فصل هفتم

سنجش میزان رشد میکروارگانیسم‌ها

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فراگیر باید بتواند :
۱ــ روش‌های مختلف تعیین تعداد باکتری‌ها را توضیح دهد.
۲ــ روش‌های تعیین توده‌های سلولی را بیان نماید.
۳ــ باکتری‌های چند نمونه‌ی ماده‌ی غذایی و آب را با کشت تعیین نماید.
۴ــ تأثیر عوامل مختلف محیطی بر کشت و حیات باکتری‌ها را مورد بررسی قرار دهد.

۷ــ 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 به‌خصوص 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 اندازه گرفت به کار برد. معمول‌ترین روش اندازه‌گیری تعداد سلول‌ها روش پلیت یا شمارش کلنی‌هاست. این روش بر اساس فرضیّه‌ایست 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[۱]، یک سری نمونه با رقت‌های متفاوت تهیه کرده، آن‌ها را در یک سری لوله حاوی محیط مایع ــ به‌جای کشت در پلیت ــ تلقیح می‌کنیم. پس از قرار دادن در گرم‌خانه تمام لوله‌های حاوی سلول، به دلیل

۱ــ Dilution Count

تکثیر میکروب‌ها، کدر خواهد شد و بعضی از لوله‌ها با رقت زیاد ممکن است شفّاف 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 به‌دست 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 معیّن 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 راحت‌کردن عملیات، لام‌های مخصوصی برای شمارش وجود دارد (برای مثال لام پتروف ــ هازر[1]) که دارای یک گودی با عمق و حجم مشخص است، و به مربعهایی تقسیم شده است. تعداد میکروب‌ها در یک حوزه‌ی معین (مثلاً در ۵۰ یا ۱۰۰ مربع) شمارش شده، با درنظر گرفتن این که نسبت حجم کلی به حجم محاسبه شده معین است می‌توان تعداد کل باکتری‌ها را در نمونه محاسبه کرد. در روش برید[2]، حجمی معین از نمونه را در یک سطح یک سانتی‌متر مربعی لام پخش کرده، آن‌را خشک و تثبیت و رنگ می‌کنند. بعد تعداد میکروارگانیسم‌ها 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 میکروارگانیسم‌ها در شکل ۱ــ۷ مشخص شده است. سلول‌ها و عناصر دیگر را می‌توان به وسیله‌ی الکترونیکی هم محاسبه کرد. در شمارش‌گر کولتر[3] 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

۱ــ Petroff - Hauser slide ۲ــ Breed ۳ــ 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 : ۱ــ انتشار نور یا روش‌های کدورت‌سنجی، ۲ــاندازه‌گیری شیمیایی محتویات سلولی، ۳ــروش‌های وزن خشک و ۴ــروش‌های حجم سلولی.

روش‌های کدورت سنجی[۱]، اغلب در اندازه‌گیری توده سلولی به‌کار می‌رود. این روش‌ها بر این واقعیت بنا شده است که سلول‌های یک محیط کشت مایع بر حسب توده‌ی کل آن درکشت 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 به‌دست دهد. وزن خشک، سلول‌ها یا میسلیوم‌ها[۲]ی 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

