

### سنجش میزان رشد میکروارگانیسم‌ها

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فراگیر باید بتواند:

- ۱- روش‌های مختلف تعیین تعداد باکتری‌ها را توضیح دهد.
- ۲- روش‌های تعیین توده‌های سلولی را بیان نماید.
- ۳- باکتری‌های چند نمونه‌ی ماده‌ی غذایی و آب را با کشت تعیین نماید.
- ۴- تأثیر عوامل مختلف محیطی بر کشت و حیات باکتری‌ها را مورد بررسی قرار

دهد.

### ۷- سنجش میزان رشد میکروارگانیسم‌ها

عملاً در هر مرحله از میکروبیولوژی، برای اندازه‌گیری رشد میکروب‌ها به روش‌هایی نیاز است. در این مورد تعداد سلول‌ها و یا توده‌ی سلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود. روش‌هایی که تعداد سلول‌ها را تعیین می‌کند به خصوص برای شمارش موجودات تک سلولی مثل باکتری‌ها و مخمرها قابل استفاده می‌باشد. در حالی که روش اندازه‌گیری توده سلول‌ها را می‌توان برای تمام انواع میکروب‌ها از جمله انواع رشته‌دار بلند مثل کپک‌ها که نمی‌توان آن‌ها را با روش تعیین تعداد سلول‌ها اندازه‌گیری کرد به کار برد. معمول‌ترین روش اندازه‌گیری تعداد سلول‌ها روش پلیت یا شمارش کلنی‌هاست. این روش بر اساس فرضیه‌ایست که طبق آن یک سلول باکتری ایجاد یک کلنی کرده، در نتیجه تعداد کلنی‌های تشکیل شده روی پلیت ژلوز معادل تعداد باکتری‌های اصلی است. در شمارش با رقت، یک سری نمونه با رقت‌های متفاوت تهیه کرده، آن‌ها را در یک سری لوله حاوی محیط مایع - به جای کشت در پلیت - تلقیح می‌کنیم. پس از قرار دادن در گرم‌خانه تمام لوله‌های حاوی سلول، به دلیل

تکثیر میکروب‌ها، کدر خواهد شد و بعضی از لوله‌ها با رقت زیاد ممکن است شفاف باشند. دلیل این امر، آن است که در نمونه‌ی تلقیحی هیچ‌گونه باکتری زنده‌ای وجود نداشته است. از رقیق‌ترین نمونه‌ای که در آن تکثیر صورت گرفته است تعداد میکروب‌ها اندازه‌گیری می‌شود. در آزمایش برای تعیین تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های آب، روش و شمارش با رقت تغییر یافته‌ای را به کار خواهید برد. همین‌طور، برای شمارش کلنی‌ها می‌توان از صافی‌های غشایی استفاده کرد. با عبور دادن یک نمونه از درون صافی غشایی گیرنده باکتری‌ها، می‌توانید سلول‌ها را در سطح صافی به دست آورید. سپس با به کار بردن یک محیط کشت مناسب، سلول‌ها روی سطح صافی رشد کرده، تعداد کلنی‌های حاصل نشان‌دهنده تعداد باکتری‌هاست. استعمال صافی‌های غشایی در تعیین باکتری‌های مدفوع در آب می‌باشد. در این روش‌های کشت سلول‌های زنده‌ای که در محیط‌های آماده شده تکثیر می‌یابند اندازه‌گیری می‌شوند. تعدادی روش‌های دیگر وجود دارد که می‌توان در آن‌ها مستقیماً تمام سلول‌های زنده و مرده‌ی نمونه را اندازه‌گیری کرد. این روش‌های مستقیم ارزش روش‌های کشت را ندارند، ولی وقت کمتری می‌گیرند. یکی از معمول‌ترین این روش‌ها عبارتست از شمارش مستقیم میکروسکوپی، که در آن حجمی معین از یک نمونه را روی یک سطح معین لام پخش می‌کنند. با شمارش میکروب‌ها در یک سطح مشخص و ضرب آن در ضریب مخصوص، می‌توانید تعداد میکروب‌های نمونه‌ی اصلی را محاسبه کنید. برای راحت کردن عملیات، لام‌های مخصوصی برای شمارش وجود دارد (برای مثال لام پتروف - هازر<sup>۱</sup>) که دارای یک گودی با عمق و حجم مشخص است، و به مربعی تقسیم شده است. تعداد میکروب‌ها در یک حوزه‌ی معین (مثلاً در ۵۰ یا ۱۰۰ مربع) شمارش شده، با در نظر گرفتن این که نسبت حجم کلی به حجم محاسبه شده معین است می‌توان تعداد کل باکتری‌ها را در نمونه محاسبه کرد. در روش برید<sup>۲</sup>، حجمی معین از نمونه را در یک سطح یک سانتی‌متر مربعی لام پخش کرده، آن را خشک و تثبیت و رنگ می‌کنند. بعد تعداد میکروارگانیزم‌ها را در حوزه‌های متعدد میکروسکوپی تعیین می‌کنند. از آنجایی که مساحت حوزه میکروسکوپی مشخص است، شمارش باکتری‌ها را می‌توان محاسبه کرد. روش برید را برای تعیین تعداد باکتری‌های شیر در آزمایش به کار خواهید برد. نمونه‌ای از لام‌های مدرج شمارش میکروارگانیزم‌ها در شکل ۱-۷ مشخص شده است. سلول‌ها و عناصر دیگر را می‌توان به وسیله‌ی الکترونیکی هم محاسبه کرد. در شمارش‌گر کولتر<sup>۳</sup> نمونه‌ای را از یک سوراخ کوچک عبور داده، از روی تغییری که در مقاومت الکتریکی ایجاد می‌شود، نه تنها تعداد عناصر، بلکه اندازه‌ی آن‌ها را هم می‌توان مشخص کرد. به هر حال چون این

