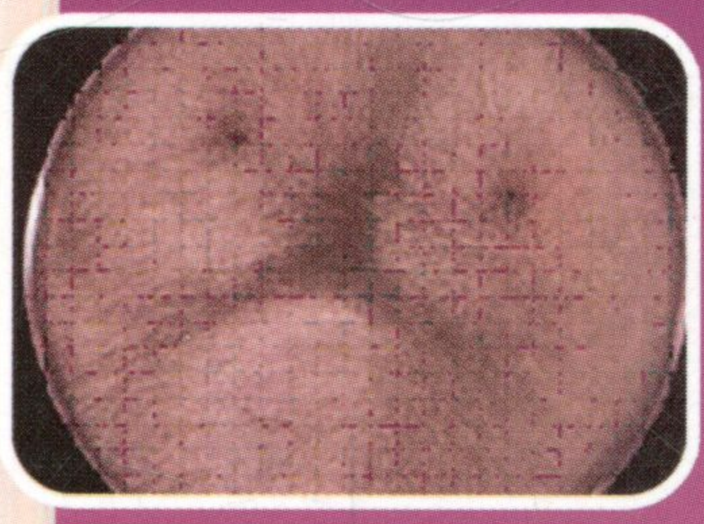
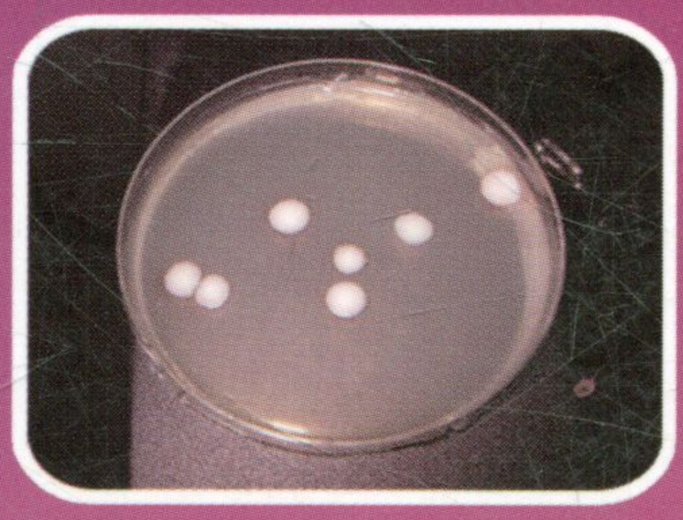
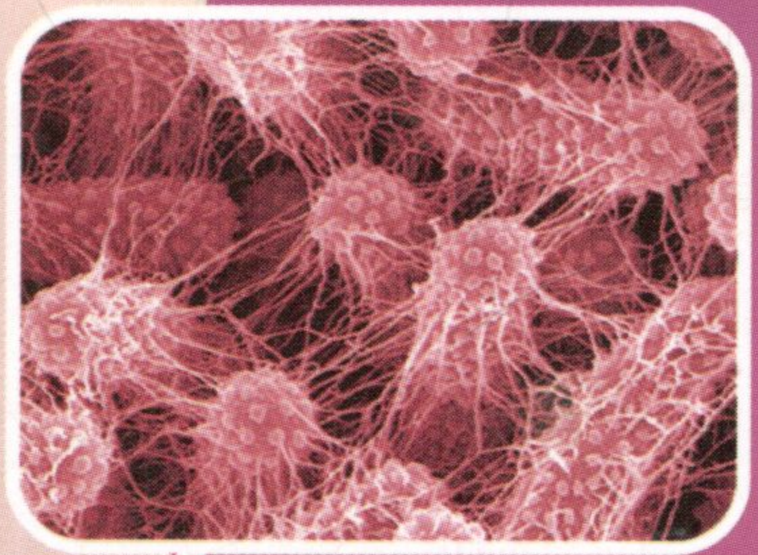
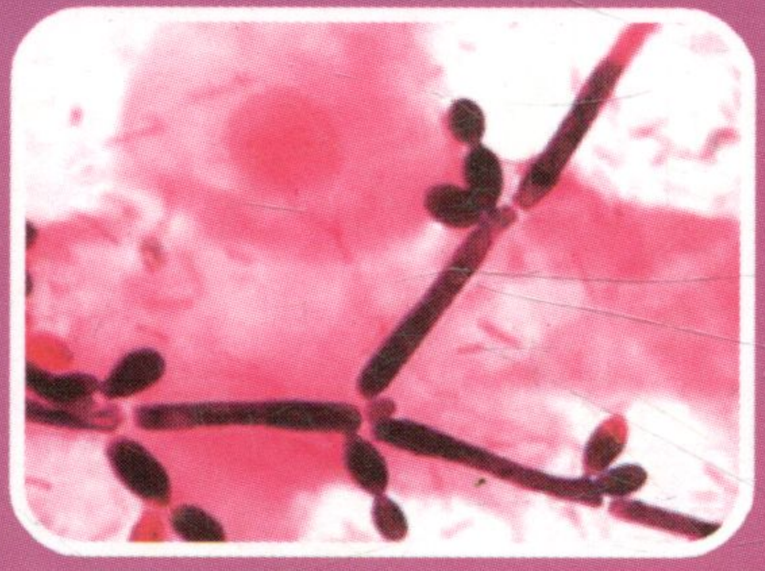
ميكروبيولوجى اللبن
السائل و منتجاته









دكتورة
عبير محمد عبد الحميد

قسم علوم و تكنوجيا الأغذية و الألبان
كلية الزراعة - جامعة دمنهور

مكتبة بستان المعرفة
لطباعة و نشر و توزيع الكتب

ميكروبيولوجى اللبن
السائل ومنتجاته

ميكروبيولوجى اللبن

السائل ومنتجاته

دكتورة

عبير محمد عبد الحميد خليف

قسم علوم و تكنولوجيا الأغذية و الألبان

كلية الزراعة - جامعة دمنهور

مكتبة بستان المعرفة

للطباعة و نشر و توزيع الكتب

كفر الدوار - البحيرة

٠١٢٢١١٥١٢٣٧ ٠ ٠٤٥/ ٢٢١١٤٩٥

اسم الكتاب ميكروبيولوجى اللبن السائل ومنتجاته

المؤلف : د /عبير محمد عبد الحميد

2014

الطبعة الاولى

رقم الايداع : ٢٠١٣/١٩٣٠٢

الترقيم الدولى: ٧ - ١٦١ -٣٩٣- ٩٧٧- ٩٧٨

الفهرسة بستان المعرفة ٢٠١٤

٣٧٢ ص ١٧.٥ * ٢٥

تدمك : ٧ - ١٦١ -٣٩٣- ٩٧٧- ٩٧٨

أ- العنوان-

الناشر

مكتبة بستان المعرفة

ج. م .ع - كفر الدوار - الحدانق – ش سور المصنع أمام أبراج الحلوانى

☎: ٠٤٥/٢٢١١٤٩٥ &

الإسكندرية ٠١٢١١٥١٢٣٧

E-mail: bostan_elma3rafa@yahoo.com

الطباعة و التجهيزات الفنية:

دار الجامعيين لطباعة والتجليد الاسكندرية

جميع حقوق النشر محفوظة للناشر

ولا يجوز طبع أو نشر أو تصوير أو إنتاج هذا المصنف أو أى جزء منه بأية صورة من الصور

بدون تصريح كتابى مسبق ومن يخالف ذلك يتعرض للمسائلة القانونية المنصوص عليها فى القانون المصرى

إهداء

إلى من أكن له كل حب وتقدير وإعــزاز وعرفاناً بالجميل إلى/

أمى

أبى

زوجى الحبيب

أيضا إهداء ذو طابع خاص إلـــى إبنتـــى الحبيبة الغالية(مى هانى الشال) اهدى هذا العمل المتواضع.

د. عبير محمد عبد الحميد خليف

مقدمة

يعتبر اللبن غذاء متكاملاً نظرًا لما يحتويه من عناصر غذائية تشمل البروتين و الكربوهيدرات و الدهون و الأملاح اللازمة للنمو و بعض الفيتامينات.

ومن جهة أخرى فإن اللبن يحتوى على كمية كبيرة من الماء الذى يعد أساس النشاط الحيوى باللبن، فهو يمثل عاملاً مهمًا جدًا لهذا النشاط ، فإذا أضفنا إلى ذلك أن درجة حرارة اللبن عند الحلب تكون عادة ٣٨ °م - وهى درجة ملائمة لنمو الكثير من الكائنات الحية الدقيقة- فإن النشاط الميكروبى باللبن يكون شديدًا ، الأمر الذى يؤدى إلى حدوث تغيرات عديدة غير مرغوبة فى جودة اللبن ، و قد تؤدى فى النهاية إلى فساده.

ومن هنا فإن الإلمام الكافى بميكروبيولوجيا الألبان يتيح لنا فهم مفاتيح التعامل الصحى مع اللبن و منتجاته بما يضمن سلامة هذه المنتجات و جودتها ، كما يضمن استغلال التطبيقات المفيدة لميكروبيولوجيا الألبان فى تصنيع منتجات متنوعة تواكب أذواق المستهلكين و حاجاتهم.

وفى هذا الكتاب نلقى الضوء على علاقة الميكروبات باللبن و منتجاته، و أنواع التغيرات التى تحدثها باللبن ، بالإضافة إلى توضيح الترابط بين ميكروبات اللبن و العوامل المؤثرة على نمو الكائنات الحية الدقيقة و كذلك طرق إبادة هذه الكائنات الحية الدقيقة فى اللبن.

أيضا أهتممت بموضوع تركيب البكتيريا و تقسيمها تبعا لأحدث تقسيم، والذى ظهر فى الطبعة الثانية من كتاب Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (التى تشمل ٥ Volumes) و ذلك خلال

٥ سنوات هى ٢٠٠١ و ٢٠٠٥ و ٢٠٠٩ و ٢٠١٠ و ٢٠١٢ م، وكذلك الصفات الظاهرية و المزرعية و الفسيولوجية للبكتيريا المتواجدة باللبن و منتجاته و المشاكل التى قد تسببها هذا البكتيريا باللبن.

كذلك فقد خصصت بابا لفطريات (أعفان و خمائر) اللبن حتى أوضح تقسيمها و أهم الأجناس المتواجدة فى اللبن و منتجاته ، بالإضافة إلى توضيح أهم التغيرات المرغوبة و غير المرغوبة التى تحدثها هذة الفطريات فى اللبن و منتجاته

أما البادئات المستخدمة فى الصناعات اللبنية فقد تم تقسيمها وتوضيح أهميتها وطرق تنشيطها و مشاكلها فى مصانع الألبان ، كما تم تقسيم البكتيروفاج (فيروس البكتيريا) و توضيح الأضرار التى قد تنجم عن تلوث مصانع الألبان به و كذلك كيفية الوقاية منه.

و لاشك أن تعريف الباحث و المستهلك بالميكروبات المتواجدة باللبن الخام و المبستر و المعقم و الألبان المكثفة المحلاة و غير المحلاة و الألبان المجففة و الألبان المتخمرة و الجبن بأنواعه (جاف-نصف جاف-طرى) و القشدة و الزبد يعتبر من الموضوعات الحيوية الهامة التى تؤدى إلى زيادة الوعى الصحى.

و من منطلق اهتمام الهيئات العالمية و المحلية بنشر الوعى الصحى فلقد خصصت بابًا يوضح الميكروبات المسببة للأمراض التى تنتقل عن طريق الإنسان و كذلك الأمراض التى تنتقل عن طريق الحيوان الحلوب وكيفية القضاء على هذة الميكروبات.

كما خصصت الباب الثامن لتوضيح طرق مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام و منتجاته ، بالإضافة إلى تزويد هذا الكتاب بعدد من الروسومات و الصور التوضيحية ، كما ذيل هذا الكتاب بالعديد من المراجع العربية و الأجنبية.

و أخيرًا أتمنى من الله عز وجل أن يعم هذا الكتاب بالفائدة على الدارسين و الباحثين و العاملين و المهتمين بهذا المجال ، كما أتوجه بالشكر و التقدير إلى كل من تفضل بأى مساهمه فى ظهور هذا الكتاب إلى حيز الوجود.

د. عبير محمد عبد الحميد

جامعة دمنهور يناير / ٢٠١٤ م

الباب الأول

تقسيم الكائنات الحية الدقيقة

تطور علم ميكروبيولوجيا اللبن و منتجاته:-

وجود الكائنات الحية الدقيقة باللبن كان الشغل الشاغل لكثير من العلماء ، مما أدى إلى تطور البحوث و الاكتشافات العلمية فى هذا المجال لذلك بات من الضرورى توضيح أهم مراحل تطور علم ميكروبيولوجيا الألبان و منتجاتها (جدول ١).

جدول(١): أهم مراحل تطور علم ميكروبيولوجيا الألبان و منتجاتها .

إسم العالم	السنة	أهم إنجازته
أنتونى فان لفينهوك Antony Van Leeuwenhoek	١٦٣٢-١٧٢٣ م	أول من وصف الكائنات الحية الدقيقة و سماها الحيونات الصغيرة.
شيل Scheele	١٧٨٠ م	اكتشف أن الحمض الموجود فى اللبن الحامضى هو حمض اللاكتيك.
باستور Pasteur	١٨٦٠ -١٨٦٤ م	قام بإجراء عملية البسترة على الخمور حيث إن تسخين الخمور عدة دقائق وعلى درجة حرارة تتراوح بين ٥٠ °-٦٠° م منع ظهور بعض العيوب فيها .
شفان Schwann	١٨٣٧ م	ذكر أن الحموضة المتكونة فى اللبن ناتجة عن طريق الكائنات الحية الدقيقة.
تيلور Tylor	١٨٥٧ م	أشار إلى إمكانية إنتشار الأمراض عن طريق إستهلاك الألبان الملوثة.
روبرت كوخ Robert Koch	١٨٨٢ م	**اكتشف الجرثومة المسببة لمرض السل (مرض الدرن).**
بروس Bruce	١٨٨٧ م	قام بعزل البكتيريا المسئولة عن الحمى المالطية فى جزيرة مالطة.

ستورش Storch	١٨٨٨ م	وضح دور الميكروبات فى إنتاج مركبات الطعم والرائحة فى صناعة الزبد.
أدامتز Adametz	١٨٨٩ م	قام بعزل أحد الميكروبات المسئولة عن اللبن الخيطى.
سالمون Salmon	١٩٠٠ م	عزل ميكروب الـ *Salmonella*
Henery l'issier	١٩٠٠ م	قام بعزل الـ Bifidobacteria من براز الأطفال الرضع.
متشنيكوف Metchnikoff	١٩٠٧ م	أظهر أن الألبان المتخمرة لها دور صحى و علاجى راجع إلى ما بها من ميكروبات.
باربر Barber	١٩١٤ م	أثبت العلاقة بين الميكروب و التوكسين المنتج من ميكروب الـ *Staphylococcus aureus*.
فريدريك Frederick W.Twort	١٩١٥ م	لاحظ تحلل بعض المستعمرات البكتيرية وإختفائها.
دى-هيريل d' Herelle	١٩١٧ م	أطلق اسم البكتيريوفاج (فيروس البكتيريا) على العامل المحلل للبكتيريا.
Gratia	١٩٢٥ م	لاحظ أن البكتيريوسين الناتج من إحدى سلالات الـ *Escherichia coli* له تأثير قاتل لسلالة أخرى من نفس النوع.
Murray و زملاؤه	١٩٢٦ م	أول من وصفوا *Listeria monocytogenes*.
Hugh Whitehead	١٩٣٠ م	أوصى بإستخدام بادىء قياسى عند إنتاج جبن ذو مواصفات قياسية فى زمن تخمر ثابت .

