

فصل هفتم

سنجهش میزان رشد میکروارگانیسم‌ها

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فرآگیر 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- سنجهش میزان رشد میکروارگانیسم‌ها

عملآ 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 خصوصی شمارش موجودات تک سلولی مثل باکتری‌ها و مخمرها قابل استفاده می‌باشد. در حالی که روش اندازه‌گیری توده سلول‌هارا می‌توان برای تمام انواع میکروب‌ها از جمله انواع رشته‌دار بلند مثل کپک‌ها که نمی‌توان آن‌ها را با روش تعیین تعداد سلول‌ها اندازه‌گرفت 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^۱، یک سری نمونه با رقت‌های متفاوت تهیه کرده، آن‌ها را در یک سری لوله‌های 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 هیچ گونه باکتری زنده‌ای وجود نداشته است. از رفقی‌ترین 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، می‌توانند 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 می‌باشند 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^۱) که دارای یک گودی با عمق و حجم مشخص است، و به مربعهای تقسیم شده است. تعداد میکروب‌ها در یک حوزه‌ی معین (مثلاً در ۵۰ × 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 برد^۲، حجمی معین از نمونه را در یک سطح یک سانتی‌متر مربعی لام پخش کرده، آن را خشک و تبیت و رنگ می‌کنند. بعد تعداد میکرووارگانیسم‌ها را در حوزه‌های متعدد میکروسکوپی تعیین می‌کنند. از آنجایی که مساحت حوزه میکروسکوپی مشخص است، شمارش باکتری‌ها را می‌توان محاسبه کرد. روش برد را برای تعیین تعداد باکتری‌های شیر در آزمایش به کار خواهید برد. نمونه‌ای از لام‌های مدرج شمارش میکرووارگانیسم‌ها در شکل ۷-۱ مشخص شده است. سلول‌ها و عناصر دیگر را می‌توان به وسیله‌ی الکترونیکی هم محاسبه کرد. در شمارش گر کولتئر^۳ 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

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 پروتوبلاسم سلولی در میلی لیتر محیط کشت محاسبه می‌شود. برای تعیین توده‌های سلولی، معمول ترین روش‌ها عبارت است از: ۱- انتشار نور یا روش‌های کدورت‌سنجدی، ۲- اندازه‌گیری شیمیایی محتويات سلولی، ۳- روش‌های وزن خشک و ۴- روش‌های حجم سلولی.

روش‌های کدورت‌سنجدی^۱، 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 آن را پخش می‌کنند. سنجدش شیمیایی، توده‌ی سلولی به وسیله‌ی اندازه‌گیری مقدار بعضی از محتويات مخصوص سلول‌ها مثل، ازت سلولی، پروتئین، فسفر یا DNA، انجام می‌شود. در شرایط استاندارد مقدار این مواد می‌تواند یک سنجدش دقیق از پروتوبلاسم محیط کشت به دست دهد. وزن خشک، سلول‌ها یا میسلیوم‌ها^۲ ای حجم معینی از محیط کشت می‌تواند مشخص کننده‌ی مقدار توده سلولی باشد. برای چنین سنجدشی، کشت میکروبی به وسیله‌ی سانتریفوژ یا صاف کردن جمع آوری 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 مرتبط تهشیں بعد از سانتریفوژ سنجدیده می‌شود.

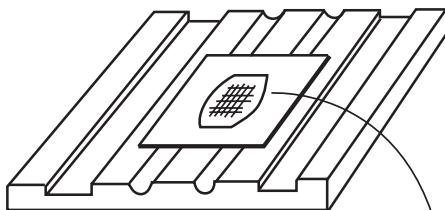
روش‌های کمی کشت روی پلیت

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 آنجاکه 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 رفیق 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 1×10^5 بکار برد می‌شود. برای رفیق کردن کمی یک نمونه، اغلب یک گرم یا یک میلی لیتر

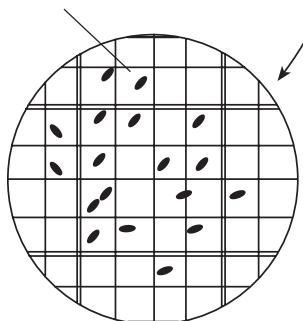
نمونه با یک سری لوله آزمایش یا بطری‌هایی که حاوی مقدار معینی آب استریل یا محلول تامپون است به تدریج رقیق می‌شود. در این آزمایش یک میلی‌لیتر از نمونه آب را به ۹۹ میلی‌لیتر آب استریل اضافه کرده، در نتیجه دارای رقت یک صدم از نمونه اصلی خواهد شد. با ادامه‌ی تدریجی این عمل یعنی با بکاربردن بطری‌های اضافی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