۱- Petroff - Hauser slide

۲- Breed

۳- Coulter Counter

روش تمام عناصر یک نمونه را اندازه می‌گیرد، فقط برای سوسپانسیون‌های آبی میکروب‌ها قابل استفاده است و نمی‌توان آن‌را برای تعیین تعداد مثلاً میکروارگانیسم‌ها در خاک به کار برد. در اندازه‌گیری توده‌ی سلولی یک کشت میکروبی مقدار کل پروتوپلاسم سلولی در میلی‌لیتر محیط کشت محاسبه می‌شود. برای تعیین توده‌های سلولی، معمول‌ترین روش‌ها عبارت است از: ۱- انتشار نور یا روش‌های کدورت‌سنجی، ۲- اندازه‌گیری شیمیایی محتویات سلولی، ۳- روش‌های وزن خشک و ۴- روش‌های حجم سلولی.

روش‌های کدورت‌سنجی<sup>۱</sup>، اغلب در اندازه‌گیری توده سلولی به کار می‌رود. این روش‌ها بر این واقعیت بنا شده است که سلول‌های یک محیط کشت مایع بر حسب توده‌ی کل آن در کشت مانع از عبور نور می‌شوند یا آن‌را پخش می‌کنند. سنجش شیمیایی، توده‌ی سلولی به وسیله‌ی اندازه‌گیری مقدار بعضی از محتویات مخصوص سلول‌ها مثل، ازت سلولی، پروتئین، فسفر یا DNA، انجام می‌شود. در شرایط استاندارد مقدار این مواد می‌تواند یک سنجش دقیق از پروتوپلاسم محیط کشت به دست دهد. وزن خشک، سلول‌ها یا میسلیم‌های حجم معینی از محیط کشت می‌تواند مشخص‌کننده‌ی مقدار توده سلولی باشد. برای چنین سنجشی، کشت میکروبی به وسیله‌ی سانتریفوژ یا صاف کردن جمع‌آوری شده، سلول‌ها شسته، بعد از خشک کردن وزن آن‌ها اندازه‌گیری می‌شود. حجم سلولی، با قرار دادن مقدار استاندارد یک محیط کشت در لوله سانتریفوژ مدرج و اندازه‌گیری حجم مرطوب ته‌نشین بعد از سانتریفوژ سنجیده می‌شود.

