроорганизмов в воздухе.
4. Проведение статистической обработки материала и анализ полученных данных

2.1. Приготовление искусственной агаризированной питательной среды

Агар – это желеобразная субстанция, используемая для выращивания культур бактерий. Производят агар из красных и бурых водорослей, он представляет собой идеальную среду для разных видов микроорганизмов.

Потребуется

- Мясной фарш (200 г);
- вода (0,5 л);
- пакетик агара

Приготовление среды для бактерий: фарш в эмалированной кастрюле залила водой (0,5 л) и оставила на 24 часа при температуре 7 гр. С. Затем фарш кипятила 30 минут. Отфильтровала. Добавила в тёплый бульон агар из расчёта $\frac{1}{2}$ чайной ложки (1,2 г) на каждые $\frac{1}{4}$ стакана (60 мл жидкости). Это количество подходит для одной чашки Петри.

Разогрела смесь, довела до кипения, пока весь порошок агара не растворился. Следила, чтобы раствор агара не «убежал». Питательная среда считается готовой, когда порошок полностью растворится, а сама жидкость прозрачная.

2.2. Приготовление посуды.

Чашки Петри должны быть стерильными внутри! Хорошо промыла горячей водой с содой, окунула в кипяток, положила сушиться в духовку (20 минут). Постепенно нагрела её до

температуры 150° . Духовку выключила и дала остыть чашкам Петри. Залила горячую питательную смесь в нижнюю половинку тонким слоем, лишь слегка покрывающим дно, и как можно быстрее закрыла ёмкость верхней чашкой. Чтобы не занести бактерии из воздуха, проделывала все операции возле горячей газовой горелки, прокаливая посуду. Закрытые чашки Петри поместила в холодильник. На сутки, пока среда стала похожей на желе.

2.3. Культивирование микроорганизмов.

Для проведения своего исследования мы выбрали следующие помещения:

- кабинет географии (до начала уроков первой смены и после шести уроков первой смены), холл первого этажа;
- медицинский кабинет;
- столовая;
- контроль (образец без посева бактерий).

Изучив литературные и интернет-источники, мы узнали, что микробы имеют свойство размножаться при попадании в питательную среду, причем из одного микроорганизма, при определенных условиях, вырастает одна колония, в которой могут быть многие тысячи микробов. Такая колония хорошо видна невооруженным глазом. Процесс роста колонии микроорганизмов называется инкубацией [6,7]

Для определения наличия в воздухе микроорганизмов я использовала метод выращивания их на искусственных средах, производя посев непосредственно на питательную среду (седиментационный метод Коха). Посев методом Коха основан на способности микроорганизмов в силу тяжести и под влиянием движения воздуха вместе с частицами пыли и капельками аэрозоля оседать на поверхности питательной среды. Для посева чашку Петри открывают в помещении на 15 минут. Затем чашки закрывают, подписывают и помещают в теплое и темное место. На 4-6 дней, чтобы бактерии могли спокойно расти. Оптимальная температура на этом этапе - между 25° - 30° С.

Дать бактериям минимум 4-6 дней на рост. За это время культура разовьётся достаточно хорошо.

2.4. Санитарная оценка воздуха школьных помещений.

Санитарную оценку воздуха жилых и производственных помещений осуществляют по общему микробному числу (ОМЧ). В воздухе производственных помещений определяют ОМЧ в единице объема воздуха по методу Омелянского – **седиментационный метод**. Метод основан на способности микроорганизмов под влиянием силы тяжести оседать, падать вниз. На площадь чашки Петри 100 см^2 в течение 5 минут оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 литрах воздуха.

На основании этого правила им выведена формула для расчета количества микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Зная площадь чашки Петри, ($S=\pi r^2$, где $\pi =3,14$; r – радиус чашки, см.) рассчитываем число микробов в 100 кубических см (10 литрах) воздуха, исходя из количества колоний, по формуле:

$$X= 100*N/ S \text{ (единиц/ дм}^3\text{)}$$

где N- количество выросших колоний

S – площадь чашки Петри.