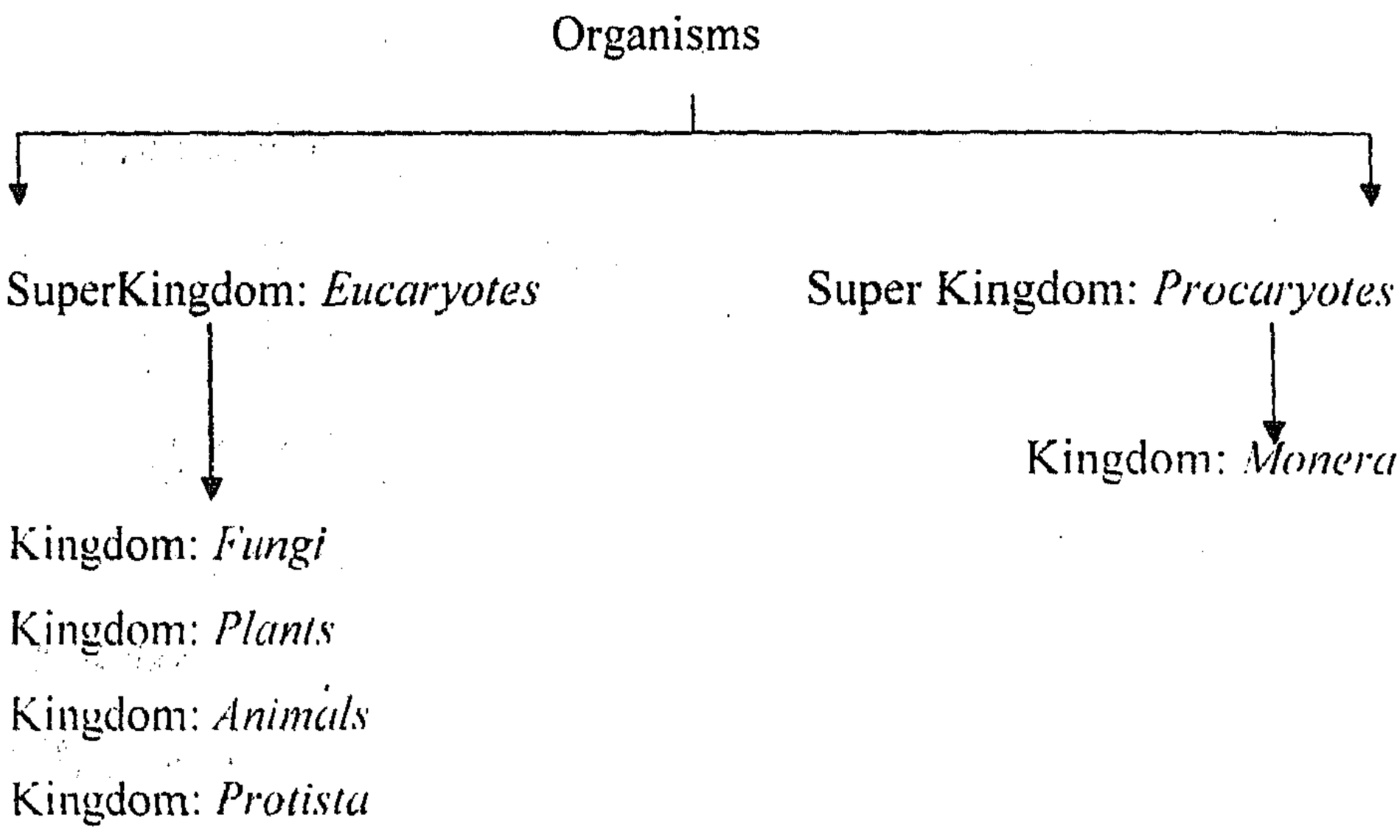
Cox and Whitehead	١٩٣٥ م	إكتشفا البكتيريوفاج المسئول عن توقف سلالة *Streptococcus lactis* عن إنتاج الحامض.
Schlief Stein and Coleman	١٩٣٩ م	قاما بعزل الـ *Yersinia enterocolitica*.
روسكى Ruski	١٩٤٠ م	أول من حدد حجم البكتيريوفاج و تعرف على شكله عن طريق إستخدام الميكرسكوب الإلكترونى.
Lilly and Stillwell	١٩٦٥ م	عرفا مصطلح الدعم الحيوى Probiotic.
برادلى Bradley	١٩٦٧ م	قام بتقسيم البكتيريوفاج إلى ٦ أقسم و ذلك بناءًا على صفات الحمض النووى و الشكل المورفولوجى.
Sharpe	١٩٧٩ م	قامت بإنتخاب سلالات من الـ *Lactococcus lactis* و *ssp. lactis* *Lactococcus lactis* *ssp.cremoris* ليصل عددها إلى ٥× ١٠^{١١} خلية/مل فى وقت قصير جداً.
Dsborne و زملاؤه	١٩٨٠ م	ابتكروا طريقة المزارع المديلزة dialysis culture لإنتاج البادىء.
Schaafsma	١٩٩٨ م	أثبت أن التغذية اليومية على ١٢٥مل من لبن داعم للحيوية Probiotic milk يؤدى إلى تقليل الكوليسترول من النوع LDL .
Ackermann	٢٠٠١ م	ذكر أن معظم الفاجات ذات ذيل.

Gardiner و زملاؤه	٢٠٠٢ م	تمكنوا من إنتاج جبن تشيدر بإستخدام سلالة داعمة للحيويةProbiotic .
Kailasapathy	٢٠٠٦ م	أنتج يوغورت بإستخدام البكتيريا المكبسلة بواسطة ألجينات الصوديوم.
Heidebach و زملاؤه	٢٠٠٩ م	إبتكروا طريقة لإنتاج ميكروكبسول من السلالات الداعمة للحيويةProbiotic بإستخدام بروتينات اللبن وإنزيم الرنين.
Mutai و زملاؤه	٢٠٠٩ م	أثبتوا أن المركبات الثانوية المستخلصة من الصمغ العربى تعمل كمضاد لنمو الميكروبات.
Ahmadova و زملاؤه	٢٠١٣ م	وجدوا أن البكتيريوسين المنتج من السلالة *Lb.curvatus* A61 يثبط نمو كل من *Bacillus cereus* و *L. monocytogenes* و *Cladosporium* و *Fusarium*.

تقسيم الكائنات الحية الدقيقة

Classification of Micro-Organisms

الكائنات الحية الدقيقة (Micro Organisms) هى الكائنات الحية التى لا ترى بالعين المجردة و قطرها لايزيد عن ٠,١ ملليمتر ، ويتم تقسيم الكائنات الحية إلى ٥ ممالك كما يلى: -



و بناءًا على ذلك تقسم الميكروبات حسب درجة تطورها إلى :-

١- ميكروبات غير مكتملة خلويًا و تشمل الفيروسات و الركتسيا وهى تتبع *Procaryotes* .

٢- ميكروبات مكتملة خلويًا و غير مكتملة نوويًا و تشمل البكتيريا وهى تتبع *Procaryotes*.

٣-ميكروبات مكتملة خلويًا ونوويًا و تشمل الأعفان و الخمائر و هى تتبع *Eucaryotes*.

أولاً: تقسيم البكتيريا Classification of Bacteria

الوضع التقسيمى للبكتيريا فهى تتبع

Super Kingdom: *Procaryotes*

Kingdom: *Moner*

أهم ما يميز البكتيريا هو:-

١-وجود الغلاف أو الكبسول Capsoul

يعتبر الغلاف مخزنًا لغذاء الخلية البكتيرية وهو يتكون من Polysaccharides ، و وجود الغلاف يسبب اللزوجة أو الحالة الخيطية كما يزيد من مقاومة خلايا البكتيريا للمعاملات الحرارية ويحميها من مهاجمة كرات الدم البيضاء .

٢-تكوين جراثيم داخلية

مثل : *Clostrodium - Bacillus* التى تقاوم الحرارة المرتفعة أكثر من الخلايا الخضرية .

٣-تكوين تجمعات

البكتيريا توجد فى صورة تجمعات متعددة بسبب تكاثرها بالإنقسام الثنائى ، وهذا يجعلها أكثر مقاومة للحرارة من البكتيريا الموجودة فى صورة مفردة .

قديمًا كانت البكتيريا تصنف و تقسم إلى مجموعات على أساس شكلها الظاهرى و احتياجتها الهوائية و تفاعلها مع صبغة جرام فى كتاب **Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology** حيث صدرت الطبعة التاسعة من هذا الكتاب فى أربعة مجلدات:

١- المجلد الأول Volume فى عام ١٩٨٤و يشمل ١١ قسمًا Section .

٢- المجلد الثانى Volume فى عام ١٩٨٦و يشمل ١٧ قسمًا Section.

٣- المجلد االثالث Volume فى عام ١٩٨٩و يشمل الاقسام من ١٨ - ٢٥.

٤- المجلد الرابع Volume فى عام ١٩٨٩ و يشمل الاقسام من ٢٦ - ٣٣.

وتبعا للمجلد الرابع تم تقسيم البكتيريا إلي ٣٣ مجموعة أو Section وقد تم ترتيب الأجناس التابعة لكل مجموعه أبجدية يهمنا منها الأتى:-

قسم ٤: العصويات و الكرويات السالبة لجرام

Section 4: Gram Negative Aerobic Rods & Cocci

يضم الأجناس الأتية

Xanthomons, Halobacterium , Halococcus , Pseudomonas Halomonas , Flavobacterium Acetobacter , Gluconobacter , Alcaligenes , Brucella.

قسم ٥ : العصويات السالبة لجرام ، اللاهوائية اختيارًا

Section 5 : Facultatively Anaerobic, Gram Negative Rods

يضم الأجناس الأتية

Citrobacter, Escherichia , Salmonella, Shigella, Yersinia, Proteus , Erwinia , Klebsiella , Enterobacter , Serratia.

قسم ١٢ : مجموعة البكتيريات الكروية الموجبة لجرام

Section 12: Gram Positive Cocci Group

يهمنا الأجناس الأتية

Streptococcus, Pediococcus, Staphylococcus, Micrococcus Leuconostoc

قسم ١٣ : العصويات و الكرويات الموجبة لجرام و المكونة لجراثيم داخلية

Section 13: Endospore-Forming Gram-Positive Rods and Cocci

ويهمنا الجنسان *Clostridium, Bacillus*

قسم ١٤ : العصويات الموجبة لجرام ، غير المنتظمة

Section 14 : Irregular, Non Sporing, Gram Positive Rods

ويهمنا الجنسان *Listeria* , *Lactobacillus*

قسم ١٥ : العصويات الموجبة لجرام ، غيرالمتجرثمة غير المنتظمة

Section 15: Irregular, Non Sporing, Gram Positive Rods

ويهمنا الأجناس *Brevibacterium* , *Bifidobacterium* , *Propionibacterium*.

التقسيم الحديث للبكتيريا

ظهر أحدث تقسيم للبكتيريا فى الطبعة الثانية من كتاب Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (التى تشمل ٥ Volumes) و ذلك خلال ٥ سنوات هى ٢٠٠١ و ٢٠٠٥ و ٢٠٠٩ و ٢٠١٠ و ٢٠١٢ م و تم فيها التقسيم على أساس تتابع القواعد النيتروجينية و كيفية ترتيبها (أى البصمة الوراثية للبكتيريا).

وفى هذا الكتاب تم وضع الكائنات الحية الدقيقة اللانووية أو التى لا تكون نواة حقيقة Procaryotic تحت الرتبة التقسيمية Toxonomic Rank التى تشمل الترتيب التالى :-

Domain
Phylum
Class
Order
Family
Genus
Species
Subspecies

Toxonomic Rank of Procaryotic Organisms

Domain: Bacteria

Phylum: Bacteria (BI ⟶ BXXIII)

1- Phylum B XIII: Firmicutes .Phy.nov.

A-Class I: *Clostridia*

B-Class III : *Bacilli*

2-Phylum B XIV: Actinobacteria .Phy.nov.

3-Phylum B XII: Proteobacteria .Phy.nov.

4-Phylum B XX: Bacteroidetes .Phy.nov.

Domain: Archea

1-Phylum: Archea AI
2-Phylum : Archea A II

وسوف نتناول الحديث بالتفصيل عن أهم الأجناس فى مجال الألبان فى الباب الثالث.

ثانياً :تقسيم الفطريات **Classification of Fungi**

بالنظر للوضع التقسيمى للفطريات نجدها تتبع

Super Kingdom: *Procaryotes*

Kingdom: *Fungi*

وأهم ما يميز مملكة الفطريات إنها تضم مجموعه كبيرة من الأجناس و أن عددًا كبيرًا من الفطريات غير معروف حتي الآن ، فنجد أن بعض الفطريات لم يتم عزلها و تنقيتها والتعرف عليها حتي الآن.

الامتحان البعدى:-

اختر إجابة واحدة

١-قام باكتشاف الكائنات الحية الدقيقة و أطلق عليها الحيوانات الصغيرة

A. Scheele

B. Antony van Leeuwenhoek

C. Pasteur

٢-ذكر أن سبب الحموضة المتكونة باللبن هو نشاط ما به من ميكروبات

A. Tylor

B. Robert Koch

C. Schwann

٣-الأعفان والخمائر كائنات حية دقيقة مكتملة خلوياً و نووياً:

A. *Monera*

B. *Procaryotes*

C. *Eucaryotes*

٤-مكتشف جرثومة الدرن:

A. Bruce

B. Storch

C. Robert Koch

٥-قام بعزل بكتيريا البيفيدو من براز الأطفال

A. Henery Tissier

B. Salmon

C. Barber

٦- من وظائف غلاف البكتيريا:

A. يعمل كمخزن لغذاء الخلية

B. يقلل من مقاومة البكتيريا للحرارة

C. يقلل من اللزوجة

٧- أول من عرف مصطلح الدعم الحيوى Probiotic

A. Ahmadova و زملاؤه

B. Mutai و زملاؤه

C. Lilly and Stillwell

٨- وجود البكتيريا فى تجمعات يحميها من:

A. مهاجمة كرات الدم البيضاء

B. المعاملة الحرارية

C. A و B معًا

٩- وجد أن البكتيريوسين المنتج من *Lb.curvatus* A61

A. Ahmadova و زملاؤه

B. Dsborne و زملاؤه

C. Schlief Stein and Coleman

١٠-سبب وجود البكتيريا فى تجمعات هو :

A. الإنقسام بالتبرعم

B. الإنقسام الثنائى

C. A و B معًا

الباب الثانى

نمو الميكروبات باللبن وكيفية إبادتها

علاقة اللبن بالميكروبات

اللبن المتكون داخل ضرع الحيوان السليم يكون خالياً من الميكروبات ويبدأ تلوثه عندما يخرج من ضرع الحيوان حيث يحدث التلوث بالميكروبات من خلال فتحة الحلمة. و أهم الأجناس الموجوده به هى *Micrococcus* ، *Streptococcus*، *Corynebacterium* ، و عندما تصل هذه الميكروبات إلى اللبن تجد جميع العناصر الغذائية من بروتين و كربوهيدرات و دهن (جدول ٢) مما يؤدى إلى نمو و تكاثر الميكروبات.

جدول(٢): النسب المئوية للعناصر الأساسية فى لبن الإنسان و بعض الحيوانات.

النوع	المادة الصلبة	نسبة الدهن	البروتين	اللاكتوز	الرماد
المرأة	١٢,٢٠	٣,٨٠	١,٠٠	٧,٠٠	٠,٢٠
الأبقار	١٢,٧٠	٣,٧٠	٣,٤٠	٤,٨٠	٠,٧٠
الماعز	١٢,٣٠	٤,٥٠	٢,٩٠	٤,١٠	٠,٨٠
الأغنام	١٩,٣٠	٧,٤٠	٤,٥٠	٤,٨٠	١,٠٠

المصدر Fox and McSweeney(1992)

لذا يعد اللبن ومنتجاته بيئة و وسطًا ممتازًا للميكروبات و خاصة الميكروبات الممرضة ويمكن تقسيم الميكروبات طبقا لتأثيرها على مكونات اللبن وكذلك الأمراض التى تسببها للمستهلك إلى:-

اولا: ميكروبات تحدث تغيرات مرغوبة فى اللبن:-

هى الميكروبات المرغوب فيها (مثل البادئات) و التى قد تضاف عمدًا إلى اللبن بهدف معين ، كما فى حالة تصنيع بعض منتجاته مثل الألبان المتخمرة والجبن والزبد.

ثانياً: ميكروبات تحدث تغيرات غير مرغوبة فى اللبن:-

هى الميكروبات غير المرغوب فيها وهى التى تؤدى إلى تلف اللبن ومنتجاته عن طريق الإنزيمات التى تفرزها أثناء نموها و تكاثرها باللبن.

ثالثاً: ميكروبات ممرضة فى اللبن:-

وهى الميكروبات التى تسبب عددًا من الأمراض للمستهلك ، وتنقسم إلى مجموعتين:-

أ- **الأمراض التى تنتقل من الإنسان المصاب الحامل للميكروب إلى الإنسان أو إلى اللبن :** مثل حمى التيفود والدوسنتاريا والحمى القرمزية والكوليرا وحمى الباراتيفود والتهاب الزور.

ب- **الأمراض التى تنتقل من الحيوان الحلوب إلى الإنسان أو إلى اللبن:**

مثل السل البقرى و حمى الضرع و الحمى المالطية و الحمى القلاعية و مرض الإجهاض المعدى و حمى كيو.

وسوف نتناول أنواع الأمراض التى تسببها هذه الميكروبات الموجودة فى اللبن بشىء من التفصيل فى الباب السابع.

التغيرات المرغوبة التى تحدثها ميكروبات اللبن:-

١-إنتاج الحموضة

ينجم عن نمو الميكروبات فى اللبن العديد من التغيرات المرغوبة أهمها الحموضة فمثلاً فى صناعة اليوغورت لابد من إضافة البادىء ، وهو يتكون من الـ *Str. thermophilus* بالإضافة إلى *Lb. delbrueckii* ssp *bulgaricus* اللذان يعملان على تخمير سكر اللبن (سكر اللاكتوز) إلى حمض اللاكتيك و هذا الحامض المتكون يؤدى إلى إنخفاض الـ pH إلى ٤,٦

وهى نقطة التعادل الكهربى التى يتخثر عندها اللبن و يتحول إلى يوغورت ، الذى يرغب الكثير فى إستهلاكه على هذ الصورة. أيضا عند ترك اللبن فإن الـ *Lactococcus lactis* و *Enterococcus* ssp. وغيرها تنمو فى اللبن منتجة الحموضة التى تحول اللبن إلى الحالة المتجبنة والذى يستخدم فى صناعة الجبن القريش بالطريقة التقليدية فى الريف المصرى.

