به نام خدا

Industrial Microbiology

By: **Dr. A. Mohammadi**

Department of Biology,
Faculty of science,
University of Alzahra

fppt.com

کار ۱ (جداسازی باکتری های اسید لاکتیک)

- ۵- **رنگ‌آمیزی گرم**: برداشت از کلنی‌ها سفیدرنگ عمق آگار

- ۶- **کاتالاز**: یکی از کلنی‌های سفید را با لوپ بردارید و روی لام تمیز بمالید و یک قطره آب اکسیژنه ۱۰٪ به آن اضافه کنید.

- ۷- **خالص کردن کشت**، روش اول: کشت یک کلنی در MRS براث (۱ روز ۴۰ درجه در جار) و سپس کشت در MRS آگار (۲ روز ۴۰ درجه در جار)
- روش دوم: از یک کلنی سوسپانسیونی در ۲ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده تهیه کنید و پس از تهیه‌ی رقت‌های متوالی در سرم فیزیولوژی حاوی توین، طبق زیر کشت دهید. از رقت 10^{-4} تا 10^{-8} با پیپت سترون یک میلی‌لیتری به پلیت‌های خالی سترون منتقل کنید و محیط کشت مذاب (۴۵ تا ۵۰°C) روگزا آگار در آن‌ها بریزید