Соответственно, в одном кубическом метре воздуха их будет в 100 раз больше. [2]

Срок экспозиции зависит от предполагаемого воздуха, чашки выдерживают открытыми от 5 до 40 минут.

Ход работы:

1. Маркируем чашки Петри с помощью стикеров в следующем порядке:

№ 1- кабинет географии после уроков первой смены;

№ 2- столовая;

№ 3 – контроль;

№ 4- холл первого этажа;

№ 5- медицинский кабинет;

№ 6- кабинет географии перед началом занятий первой смены.

2. Чашки Петри оставляем открытыми в разных помещениях на 15 минут, после чего закрываем их крышками.

3. Для инкубации микроорганизмов чашки Петри с пробами поместили на кухне в тёмное, тёплое место на шкаф, накрыв газетой и полотенцем. Оставила на 8 дней.

4. Наблюдаем за ростом микроорганизмов в течении 8 суток, по их окончании подсчитываем количество колоний.

2.5. Влияние противомикробных препаратов на рост и развитие микроорганизмов.

Заключительным этапом в исследование был эксперимент по изучению эффективности антибактериальных агентов. Добавив к культуре бактерий различные моющие антибактериальные средства. Я добавляла (соблюдала технику безопасности) с помощью пипетки в центр каждой чашки различные моющие средства и антибиотик.

в чашку Петри №1 - Domestos

в чашку Петри №2 - Mr. Proper

в чашку Петри №4 - Антиб. мыло AURAantibacterial

в чашку Петри №5- жидкое мыло lafresh

Глава 3. Результаты исследования.

Описание колоний микроорганизмов, выросших на питательной среде, проводят по следующим показателям: форма (округлая, неправильная); поверхность (гладкая, блестящая, шероховатая, сухая, складчатая); край (ровный, волнистый, городчатый); цвет.

Полученные экспериментальные данные показали, что: меньше всего колоний выросло в чашке под №6 (кабинет географии перед началом уроков) (Фото. 2). Данный кабинет был после влажной уборки, после интенсивного проветривания, без учащихся. (Время эксперимента до 7.45-8.00 часов утра). Так же количество микроорганизмов зависит от температуры воздуха - при более низких температурах воздуха уровень микробной загрязненности меньше, прохладный воздух из окна охладил воздух в классе до $+21^{\circ}\text{C}$. Мы можем предположить, что в этот период воздух наиболее чистый.