روش کار:

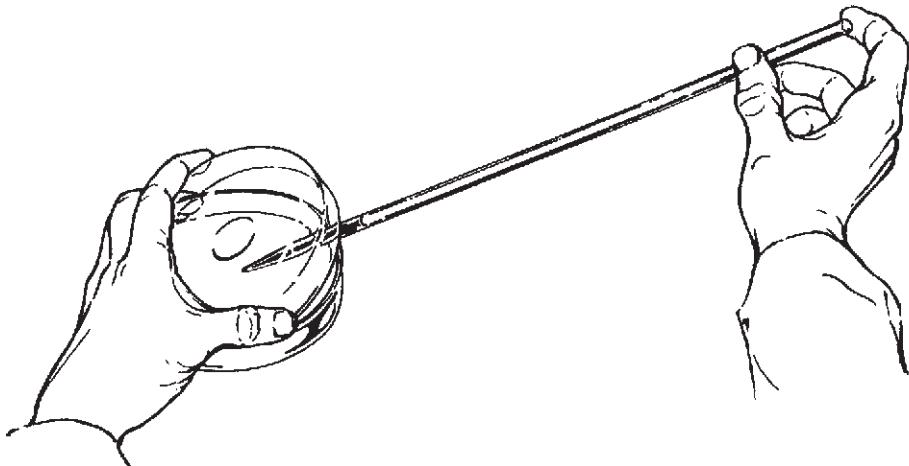
دو نمونه آب الف و ب فراهم شده است. نمونه‌ی الف دارای کیفیتی خوب و حاوی تعداد کمی باکتری است. نمونه‌ی ب نمونه‌ای ناخالص است که حاوی مقدار زیادی باکتری است. بنابراین برای تهیه پلیت‌های قابل شمارش باید بیش از نمونه الف رقیق شود.



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 بر حسب 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 میلی‌لیتر). آن‌هارا تا 45°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، $1/1$ میلی‌لیتر از نمونه‌ی الف را برداشته و $1/1$ 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 -^{-۱} و پلیت دوم را با الف -^{-۱} علامت‌گذاری کنید.

۳- نمونه‌ی ب را که حاوی مقادیر زیادی باکتری است نمی‌توان به طور مستقیم آن‌طور که در مورد نمونه‌ی الف عمل شده کشت داد، بلکه باید آن را با آب استریل رقيق کرد. با یک پیپت استریل یک میلی‌لیتر از نمونه‌ی ب را برداشته، آن را با 99 میلی‌لیتر آب مخلوط کنید. چنین مخلوطی حاوی یک میلی‌لیتر از نمونه‌ی اصلی است که 100 بار رقيق شده است، بنابراین یک میلی‌لیتر از این محلول رقيق شده معادل $1/1$ میلی‌لیتر از نمونه اصلی می‌باشد.

۴- بطری حاوی مخلوط میکروبی را 25 دفعه به شدت تکان دهید، به طوری که مج دستان در یک قوس حدود 75 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 پیت استریل دیگر، مقدار $1/1$ میلی لیتر از بطری حاوی نمونه‌ی رقیق شده (با رقت 2°) را برداشته و مقدار $1/1$ میلی لیتر آن را در یک پلیت پتری استریل (با رقت 3° نسبت به نمونه‌ی اصلی) بربزید و روی آن را با 3° علامت‌گذاری کنید. یک میلی لیتر باقی‌مانده را در یک پلیت پتری استریل دیگر ریخته (با رقت 2° نسبت به نمونه‌ی اصلی)، آن را با 2° علامت‌گذاری کنید.

۶- با همان پیت قبلی یک میلی لیتر از بطری حاوی محلول با رقت $\frac{1}{100}$ را برداشته، آن را با 99 میلی لیتر آب مقطّر مخلوط کنید. مخلوط را به همان شکلی که قبلاً شرح داده شد 25 دفعه تکان داده، یک میلی لیتر از این نمونه مخلوط شده را بردارید و در یک پلیت پتری بربزید. این پلیت را با 4° علامت‌گذاری کنید.

۷- ژلوزدوب 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 ملايم 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 30°C قرار دهید.