٢ـ إنتاج النكهة

نمو الميكروبات باللبن قد يؤدى إلى إنتاج مركبات النكهه aroma producer و الرائحة فعلى سبيل المثال تستخدما *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* و ssp. *cremoris* فى صناعة الزبد لإنتاج النكهه ، و أيضا تستخدم *Brevibacterium linens* التى تنمو على سطح جبن اللامبرجر Limburger و تكسب سطح الجبن لونا برتقالى محمر وتعمل على تسوية الجبن حيث تعطى الجبن النكهه المميزه ويستخدما الـ *Penicillium camemberti* و *Penicillium caseicolum* فى صناعة جبن البراى Brie والكاممبرت وذلك لإكساب الجبن الطعم و النكهه المطلوبة.

٣ـإنتاج القوام

أشهر مثال للبكتيريا التى تقوم بتحسين القوام للجبن هى بكتيريا الـ *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* المستخدمة فى صناعه الجبن السويسرى Swiss type cheeses بهدف تكوين العيون و ذلك عن طريق إنتاج غاز CO_2 داخل الخثرة خلال فترة التسوية.

التغيرات غير المرغوبة التى تحدثها ميكروبات اللبن:-

هذه التغيرات تنجم عن بكتيريا قد لا تسبب أمراضًا و لكنها تؤدى إلى تشويه المنتج اللبنى و تكوين طعوم غريبة فيه كنمو الأعفان و الخمائر على سطح الجبن بحجرات التسوية أو نموها على سطح اليوغورت مكونة طبقة قطنية و غيرها من العيوب غير المرغوبة و لتبسيط الموضوع يمكن تلخيص هذه التغيرات غير المرغوبة فى جدول (٣).

الترابط بين ميكروبات اللبن

١- التعاون Metabiotic

هو العلاقة بين كائنين يستفيد إحدهما دون الأخر، أو بمعنى أخر إنها علاقة ينشأ عنها استفادة أحد الميكروبات من نواتج نمو الميكروبات الأخرى، فمثلا عند تحضين اللبن الخام على درجة حرارة الغرفة فتقوم البكتيريا الكروية مثل *Lactococcus lactis* بإنتاج حمض اللاكتيك فينخفض الـpH و يصبح الوسط حامضيًا فيقف نشاطها(عند حوالى ١% حموضة) يلى ذلك نمو ونشاط البكتيريات العصوية المحبة للحموضة المرتفعة مثل *Lactobacillus casei* فى اللبن مما يؤدى إلى زيادة الإنخفاض فى الـ pH و إرتفاع الحموضة إلى حوالى ٢ % ، وهذه الدرجة من الحموضة المرتفعة تشجع من نمو فطر اللبن (عفن الماكينات أو الخميرة الشبيهه بالفطر) و هو*Geotrichum candidum* حيث إنه يفضل الوسط الحامضى و يعمل على أكسدة حمض اللاكتيك إلى CO_2 و H_2O ، وعند نفاد السكر الموجود باللبن تبدأ *Bacillus cerius* فى تحليل البروتين للحصول على الطاقة فيتحول اللبن إلى ماء و أملاح و بعض الدهون. أيضا أثناء تصنيع الجبن السويسرى فإن بكتيريا حمض اللاكتيك تخمر سكر اللبن و تنتج حمض لاكتيك ثم تقوم الـ *Propionibacterium* بإستخدام هذا الحمض و تحوله إلى حمض بروبيونيك.

جدول(٣): التغيرات غير المرغوبة التى تحدثها الميكروبات فى اللبن و منتجاته.

التغير غير المرغوب	الميكروب المسبب
الطعم المتزنخ فى اللبن (يحدث نتيجة إفراز البكتيريا إنزيمات محللة للدهون)	*Bacillus subtilis , Pseudomonas, Micrococcus*
التجبن الحلو فى اللبن (نتيجة ترسيب الكازين بواسطة إنزيم يشبة إنزيم الرنين)	*Bacillus cereus , Bacillus subtilis , Pseudomonas ,Streptococcus*
الطعم المر	*Bacillus subtilis, Micrococcus, Pseudomonas*
اللبن الخيطى أو اللبن اللزج **Rody or stingy milk**	*Lactococcus lactis , Alcaligenes viscolactis , Enterococcus aerogenes*
الطعم القذر أو الطعم الزفر	Coliforms
القشدة الممزقة **Bitty or broken cream** (تمزق طبقة القشدة عند رج اللبن إلى جزيئات مختلفة الأحجام أو تندمج فى اللبن بعد ذلك وعند إضافة هذه القشدة إلى القهوة أو الشاى فإن هذه الجزيئات تطفو على السطح) حيث أن هذه البكتيريا تقوم بإفراز إنزيم الليثيناز الذى يحلل الليسثين فى الأغشية المحيطة بحبيبة الدهن .	*Bacillus cereus*
تكوين الغازات	Coliforms , *Clostridium butylicum , Clostridium perfrigenes ,*
تحلل البروتينات	*Bacillus cereus , Bacillus subtilis , Clostridium , Pseudomonas*
اللون الأزرق المخضر	*Pseudomonas fluorescens*
اللون الأصفر فى اللبن	*Micrococcus flavum*
تكوين أزرار على سطح الألبان المكثفة المحلاة	*Alternaria , Aspergillus , Cladosporium , Penicillium*
تكوين غازات و انتفاخات فى علب الألبان المكثفة المحلاة	*Torula , Coliforms*

٢- التكافل Symbiosis

هى علاقة إجبارية بين كائنين بحيث يستفيد كل نوع من الأخر ، فمثلاً بادىء اليوغورت عبارة عن بكتيريا كرويه و هى *Streptococcus thermophilus* و بكتيريا عصوية وهى *Lactobacillus delbruckii* ssp. *bulgaricus* حيث تنشط الـ *Streptococcus thermophilus* فى اللبن فتخمر سكر اللبن و تنتج الفورمات Formate بالإضافة الى إرتفاع الحموضة فيصبح الوسط ملائمًا لنمو و نشاط الـ *Lactobacillus delbreuckii* ssp. *bulgaricus* فتقوم هذه البكتيريا بعد ذلك بإنتاج الأحماض الأمينية خاصة الهستدين و الجليسين التى تشجع من نمو الـ *Streptococcus thermophilus* أى أن كل منهم يستفيد من الأخر.

٣-المشاركة Mutualism

هنا يستفيد كل نوع من النوع الأخر و العلاقة ليست إجبارية فإذا غاب أحد النوعين لايؤثر على النوع الأخر.

٤- التضاد Antagonism

هو أن أحد الميكروبين يفرز مواد سامة أو مضادات حيوية أو بكتيريوسنات أو أحماضًا كنواتج للتمثيل الغذائى فيثبط نمو الميكروب الآخر وقد يقضى عليه، و قد إستغلت هذه الظاهرة حديثا فى إستخدام *Lactococcus lactis* كحافظ طبيعى للجبن الأبيض حيث إنها تنتج بكتريوسين يسمى النيسين و هو مضاد للبكتيريا الضارة ، كذلك نمو بكتيريا حمض اللاكتيك فى اليوغورت تخفض الـ pH مما يثبط نمو البكتيريا التعفنية و البكتيريا المتجرثمة المحللة للبروتين ، أيضا وجد أن إستخدام *Saccharomyces boulardii* فى خلطات مع المضادات الحيوية أوقفت نمو *Clostridium difficle*.

٥-التنافس Competition

فى هذه العلاقة يحدث تنازع بين الميكروبين على المكان أو الغذاء أو على الأكسجين، فمثلاً يحدث تنافس بين *Bifidobacteium* ssp. و بين *Esherichia coli* على أماكن الإستيطان فى القولون بالإنسان، و أيضًا تستغل هذه العلاقة فى علاج الأطفال من الإسهال بتغذيتهم على السلالة *Lactobacillus acidophilus* GG فى صورة مجفدة.

٦-التطفل Parasitism

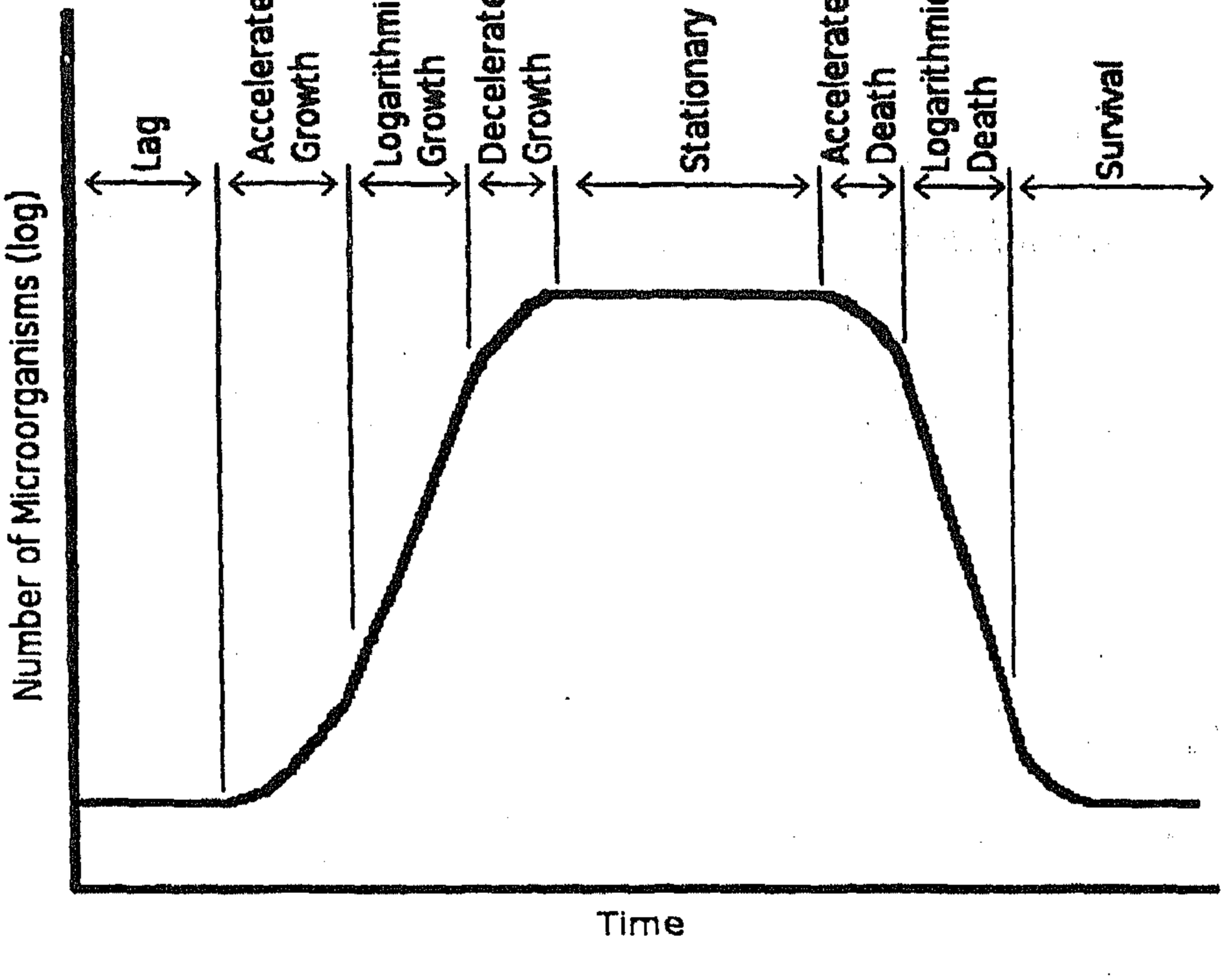
هى أن ميكروبًا يستغل ميكروبًا ويحصل على غذائه منه ، مثل البكتيريوفاج الذى يسيطر على بكتيريا البادىء ويتكاثر و يثبط من نموها فى مصانع الألبان.

نمو الكائنات الحية الدقيقة باللبن :-

يعرف النمو بأنه الزيادة فى البروتوبلازم مع الزيادة فى أعداد الخلايا الميكروبية ، ولفهم مراحل نمو أى كائن حى لابد من دراسة منحنى النمو Growth Curve.

منحنى نمو الميكروبات Growth Curve of Microbes

يمكن تقسيم مراحل نمو أى كائن حى إلى عدة مراحل تسمى أطوار Phases (شكل رقم ١) و ذلك عند توفير العناصر الغذائية وتثبيت باقى العوامل الأخرى المثالية لنمو أى كائن حى دقيق من رطوبة و رقم حموضة وغيره كما يلى :-



شكل رقم (١) : منحنى النمو لأى كائن حى.

١-طور السكون أو الركود Lag Phase

خلاله لا يحدث إنقسام في الخلايا (أى لا يحدث زيادة فى عدد الخلايا) بمعنى آخر هو سكون إنقسامى فقط وليس سكون في عمليات التخليق الحيوى داخل الخلية حيث أثبتت الدراسات الفسيولوجية مايلى:-

a) أن الخلية تزداد فى الحجم لتصل ١-٣ أضعاف حجمها الأصلى.
b) زيادة النشاط الأيضى .
c) معدل تنفس الخلية يزداد.
d) أن البكتيريا تكون أكثر حساسية للمواد الكيماوية السامة و للتغيرات الحرارية العالية والمنخفضة والبعيدة عن الحرارة المثلى للنمو في هذه المرحلة .

٢ـ طور النمو المتزايد Positive Acceleration Phase

يحدث خلاله زيادة فى معدل التكاثر ، أو زيادة فى عدد الخلايا.

٣ـالطور اللوغار يتمى Logarithmic or Exponential phase

فى هذا الطور يكون معدل التكاثر أعلى ما يمكن وثابت ، وتختلف الفترة الزمنية لطور النمو اللوغارتمى تبعا للعديد من العوامل :ـ

١ـ النوع ٢ـ الجنس ٣ـ الظروف البيئية السائدة

حيث انه بزيادة القدرة التخليقية للبروتوبلازم تزداد فترة طور النمو اللوغاريتمى و لتقليل النمو يجب تغيير جميع الظروف المؤدية إلى النمو مثل درجة الحرارة و الرطوبة والـ pH وإضافة بعض المواد المثبطة للنمو ، إجراء بعض المعاملات سواء كانت إشعاعية أو كيماوية أو حرارية لذلك تعتبر هذه المرحلة من أهم المراحل التى يمكن عن طريقها التأثير على الخلايا البكتيرية لخفض سرعة التكاثر والنمو .

٤ـ طور النمو المتناقص Negative acceleration

فى هذا الطور يحدث زيادة عدد الخلايا ولكن ببطء أو بمعنى آخر زيادة بمعدل متناقص أى يقل معدل التكاثر خلاله ولكن يحدث زيادة فى العدد.

٥ـ طور الثبات Stationary Phase

نجد فيه أن عدد الخلايا الجديدة يساوى عدد الخلايا الميتة أى أن عدد الخلايا ثابت، وهذا لايعنى أن الخلايا توقفت تماما عن عملية التكاثر ولكن هناك أسباب تفسر هذا التوازن و هى :ـ

أـ قلة المواد الغذائية فى البيئة .

ب- زيادة تركيز النواتج الأيضيه مثل حمض اللاكتيك وحمض الخليك و الستريك و الفورميك وهذه الأحماض تؤدى إلى خفض الـ pH وبالتالى الوسط يصبح سام للبكتيريا.

٦- طور زيادة الموت Accelerated Death phase

يقل فيه معدل التكاثر ويحدث تناقص فى عدد الخلايا وذلك بسبب زيادة العوامل المؤثرة على النمو.

٧- طور الموت Death phase

فيه يحدث تناقص فى عدد الخلايا بمعدل سريع ثابت، و تتراوح هذه الفترة بين ٤٨- ٧٢ ساعة لأنواع البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام ، بينما تظل الأنواع الآخرى حية لفترة تتراوح ما بين شهرين لعدة سنوات .

طرق تقدير النمو:-

١- طرق مجهرية مباشرة.

٢- عد المستعمرات النامية على بيئة غذائية مناسبة وتحت ظروف مناسبة.

٣- تقدير نواتج النمو كتكوين الحمض ، حيث تنتج البكتيريا حمض اللاكتيك بكمية تتناسب مع كتلة الخلايا ومن المعادلة التى تربط بين كتلة الخلايا البكتيرية Bacterial Cell Mass و الوقت time

$$Lnx - Lnx_0 = k(t - t_0)$$

و حيث إن x_0 و x تعبر عن كتلة الخلايا t_0 و t تعبرعن زمن على الترتيب.