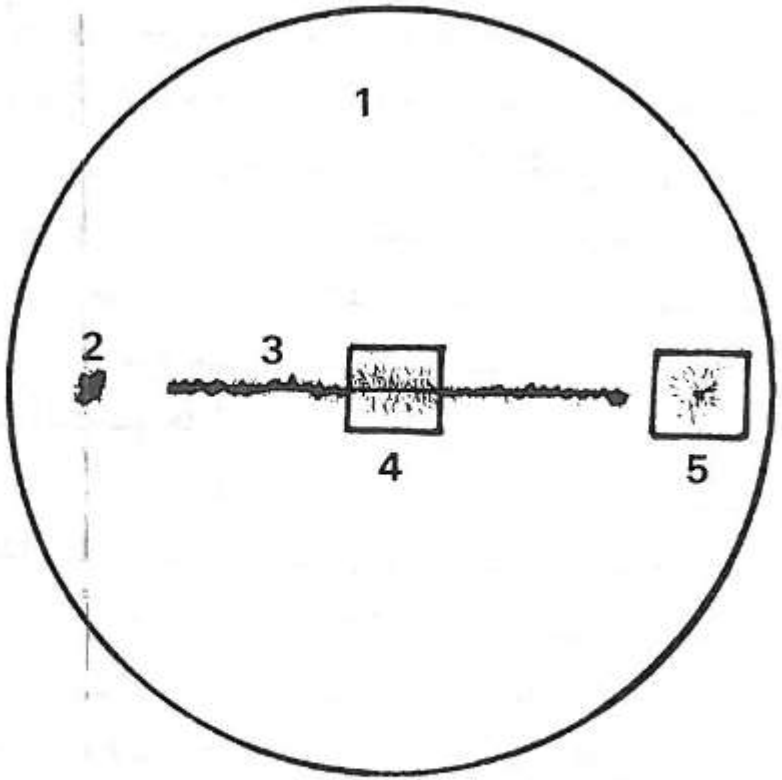
موضوع جدید
شناسایی مخمرها

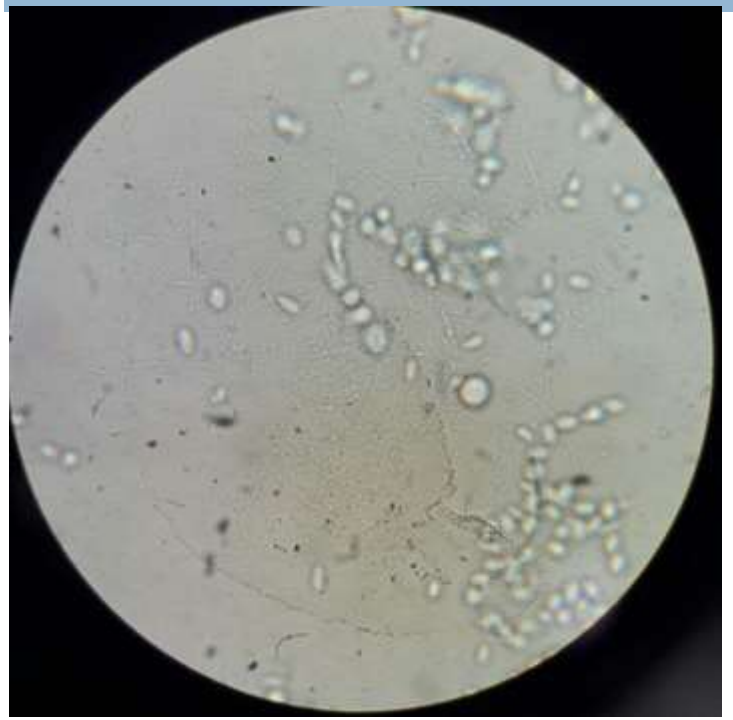
fppt.com

- برداشت یک کلنی
- رنگ آمیزی جهت مشاهده و اطمینان از مخمر

۱–بررسی قابلیت رشد ریسه‌ای

- **ممکن است مخمرهایی قابلیت رشد ریسه ای داشته باشند اما این ویژگی را همواره و در همه ی کشت های خود نشان ندهند. پس شرایط ویژه ای را باید بکار برد تا مخمر های ریسه دار، ریسه خود را آشکار کنند.**
- **برای مشاهدات ریسه از تکنیک پلیت دالمن :**
  - تلقیح خطی و دو نقطه ای مخمر در سطح محیط کشت (کورن میل آگار)
  - پوشاندن یکی از نقطه ها و قسمتی از خط توسط لامل سترون (در الکل و شعله) جهت بررسی تنش اکسیژن
  - ۷ روز گرمخانه گذاری و بررسی روزانه رشد ریسه با لوپ.
- **بررسی میکروسکوپی در صورت وجود هیف:** بر روی لام یک قطره کاتن بلو ریخته و سپس با احتیاط لامل را از روی محیط برداشته و بر روی کاتن بلو گذاشته و زیر میکروسکوپ بررسی شود. اگر میسلیوم وجود داشت یعنی تست مثبت است.





شکل (۷-۹)- نمایش کشت به روش پلیت دالمن، ۱) ظرف پتری دارای محیط کشت مناسب، ۲) محل کشت نقطه‌ای هوازی ۳) محل کشت خطی هوازی، ۴) محل کشت خطی بیهوازی (دارای لامل)، ۵) محل کشت نقطه‌ای بیهوازی (دارای لامل).