۹- در پلیت‌هایی که در آن‌ها تعداد کلنجها بین 300 تا 3000 می‌باشد شمارش کلنج کنید. پلیت‌های شمارش، کلنج‌های تشکیل شده در پلیت‌های ژلوز را می‌توان در دستگاه‌هایی مثل شمارگر کلنج 1° که در آن یک منبع نورانی غیرمستقیم و یک ذره‌بین تعییه شده است، شمرد. پلیت را به طور وارونه روی شمارگر قرار دهید. برای میانع از دوباره شمردن کلنجها، هر کلنج 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. کلنج‌هایی که به نام کلنج‌های پخش^۱ خوانده می‌شوند، اغلب در لایه‌ی مرطوب سطح ژلوز یا بین ژلوز و ته پلیت پتری تشکیل می‌شوند. اگر کلنج‌های پخش بزرگ هستند و سایر کلنج‌ها را می‌پوشانند، پلیت را دور بربزید. غالباً کلنج‌های پخش کوچک، خاکستری و نازک هستند. اگر این کلنج‌ها کوچک و مشخص باشند می‌توان آن‌ها را به عنوان یک کلنج مجزاً شماره کرد.

محاسبه شمارش پلیت‌ها

تعداد باکتری‌ها در میلی لیتر نمونه اصلی (که شمارش پلیت می‌باشد) به وسیله‌ی ضرب کردن تعداد کلنج‌ها در درجه رقت به دست می‌آید. برای مثال، اگر در پلیت با رقت 3° 150 کلنج

شمردید، می‌توانید چنین محاسبه کنید $150000 \times 10000 = 1500000$ یعنی در هر میلی‌لیتر نمونه 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 دقیقه 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 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 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 قوى)، **شیمیایی** (احتیاج به غذاها و عکس العمل در برابر سوموم) 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 $37^{\circ}C$ (درجه فارنهایت) است که به دقیقه 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. عکس العمل باکتری در برابر سرما و یا خشکی زیاد فقط وقفه فعالیت‌های آنزیمی است، و بر خلاف جانداران عالی تر الزاماً نمی‌میرد. اگرچه اکثریت اشکال میکروبی به همان شرایطی نیاز دارند که برای سلول بیشتر گیاهان و حیوانات نافع است، ولی میکروارگانیسم‌هایی را یافته‌اند (افراتی) 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 به وسیله‌ی محیط انتخاب می‌شوند که می‌توانند به زندگی خود در شرایط تحمل شده ادامه دهند. ولی حتی میکروب‌ها هم نمی‌توانند با دوشمن کشندۀ موجودات زنده — حرارت شدید و بعضی سموم

شیمیابی - سازگار شوند. هر دوی این نیروها، آتزیم‌ها و سایر پروتئین‌ها را که بدون وجود آن‌ها زندگی نایبود می‌شود، هدف قرار می‌دهند. در جدال دائمی بشر برای کنترل میکرووارگانیسم‌های مضر و مفید، قوی ترین 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 میکرووارگانیسم‌ها 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، 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 الكلی 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^۱ 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 کم چربی را با مخلوطی از کشت باکتری‌های اسیدلاکتیکی که به نام باکتری‌های آغازگر^۲ خوانده می‌شود مخلوط می‌کنند. در نتیجه‌ی این عمل، شیر ترش خواهد شد. هنگامی که در کشت در حدود ۸٪ تا ۹٪ درصد اسیدلاکتیک ایجاد شد، عمل تخمیر را با سرد کردن کشت متوقف کرده با حرکت، لخته‌های شیر منعقده را خرد می‌کنند. باکتری‌های آغازگر تجاری، معمولاً^۳ شامل استرپتوکوس لاکتیس^۴، لوکونوستوک دکسترانیکوم^۵ و لوکونوستوک سیترووروم^۶

۱— Buttermilk

۲— Starter

۳— Streptococcus Lacteis

۴— Leuconostoc Dextranicum

۵— Leuconostoc Citrovorum

هستند. میکروب‌های مختلف گونه لوکونوستوک اسید سیتریک شیر را تجزیه کرده، دی استیل^۱ 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٪ حجم خود، از کشت خمیر مایه^۲ 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 با ترمیلک کشت شده حاصل را مورد توجه قرار دهید.

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

خودآزمایی

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

۲- برای تعیین باکتری‌های مدفع در آب از چه روشی استفاده می‌شود؟

۳- روش‌های تعیین توده‌های سلولی را نام ببرید.

۴- روش تعیین کمی باکتری‌ها را به کمک کشت به طور خلاصه بیان نمایید.

۵- کار شمارش گر^۳ کیک را توضیح دهید.

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

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

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

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

۱۰- با ترمیلک 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.