وتقدر كتلة الخلايا أو حمض اللاكتيك المنتج عن طريق تقدير فترة الجيل Generation Time(GT) وهو الوقت اللازم لكى تتضاعف كتلة الخلايا أو إنتاج حمض اللاكتيك

$$Lnx - Lnx_0 = k(GT)$$

و لتحويل اللوغاريتم الطبيعى إلى لوغاريتم عادى تقسم المعادلة على 2.303

حيث أن $Log_{10} = Ln / 2.303$

$$Log_{10}x - Log_{10}x_0 = k(GT)/2.303$$

كذلك قد يعتمد فى تقدير النمو على مقدار الآزوت أو مقدار الفوسفور الذى تكون.

٤- تقدير مقدار العكارة و تقاس كمية العكارة الناتجة من وجود الخلايا النامية في البيئة الغذائية السائلة وذلك بتخفيفها بمقدار معين من الماء (حتي يسهل تقديرها لأن العكارة تكون غامقة والقراءات يجب أن تكون في مدي من ٠,٣: ١) وقياسها بإستخدام أجهزة الكثافة الضوئية ويسمي جهاز العكارة بالتربيدو ميتر Turbido meter مع إستخدام منحنى قياسى لمعرفة تركيز الخلايا فى البيئة.

$$OD = K \cdot C$$

حيث $C = OD / K$ و K هى ثابت الإظلام النوعى

وبدراسة ومعرفة الظروف المختلفة التى تؤثر على نمو الكائنات الحية الدقيقة ، يمكننا توفير الظروف المناسبة للكائنات المرغوبة ، أما الظروف غير المناسبة فيمكن إستخدمها لتقليل أو وقف نمو الميكروبات الضارة غير المرغوبة.

العوامل المؤثرة على نمو الكائنات الحية الدقيقة باللبن و منتجاته:

١ - الإحتياجات الغذائية

يعد اللبن ومنتجاته من أنسب البيئات اللازمة لنمو الكائنات الحية الدقيقة ذات العلاقة باللبن و منتجاته حيث يتوفر به ٥ % سكراللاكتوز (سكر اللبن) و هو يمثل مصدر الكربون والطاقة ، وأيضا يوجد ٣,٨%بروتين يمثل مصدر للآزوت أو النتروجين ،كما أن دهن اللبن مصدر للطاقة لبعض الكائنات الحية الدقيقة التى تستطيع تحليل الدهن إلى جليسرول وأحماض دهنية، وتحصل بذلك على احتياجاتها من الطاقة ولبعض الأحماض الدهنية مثل حمض الاوليك تأثير منشط على نمو الكثير من أنواع الجنسين *Lactobacillus, Streptocuccus* ، بالإضافة إلى وجود الأملاح الضرورية التى تدخل فى العديد من عمليات التحول الغذائى ، وتلعب الفيتامينات الذائبة فى الماء مثل الفيتامينات التابعة لمجموعة ب دورًا هامًا فى نمو ميكروبات اللبن حيث توجد هذه الفيتامينات بكميات مناسبة فيه.

٢ - الرطوبة

تلعب الرطوبة دورًا مهمًا فى نمو الكائنات الحية الدقيقة حيث إنها هى الوسط الذى تذوب فية العناصر الغذائية و تتم فيه العمليات الأيضية المختلفة فالماء يمثل أكثر من ٧٠ ـ ٩٠ % من مكونات الخلية الميكروبية ولابد من توافر شروط للماء حتى يكون صالحًا للشرب مثل الرائحة واللون والطعم ودرجة الحرارة و الأملاح الذائبة فيه والـ pH وأن يكون خاليًا من النحاس والبورون والموليبديم والزنك و ذا محتوى مقبول من الكلور.

بصفة عامة ، بعض الميكروبات تستطيع تحمل الجفاف . و ترتب الكائنات الحية الدقيقة على أساس تحملها للجفاف ترتيبا تنازلياً كالتالى : الخمائر المحبة للضغط الإسموزى العالى- الأعفان المحبة للجفاف – معظم البكتيريا المحبة للملوحة - معظم الأعفان و بكتيريا *Staphylococcus aureus* – معظم الخمائر – معظم البكتيريا الكروية- معظم البكتيريا السالبة لصبغة جرام و البكتيريا المسببة للأمراض ، فمثلا الـ *Staphylococcus aureus* لها A_w = ٠,٨٣ ، وتنمو على تركيز من الملح قد تصل إلى ٢٠ % ، و لكن التركيز الأمثل من الملح هو ٠,٥ – ٤% .

وتستغل أهمية الرطوبة للميكروبات في حفظ اللبن ومنتجاته، كما في الألبان المكثفة المحلاة والألبان المجففة ، فالألبان المجففة أثناء صناعتها يتم التخلص من كمية كبيرة من الرطوبة بحيث يصبح نشاط الماء Water Activity A_w (هو الماء الموجود في صورة حرة أو الماء المتاح للكائنات الحية الدقيقة و هو عبارة عن النسبة بين ضغط بخار الماء في اللبن إلى ضغط بخار الماء النقى عند نفس درجة الحرارة) غير كاف لنمو للكائنات الحية الدقيقة. أما بالنسبة إلى الألبان المكثفة المحلاة ، فإن نشاط الماء ينخفض نتيجة إضافة السكر لدرجة لا تسمح بنمو و تكاثر البكتيريا والخمائر و ذلك بسبب إرتفاع الضغط الأسموزى ، فمثلا الـ *Saccharomyces cerevisiae* تنمو على تركيز ٦٠ % سكر ، وكذلك الـ *Saccharomyces rouxii* تستطيع أن تنمو على تركيز ٧٠ % سكر أو أكثر.

٣ ـ الحـــرارة

تعد الحرارة من أهم العوامل التى تؤثر على نمو و نشاط الكائنات الحية الدقيقة و أن درجة الحرارة المثلى لأى كائن حى هى درجة الحرارة المناسبة لنشاط ما به من إنزيمات إجمالاً أو هى درجة الحرارة التى يكون عندها نمو الكائن الحى أعلى ما يمكن ، وتتميز البكتيريات عن غيرها من الكائنات الحية الدقيقة بقدرتها على النمو فى مدى حرارى واسع.

و يمكن تقسيم البكتيريا على حسب إحتياجاتها الحرارية إلى:-

١-البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles bacteria : يتم عدها على ٢٠°م لمدة ٣ ـ٥ أيام أو ٣٢ ــ ٣٥ °م لمدة ٤٨ ساعة أو ٣٠°م لمدة ٧٢ ساعة.

٢- البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrophiles bacteria : يتم عدها على ٥ ـ ٧°م لمدة ٧ ــ ١٠ أيام أو ٢١ °م لمدة ٥ أيام أو ٦,٥°م لمدة ١٠ أيام.

٣- البكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة Thermophiles bacteria : يتم عدها على ٤٥°م لمدة 2 – 3 أيام أو ٥٥ °م لمدة ٤٨ ساعة.

٤-الأكسجين

تقسم الكائنات الحية الدقيقة على حسب إحتياجاتها للأكسجين (الأكسجين الحر الموجود فى الهواء الجوء).

أولاً : ميكروبات تحتاج لقليل من الهواء Microaerophiles وهذه لا تنمو إلا فى وجود تركيز منخفض من الأكسجين(٢- ١٠ %) مثل أفراد الجنس *Vibrio*.

ثانياً : هوائيه إجبارًا Strict or obligate aerobes هذه لا تنمو إلا فى وجود الأكسجين حيث تستخدم الأكسجين كمستقبل نهائى للإلكترونات فى تنفسها وذلك مثل : *Pseudomonas* ، *Micrococcus* ، *Bacillus* و فطر اللبن الأبيض *Geotricum candidum*.

ثالثاً :لاهوائية اختيارًا Facultative Anaerobes هذه تنمو فى وجود أو عدم وجود الأكسجين و تفضل النمو فى وجود الأكسجين مثل *Lactobacillaceae* ، *Entrobacteriaceae* *Corynebacteriaceae*

رابعاً :لا هوائية إجبارًا Strict or Obligate Anaerobes هذه لا تنمو إلا فى عدم وجود الأكسجين والتى تهمنا فى الأغذية تعتبر لا هوائية متوسطة Moderate anaerobes بمعنى إنه يمكن تداولها وزرعها فى البيئات فى ظروف المعمل العادية ثم تحضن فى ظروف لا هوائية مثل *Clostridium*.

ويمكن إستغلال إحتياجات الميكروبات للأكسجين فى حفظ اللبن و منتجاته ، فمثلا يجرى تشميع الجبن لمنع نمو الفطريات على سطح الجبن الجاف ، أيضا إحلال غاز ثانى أكسيد الكربون محل الهواء فى حالة اللبن المكثف المحلى ، و كذلك أثناء تسوية جبن الروكفورد ، فإن وجود الأكسجين يؤدى إلى تكون اللون الأزرق المخضر و عدم وجود الأكسجين لا يؤدى إلى ظهور اللون الأزرق المخضر.

٥- رقم الـ pH

يعرف بإنه اللوغاريتم (الأس للأساس ١٠) السالب لتركيز أيون الهيدروجين ، ويتراوح الـ pH لمعظم البكتيريات بين ٦-٨. أما غالبية

الخمائر والفطريات ذات العلاقة بالألبانِ و منتجاتها فإنها تفضل الوسط الحامضى ، حيث يعرف رقم الحموضة الأمثل لأى كائن حى بإنه رقم الحموضة الأمثل لمجمل ما به من إنزيمات ، و يستخدم رقم الحموضة للتفرقة بين البكتيريات المتشابهه فمثلا الجنس *Lactobacillus* ينمو عند درجة pH قدره ٤ بينما *Enterococci* فتنمو عند رقم pH قدره ٩,٦. كما أن *Clostridium botulinum* غير قادرة على النمو و إنتاج السم فى الأغذية المعلبة التى لها pH ≥ ٤,٥ .

٥- جهد الأكسدة والاختزال

Oxidation and Reduction Potential

يقصد بعملية الأكسدة إكتساب الأكسجين أو فقد الهيدروجين ، أى أن الأكسدة فقد إلكترونات ، أما بالاختزال فيقصد به فقد الأكسجين أو إكتساب الهيدروجين ، أى أن الاختزال إكتساب إلكترونات.

أما جهد الأكسدة و الاختزال فيقصد به مدى توازن الأكسدة و الاختزال لمكونات البيئة التى تنمو عليها المزرعة الميكروبية ، ويرمز له بالرمز Eh.

و وجود الأكسجين فى البيئة يؤدى إلى إرتفاع جهد الأكسدة و الاختزال للبيئة ، أما إذا سحب الأكسجين من البيئة فإن جهد الأكسدة و الاختزال للبيئة ينخفض و أبسط طريقة لتقليل جهد الأكسدة و الاختزال لأى بيئة ، أى تحويلها إلى الحالة المختزلة ، هو إزالة الأكسجين بالتسخين أو إضافة السيستئين أو يضاف إلى البيئة حمض الأسكوربيك أو الجلوتاثيون أو حمض الثيوجليكوليك.

والبيئة الملامسة للهواء لها جهد أكسدة و اختزال يتراوح بين +٠,٢ الى +٠,٤ فولت وذلك عند pH ٧ . و من أشهر البيئات التى تستخدم

لمعرفة صفات الميكروب الاختزالية هو بيئة لبن عباد الشمس ، فعند إخراج هذه البيئة من الأوتوكلاف بعد عملية التعقيم مباشرة ، فإن لون دليل عباد الشمس يكون قد إختفى تقريباً وذلك لأن الأكسجين قد طرد نتيجة هذه المعاملة الحرارية وأصبح الوسط مختزلاً ، وعندما تبرد البيئة فإن الأكسجين يذوب فى البيئة ، وتتم أكسدة الدليل ، فيرجع لونه ثانياً .

و كل ميكروب له Eh أمثل له ، فمثلاً الـ*Clostridium* له Eh يتراوح بين -٣٠ الى -٥٥٠ ، لذلك فهو ميكروب لا هوائى إجبارًا ، أما الـ *Pseudomonas fluorescens* فله Eh يتراوح بين +٥٠٠ الى +١٠٠ ، لذلك فهو ميكروب هوائى إجبارًا ، أما الـ *Staphylococcus aureus* فلها Eh يتراوح بين +١٨٠ الى -٢٣٠ ، لذلك فهى ميكروب لا هوائى اختيارى.

٧-جلوبيولينات المناعة Immunoglobulin (Ig)

يطلق عليها أجسام مضادة Antibodies و تقسم هذه الأجسام المضادة أو جلوبيولينات المناعة إلى:-

١. IgA
٢. IgG
٣. IgM
٤. IgD
٥. IgE

و يوجد باللبن النوع IgG ،حيث تقوم هذه الأجسام المضادة بتسهيل إبتلاع البكتيريا بواسطة خلايا الدم البيضاء مفصصة النواة Polymorphonuclear ، كما تعمل على عدم إلتصاق البكتيريا بالأسطح المخاطية.

٨-اللاكتوفرين Lactoferrin

يوجد فى اللبن البقرى و هو عبارة عن بروتين مرتبط بالحديد ، و وجد أن تركيزه يزيد فى الحيوانات الجافة ، حيث يحميها من الإصابة ببكتيريا الـ *Escherichia coli* ، و تأثيره على الميكروبات يرجع إلى إرتباطه بالحديد فيمنع الميكروبات من الحصول عليه و بالتالى لا تستطيع التكاثر.

٩-خلايا الدم البيضاء مفصصة النواة Polymorphonuclear

وجد أن خلايا الدم المفصصة تفرز فى اللبن بنسبة ١٠ % من العدد الكلى للبكتيريا فى اللبن المفرز من حيوان غير مصاب بحمى الضرع ، حيث أن هذه الخلايا تقوم بإبتلاع البكتيريا ثم تغلق عليها ويلى ذلك هضمها بواسطة الخلايا و تسمى هذه العملية بالبلعمة Phagocytosis، كما أن زيادة عدد هذه الخلايا باللبن يزيد من مقاومة الضرع للإصابة.

10-نظام اللاكتوبيروكسيديز/ ثيوسيانات/ فوق اكسيد الهيدروجين

Lactproxidase/ Thiocyanate/Hydrogen Peroxide System

يتكون هذا النظام من تفاعل عدة مكونات مع بعضها لتنتج مادة مضادة للبكتيريا كما يلى:-

$$\text{Thiocyanate} + \text{Hydrogen Peroxide} \xrightarrow{\text{Lactproxidase}} \text{Hypothiocyanite(Antibacterial)}$$

و قد يكون مصدر هذه المكونات اللبن مثل الثيوسيانات التى توجد باللبن والتى ترتبط بتغذية الماشية ، بالإضافة إلى إنزيم البيروكسيديز الذى يتكون فى الغدد الثديية و يزيد تركيزه فى اللبن البقرى ، أما فوق أكسيد الهيدروجين فمصدره البكتيريا داخل الضرع مثل Streptococci أو يمكن أن يكون مصدره خلايا الدم المفصصة.

هذا النظام يثبط العديد من البكتيريا مثل *Listeria monocytogenes* و *Staphylococcus aureus* و *Salmonella* ssp. و *Streptococcus* ssp. و يرجع فعل هذا النظام على البكتيريا إلى:-

١-تثبيط العديد من الإنزيمات ، مثل Hexokinase و بالتالى منع إمتصاص السكر.

٢-أن الهيبوثيوسيانيت تؤكسد مجاميع السلفاهيدريل التى تكون الإنزيمات و البروتين .

٣- حدوث تلف لغشاء السيتوبلازم فى الخلية.

ويمكن إستخدم هذ النظام فى إطالة فترة حفظ اللبن الخام عن طريق إضافة أثار من الثيوسيانت و فوق أكسيد الهيدروجين إلى اللبن ، ويمكن اضافة كربونات الصوديوم كمصدر لفوق أكسيد الهيدروجين.

١١-المضادات الحيوية و مركبات السلفا

المضادات الحيوية هى المركبات الحيوية Antibiotics المعقدة التركيب التى تنتجها بعض الميكروبات كنواتج ميتابولزمية ثانوية Secondry metbolite وتعمل على قتل أو إيقاف نمو الكثير من الميكروبات المرضية أو غير المرضية وترجع خطورتها فى تثبيطها للبادئات وبالتالى وقف إنتاج الحموضة و بالتالى فإن اللبن المحتوى عليها نتيجة معالجة الحيوانات من حمى الضرع يكون غير صالح للتصنيع ،كما تعمل على إنتخاب سلالات مقاومة للمضادات الحيوية و بالتالى فإن إستجابة الجسم للعلاج بالمضادات الحيوية بعد ذلك تقل ، ومن أشهر المضادات الحيوية المستعملة فى علاج الحيوانات المصابة البنسلين Penicillin و Tetracycline و Streptomycin و يرجع تأثيرها المثبط إلى تداخلها فى التفاعلات الإنزيمية .