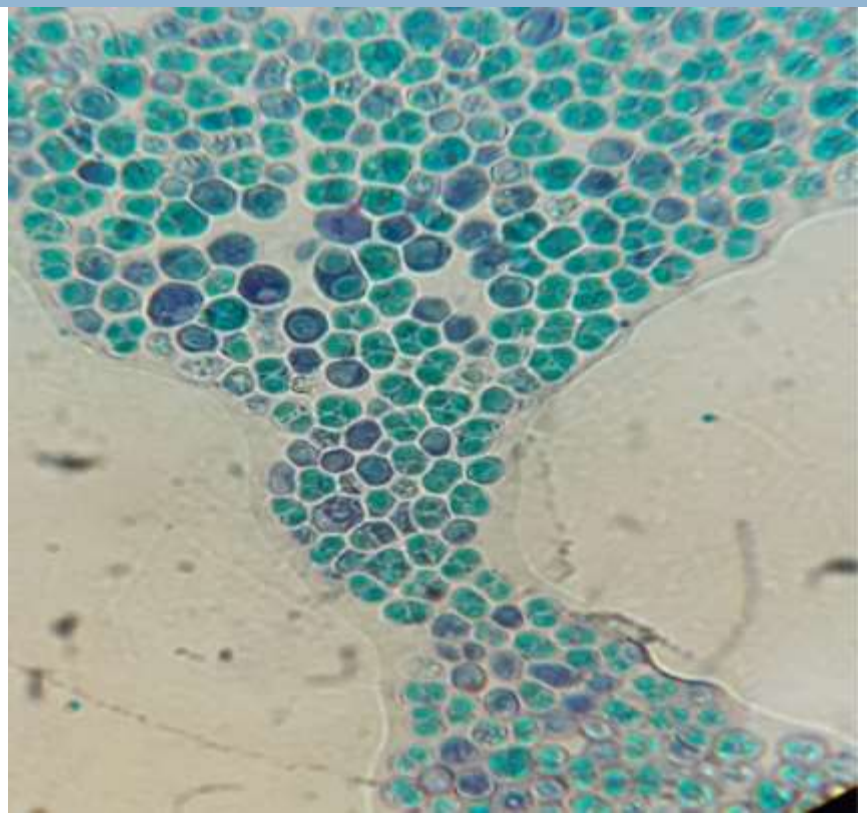
۲–آزمایش آسکوسپورها

۱) این آزمایش امکان تولید آسکوسپور توسط مخمر و و نیز بررسی تعداد و شکل آنها را امکان پذیر می سازد.

۲) روش کار: ابتدا کشت تازه ای از مخمر بر روی محیط YMA در ۲۵°C تهیه و سپس به محیط‌های ویژه‌ی تولید آسکوسپور مثل استات آگار (AA) شیب دار، منتقل می‌شود (کشت زیگزاگ).

۳) بعد از ۷۲ ساعت در ۲۵°C، از کلنی مخمرها برداشت نموده و پس از رنگ‌آمیزی با مالاشیت گرین در زیر میکروسکوپ مطالعه می‌کنیم. (کلنی مخمر را بر روی قطره ای آب بر روی لام قرار داده و گستره تهیه کردیم. سپس آن را روی حمام آب گرم قرار دادیم و بر روی آن مالاشیت گرین ریختیم و بعد از ۲ تا ۳دقیقه شستشو انجام دادیم و سپس به مدت ۴۵ ثانیه سافرانین ریختیم و بعد شستشو انجام داده و زیر میکروسکوپ بررسی کردیم.)

۴) در صورت منفی بودن نتیجه‌ی کشت، حداقل تا ۶ هفته در ۲۰°C برای بررسی مجدد، قابل نگهداری است.