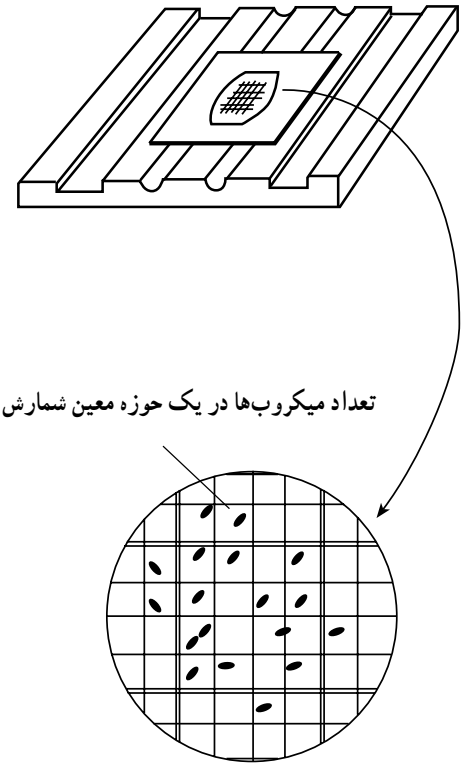
در آزمایش برای جداکردن باکتری‌ها، کشت روی پلیت را به کار بردید و دیدید که هر سلول باکتری زنده یک کلنی قابل رؤیت از سلول‌های دختر را تشکیل می‌دهد. از آنجا که هر سلول باکتری یک کلنی تشکیل می‌دهد، می‌توانید از کشت روی پلیت برای تعیین شماره‌ی باکتری‌ها دریک ماده مثل یک نمونه آب استفاده کنید. برای شمارش باکتری‌ها 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، 10^{-5} بکار برده می‌شود. برای رقیق کردن کمی یک نمونه، اغلب یک گرم یا یک میلی‌لیتر

۱ ــ Turbidimetric ۲ــ Mycelium

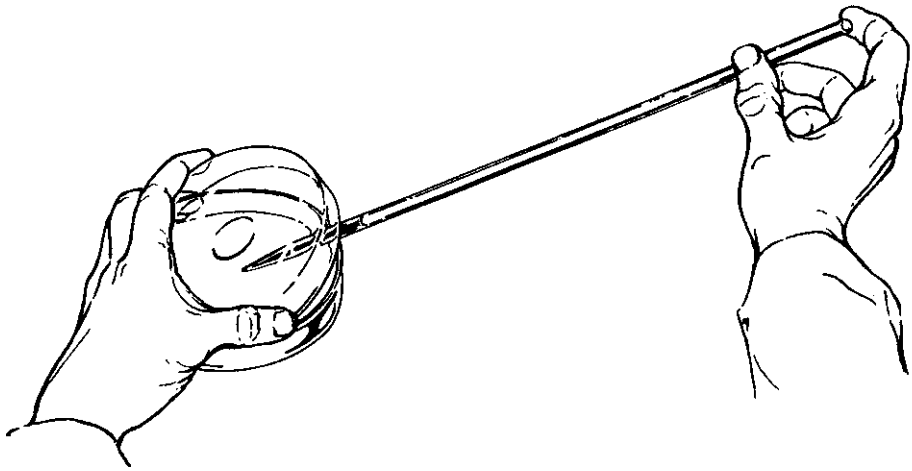
نمونه با یک سری لوله آزمایش یا بطری‌هایی که حاوی مقدار معینی آب استریل یا محلول تامپون است به تدریج رقیق می‌شود. در این آزمایش یک میلی‌لیتر از نمونه‌ی آب را به ۹۹ میلی‌لیتر آب استریل اضافه کرده، در نتیجه دارای رقت یک صدم از نمونه اصلی خواهید شد. با ادامه‌ی تدریجی این عمل یعنی با بکاربردن بطری‌های اضافی برای عمل رقیق کردن، می‌توانید نمونه‌هایی با رقت $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۶}$ و غیره بدست آورید. سپس، با کشت دادن یک میلی‌لیتر و ۰/۱ میلی‌لیتر از هرکدام از رقت‌ها می‌توانید پلیت‌هایی با رقت $۱۰^{-۱}$، $۱۰^{-۲}$، $۱۰^{-۳}$، $۱۰^{-۴}$ و بیش‌تر به‌دست آورید.

روش کار:

دو نمونه آب الف و ب فراهم شده است. نمونه‌ی الف دارای کیفیّتی 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.



شکل ۱ــ۷ــ لام‌های مخصوص مدرج شمارش میکروب‌ها که اسامی مختلفی دارند (روش مستقیم شمارش) و برای تعیین افزایش تعداد میکروارگانیسم‌ها در هر میلی‌لیتر به‌کار می‌روند.