كما وجد أن وجود الـ Penicillin فى اللبن بتركيز ٠,١١ ميكروجرام / مل يثبط ٥٠% من *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* و أن ٠,١٩ ميكروجرام / مل من الـ Tetracycline يثبط ٥٠ % من *Streptococcus thermophilus* و أن ٢,٢٩ ميكروجرام / مل من الـ Streptomycin يثبط ٥٠% من *Lactobacillus delbreuckii* ssp. *bulgaricus* ، كذلك ينصح بإستبعاد اللبن الناتج من الحيوان الذى يعالج بالمضاد الحيوى إلا بعد مرور ٧٢ ساعة على آخر جرعة تناولها الحيوان. مركبات السلفا تستعمل فى علاج مرض حمى الضرع ،و متبقيات هذه المركبات تفرز فى اللبن، و من أشهر مركبات السلفا مركبات السلوفوناميدات Sulfonamides ، وهذه تؤثر على نشاط الميكروبات المستعملة فى الصناعات اللبنية.

١٢-الاحماض الدهنية

وجد أن الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة مثبطة لنمو بعض أنواع بكتيريا حمض اللاكتيك ، وهناك العديد من الكائنات الحية الدقيقة لها القدرة على الإستفادة من الأحماض الدهنية الناتجة من تحلل دهن اللبن بواسطة إنزيم الليبيز المفرز من بعض أنواع البكتيريا أو الموجود طبيعياً باللبن ومن أشهر هذه الكائنات الحية الدقيقة فطر اللبن الأبيض *Geotrichum candidum* و هذا الفطر متخصص ، بحيث لا يحلل الجليسريدات التى تحتوى على حمض البيوتريك و بالتالى لا يحدث عيب التزنخ فى الجبن المسواه بهذا الفطر.

كما أن لبعض الاحماض الدهنية تأثيرًا تنشيطيًا على بكتيريا حمض اللاكتيك مثل حمض الأوليك أو مشتقاته ، ويستفاد من هذه الحقيقة فى

إضافة بعض هذه المشتقات مثل المادة المسماة Tween 80 إلى بيئة MRS فى عزل أنواع الجنسين *Lactobacillus* و *Streptococcus* .

١٣ ـ الفعل المطهر للبن

لوحظ أن اللبن لا يحدث له فساد خلال الساعات الأولى بعد الحليب ،هذا التأثير يعرف بالفعل المطهر للبن Bactericidal action ، و يرجع هذا الفعل المطهر إلى مادة اللاكتنين Lactenin التى توجد فى اللبن الطبيعى و تسمى لاكتينين ٢ ، أما التى توجد فى لبن السرسوب فتسمى لاكتينين ١ ، ومن أكثر الميكروبات تأثرًا بهذه المادة *Streptococcus pyogenes*.

العوامل التى تقلل من فاعلية مادة اللاكتينين

١- الظروف اللا هوائية.

٢- إضافة الببتون أو الدم.

٣- درجة حرارة ٢٢ °م.

٤- وجود السيستيئين و الجلوتاثيون.

٥- المعاملة على ٧٠° م لمدة نصف ساعة يؤدى إلى تثبيطها ، وهذا من ضمن أسباب تعقيم اللبن قبل تنشيط البادىء به.

الطرق المختلفة لإبادة الكائنات الحية الدقيقة باللبن

الهدف من التخلص من ميكروبات اللبن الحصول على منتجات لبنية ذات صفة ميكروبية ممتازة ، و بالتالى الحصول على منتجات موحدة الصفات القياسية و هناك العديد من الطرق المستخدمة فى قتل الميكروبات منها:-

أولاً : الضغط

وجد إنه كلما إرتفع الضغط إرتفعت درجة لحرارة وبالتالى إزداد تاثيرها المبيد على الميكروبات لذلك يستفاد من تأثير الضغط المرتفع على الكائنات الحية الدقيقة فى تعقيم العديد من الأغذية و المشروبات و البيئات الغذائية و المحاليل ، فمثلاً يستخدم ضغط ١٥ رطل/ البوصة المربعة (١٢١,٦°م) ٢٠ دقيقة لتعقيم البيئات الغذائية . كما يمكن إستخدام تكنولوجيا الضغط العالى ٦٠٠ MPa (ميجا بسكال = ١٠ ضغط جوى atm) لمدة ١ساعة على درجة حرارة الغرفة لإطالة فترة حفظ اللبن الخام لمدة أربع أيام.

و لوحظ أن معظم الكائنات الحية الدقيقة يمكنها أن تتحمل ضغط يصل إلى ٣٠ MPa، كما يمكن للـ *Escherichia coli* أن تتحمل ضغطًا قدره ٣٠٤ MPa ، لكن يمكن تثبيطها على ٣٠٣,٦٧ MPa لمدة ١٥ دقيقة على درجة حرارة الغرفة و ذلك بعد تلقيحها فى لبن معقم و الملقح ، كما يمكن أن نثبط كل من *Byssochlamys nivea* و *Aspergillus oryzae* و *Byssochlamys fulva* على ٣٠٠ MPa لمدة دقائق على ٢٥ °م ، أما *Staphylococcus aureus* يمكن تثبيطها على ضغط قدره ٣٥٠ MPa لمدة ٦ دقائق وذلك على ٢٠ °م ، كما يمكن تثبيط الـ *Listeria monocytogenes* الملقحة فى لبن الأغنام المعقم على ضغط قدره ٤٥٠ MPa لمدة ربع ساعة وذلك على ٢٥ °م . و جراثيم الـ *Bacillus subtilis* أكثر مقاومة للضغط العالى عن الـ *Bacillus coagulans* و يمكن تثبيطها بالمعاملة على ضغط قدره ٤٠٠ MPa على ٧٠ °م لمدة ١٠ دقائق.

ثانيا: الحرارة

من أقدم الطرق المستخدمة فى حفظ الأغذية خاصة اللبن ، ويرجع تأثيرها إلى عمل دنترة للبروتينات الإنزيمية وبالتالى وقف جميع الوظائف

الحيويـة بالخليـة الميكروبيـة و تتوقـف درجـة الحـرارة المسـتخدمة علـى نـوع الميكروب ، فمثلا يقضى علـى بعض الجراثيم الأسكية للخمـائر علـى ٦٠ °م / ١٥ دقيقة ، كما أن عفن الـ *Byssochlamys fluva* يعد أكثر الأعفان مقاومة لدرجـة الحـرارة ، و يمكن القضـاء علـى الأجسـام الحجريـة Sclerotia (هـى كتل صـغيرة من هيفـات الفطـر المندمجـة و المحاطـة من الخـارج بطبقـة سميكة داكنة) للعفن *Penicillium* على ٨٥°م / ٣٠٠ دقيقة . تحمل الكائنـات الحيـة الدقيقة للحرارة واسع يتراوح بين ـ٢٥٠ إلى ١٦٠°م ولابد من معرفـة بعض المصطلحات الهامة لفهم مدى كفاءة المعاملة الحرارية :ـ

١- Thermal Death Time (TDT) "الوقت الحرارى المميت"

هو الزمن اللازم لقتل عدد معين من الكائنـات الحيـة الدقيقـة أو الجراثيم تحت ظروف معينه .

2-Decimal Reduction Time (DRT) "زمـن تقليـل العـد الميكروبي للعشر"

هو الزمن اللازم لتحطيم عدد الجراثيم أو الخلايا الميكروبية بمقدار ٩٠% منها .

3-Thermal Death Point (TDP) "نقطة الحرارة المميتة"

هى أقل درجة حرارة يمكن إستخدامها لقتل كل الميكروبات في زمن قدره ١٠ دقائق.

ومن أنواع المعاملات الحرارية التى تجرى على اللبن:ـ

١ـالبستـــــره Pasteurization

من أشهر المعاملات الحراريه المستخدمة فى حفظ اللبن (لمدة ٢ـ٣ أيام على ٥°م) و جعله آمنًا للشرب على نفس حالته السائله ، وعملية البسترة تقتل معظم الميكروبات (٩٠ـ٩٩ %) الموجودة فى اللبن بما فى ذلك جميع أنواع

الخمائر والفطريات ومعظم الخلايا الخضرية ، أما البكتيريا التى تقاوم درجة حرارة البسترة فهى *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgraicus* بالإضافة إلى البكتيريا المتجرثمة الممرضة *Clostridium , Bacillus* .

طرق البســـتره Methods of Pasteurization

تجرى البسترة على درجات حرارة مختلفة لفترات زمنية مختلفة و كلها لها نفس التأثير القاتل على أكثر الميكروبات الممرضة والمقاومة للحرارة و هو ميكروب السل *Mycobacterium tuberculosis* كما أنها لا تؤثر على خصائص اللبن الطبيعية و الكيماوية ، وطرق البسترة هى :-

أ- البستره البطينه Holding Method of Pasteurization

يتم فيها تسخين اللبن إلى ٦٢°م / ٣٠ دقيقه ثم التبريد السريع إلى ١٠°م .

ب- البستره السريعه High Temperature Short Time Pasteurization

يجرى فيها تسخين اللبن إلى ٧٢°م /١٥ ثانيه ثم يبرد بسرعه إلى ١٠°م.

جـ-البسترة الخاطفة Flash Heating

فيها يتم التسخين على ٧٥-٩٥ °م بدون فترة حجز.

د-البسترة إلى درجات حرارة فائقة الإرتفاع Ultra High Temperature Pasteurization

يتم التسخين على ١٣٥ ـ ١٥٠ °م لمدة ١ ـ ٤ ثوان و ذلك طبقا للتشريعات فى الدول المختلفة.

٢-غلـــــي اللبـــــــن Boiling of Milk

من أبسط الطرق المنزلية لحفظ اللبن و جعله آمنًا صحيًا ، و الطريقة السليمة لغلى اللبن تكون بوضع اللبن على نار متوسطة ونستمر في التقليب

من اللحظة الأولى إلى أن يبدأ اللبن في الفوران فنقوم بتهدئة النار و نستمر فى التقليب لمدة لا تقل عن ٥ دقائق من بَداية الفوران لأن الرغوة التى تتكون على السطح تحمى الميكروبات من فعل الحرارة، لأن درجة حرارتها تكون أقل من درجة غليان اللبن ، بالإضافة إلى منع إحتراق الطبقة السفلى من اللبن لأنها تلامس قاع إناء اللبن الأعلى فى درجة الحرارة .و أكثر الميكروبات مقاومة للغليان هى الـ*Bacillus* .

٣ـ تعقيـــــم اللبـــــن Sterilization of Milk

يقصد به إبادة جميع الكائنات الحية الدقيقة الموجودة فى اللبن فيكون اللبن خاليًا تمامًا من الكائنات الحية الدقيقة ، و حاليا تنتج الألبان بإستخدام التعقيم التجارى Commercial Sterilization ويتم بتسخين اللبن إلى درجة حرارة أعلى من ١٤١ °م لمدة ٣ ثوان ،وهذا اللبن لا يكون خاليًا تماماً من الميكروبات الحية فقد نجد بعض الخلايا من *Bacillus* و*Clostridium* ومدة صلاحيته ٣ شهور.

العوامل المؤثرة على كفاءة المعاملة الحرارية :-

١ـ التركيز الإبتدائي للجراثيم أو الخلايا ، حيث يجب زيادة المعاملة الحرارية (حرارة – زمن) كلما زاد عدد الخلايا أو الجراثيم فى أى مادة غذائية وذلك للقضاء على الكائنات الحية الدقيقة والعكس صحيح.

٢ـ درجة الحرارة والزمن حيث إنه بزيادة درجة الحرارة التى تستخدم في إهلاك الخلايا أو الجراثيم يقل الزمن المستخدم لذلك .

٣ـ حالة الخلايا قبل المعاملة الحرارية تشمل:

أ ـ بيئة النمو ب- حرارة التحضين جـ - العمر

أ: بيئة نمو الميكروبات

هى الوسط الذى تنمو فيه الميكروبات و هى تشمل :-

١- **الرطوبة** : كلما زادت نسبة الرطوبة فى المادة الغذائية تنخفض مقاومتها للمعاملة الحرارية ، فالعلاقة عكسية بين محتوى المادة الغذائية من الرطوبة و مقاومة الميكروبات للحرارة .

٢-الـ **pH** : كلما زادت الحموضة سهل قتل الميكروبات و الوسط الحامض أكثر فاعلية عن الوسط القلوى في القضاء على الكائنات الحية الدقيقة ومن جهة أخرى كلما إبتعدنا عن الوسط المتعادل في بيئة النمو سواء كان ذلك بزيادة الحموضة أو القلوية فإن ذلك يؤدى إلى إنخفاض مقاومة هذه الخلايا للحرارة.

ب : درجة حرارة التحضين أو درجة حرارة التخزين

كلما إقتربت درجة حرارة التخزين من درجة الحرارة المثلى كلما زادت مقاومة الميكروبات للمعاملة الحرارية.

جـ : العمر

فى أى طور من أطوار نمو الميكروبات تجرى المعاملة الحرارية ، حيث يعتبر طور السكون lag phase من المراحل التى تقل فيها مقاومة الخلايا للحرارة، بينما فى مرحلة الطور اللوغاريتمى log phase فإن الخلايا البكتيرية تتمتع بمقاومة عظمى للحرارة.

ثالثاً:إزالة البكتيريا بالطرد المركزى Bactofugation

تتم بإستخدام جهاز يسمى الـ Bactofuge وهذا الجهاز ناتج من تطوير جهاز المنقى Clarifier و هذه الأجهزة تعتمد على تحويل الجاذيبية الأرضية إلى قوة طرد مركزى أفقية وهذا عن طريق الدوران السريع حول محور الجهاز فيؤدى ذلك إلى طرد المواد الأعلى كثافة (بكتيريا و الجراثيم) من اللبن إلى الخارج ويبقى اللبن قريب من محور الجهاز، فيؤدى ذلك إلى خفض أعداد البكتيريا و الجراثيم الملوثة للبن ، لكن عيب هذه العملية أن الوحل

Bactofugate الناتج من هذه العملية يؤدى إلى إنخفاض ريع الجبن بنسبة قد تصل إلى ٦ % ، حيث أن هذ الوحل يحتوى على جزء من الكازين بالإضافة إلى البكتيريا و الجراثيم ، و يمكن علاج ذلك بتعقيم هذا الوحل بإستخدام الحرارة الفائقة Ultra High Temperature ثم يتم إعادته إلى اللبن ، وبالتالى لا يؤثر على ريع الجبن.

وتتم عملية إزالة البكتيريا بالطرد المركزى Bactofugation فى بعض المصانع عن طريق إستخدام جهازين من الـ Bactofuge ، حيث يمرر اللبن على الجهاز الأول فيقوم بفصل ٩٠ % من البكتيريا و الجراثيم الموجودة باللبن وبعد ذلك يمرر اللبن على الجهاز الثانى فيقوم بالتخلص من باقى البكتيريا و الجراثيم المتواجدة باللبن و بالتالى نكون قد تخلصنا من ٩٩ % من البكتيريا و الجراثيم المتواجدة فى اللبن.

رابعًا: الترشيح الدقيق Microfiltration(MF)

أحد أنواع طرق الترشيح الغشائى Membrane filtration المختلفه وهذه الطرق تشترك فى أساسين:-

١- إستخدام أغشية خاصه ذات مسام محددة الأقطار فى إجراء الترشيح.

٢- يتم الترشيح تحت ضغط يختلف بإختلاف مسامية الغشاء.

وهذه الأغشية لها القدرة على إحتجاز المواد المعلقة والجسيمات والأحياء الدقيقة فى حين تسمح للغرويات و الجزيئات العضوية الصغيرة والأملاح بالمرور مع الراشح و لذلك يستخدم الترشيح الدقيق لإزالة بكتيريا اللبن أو بمعنى آخر وسيلة لتنقيه اللبن الفرز وأيضا في تعقيم البيئات علي البارد.

وتتم هذه الطريقة بإستخدام جهاز يسمى Bactocatch ، و حجم الثقوب به ١,٤ ملليميكرون وفى هذه الطريقة تقل نسبة الراسب المنفصل من اللبن و المحتوى على البكتيريا إلى ٥ % و الذى يعامل بنفس المعاملة السابق ذكرها و هى تعقيمه و إضافته إلى اللبن مرة أخرى و بهذه الطريقة يمكن التخلص من ٩٩,٩ % من البكتيريا الملوثة للبن كما فى حالتى الـ *Clostridium tyrobutyricum* و *Bacillus cereus* و قد يرجع ذلك إلى أن هذه البكتيريا متجرثمة و بالتالى قد تلتصق هذه الجراثيم بجدر الخلايا البكتيريا فيزيد الحجم ، و بالتالى يتم إحتجازها، وهذه الكفاءة العالية فى تنقية اللبن من البكتيريا و جراثيمها تؤدى إلى زيادة جودته الميكروبيولوجية و إطالة فترة حفظ الجبن الناتج منه ، و يطلق على عملية الترشح الدقيق بالبسترة الباردة Cold Pasteurization و تستخدم فى:-

١-ترشيح اللبن ٢-ترشيح المياه 3-ترشيح عصائر الفاكهة

٤-ترشيح المياه الغازية ٥-ترشيح الخل ٦-ترشيح الزيوت النباتية

وعيب هذه الطريقة إنها لا تؤثر على الإنزيمات الموجودة طبيعيًا باللبن أو أى مادة غذائية سائلة، لذلك فإذا كانت هذه الإنزيمات سوف تؤدى إلى تغيرات غير مرغوبة فلابد من عمل معاملة حرارية لتثبيط هذه الإنزيمات.