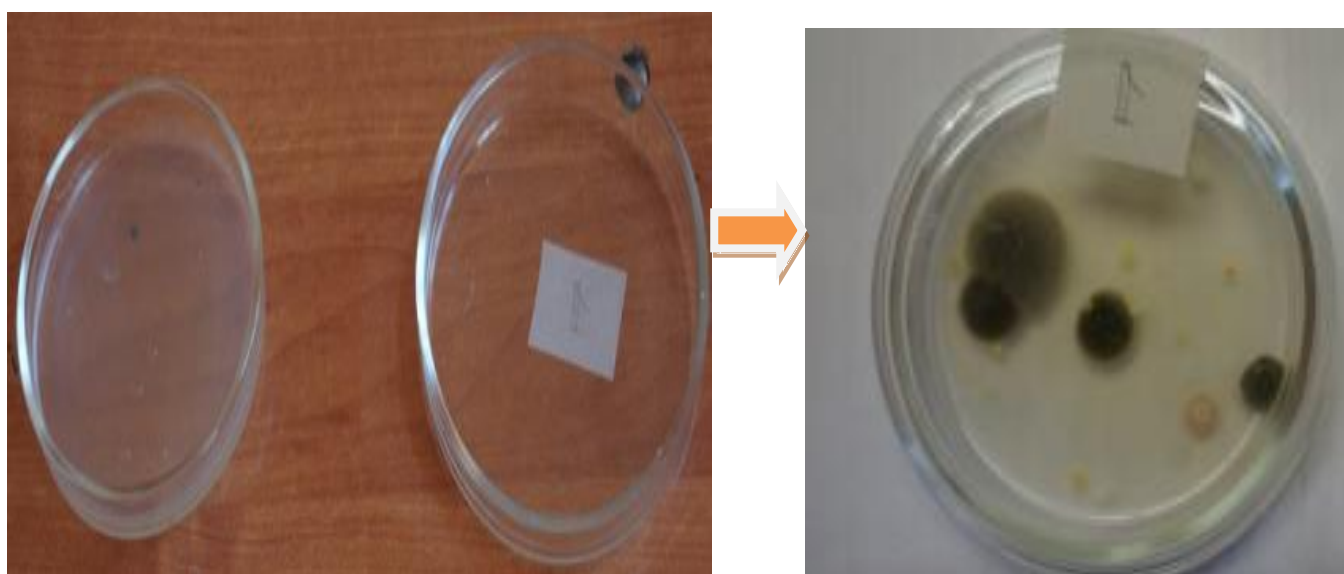


Фото. 1. Кабинет географии после шести уроков первой смены.



Фото. 2. Кабинет географии перед началом занятий первой смены

В течение дня количество микроорганизмов в воздухе значительно увеличилось: в кабинете географии (Фото. 1). В чашках №2 и №4 наблюдается разнообразие и интенсивность развития микрофлоры. Столовая и холл первого этажа одни из самых посещаемых помещений.

Так же интересные данные получились в пробе воздуха из медицинского кабинета, формы, внешний вид и количество микроорганизмов отличаются от других проб. Рис. 5.



Фото. 3. Столовая

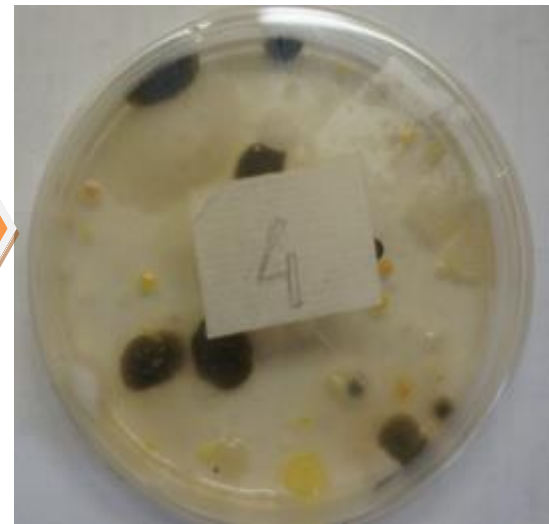
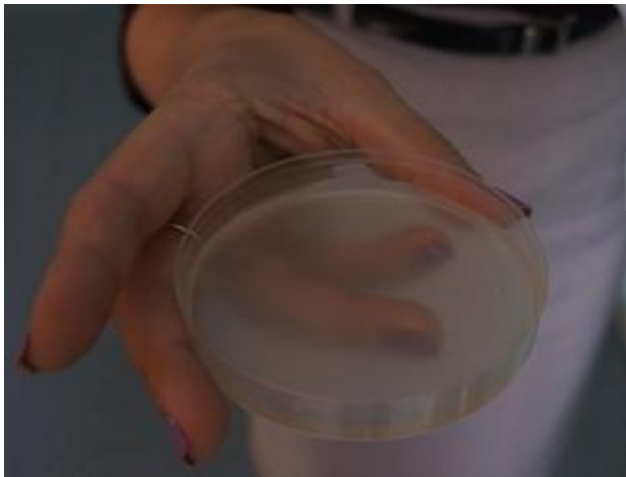