شکل ۲ــ۷ــ 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.

۱ــ پنج لوله حاوی ژلوز غذایی را ذوب کنید (در هرکدام ۱۵ میلی‌لیتر). آن‌ها را تا $45^{\circ}C$ خنک کنید و تا هنگامی‌که رقت‌ها تهیه می‌شوند آن‌ها را برای مصرف آماده نگهدارید. فاصله‌ای که نمونه‌ها را درپلیت‌های پتری می‌ریزند تا موقعی که آن‌ها را با ژلوز مخلوط می‌کنید، نباید بیش از چند دقیقه باشد.

۲ــ با یک پیپت استریل، ۱/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ی الف را برداشته و ۰/۱ میلی‌لیتر آن را در یک پلیت پتری استریل بریزید. یک میلی‌لیتر نمونه‌ی باقی‌مانده را در یک پلیت پتری استریل دیگر بریزید. پلیت اول را با الف ــ 10^{-1} و پلیت دوم را با الف ــ ۱ علامت‌گذاری کنید.

۳ــ 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 میلی‌لیتر از نمونه‌ی ب را برداشته، آن را با ۹۹ میلی‌لیتر آب مخلوط کنید. چنین مخلوطی حاوی یک میلی‌لیتر از نمونه‌ی اصلی است که ۱۰۰ بار رقیق شده است، بنابراین یک میلی‌لیتر از این محلول رقیق شده معادل ۰/۰۱ میلی‌لیتر از نمونه اصلی می‌باشد.

۴ــ بطری حاوی مخلوط میکروبی را ۲۵ دفعه به شدت تکان دهید، به‌طوری‌که 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.

۵ــ با یک پیپت استریل دیگر، مقدار ۱/۱ میلی‌لیتر از بطری حاوی نمونه‌ی رقیق شده (با رقت 10^{-2}) را برداشته و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر آن را در یک پلیت پتری استریل (با رقت 10^{-3} نسبت به نمونه‌ی اصلی) بریزید و روی آن را با ب 10^{-3} علامت‌گذاری کنید. یک میلی‌لیتر باقی‌مانده را در یک پلیت پتری استریل دیگر ریخته (با رقت 10^{-2} نسبت به نمونه‌ی اصلی)، آن را با ب 10^{-2} علامت‌گذاری کنید.

۶ــ با همان پیپت قبلی یک میلی‌لیتر از بطری حاوی محلول با رقت $\frac{1}{100}$ را برداشته، آن را با ۹۹ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کنید. مخلوط را به همان شکلی که قبلاً شرح داده شد ۲۵ دفعه تکان داده، یک میلی‌لیتر از این نمونه مخلوط شده را بردارید و در یک پلیت پتری بریزید. این پلیت را با ب 10^{-4} علامت‌گذاری کنید.

۷ــ ژلوزذوب 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.

۸ــ پلیت‌های پتری را در یک سطح صاف قرار دهید. پس از سرد شدن، آن‌ها را به طور وارونه در گرم‌خانه $30^{\circ}C$ قرار دهید.

۹ــ در پلیت‌هایی که در آن‌ها تعداد کلنی‌ها بین ۳۰ تا ۳۰۰ می‌باشد شمارش کلنی کنید.

پلیت‌های شمارش، کلنی‌های تشکیل شده در پلیت‌های ژلوزه را می‌توان در دستگاه‌هایی مثل شمارگر کلنی کُبِک[1] که در آن یک منبع نورانی غیرمستقیم و یک ذره‌بین 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[2] 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 مجزّا شماره کرد.