خامساً: الأشعة

١-الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet Light(UV) :-

تكون موجاتها طويلة وهى المتولدة من بخار الزئبق و الكوارتز و هى مهلكة للكائنات الحية الدقيقة ، لكن الجراثيم مقاومة لها ، وتستخدم فى تعقيم الهواء و تعقيم عبوات التترا باك Tetra Pack ، كما تستخدم فى تعقيم الماء خاصة للقضاء على البكتيريا السالبة لصبغة جرام و يرجع فعلها القاتل إلى تشويه الـ DAN . يمكن تعريض اللبن لهذه الأشعة فى

صورة غشاء رقيق ، بغرض تقليل أعداد البكتيريا فى اللبن ، ولكن اللبن المعامل يكون عرضة لتكوين الطعم المحروق بها.

٢- الميكروويف Microwave :-

وجد أنه عند إمرار الميكروويف فى الأغذية السائلة فإن هذه الجزيئات تعمل على تنظيم نفسها مع الحقل الكهربى فتتحرك الجزئيات ٢٤٥٠ مليون مرة فى الثانية و نتيجة هذه الحركة السريعة للجزيئات تتولد حرارة نتيجة الإحتكاك أى إنه تتولد حرارة داخلية و هذا يسمى التسخين الأومى Ohmic heating ، وهذه الحرارة المتولدة تؤثر على الميكروبات ، حيث إستخدمت فى بسترة اللبن على ٧٢ °م / ١٥ ثانية ، وتم الحصول على نفس النتيجة المتحصل عليها عند بسترة اللبن بالطريقة التقليدية.

٣-الأشعة المتأنية Ionzing Rediation :-

هى أشعة متأنية من المواد مثل الكوبالت ٦٠ و من أجهزة الأشعة السينية X-Ray ، ويرجع تأثيرها على الكائنات الحية الدقيقة إلى الماء الموجود خارج و داخل الخلايا الذى يمتص طاقة الأشعة فيكون الأصول الحرة (الشقوق الحرة) التى ترتبط مع الأكسجين أو مع بعضها وذلك لتكون مواد مؤكسدة تؤدى إلى تلف مكونات الخلية ، و للقضاء على الـ *Clostridium botulinium* نحتاج الى ٣٦ Kilo Gray (وحدة قياس جرعة الأشعة الممتصة المتأينة و هى تعادل واحد جول طاقة ممتصة لكل كجم من المادة)، أما *Staphylococcus aureus* فى اللبن نحتاج إلى ٩٧ Kilo Gray.

٤-الضوء المرئى Visible Light :-

إن الطاقة الضوئية تؤثر على العديد من الميكروبات ، حيث إنها تؤثر على بعض مكونات الخلية مثل الفلافين Flavins و السيتوكروم

Citochromes وهذا التأثير يؤدى إلى تلف الخلية إلا أن هناك بعض الكائنات الحية الدقيقة لا تتأثر بها مثل الـ *Staphylococcus aureus* .

سادساً: هيبوكلوريت الصوديوم

هيبوكلوريت الصوديوم من أشهر مشتقات الكلور المستخدمة فى مصانع الألبان ، و الحد المسموح به فى المعامل لا يزيد عن ٠.٣ مجم/لتر ، وهو يحضر فى صورة مسحوق، و يرجع تأثيره القاتل إلى تأثيره المؤكسد الشديد و إلتصاقة السريع بالبروتين و هذان التفاعلان يسببان إضطربات فى نظام الخلية الميكروبية، و وجد أن إنخفاض الحموضة يقلل من فاعليتها وتكون ثباته فى الوسط القلوى، أما إرتفاع الحرارة إلى حد معين يزيد من فاعليتها، كما أن وجود مواد عضوية مثل بقايا اللبن يؤدى إلى تحللها.

سابعاً: فوق أكسيد الهيدروجين

يرجع تأثيره المبيد للكائنات الحية الدقيقة إلى تأثيره المؤكسد على الخلية الميكروبية خاصة على النشاط الإنزيمى و تأثيره غير مستمر لأنه يتحلل بسرعه ، و هو غير شديد السمية و يمكن التخلص منه بواسطة إنزيم الكتاليز و هو يستخدم بتركيز٠,٥ – ٠,٨ % على ٣٠°م لفترة تتراوح من ٣٠ الى ٦٠ دقيقة ، بعد ذلك يضاف الإنزيم للتخلص من المتبقى منه فى اللبن ، وهو يبيد *Clostridium* بسهولة حيث إنها تفرز الصديد فى الجروح فى الظروف اللاهوائية.

ثامناً: ملح الطعام

يرجع تأثيره إلى تقليل النشاط المائى الذى تتطلبه الكائنات الحية الدقيقة، و يضاف بتركيزات مرتفعة ، قد تصل إلى ١٥% فى اللبن المعد

لصناعة الجبنِ الدمياطى بقصد إيقاف نشاط البكتيريا المكونة للثقوب وخاصة تلك التابعة للجنسين *Escherichia* و *Aerobacter*.

تاسعاً: مركبات الأمونيوم الرباعية

Qualternary Ammonium Compounds(QAC)

تستخدم بتركيز ٣٥٠ ppm مثل benzyl- ammonium chloride و Dimethyl Alkyl والتأثير القاتل لها يرجع إلى تحللها فى الماء فيحدث إمتصاص للكاتيون على سطح الخلية الميكروبية يؤدى إلى حدوث تمزق فى الجدار الخلوى.

عاشراً: ملح السوربات أو حمض السوربيك

لايؤثر على بكتيريا حمض اللاكتيك و لا على بكتيريا الكلوستريديا Lactic acid bacteria and clostridia وهو يستخدم ضد الخمائر و الفطريات و تأثيره يرجع إلى تثبيطه للإنزيمات التى تدخل فى التمثيل الغذائى للكربوهيدرات مثل Enolase and lactate dehydogenase .

حادى عشر:الفيتامينات

إستخدام فيتامين ك ٣ المناديون Menadion بمقدار ٠,١ ميكروجرام لكل مليلتر من اللبن ، عمل على تأخير تكوين الحموضة به وذلك بحفظه على درجة ٣٧ ° م كما يمكن إضافة $Vit\ B_2$ لحماية البيئة من التلوث عند إنتاج البنسلين.

ثانى عشر: الغازات

يعد غاز أكسيد الإيثيلين Ethylene Oxide من أشهر الغازات المستخدمة فى القضاء على الكائنات الحية الدقيقة وهذا الغاز لا يستخدم للقضاء على الكائنات الحية الدقيقة فى اللبن لأنه يؤدى إلى تحليل الأحماض

الأمينية فى بروتين اللبن(الكازين) ، بالاضافة انه سام بالتركيزات العالية ، و يستخدم للتخلص من معظم الكائنات الحية الدقيقة الموجودة فى التوابل قبل إضافتها إلى منتجات الألبان المطعمة.

الامتحان البعدى:-

السؤال الأول: ضع علامة صح او خطأ امام العبارات الاتية:-

١ -اللبن الناتج من حيوان سليم يكون شبة خال من الميكروبات.

٢ - نمو الـ *Streptococcus thermophilus* فى اللبن يعمل على إرتفاع الـ pH.

٣- *Bacillus cereus* هو الميكروب المسئول عن التجبن الحلو فى اللبن

٤- العلاقة بين الـ *Bifidobacterium* و *Escherichia coli* فى القولون "علاقة تضاد

٥- النمو هو الزيادة فى بروتوبلازم الخلايا الميكروبية

٦- فى طور الثبات وجد أن عدد الخلايا يكون ثابتً لأن الخلية توقفت عن عملية التكاثر.

٧- درجة الحرارة المثلى لأى كائن حى هى درجة الحرارة المناسبة لنشاط ما به من إنزيمات إجمالاً

٨-وجد أن الخمائر تتحمل الجفاف أكثر من البكتيريا المسببة للأمراض.

٩- من أشهر الأجناس اللاهوائية إجبارًا جنس الـ *Bacillus*

١٠- يرجع فعل مادة Hypothiocyanite إلى إتلاف غشاء السيتوبلازم للخلية فقط

السؤال الثانى: اختر إجابة واحدة:

١-يمكن لـ *Bacillus* أن يتحمل ضغطًا قدره

A. ٣٠ MPa

B. ٤٥ MPa

C. ٢٠ MPa

٢-أكثر الأعفان مقاومة للحرارة هو

A. *Penicillium* ssp.

Byssochlamys fluva .B

Geotrichum candidum .C

٣- أقل درجة حرارة يمكن استخدامها لقتل كل الميكروبات فى زمن قدره ١٠ دقائق

TDT .A

DRT .B

TDP .C

٤-كلما زاد تركيز الخلايا فى البيئة :

A. زادت درجة الحرارة

B. زاد الزمن

C. A و B معًا

٥-العلاقة بين محتوى المادة الغذائية من الرطوبة و مقاومة الميكروبات للحرارة علاقة:

A. طردية

B. عكسية

C. A و B معًا

٦-الجهاز المستخدم فى إزالة البكتيريا من اللبن بالطرد المركزى جهاز الـ

Bactocatch .A

Bactofuge .B

C. A و B معًا

٧-تستخدم طريقة الترشيح الدقيق فى ترشيح

A. المياة الغازية

B. اللبن

C. A و B معًا

٨-كانت النتائج المتحصل عليها عند سترة اللبن بالميكروويف مقارنة بالطريقة التقليدية

A. أحسن من المتحصل عليها بالطريقة التقليدية

B. أقل جودة من المتحصل عليها بالطريقة التقليدية

C. نفس النتيجة

٩-للقضاء على *Clostridium botulinium* بالأشعة المتأينة يلزم

A. ٤٦ Kilo Gray

B. Kilo Gray 36

C. Kilo Gray 56

١٠-ملح السوربات

A. يؤثر على بكتيريا حمض اللاكتيك

B. لا يؤثر على بكتيريا حمض اللاكتيك

C. ضعيف التأثير على بكتيريا حمض اللاكتيك

الباب الثالث

تقسيم بكتيريا اللبن و منتجاته

تركيب البكتيريا

تعريف البكتيريا: هى عبارة عن كائن وحيد الخلية تقوم بجميع الوظائف التى يحتاج إليها هذا الكائن.

تركيب الخلية البكتيرية

تتكون الخلايا البكتيرية من:-

١- السطح الخلوى Bacterial surface

ويشمل أ- الأسواط The flagella

ب- الجدار الخلوى The cell wall

جـ - الغلاف The capsule

٢- البروتوبلازم Protoplasm و هذا يشمل

أ- السيتوبلازم Cytoplasm

ب- المنطقة النووية Nucleus

اولاً: السطح الخلوى Bacterial surface

أ- الأسواط The flagella

هى عبارة عن خيوط بروتينية تخرج من سيتوبلازم الخلية و تساعد البكتيريا على الحركة.

ب- الجدار الخلوى The cell wall

هو الذى يعطى الشكل المميز للخلية و بناءًا علية تصنف البكتيريا إلى موجبة أو سالبة لصبغة جرام.

جـ- الغلاف The capsule

هو الطبقة الخارجية أو الهلامية أو اللزجة التى تحيط بالجدار من الخارج.

ثانياً: البروتوبلازم Protoplasm

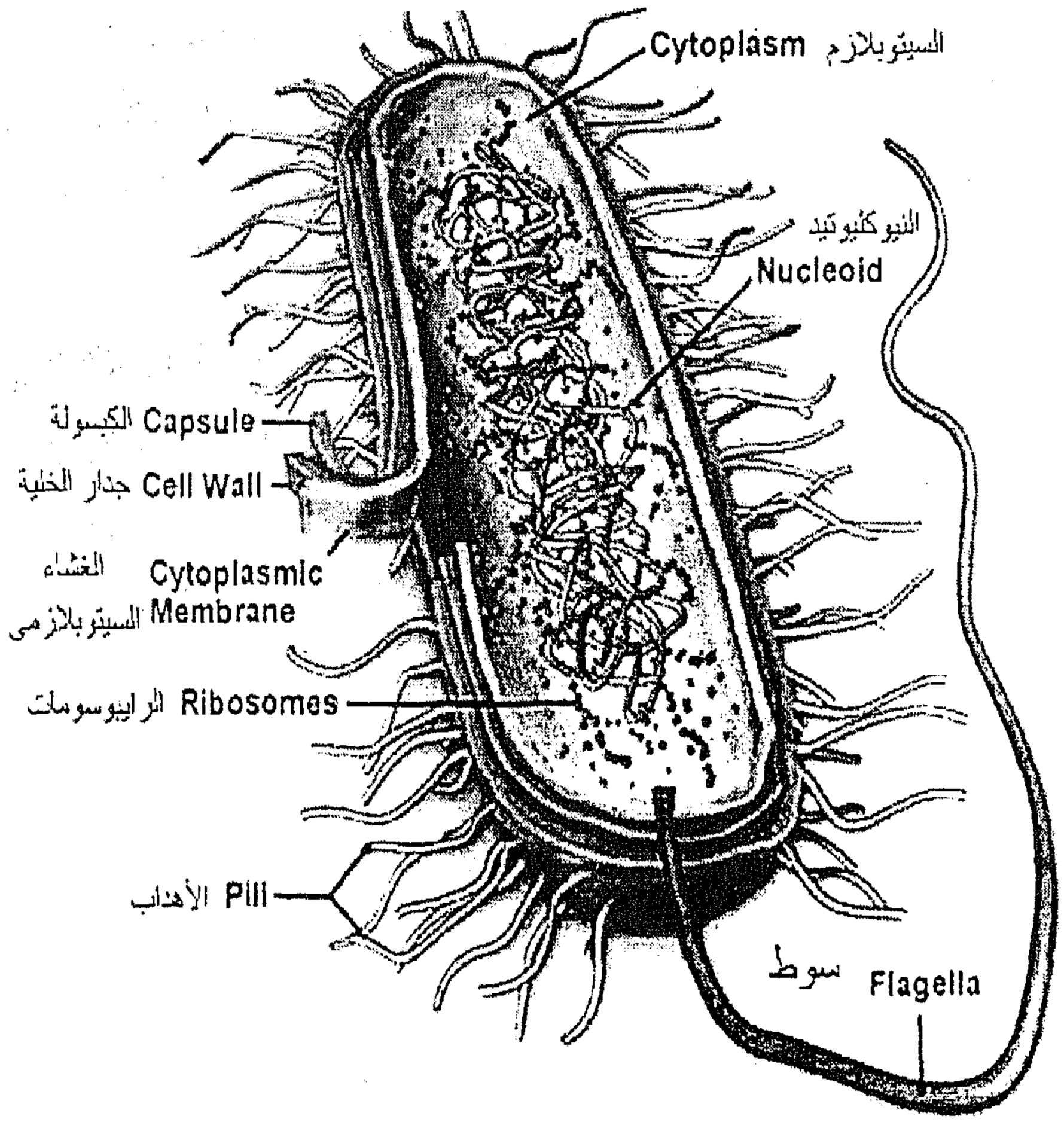
أ- السيتوبلازم Cytoplasm

يقصد به جميع محتويات الخلية الحيه عدا النواه ، حيث يوجد به :-

١. الغشاء البلازمى أو السيتوبلازمى ، يعرف بإنه غشاء شبه منفذ مسئول عن دخول و خروج المواد إلى الخلية و ذلك أما عن طريق النقل النشط وفيه تبذل الخلية طاقة لتمرر المواد إلى داخل أو خارج الخلية، أو عن طريق الانتشار السلبى و فية تدخل و تخرج المواد دون بذل أى طاقة و يتوقف ذلك على حسب تركيز المواد داخل و خارج الخلية.
٢. الميزوسوم و من أهم الوظائف التى تقوم بها أنها مركز تنفس الخلية و إنتاج الطاقة.
٣. البلازميدات تمثل ١٠% من الـDNA و لها دور مهم فى نقل المادة الوراثية بين البكتيريات.
٤. الريبوسومات وهى العضيات التى يتم بها بناء البروتين.
٥. المواد المخزنة ، حيث يخزن النشا فى الخلايا البكتيرية فى صورة حبيبات الجليكوجين ، و الدهن فى صورة حبيبات الدهون والكبريت فى صورة قطرات كبريت و الفوسفات غير العضوى فى صورة ميتافوسفات غير عضوية.