## روش‌های کمی کشت روی پلیت

در آزمایش برای جدا کردن باکتری‌ها، کشت روی پلیت را به کار بردید و دیدید که هر سلول باکتری زنده یک کلنی قابل رؤیت از سلول‌های دختر را تشکیل می‌دهد. از آنجا که هر سلول باکتری یک کلنی تشکیل می‌دهد، می‌توانید از کشت روی پلیت برای تعیین شماره‌ی باکتری‌ها در یک ماده مثل یک نمونه آب استفاده کنید. برای شمارش باکتری‌ها نمونه را رقیق کرده، روی پلیت کشت می‌دهند، و بعد از قرار دادن در گرمخانه، کلنی‌های ایجاد شده را می‌شمارند. پس از آن، تعداد باکتری‌های نمونه‌ی اصلی را با ضرب کردن تعداد کلنی‌های تشکیل شده در درجه رقت (ضریب رقت) پلیت مخصوصی که شماره شده است تعیین می‌کنند. رقت را اغلب اوقات با علامت منفی نشان می‌دهند. برای مثال، به جای ۱۰۰۰۰۰، ۱۰<sup>۵</sup> بکار برده می‌شود. برای رقیق کردن کمی یک نمونه، اغلب یک گرم یا یک میلی‌لیتر

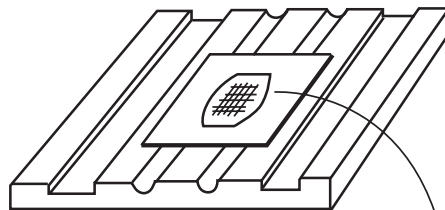
۱ - Turbidimetric

۲ - Mycelium

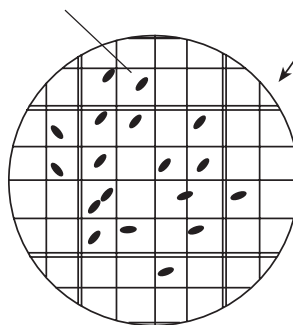
نمونه با یک سری لوله آزمایش یا بطری‌هایی که حاوی مقدار معینی آب استریل یا محلول تامپون است به تدریج رقیق می‌شود. در این آزمایش یک میلی‌لیتر از نمونه‌ی آب را به ۹۹ میلی‌لیتر آب استریل اضافه کرده، در نتیجه دارای رقت یک صدم از نمونه اصلی خواهید شد. با ادامه‌ی تدریجی این عمل یعنی با بکار بردن بطری‌های اضافی برای عمل رقیق کردن، می‌توانید نمونه‌هایی با رقت  $10^4$ ،  $10^6$  و غیره بدست آورید. سپس، با کشت دادن یک میلی‌لیتر و  $1/10$  میلی‌لیتر از هر کدام از رقت‌ها می‌توانید پلیت‌هایی با رقت  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$ ،  $10^{-3}$ ،  $10^{-4}$  و بیش‌تر به‌دست آورید.

### روش کار:

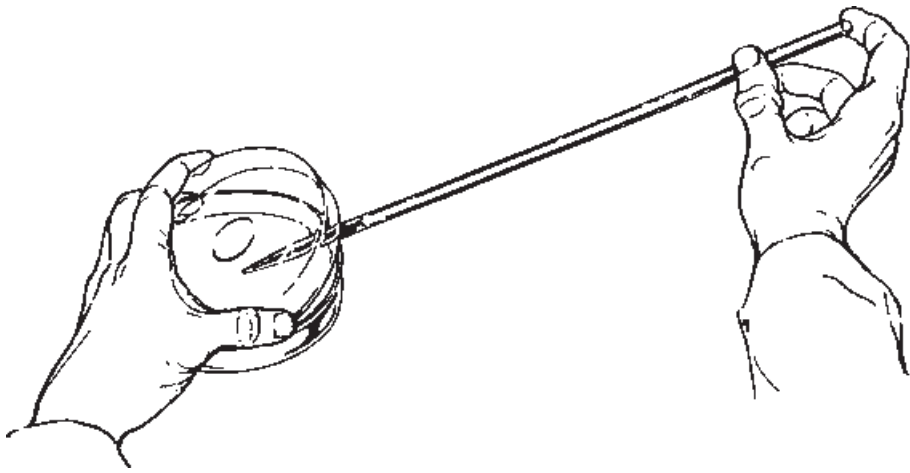
دو نمونه آب الف و ب فراهم شده است. نمونه‌ی الف دارای کیفیتی خوب و حاوی تعداد کمی باکتری است. نمونه‌ی ب نمونه‌ای ناخالص است که حاوی مقدار زیادی باکتری است. بنابراین برای تهیه پلیت‌های قابل شمارش باید بیش از نمونه الف رقیق شود.