Фото. 4. Холл. 1 этаж

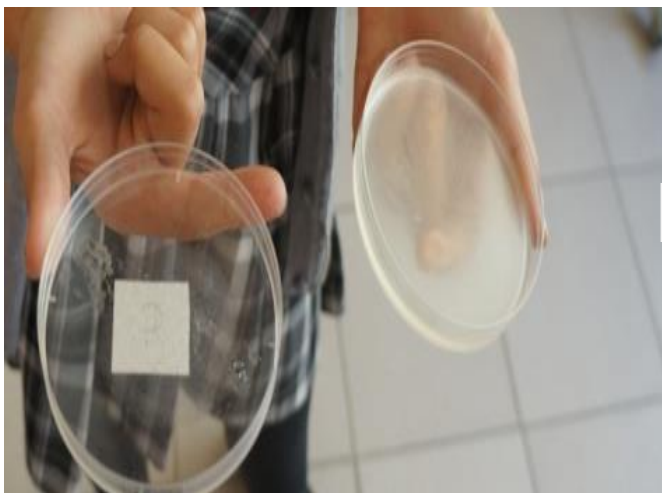


Фото. 4. Медицинский кабинет

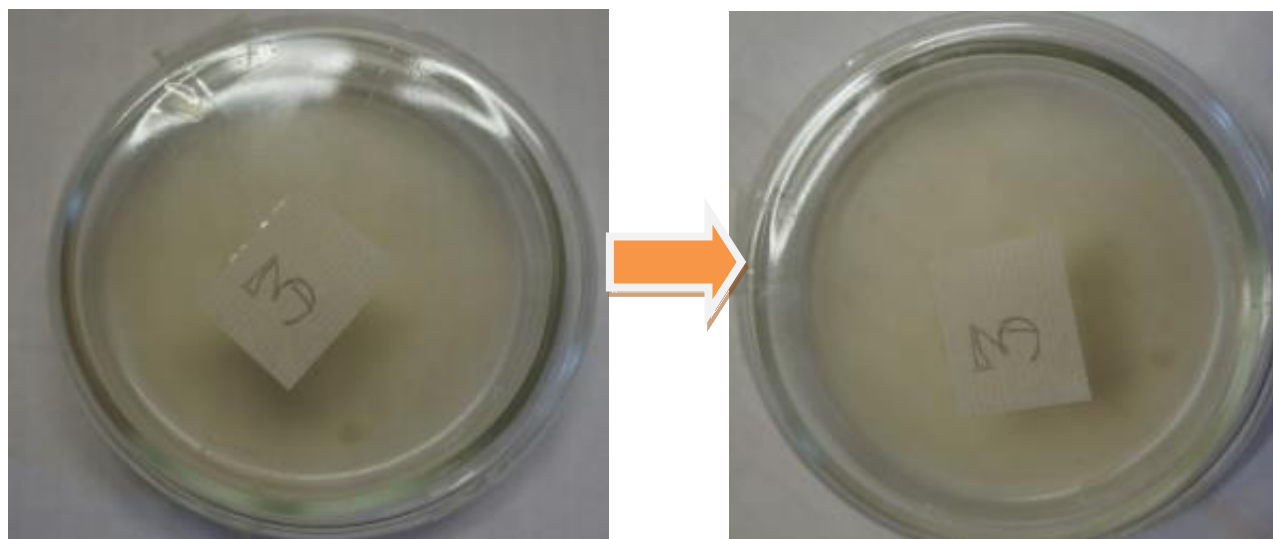


Фото. 5. Контроль.

Из литературных источников и источников Интернет известно, что постоянно в воздухе обнаруживаются пигментообразующие кокки, палочки, дрожжи, грибы, актиномицеты, спороносные бациллы и клостридии и др., т. е. микроорганизмы, устойчивые к свету, высыханию (<http://livescience.ru>).

Анализ окраски микроорганизмов показал, что больше всего колоний желтого цвета, а меньше всего – серого. Так же можно сделать вывод о разнообразии микроорганизмов разных помещениях школы (Табл.1).