ب- المنطقة النووية

تمثل المادة الوراثية وهى تكون فى صورة DNA يلتف حول نفسه مكونًا الكروموسوم وهذا الكروموسوم هو الحامل للجينات المسئولة عن الصفات الوراثية (شكل رقم ٢).



شكل رقم (٢) : تركيب الخلية البكتيرية .

طرق التعرف على البكتيريا

Methods of Identification of Unknown Bacterial Cultures

مقدمة:

تعزل البكتيريا من النباتات و الحيونات والتربة و البيئات المختلفة بصفة مستمرة ، حيث توجد فى صورة مزارع مختلطة غير نقية و بإجراء عملية العزل و التنقية فإنه يتم الحصول على البكتيريا فى صورة مزارع بكتيرية نقية تحفظ فى بنوك الثروة الميكروبية .

أمثلة لمراكز الثروة الميكروبية التى توجد فى العالم:

١-مركز الثروة الميكروبية بكلية الزراعة/ جامعة عين شمس/مصر.

CAIM: Cairo Mircen (Microbiology Resource Centre) Egypt

أنشىء مركز الثروة الميكروبية عام ١٩٧٧ بدعم من جامعة عين شمس وكل من برنامج الأمم المتحدة للبيئة (UNEP) ومنظمة الأمم المتحدة للتربية والعلوم والثقافة (UNESCO) والمنظمة الدولية لبحوث الخلية (ICRO) ومنظمة الأمم المتحدة للأغذية والزراعة (FAO) ،وذلك للإرتقاء بمجالات التقنية الحيوية بفروعها المختلفة فى الدول النامية خاصة العربية والأفريقية.

و يضم المركز عدة معامل للعمل فى مجالات البيولوجيا الجزيئية وتعريف وحفظ سلالات الكائنات الحية الدقيقة والتخمرات الصناعية وإنتاج البادئات الميكروبية . ومن أهم الأجهزة المتوفرة بالمركز : كبائن حقن وتلقيح – PCR– GLC – HPLC – وحدات فصل كهربى – جهاز تجفيد المزارع الميكروبية – وحدة تحطيم الخلايا الحية بالموجات فوق الصوتية ـــ وحدة

ELISA – حضانات – أجهزة تخمير وأكثار الكائنات الدقيقة – حمامات مائية– ثلاجات وأجهزة تجميد.

٢-مركز الثروة الميكروبية في USA.

ATCC: American Type Culture Collection

٣-مركز الثروة الميكروبية في India.

IFRI: Indian Forest Research Institute

٤-مركز الثروة الميكروبية في USA .

NRRL: Northen Regional Research Laboratory

٥-مركز الثروة الميكروبية في Holland .

CBS: Centraalbureau voor Baarn Schimmel-cultures

دور مراكز الثروة الميكربية

١- عزل وتنقية وتعريف وحفظ سلالات الكائنات الحية الدقيقة .

٢- إنتاج سلالات تستخدم فى التخمرات الصناعية و ذلك عن طريق الإنتخاب و الهندسة الوراثية.

٣- إنتاج سلالات آمنة تستخدم كبادئات فى منتجات الألبان.

٤- تنمية المهارات البحثية والعلمية للباحثين ، وذلك عن طريق عقد وتنظيم الدورات التدريبية والندوات وحلقات المناقشة على المستوى العالمى و الإقليمى.

٥- تقوم بنشر علم التقنيات الحيوية والمعلومات البيئية.

٦- تطوير تطبيقات علم الأحياء الدقيقة لتقوى الاقتصاد الريفى.

مصطلحات هامة فى طرق التعرف على البكتيريا:

و لفهم طرق التعرف على البكتيريا لابد من تعريف بعض المصطلحات الهامة:-

المزرعة Culture

تضم أكثر من نوع مختلف من البكتيريا و تكون ناتجة من العزل المباشر .

المستعمرة Colony

عبارة عن عزلة مفردة نقية تحتوى على نوع واحد نقى وراثيًا و تكون ناتجة من العزل المباشر من المزرعة

التقسيم Classification

هو ترتيب الكائن الحى إلى مجموعة تشريحية معينة بناءًا على التشابهات و العلاقات بين الأجناس.

التسمية الدولية Nomenclature

هو تسمية الكائن الحى علميًا تبعًا إلى مجموعتة التشريحية و القواعد العامه للتسمية.

التعريف Identification

هو عملية تنسيب الكائن الحى المعزول لإسم الكائن المطابق له.

تقسيم طرق التعرف على البكتيريا:

هناك العديد من طرق التعرف على البكتيريا يمكن تقسيمها على حسب الطرق التكنولوجية المستخدمة فى عملية التعرف إلى:-

أولاً: الطرق التقليدية Traditional Methods

تتم فى عدة خطوات متتالية للتعرف على الجنس أولاً ثم يليها التعرف على النوع و هى تتم كالتالى:-

١-إجراء عملية عزل للبكتيريا محل الدراسه من اللبن و منتجاته أو الأغذية المختلفة أو النباتات أو الحيونات أو البيئات المختلفة عن طريق :

أ- الانتخاب بالتثبيط Repression Selection

:- فيه يتم تثبيط نمو البكتيريا غير المرغوبة و السماح بنمو البكتيريا المراد عزلها كما هو الحال فى عزل بكتيريا الكوليفورم فيتم إضافة كل من أملاح الصفراء و الكريستال البنفسجى إلى بيئة VRBA.

ب- الانتخاب بالإكثار Enrichment Selection:- يجرى فيه تشجيع نمو البكتيريا المراد عزلها حتى تتغلب فى نموها على البكتيريا المنافسة، كما هو فى حالة بيئة MRS التى تستخدم لعزل بكتيريا حمض اللاكتيك و التى تحتاج إلى مركبات عضوية معينة .

٢-التنقية و يتم ذلك بالتخطيط المتتالى على البيئات الغذائية المتخصصة .

٣-تحديد الصفات المورفولوجية Morphology Characteristic للخلية البكتيرية ، حيث أن الصفات المورفولوجية من العوامل المهمة جداً فى التعرف على البكتيريا لانها الخطوة الأولى فى التعرف و بدون التأكد من تحديد الشكل لن تتم الخطوات التالية بصورة صحيحة و ذلك لأن جميع الإختبارات الحيوية فيما بعد تكون متشابهة تقريبا، و الصفات المورفولوجية تشمل:-

أ- شكل البكتيريا سواء كانت كروية الشكل(مفردة أو فى أزواج أو فى سلاسل أو فى تجمعات غير

منتظمة) أو عصويات (مفردة أو فى سلاسل طويلة أو قصيرة).

ب- تواجد الأسواط Flagella و اختبار الحركة، حيث تختلف البكتيريات فيما بينها من حيث مقدرتها على الحركة و نوع الحركة سواء كانت حركة حلزونية أو حركة لولبية أو بواسطة أسواط طرفية أو أسواط جسمية و لذلك يتخذ اختبار الحركة كدليل من دلائل التعرف.

ت- حجمها (متوسط قطر البكتيريا الكروية بين ٥,٠- ١ ميكرون بينما البكتيريا العصوية قد يصل طولها إلى ١,٥ ميكرون أما عرضها فيصل إلى ٥,٠ ميكرون، ويمكن أن يصل طول البكتيريا إلى ٨٠ ميكرون.

ث- صبغة جرام.

ج- مقدرة البكتيريا على التجرثم Sporulation و شكل الجرثومة سواء كانت طرفية أو وسطية أو قريبة من الطرف .

٤- التعرف على الصفات المزرعية Cultural Characteristics وهى تتمثل فى وصف النمو على البيئات الصلبة والسائلة- تقدير احتياجات البكتيريا للأكسجين - إيجاد درجة الحرارة المثلى و الـ pH الأمثل للبكتيريا - انتاج الكتاليز حيث أن البكتيريات الهوائية تحصل على الأكسجين عن طريق الأكسدة المباشرة Direct Oxidation بإستخدام إنزيمات الديهيدروجينيز و بذلك تنتج مركب H_2O_2 فى نهاية عملية التنفس و حيث إنه مادة سامة لذلك هذه الكائنات لها القدرة على إنتاج إنزيم Catalase الذى يحلله إلى ماء و

أكسجين، أما البكتيريات اللاهوائية فتتم عملية التنفس أو الحصول على الأكسجين بطريقة السيتوكروم المباشر Dicrect Cytochrome System أى تتم الأكسدة بإنتقال الإلكترونات بين المركبات المختلفة منتجة الطاقة فتتم عن طريق إنزيمات إزالة الهيدروجين التى تختزل صبغة السيتوكروم مباشرة وهذه الصبغات المختزلة تتفاعل مع الأكسجين الغازى مكونه ماء فتنتج الطاقة، لكن كمية الطاقة المنتجة أقل منها فى حالة السيتوكروم غير المباشرة التى تتم بإختزال المرافق الإنزيمى DPN,TPN بواسطة الإنزيمات ثم تقوم هذه المرافقات بإختزال بعض البروتينات المحتوية على الفلافين بعد ذلك تقوم مركبات الفلافين بالتفاعل مع صبغات السيتوكروم و بالتالى تحصل على الطاقة، و بالتالى فهى ليست فى حاجة إلى إنزيم الكتاليز لأن H_2O_2 لن يتكون فى هذا التنفس و لذلك يعتبر هذا الإختبار برغم بساطتة وسيلة للتعرف على الاحتياجات الهوائية للميكروبات المعزولة و يجرى عن طريق أخذ جزء من المستعمرة فى محلول H_2O_2 (٢٠ %) فإذا حدث فوران دل ذلك على أن البكتيريا موجبة للكتاليز.

بإجراء الاختبارات السابقة يمكن التعرف على الجنس الذى ينتمى إليه البكتيريات المعزولة و التى لها دور فى صناعة الألبان بعد ذلك تجرى العديد من الاختبارات التفريقية للتعرف على النوع و تحت النوع كالتالى:-

٥- تحديد الخواص الفسيولوجية Physiological Characteristics وهى تتمثل فى مقدرة السلالة المختبرة على تخمير السكريات حيث تقاس مقدرة البكتيريا على الإستفادة من سكر معين بإستخدام بيئة خالية تماما من أى مصدر كربوهيدراتى أخر بحيث يضاف هذا السكر المراد اختباره فى البيئة فإذا حدث عكارة أو تغير لون الدليل المضاف للبيئة دل ذلك على مقدرة السلالة البكتيرية

المختبرة على تخمير هذا السكر وبمقارنتها بجداول التعرف يمكن تحديد إسم البكتيريا و هذا بعد إجراء الاختبارات الأخرى ، أيضًا يدرس مدى إحتياجها إلى حامض أمينى معين للنمو فهناك بعض الميكروبات لاتستطيع النمو إلا فى وجود حامض أمينى معين و بالتالى فإن إستخدام بيئة خالية من أى مصدر للنيتروجين إلا هذا الحمض الأمينى المختبر فإذا حدث نمو دل ذلك على إيجابية الاختبار- هل هذه البكتيريا ممرضة للإنسان و النبات و الحيوان - تحليل البكتيريا للكحولات مثل الجليسرول - مقدرتها على إسالة الجيلاتين - شكل نموها فى بيئة لبن عباد الشمس – مقدرتها على إنتاج الإندول و تحليل الكازين و تحليل الدهون.

ثانيا: الطرق الحديثة Modern Methods

هى أدق و أسرع و أكثر تكلفة من الطرق التقليدية و تشمل:-

١ -التحليل الكروماتوجرافى الغازى

Identification of Bacteria by Using Gas Liquid Chromatography

الأساس العلمى فى هذه الطريقة هى استخدام النواتج التمثيلية المنتجة من البكتيريا اللاهوائية فى تصنيف البكتيريا حيث أن هذه النواتج التمثيلية تتكون من أحماض دهنية و كحولات يمكن فصلها بإستخدام التحليل الكروماتوجرافى الغازى و الكشف عن هذه المنتجات كمياً وبإجراء مقارنة مع بكتيريات قياسية معروفة التمثيل الغذائى نستطيع التعرف على البكتيريا المجهولة.

خطوات العمل:-

أ- يجرى تنشيط السلالة اللاهوائية فى بيئة مرق الجلوكوز لمدة تتراوح بين ١٨- ٢٤ ساعة ثم يؤخذ ٢ مل من المزرعة الى أنبوبة Screw-cap .

ب- يتم خلط ٠,٢ مل من حامض كبريتيك مع ١ مل من الداى إيثيل إيثير ثم يتم سحب طبقة الإيثير إلى أنبوبة نظيفة ثم يحقن ١٥ ميكروليتر من مستخلص الإيثير داخل جهاز الحقن و من خلال منحنى قياسى نستطيع التعرف البكتيريا.

٢-التحاليل الوراثية

Bacterial Classification Based on Genetic Analysis

Determination of Mole % G+C

فيها يتم تصنيف البكتيريا المجهولة على أساس أن نسبة G+C (حيث يوجد ٣ روابط هيدروجينية بين Guanine و Cytosine بينما يوجد رابطتين بين Adenine و Thymine) تمثل نسبة معينة من الـ DNA الخلوى و تختلف هذه النسبة من بكتيريا إلى أخرى لذلك إتخذت هذه النسبة كدليل للتعرف على الميكروبات.

٣-دراسة الصفات السيريولوجية

Serological Identification of Clinical Important Bacteria

عن طريق حقن أى كائن حى مثل الأرانب أو الأبقار أو الخيول بالبكتيريا أو سم البكتيريا (الأنتجين Antigens وهو لايقل عن ٢٥٠٠ دالتون و يحث الجهاز المناعى على تكوين أجسام مضادة) فإن جسم الكائن الحى ينتج أجسامًا مضادة (هى بروتينات متكونة فى جسم الإنسان أو الحيوان و الموجودة بالدم نتيجة حدوث أى عدوى) ثم يؤخذ السيرم (هو السائل الأصفر الذهبى المنفصل من الدم بعد تجلط جميع البروتينات عدا بروتينات التجلط) المتكون به أجسام مضادة ضد البكتيريا أو سم البكتيريا ثم إجراء اختبار مناعى بينه و بين السلالة التجارية (معروفة) فإذا حدث تفاعل بينهم أى تجمع

Agglutination (Clumping) للخلايا البكتيرية فإن الاختبار موجب أى أن هذه السلالة هى نفسها السلالة المعزولة.

٣- تقسيم البكتيريا باستخدام البكتيروفاج

Taxonomic Identification by Phage Typing

الفكرة أن الفاجات متخصصة للبكتيريا أى أن كل فاج له بكتيريا خاصة به لذلك يتم تنمية البكتيريا المعزولة على أطباق بها بيئة غذائية متخصصة ثم تلقح بالفاج المعلوم و بعد التحضين يلاحظ تكون الـ Plaques (هالات رائقة) و التى تدل على أن الفاج أدى إلى تحليل الخلايا البكتيرية و بالتالى يمكن التعرف على البكتيريا المعزولة.