تعداد میکروب‌ها در یک حوزه معین شمارش می‌شوند.



شکل ۱-۷- لام‌های مخصوص مدرج شمارش میکروب‌ها که اسامی مختلفی دارند (روش مستقیم شمارش) و برای تعیین افزایش تعداد میکروارگانیسم‌ها در هر میلی‌لیتر به کار می‌روند.



شکل ۲-۷- نخستین کشت در پلیت به وسیله‌ی پیپت

در شروع کار، پلیت‌های پتری و نمونه‌های آب را مرتب کنید. پلیت‌ها و نمونه‌های آب را برحسب رقت آن‌ها علامت‌گذاری نمایید. همین‌طور پلیت‌هایی را هم که ممکن است ضروری باشد علامت‌گذاری کنید و رقت‌های دلخواه را تهیه کنید. دقت کنید که برای هر رقت پیپت عوض شود.

۱- پنج لوله حاوی ژلوز غذایی را ذوب کنید (در هر کدام ۱۵ میلی لیتر). آن‌ها را تا  $45^{\circ}\text{C}$  خنک کنید و تا هنگامی که رقت‌ها تهیه می‌شوند آن‌ها را برای مصرف آماده نگهدارید. فاصله‌ای که نمونه‌ها را در پلیت‌های پتری می‌ریزند تا موقعی که آن‌ها را با ژلوز مخلوط می‌کنید، نباید بیش از چند دقیقه باشد.

۲- با یک پیپت استریل،  $1/1$  میلی لیتر از نمونه‌ی الف را برداشته و  $1/1$  میلی لیتر آن را در یک پلیت پتری استریل بریزید. یک میلی لیتر نمونه‌ی باقی مانده را در یک پلیت پتری استریل دیگر بریزید. پلیت اول را با الف -  $10^{-1}$  و پلیت دوم را با الف - ۱ علامت‌گذاری کنید.

۳- نمونه‌ی ب را که حاوی مقادیر زیادی باکتری است نمی‌توان به‌طور مستقیم آن‌طور که در مورد نمونه‌ی الف عمل شده کشت داد، بلکه باید آن را با آب استریل رقیق کرد. با یک پیپت استریل یک میلی لیتر از نمونه‌ی ب را برداشته، آن را با ۹۹ میلی لیتر آب مخلوط کنید. چنین مخلوطی حاوی یک میلی لیتر از نمونه‌ی اصلی است که  $10^{\circ}$  بار رقیق شده است، بنابراین یک میلی لیتر از این محلول رقیق شده معادل  $1/10^{\circ}$  میلی لیتر از نمونه اصلی می‌باشد.

۴- بطری حاوی مخلوط میکروبی را ۲۵ دفعه به شدت تکان دهید، به طوری که مچ دستتان در یک قوس حدود ۷۵ سانتیمتر حرکت کند. این عمل برای این است که اختلاط یکسانی در نمونه ایجاد شده، باکتری‌هایی که ممکن است به صورت چسبیده به هم و معلق باشند از یکدیگر جدا شوند.

۵- با یک پیست استریل دیگر، مقدار ۱/۱ میلی لیتر از بطری حاوی نمونه‌ی رقیق شده (با رقت  $10^{-2}$ ) را برداشته و مقدار ۱/۱ میلی لیتر آن را در یک پلیت پتری استریل (با رقت  $10^{-3}$  نسبت به نمونه‌ی اصلی) بریزید و روی آن را با  $10^{-3}$  علامت گذاری کنید. یک میلی لیتر باقی مانده را در یک پلیت پتری استریل دیگر ریخته (با رقت  $10^{-2}$  نسبت به نمونه‌ی اصلی)، آن را با  $10^{-2}$  علامت گذاری کنید.