Таблица 1. Результаты инкубации микроорганизмов

Помещение	Белые	Желтые	Черные	Серые	Всего
Кабинет географии до уроков	4	6	1	2	13
Кабинет географии после уроков	4	11	4	1	20
Столовая	14	5	2	3	24
Холл	3	20	9	4	36
Медицинский кабинет	2	6	4	7	19
Контроль	-	-	-	-	0
Всего	28	48	20	17	112

Анализируя данные (Табл. 2) по определению количества микроорганизмов в воздухе мы можем еще раз убедиться, что наибольшее количество микроорганизмов в воздухе холла первого этажа микробное число 62, тогда как норма не более 50 (<http://www.myshared.ru>).

Таблица 2. Определение количества микроорганизмов в воздухе.

Помещение	Количество колоний	Площадь чашки Петри	Микробное число воздуха
Кабинет географии до уроков	13	72,35	34,4
Кабинет географии после уроков	20	58,06	17,9
Столовая	24	72,35	33,1
Холл	36	58,06	62,0
Медицинский кабинет	19	58,06	32,7
Контроль	-	-	-

Мне стало интересно, а как различные моющие средства, которые обладают противомикробным действием, влияют на микроорганизмы. В результате я получила следующие данные о взаимодействии микроорганизмов с различными реагентами: микроорганизмы в чашках продолжали расти, но уже менее интенсивно образуя кольцо вокруг места, куда было нанесено моющее средство. Там образовалась «мертвая зона». Фото 5-8