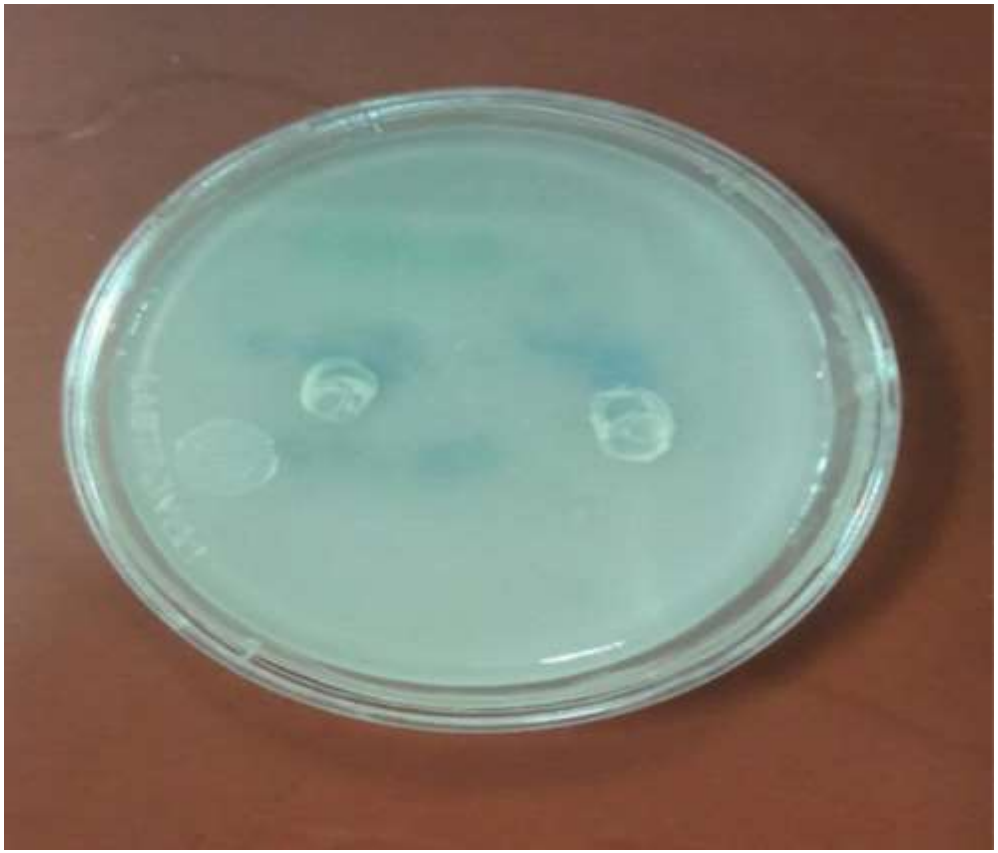


۳–قابلیت تولید اسید

۱) برخی از مخمرها، با مصرف قندهای مختلف به ویژه گلوکوز اسید تولید می‌کنند؛ این آزمایش در محیط کشت کاستر (CA) قابل انجام است.

۲) این محیط کشت حاوی کربنات کلسیم است و در صورت تولید اسید، هاله‌ی شفافی در اطراف محل رشد مشاهده می‌شود.

۱) روش کار: مخمر با سواب یا فیلدوپلاتین به صورت ۲ نقطه با فاصله در وسط محیط به صورت سطحی، کشت داده می‌شود و کشت‌ها به مدت یک هفته در ۲۵°C قابل نگهداری است و روزانه بررسی می‌شود.



۴–رشد در تراکم بالای دکستروز

۱) این آزمایش، قابلیت تحمل فشار اسمزی بالا در مخمرها را روشن می‌کند.

۲) آزمایش به صورت کشت سبک مخمرها بر روی آگار شیب‌دار در لوله انجام می‌گیرد و کشت‌ها تا چهار هفته در ۲۵°C قابل نگهداری است.

۳) محیط کشت مناسب یعنی CGYB حاوی ٪۵۰ درصد تا ٪۶۰ دکستروز است.

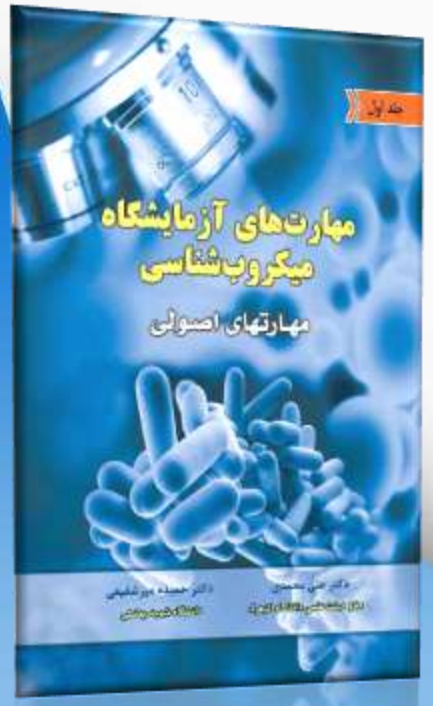
۴) **روش کار**: با لوپ مقداری از نمونه را در کشت مایع CGYB که ۵۰ تا ۶۰ درصد دارای قند است،حل کرده و سپس برای حل شدن بهتر و همگن سازی vortexکنید. پس از یک هفته رشد را بررسی کنید. در صورت کدر شدن و تشکیل رسوب ،یعنی نمونه ساکارومایسس است