محاسبه شمارش پلیت‌ها

تعداد باکتری‌ها در میلی‌لیتر نمونه اصلی (که شمارش پلیت می‌باشد) به وسیله‌ی ضرب کردن تعداد کلنی‌ها در درجه رقت به‌دست می‌آید. برای مثال، اگر در پلیت با رقت 10^{-3} تعداد ۱۵۰ کلنی

۱ــ Quebec

۲ــ Spreader

شمردید، می‌توانید چنین محاسبه کنید ۱۵۰۰۰۰=۱۰۰۰×۱۵۰ یعنی در هر میلی‌لیتر نمونه‌ی اصلی ۱۵۰۰۰۰ 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 ۱۴۸ و ۱۵۴ در دقت 10^{-3} عبارتست از ۱۵۱ و ۱۵۱۰۰۰ 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:

۱ــ چرا فقط پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی دارند شمارش می‌شوند؟
۲ــ آیا کلنی‌های توده‌های مجتمع باکتری بهتر از سلول‌های تک، تشکیل می‌شوند؟
۳ــ چرا بین رقت‌ها باید پیپت‌ها 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 $37^{\circ}C$ (۹۸/۶ 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 بر خلاف 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 تحمیل شده ادامه دهند. ولی حتی میکروب‌ها هم نمی‌توانند با دو دشمن کشنده موجودات زنده ــ حرارت شدید و بعضی سموم

شیمیایی ــ 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 حالی‌که 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[1] 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 فرّار 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[2] خوانده می‌شود مخلوط می‌کنند. در نتیجه‌ی این عمل، شیر ترش خواهد شد. هنگامی‌که در کشت در حدود ۰/۸ تا ۰/۹ درصد اسیدلاکتیک ایجاد شد، عمل تخمیر را با سرد کردن کشت متوقّف کرده با حرکت، لخته‌های شیر منعقده را خرد می‌کنند. باکتری‌های آغازگر تجارتی، معمولاً شامل استرپتوکوکوس لاکتیس[3]، لوکونوستوک دکسترانیکوم[4] و لوکونوستوک سیتروروم[5]

۱ــ Buttermilk
۲ــ Starter
۳ــ Streptococcus Lacteis
۴ــ Leuconostoc Dextranicum
۵ــ Leuconostoc Citrovorum

هستند. میکروب‌های مختلف‌گونه لوکونوستوک اسید سیتریک شیر را تجزیه کرده، دی‌استیل[1] تولید می‌کنند که قسمتی از بوی مشخص شیر تخمیر شده مربوط به آن است.

۱ــ یک لوله بزرگ و یا یک فلاسک شیر بدون چربی پاستوریزه را با ۰/۰۱ حجم خود، از کشت خمیرمایه[2] 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.

۲ــ 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 $21^{\circ}C$ قرار دهید.)

۳ــ شیر ترش بدست‌آمده 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

۱ــ برای تعیین تعداد باکتری‌ها از چه روش‌هایی می‌توان استفاده کرد؟ نام ببرید.

۲ــ برای تعیین باکتری‌های مدفوع در آب از چه روشی استفاده می‌شود؟

۳ــ روش‌های تعیین توده‌های سلولی را نام ببرید.

۴ــ روش تعیین کمی باکتری‌ها را به کمک کشت به‌طور خلاصه بیان نمایید.

۵ــ کار شمارش‌گر کُبِکْ را توضیح دهید.

۶ــ طرز محاسبه‌ی باکتری‌ها به کمک شمارش پلیت‌ها را با ذکر یک مثال توضیح دهید.

۷ــ منظور از نفلومتری و توربیدیمتری در سنجش رشد میکروب‌ها چیست؟

۸ــ عوامل محیطی مؤثر بر زندگی باکتری‌ها را دسته‌بندی نموده، بگویید چرا کنترل میکروارگانیسم‌ها عملاً دشوار است؟

۹ــ عوامل مؤثر بر نوع تخمیر مواد غذایی را بنویسید.

۱۰ــ باترمیلک چیست و چگونه تهیه می‌شود؟

۱ــ Diacetyl

۲ــ از ماست پاستوریزه تازه به عنوان استارتر می‌توان استفاده کرد که در این صورت دمای انکوباسیون $42^{\circ}C$ به مدت ۳ تا ۶ ساعت خواهد بود.