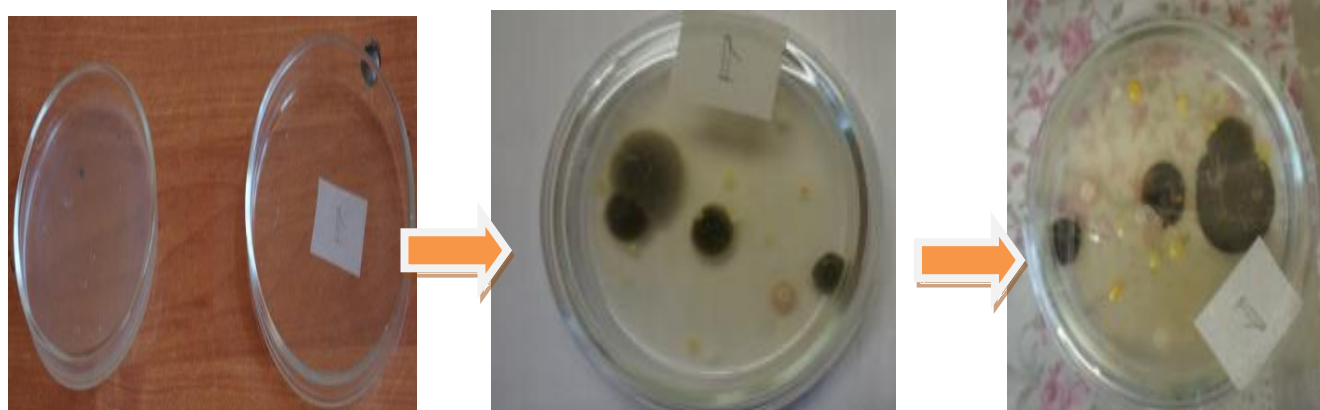


Фото.5 До и после добавления Domestos

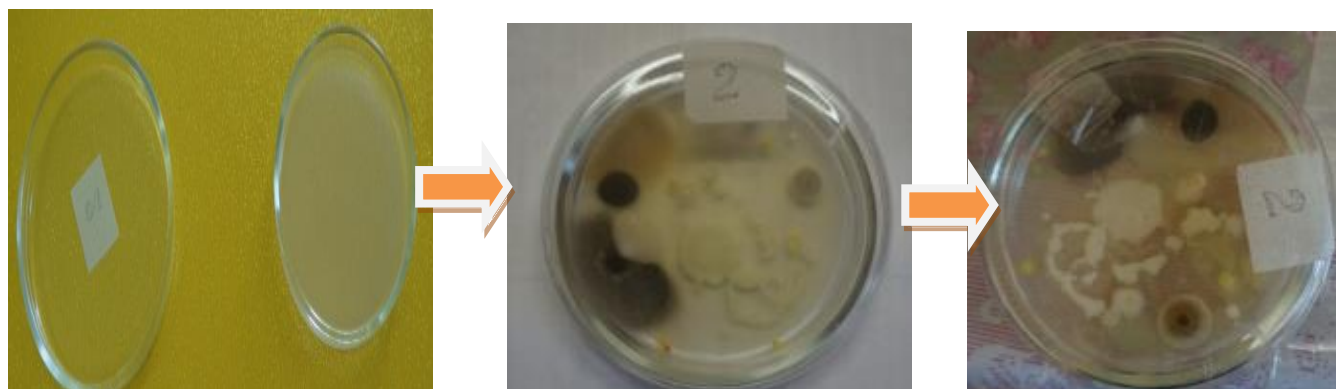


Фото 6. До и после добавления Mr. Proper

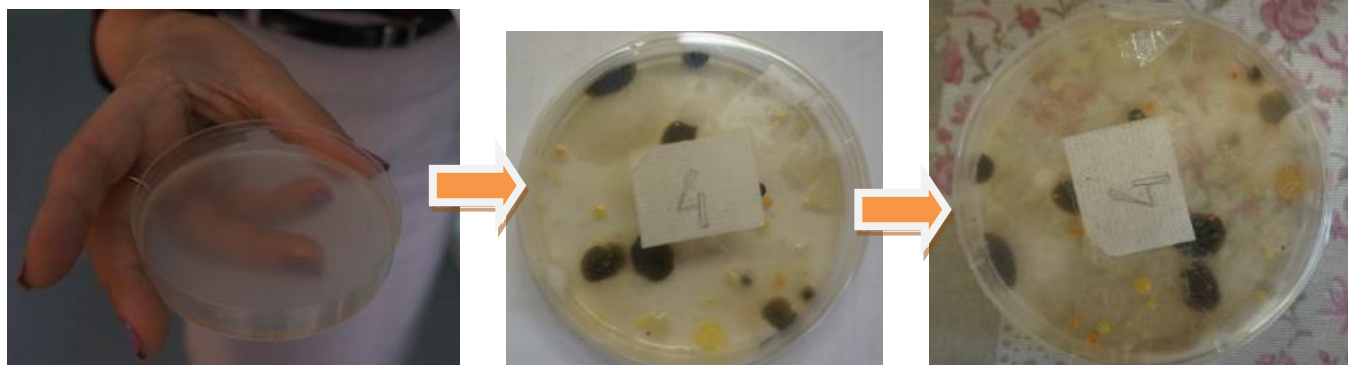


Фото 7. До и после добавления. Антибактериальное мыло AURA antibacterial

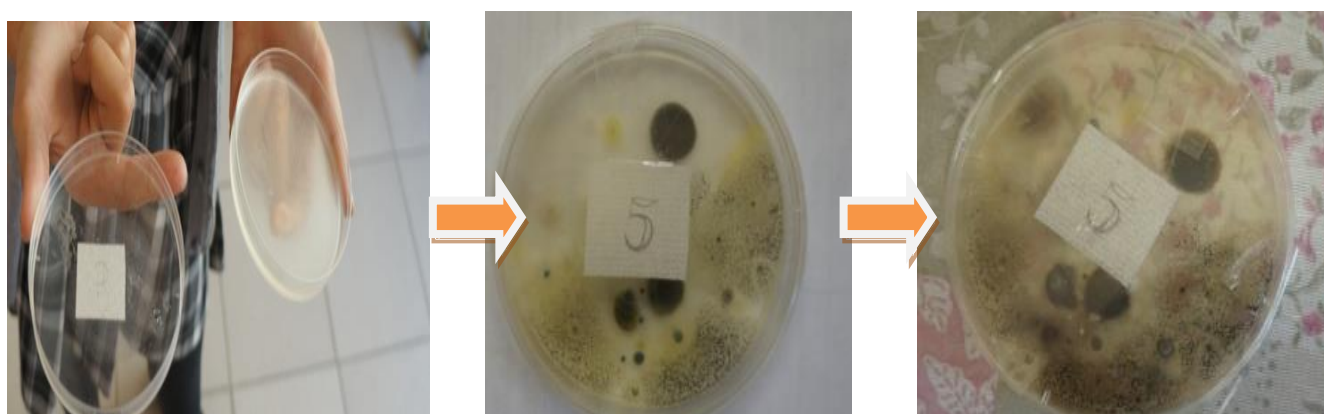


Фото 8. До и после добавления. Жидкое мыло lafresh

Наиболее эффективное, на наш взгляд, средство это Mr. Proper и Domestos. На остальные моющие средства реакция была очень слабая или даже незаметная.

Заключение

Итак, на данном этапе моего исследования исходя из того, что микроорганизмы обильно размножаются в теплой и влажной средах, на остатках пищевых продуктов, на частицах пыли, я могу утверждать, что высокая микробность, выявленная в помещениях, является закономерной. Содержание микроорганизмов в воздухе одних и тех же помещений отличается в разное время учебного дня. Результаты проведенного исследования в целом подтверждают мою гипотезу.

Высокая загрязненность некоторых помещений объясняется большой интенсивностью движения, через них проходят более 1500 людей, и забор воздуха проводили в период между первой и второй сменой. Воздух кабинета географии до начала уроков оказался более чистым по сравнению с другими помещениями, это можно объяснить тем, что произведена влажная уборка и нет скопления людей, а так же кабинет проветривали, что отрицательно влияет на микроорганизмы.

Выводы

В результате проведенных исследований были получены следующие данные: наибольшее количество колоний микроорганизмов выявлено в воздухе холла первого этажа, наименьшее - в классе рано утром до начала занятий. Уровень микробной загрязненности в помещениях кроме холла, не превышает норматива. Не все моющие средства обладают антибактериальным действием.

Рекомендации:

1. Обязать дежурных, под контролем учителей, на переменах открывать форточки.
2. Чаще проводить уборку помещений с применением дезинфицирующих средств.

Вместе с педагогом мы планируем продолжить наше исследование провести сравнительный анализ кабинетов на разных этажах, задействовать спортивный зал в разные периоды времени при наличии дополнительных факторов: 1) проветриваемость помещения, 2) количество людей и интенсивность их передвижения, 3) влияние фитонцидной активности растений на микрофлору школьных помещений.

Освоить метод определения штаммов микроорганизмов.

Так же меня интересует вопрос – СКОЛЬКО МИКРОБОВ У НАС НА РУКАХ?

Список используемой литературы и электронных ресурсов

1. Бакулина Н.А., Краева Э.Л. Микробиология.- М.: Медицина, 1980.- 338 с.
2. Зверев И.Д. Книга для чтения по анатомии, физиологии и гигиене человека. - М.: Просвещение,1989.- 240 с.
3. Гаврикова О.М., Осипа М.В. Лабораторный практикум. Контроль качества продукции и услуг общественного питания. - М.: ПГПУ, 2010. - 80 с.
4. Гусев М. В. Микробиология. М. МГУ, 1992. - 448 с.
5. Мишустин Е.М., Емцев Е.Т. Микробиология. М.: 1987.- 391 с.
6. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. М.: МГУ, 1976.
7. Пименова М.Н., Гречушкина Н.Н., Азова Л.Г. Руководство к практическим занятиям по микробиологии (малый практикум). М.: МГУ, 1971.
8. Федоров М.В. Микробиология. – М.: Гос. Изд-во сельхозлитературы,1960.– 350 с.
9. Федорос Е. И., Нечаева Г.А. Экология в экспериментах: учебное пособие для учащихся 10-11 классов общеобразовательных учреждений.- М.: Вентана- Граф, 2007.- 384 с.
10. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: 1987.- 567 с.

<http://livescience.ru>

<http://www.myshared.ru>

de-ussr.ru

Приложение



Столовая

кабинет географии



медицинский кабинет





дезинфицирующие средства