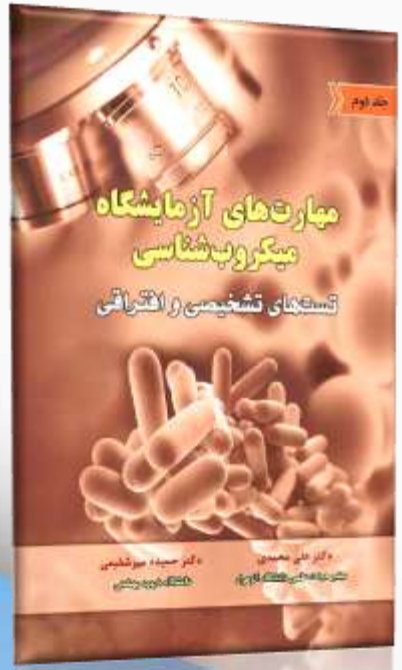
۵– قابلیت تخمیر قندها

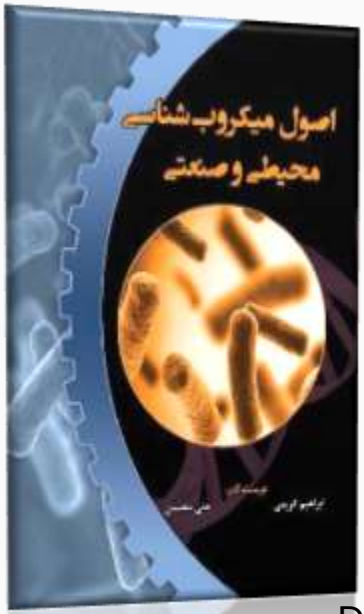
- بیش از نیمی از مخمرهای شناخته شده، حداقل دکستروز را تحت شرایط نیمه – بی‌هوازی تخمیر کرده و گاز دی اکسیدکربن تولید می‌کنند.
- شاید بتوان گفت که تمامی مخمرها قادر به تولید اندکی اتانل و دی اکسیدکربن باشند، آنچه که انواع تخمیری را از انواع غیرتخمیری متمایز می‌کند، سرعت فرایند و مقدار فراورده‌های تخمیر است که در انواع غیرتخمیری بسیار ناچیز بوده و با لوله‌ی دورهام قابل اندازه‌گیری نیست.
- در هر حال، روش معمول، افزودن ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلول‌های مخمر با تراکم تقریبی $۱۰^{۷}$ در میلی‌لیتر به محیط کشت YB در لوله‌ی آزمایش حاوی لوله‌ی دورهام است.
- این آزمایش در حضور شاهد منفی (YB بدون قند) انجام می‌شود. تراکم قند افزوده شده به کشت مورد آزمایش ۵۰ میلی مول است و به لوله‌های ۱۵۰ × ۱۶ میلی‌متر، ۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه می‌شود.

منابع:

- صعودی، محمد رضا. **مبانی و آزمونهای فرایندهای تخمیری**، انتشارات دانشگاه الزهرا، چاپ نخست، ۱۳۷۷.
- محمدی، علی و میرشفیعی، حمیده. **مهارت های آزمایشگاه میکروب شناسی** ، جلد ۱– ۳ . انتشارات دانشگاه الزهرا، چاپ نخست، ۱۳۹۵.
- محمدی، علی و کریمی، ابراهیم. **اصول میکروب شناسی محیطی و صنعتی.** انتشارات آراد کتاب، چاپ نخست، ۱۳۹۳.







fppt.com