۶- با همان پیست قبلی یک میلی لیتر از بطری حاوی محلول با رقت  $10^{-1}$  را برداشته، آن را با ۹۹ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کنید. مخلوط را به همان شکلی که قبلاً شرح داده شد ۲۵ دفعه تکان داده، یک میلی لیتر از این نمونه مخلوط شده را بردارید و در یک پلیت پتری بریزید. این پلیت را با  $10^{-4}$  علامت گذاری کنید.

۷- ژلوز ذوب و سرد شده را وارد پلیت‌های پتری کرده، نمونه را به طور کامل با ژلوز مخلوط کنید. یکی از بهترین راه‌ها برای اختلاط نمونه و ژلوز عبارتست از کج کردن ملایم پلیت به طوری که ژلوز و نمونه چندین بار در اطراف پلیت به حرکت درآیند. دقت کنید که ژلوز روی لبه پلیت ریخته نشود.

۸- پلیت‌های پتری را در یک سطح صاف قرار دهید. پس از سرد شدن، آن‌ها را به طور وارونه در گرم‌خانه  $3^{\circ}\text{C}$  قرار دهید.

۹- در پلیت‌هایی که در آن‌ها تعداد کلنی‌ها بین  $30$  تا  $300$  می‌باشد شمارش کلنی کنید. پلیت‌های شمارش، کلنی‌های تشکیل شده در پلیت‌های ژلوزه را می‌توان در دستگاه‌هایی مثل شمارگر کلنی کبک<sup>۱</sup> که در آن یک منبع نورانی غیرمستقیم و یک ذره بین تعبیه شده است، شمرد. پلیت را به طور وارونه روی شمارگر قرار دهید. برای ممانعت از دوباره شمردن کلنی‌ها، هر کلنی شمرده شده را با یک مداد چرب یا قلم در روی پلیت علامت‌گذاری کنید. اگر پلیت‌های زیادی را باید شماره کرد، ماشین حساب می‌تواند مفید باشد. کلنی‌هایی که به نام کلنی‌های پخش<sup>۲</sup> خوانده می‌شوند، اغلب در لایه‌ی مرطوب سطح ژلوز یا بین ژلوز و ته پلیت پتری تشکیل می‌شوند. اگر کلنی‌های پخش بزرگ هستند و سایر کلنی‌ها را می‌پوشانند، پلیت را دور بریزید. غالباً کلنی‌های پخش کوچک، خاکستری و نازک هستند. اگر این کلنی‌ها کوچک و مشخص باشند می‌توان آن‌ها را به عنوان یک کلنی مجزاً شماره کرد.

### محاسبه شمارش پلیت‌ها

تعداد باکتری‌ها در میلی لیتر نمونه اصلی (که شمارش پلیت می‌باشد) به وسیله‌ی ضرب کردن تعداد کلنی‌ها در درجه رقت به دست می‌آید. برای مثال، اگر در پلیت با رقت  $10^{-3}$  تعداد  $150$  کلنی

۱- Quebec

۲- Spreader

شمردید، می‌توانید چنین محاسبه کنید  $150000 = 150 \times 1000$  یعنی در هر میلی‌لیتر نمونه‌ی اصلی  $150000$  باکتری وجود دارد. معمولاً پیشنهاد می‌شود که برای هر رقت دو پلیت تهیه شود. از شمارش پلیت‌های دوگانه معدل گرفته، بدین طریق به تعداد واقعی کلنی‌ها نزدیک‌تر خواهد بود. میانگین  $148$  و  $154$  در دقت  $10^{-3}$  عبارتست از  $151$  و  $151000$  باکتری در میلی‌لیتر گزارش داده می‌شود. افزایش تعداد باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر در واحد زمان و در ساعت‌های متمادی که از نمونه برداشت می‌شود، می‌تواند مبین میزان رشد باکتری در زمان باشد.

## فکر کنید و پاسخ دهید:

- ۱- چرا فقط پلیت‌هایی که بین  $30$  تا  $300$  کلنی دارند شمارش می‌شوند؟
- ۲- آیا کلنی‌های توده‌های مجتمع باکتری بهتر از سلول‌های تک، تشکیل می‌شوند؟
- ۳- چرا بین رقت‌ها باید پیبت‌ها عوض شود؟

## تأثیرات محیطی

میکروب‌ها، شبیه تمام جانداران عمیقاً تحت تأثیر محیط اطراف خود هستند. عوامل محیطی به سه دسته کلی تقسیم می‌شوند: فیزیکی (اثرات حرارت یا فشار قوی)، شیمیایی (احتیاج به غذاها و عکس‌العمل در برابر سموم) و بیولوژیکی (در اساس شیمیایی مثل اثرات متقابل انواع مختلف موجوداتی که با همدیگر زندگی می‌کنند). برای هر نوع میکروبی مانند هر نوع گیاه یا حیوان، شرایط محیطی مناسب ویژه‌ای وجود دارد، ولی به طور کلی حدود تحمل سلسله میکروب‌ها، نسبت به جانداران عالی بیش‌تر است. مثلاً بدن انسان دارای یک حرارت طبیعی  $37^{\circ}\text{C}$  ( $98/6$  درجه فارنهایت) است که به دقت تنظیم یافته، می‌تواند به رغم حرارت و یا سرمای شدید ثابت بماند. سلول باکتری دارای حرارت تنظیم یافته بدنی نیست، بلکه درجه حرارت محیط خارج را می‌پذیرد. عکس‌العمل باکتری در برابر سرما و یا خشکی زیاد فقط وقفه فعالیت‌های آنزیمی است، و برخلاف جانداران عالی‌تر الزاماً نمی‌میرد. اگرچه اکثریت اشکال میکروبی به همان شرایطی نیاز دارند که برای سلول بیشتر گیاهان و حیوانات نافع است، ولی میکروارگانیسم‌هایی را یافته‌اند (افراطی) که می‌توانند (و یا حتی احتیاج دارند) در شرایطی که نسبت به استانداردهای طبیعی نامناسب هستند زنده بمانند. در تمام گروه‌های بزرگ سلولی تنها سلول‌هایی به‌وسیله‌ی محیط انتخاب می‌شوند که می‌توانند به زندگی خود در شرایط تحمل شده ادامه دهند. ولی حتی میکروب‌ها هم نمی‌توانند با دو دشمن کشنده موجودات زنده — حرارت شدید و بعضی سموم

شیمیایی - سازگار شوند. هر دوی این نیروها، آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌ها را که بدون وجود آن‌ها زندگی نابود می‌شود، هدف قرار می‌دهند. در جدال دائمی بشر برای کنترل میکروارگانیسم‌های مضر و مفید، قوی‌ترین وسیله، کنترل عوامل محیطی میکروب‌ها بوده است. بشر برای حفاظت مواد مختلف در مقابل رشد میکروب‌ها، از حرارت، فشار اسمزی و کمبود اکسیژن استفاده کرده است، ولی همانطور که انتظار می‌رود، کنترل میکروارگانیسم‌ها به دلیل قدرت زیاد سازگاری و قابلیت تغییر شدید آن‌ها دشوار است.

## نوشابه‌های تخمیری

تخمیر نه تنها می‌تواند باعث نگهداری بعضی از غذاها شود، بلکه در موارد دیگر طعم و ارزش غذایی بعضی از آن‌ها را بهبود می‌بخشد. بیش‌تر غذاهای تخمیری به رشد و فعالیت یک یا چند گونه از باکتری‌های اسیدلاکتیکی، و یا مخمرها و یا ترکیب این دو نیاز دارند. نوع تخمیری که در یک غذا صورت می‌گیرد در درجه اول، با محتوای کربوهیدرات و pH آن معین می‌شود. وجود کربوهیدرات‌ها، اسیدیته بالا و ضعیف بودن غذاهای تامپونه باعث می‌شوند که عمل تخمیر الکلی به وسیله‌ی مخمرها صورت گیرد، در حالی که وجود کربوهیدرات‌ها، اسیدیته پایین و وجود غذاهای تامپونه قوی باعث می‌شود که تخمیر اسیدلاکتیکی انجام شود. در این آزمایش به بررسی میکروفلور بعضی از غذاهای تخمیری می‌پردازیم.

### روش کار: (باترمیلک<sup>۱</sup> کشت شده)

باترمیلک کشت شده عبارتست از دوغ یا پس‌آب کره که به وسیله‌ی باکتری‌های اسیدلاکتیکی تخمیر شده، در نتیجه در آن اسیدلاکتیک و مواد فرآر تولید می‌شود. این عمل باعث انعقاد شیر می‌شود و به همراه آن بو و طعم مطبوعی در شیر ایجاد می‌گردد. به علت عدم دسترسی به باترمیلک برای تهیه آن شیر بدون چربی یا کم‌چربی را با مخلوطی از کشت باکتری‌های اسیدلاکتیکی که به نام باکتری‌های آغازگر<sup>۲</sup> خوانده می‌شود مخلوط می‌کنند. در نتیجه‌ی این عمل، شیر ترش خواهد شد. هنگامی که در کشت در حدود ۸/۰ تا ۹/۰ درصد اسیدلاکتیک ایجاد شد، عمل تخمیر را با سرد کردن کشت متوقف کرده با حرکت، لخته‌های شیر منعقد را خرد می‌کنند. باکتری‌های آغازگر تجارتمی، معمولاً شامل استرپتوکوکوس لاکتیس<sup>۳</sup>، لوکونوستوک دکسترانیکوم<sup>۴</sup> و لوکونوستوک سیترووروم<sup>۵</sup>

۱- Buttermilk

۲- Starter

۳- Streptococcus Lacteis

۴- Leuconostoc Dextranicum

۵- Leuconostoc Citrovorum



هستند. میکروب‌های مختلف گونه لوکونوستوک اسیدسیتریک شیر را تجزیه کرده، دی‌استیل<sup>۱</sup> تولید می‌کنند که قسمتی از بوی مشخص شیر تخمیر شده مربوط به آن است.

۱- یک لوله بزرگ و یا یک فلاسک شیر بدون چربی پاستوریزه را با ۱/۰٪ حجم خود، از کشت خمیرمایه<sup>۲</sup> تلقیح کنید. مایه تلقیح شدنی را با چرخاندن لوله در بین دو دست و یا با تکان دادن فلاسک در تمام قسمت شیر پخش کنید.

۲- شیر تلقیح شده حاصل را تا وقت بعدی آزمایشگاهی در حرارت آزمایشگاه (روی میز کار خود) بگذارید. (بهتر است آن را به مدت ۱۲ تا ۱۸ ساعت در حرارت ۲۱°C قرار دهید.)

۳- شیر ترش بدست آمده را تکان دهید تا لخته‌های آن خرد شود، بو و مزه باترمیلک کشت شده حاصل را مورد توجه قرار دهید.

شرکت‌های مختلف، کشت‌های آغازگر را به صورت گرد خشک در دسترس قرار می‌دهند. این خمیرمایه‌ها را باید چندین بار به شیر منتقل کرد تا در آخر نوع متناسب آن حاصل شود.

## خودآزمایی

- ۱- برای تعیین تعداد باکتری‌ها از چه روش‌هایی می‌توان استفاده کرد؟ نام ببرید.
  - ۲- برای تعیین باکتری‌های مدفوع در آب از چه روشی استفاده می‌شود؟
  - ۳- روش‌های تعیین توده‌های سلولی را نام ببرید.
  - ۴- روش تعیین کمی باکتری‌ها را به کمک کشت به‌طور خلاصه بیان نمایید.
  - ۵- کار شمارش‌گر کُپک را توضیح دهید.
  - ۶- طرز محاسبه‌ی باکتری‌ها به کمک شمارش پلیت‌ها را با ذکر یک مثال توضیح دهید.
  - ۷- منظور از نفلومتری و توریدیمتری در سنجش رشد میکروب‌ها چیست؟
  - ۸- عوامل محیطی مؤثر بر زندگی باکتری‌ها را دسته‌بندی نموده، بگویید چرا کنترل میکروارگانیسم‌ها عملاً دشوار است؟
  - ۹- عوامل مؤثر بر نوع تخمیر مواد غذایی را بنویسید.
- ۱۰- باترمیلک چیست و چگونه تهیه می‌شود؟

---

۱- Diacetyl

۲- از ماست پاستوریزه تازه به عنوان استارتر می‌توان استفاده کرد که در این صورت دمای انکوباسیون ۴۲°C به مدت ۳ تا ۶ ساعت خواهد بود.