٥- التعرف على البكتيريا باستخدام نظام الاحتمالى التجارى

Identification System Bacterial Identification Using Commercial Probabilistic

منتشرة بكثرة فى التحليلات الطبية لسرعة التعرف على البكتيريا الممرضة، وفيها تحول النتائج إلى شفرة عددية و تقارن بالنتائج الموجودة فى بنك المعلومات وكل الأنظمة التجارية عبارة عن أوعية معقمة وتختلف فى عدد و نوعية الإختبارات الحيوية تبعًا لنوع البكتيريا المراد التعرف عليها و من هذه الأنظمة:-

١- Enterotube

الفكرة فى هذا النظام هو توفير بيئات متخصصة فى صورة حجرات كل حجرة بها بيئة متخصصة لاختبار تعرف معين ، مثل اختبار الجلوكوز- اختبار الليسين داى كربوكسيلاز- اختبار الاورنثين داى كربوكسيلاز- اختبار إنتاج كبرتيد الهيدروجين- اختبار تكوين الإندول-

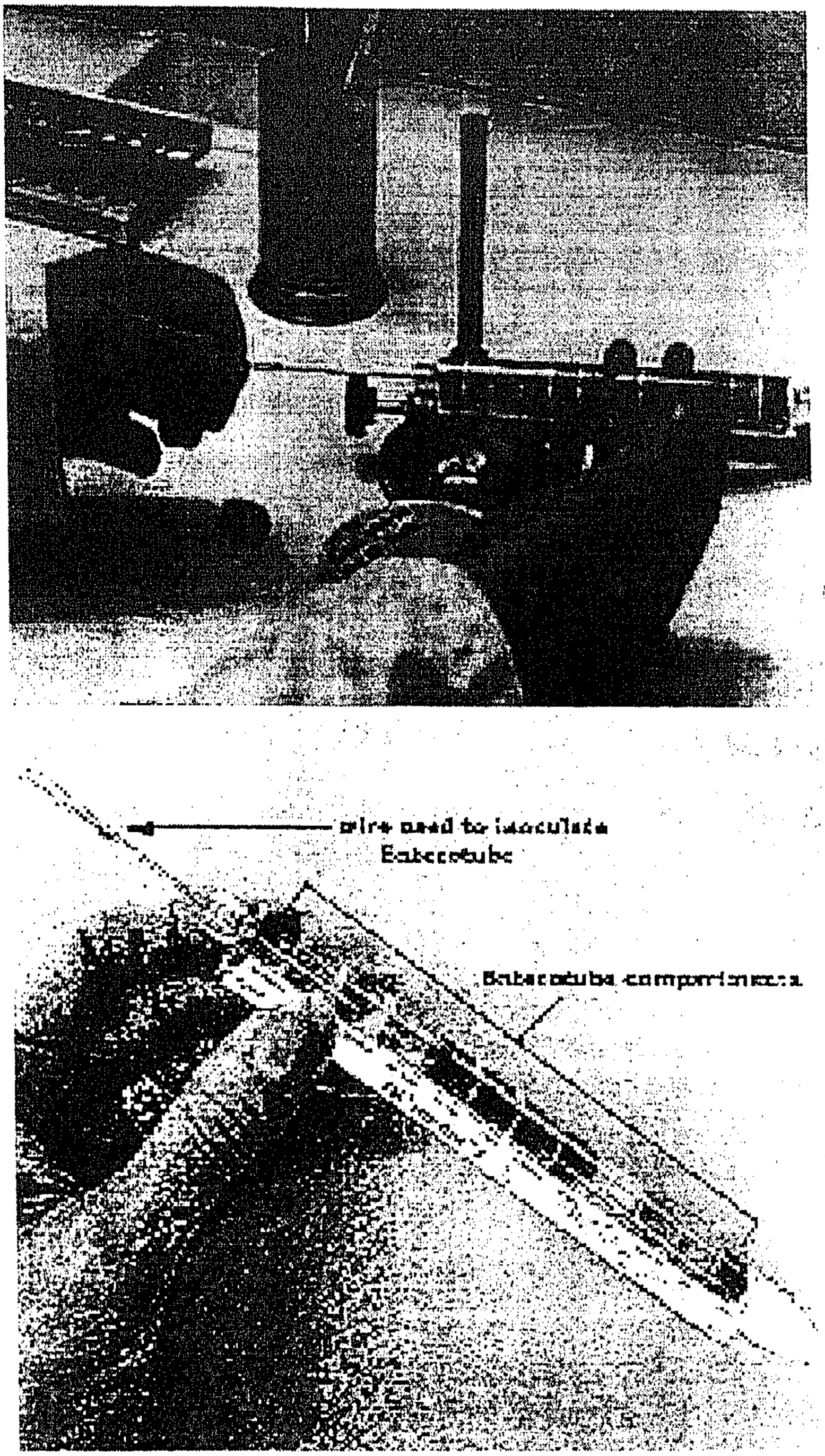
اختبار اللاكتوز- اختبار الأرابينوز- اختبار السوربيتول- اختبار فوجس بروسكور- اختبار الديوسيتول- اختبار اليوريا- اختبار السترات و غيرها من الاختبارات و ذلك للتعرف على الخواص الفسيولوجية للبكتيريا المعزولة. ومن الإسم يستدل على أنها عبارة عن أنبوبة بلاستيكية بها ١٢ بيئة غذائية مختلفة معقمة و إبرة تلقيح و التى عن طريقها تلقح البئيات المختلفة بعد لمس السلالة المعزولة المراد التعرف عليها (شكل 4 و3).

٢- API(Analytab Products Identification)

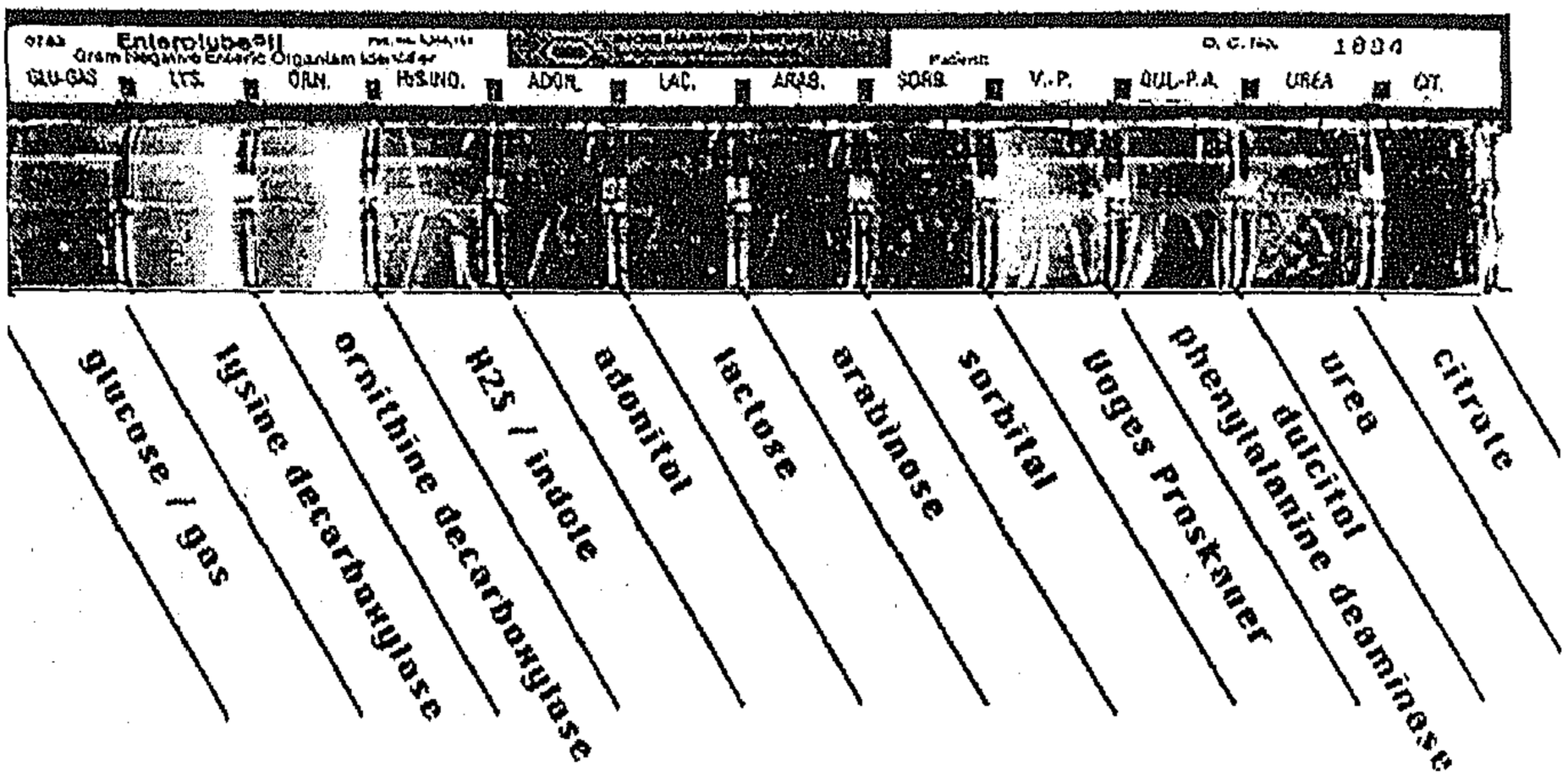
يوجد به عدد من الحجرات تبعا لنوع السلالة المعزولة المراد التعرف عليها (شكل رقم ٥) ، وفيها تنمى البكتيريا المعزولة المراد التعرف عليها منفصلة ثم تختبر بهذه الطريقة فنحصل على ٧ أرقام ومن خلال جدول قياسى يمكن التعرف على السلالة المعزولة المراد التعرف عليها.

6- طريقة الهجرة الكهربائية Electrophoresis

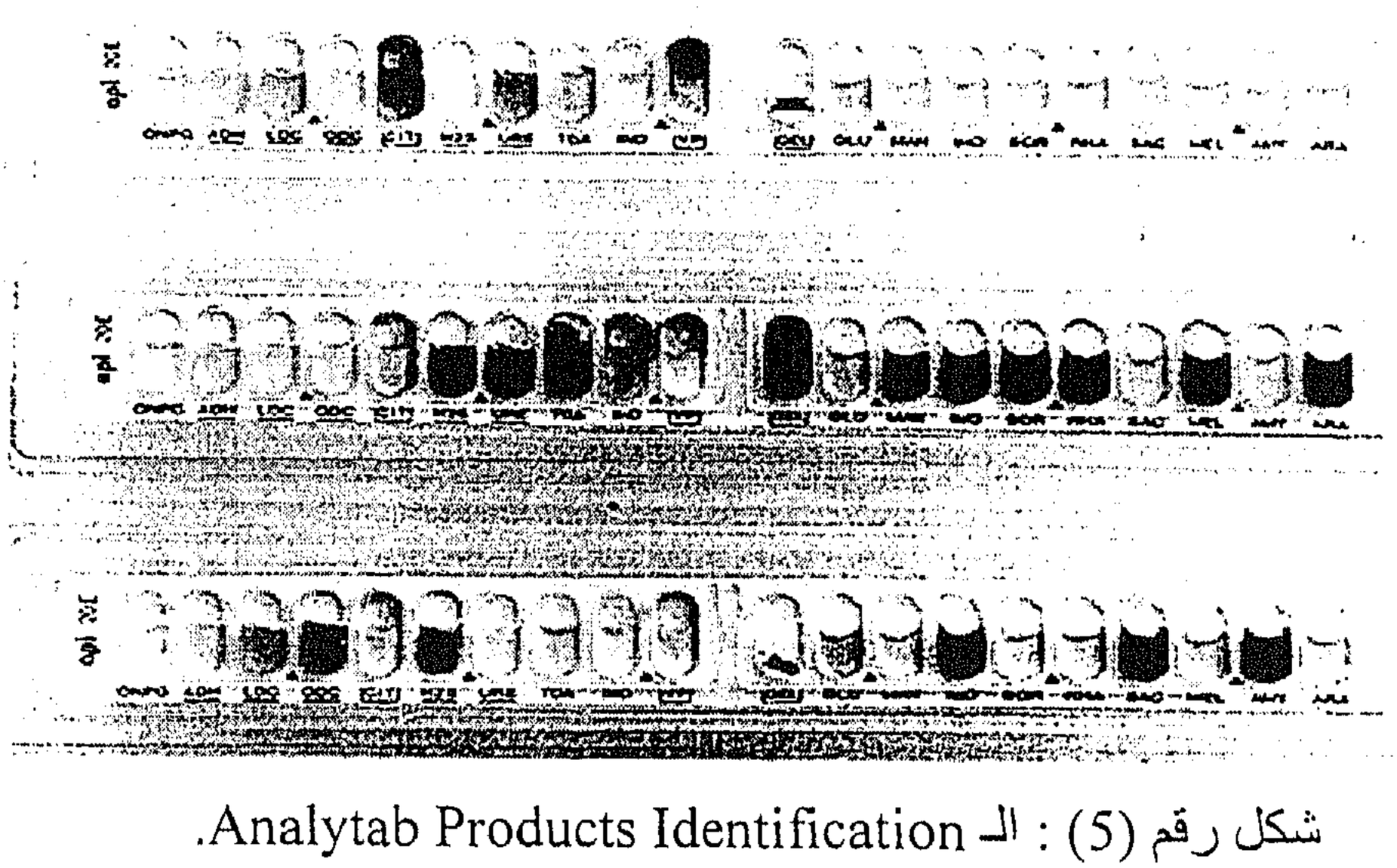
يتم فيه فصل الـ DNA الخاص بالعزلة المراد التعرف عليها ثم عمل تضاعف للجزء من الـ DNA المراد تضاعفة باستخدام تكنيك Polymerase Chain Reaction(PCR) و الأساس العلمى لتكنيك لـPCR هو استخدام جهاز Thermal Cycler وعمل :-



شكل رقم (٣) : الـ Enterotube .



شكل رقم (٤) : كنترول الـ Enterotube .



شكل رقم (5) : الـ Analytab Products Identification.

١. عملية دنترة للـ DNA عن طريق رفع درجة الحرارة الى ٩٥°م / ٢ دقيقة فينفصل خيطى الـ DNA المزدوج الى خيوط مفردة فيسهل عملية التضاعف له.

٢. خفض الحرارة إلى ٥٥-٦٥ °م / دقيقة فيحدث التحام Annealing للـ Primer (هو الزوج من تتابع النيوكليوتيدات التى تم تتصممميها حيث إنها تحدد بداية ونهاية الجزء من الـ DNA المراد مضاعفتة) بالخيط المفرد للـ DNA حسب تركيب الـPrimer حيث يرتبط كل Primer بالجزء من الـ DNA المكمل له لتبدأ أولى خطوات التضاعف.

٣. رفع الحرارة إلى ٧٢°م / دقيقة لربط القواعد المكملة لخيط الـ DNA الأصلى بواسطة إنزيم البلمرة لكى يتم بناء جزء مماثل للجزء من الـ DNA المراد مضاعفته ، وتسمى هذه العملية بالإستطالة Extension الـ Primer .

وهكذا يتضاعف جزء الـ DNA الى جزئين متماثلين و يمكن تكرار هذه الدورة عدة مرات وبعد ذلك يجرى له هجرة كهربائية للتعرف عليه فى ٢ % أجاروز ثم يصبغ بواسطة Ethidiumbromide لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم تزال الصبغة بواسطة الماء الخالى من الأيونات لمدة ١٥ دقيقة ثم تفحص و تصور تحت الأشعة الفوق بنفسجية و بالمقارنة مع السلالات الكنترول يمكن التعرف على السلالة المعزولة .

تقسيم بكتيريا اللبن

سوف نتناول الحديث بالتفصيل عن أهم الأجناس البكتيرية ذات العلاقة بمجال الألبان و منتجاتها تبعا للتقسيم الحديث.

١ـ قبيلة الـ *Firmicutes* :

تضم هذه القبيلة صفين هما *Clostridia* و *Bacilli* .

أولاً: صف الـ *Clostridia*

يتبع هذا الصف Phylum قبيلة الـ Firmicutes ويحتوى على عائلة لها علاقة بالألبان ومنتجاتها وهى *Clostridiaceae*.

Phylum B XIII: Firmicutes .Phy.nov.

Class I: *Clostridia*
Order I: *Clostridiales*
Family I: *Clostridiaceae*
Genus I: *Clostridium*
Family II: *Eubacteriaceae*
Genus II : *Acetobacterium*

Class III : *Bacilli*
Order I : *Bacillales*
Family I: *Bacillaceae*
Genus I: *Bacillus*
Family IV: *Listeriaceae*
Genus I: *Listeria*
Family V: *Staphylococcacea*
Genus I: *Staphylococcus*
Order II : *Lactobacilliales*
Family I: *Lactobacillaceae*
Genus I: *Lactobacillus*
Genus II: *Pediococcus*
Family IV: *Enterococcaceae*
Genus I: *Enterococcus*
Family V: *Leuconostocaceae*
Genus I: *Leuconostoc*
Family VI: *Streptococcaceae*
Genus I: *Streptococcus*
Genus II: *Lactococcus*

عائلة الـ *Clostridiaceae*

تضم جنس الـ *Clostridium*

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*

Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.

Class I: *Clostridia*

Order I: *Clostridiales*

Family I: *Clostridiaceae*

Genus I: *Clostridium*

Morphology Charateristics الخصائص الظاهرية

الخلايا عصوية (٠,٣ – ٢ × ١,٥ – ٢ ميكرون حيث أن الميكرون = ميكرومتر = ١٠ $^{-٦}$ متر) موجب لصبغة لجرام خاصة فى المراحل الأولى من النمو ، أحياناً متحرك أو غير متحرك فإذا كان متحرك فإنه يمتلك أسواط للحركة ، يكون جراثيم بيضاوية أو دائرية(شكل رقم ٦) .

شكل رقم (٦) : الـ *Clostridium*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لاهوائى إجبارًا ولو أن القدرة على تحمل الأكسجين مختلفة بين السلالات ، بعض السلالات يمكنها النمو فى وجود الهواء و لكنها لا تتجرثم فى وجود الهواء ، تنمو على رقم حموضة يتراوح بين ٦,٥-٧ ودرجة الحرارة المثلى تتراوح بين ٣٠- ٣٧ °م و يمكن أن تنمو فى مدى حرارى ما بين ١٥- ٦٩°م ، و يتم عزلها عن طريق تعريض البيئة أولاً إلى ٨٠°م لمدة ٥- ١٠ دقائق ثم بعد ذلك العزل على بيئة لاهوائية.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

عند نموه فإنه لا ينتج الإندول و ينتج خليطاً من الأحماض العضوية و الكحولات من الكربوهيدرات و الببتون وبعض السلالات يمكنها تثبيت النتروجين الجوى و تتحمل تركيز ملح يتراوح بين ٢,٥-٦,٥ % ، و نسبة الـ C+G تتراوح بين ٢٤ - ٢٨% . بعض السلالات ممرضة للإنسان والحيوان، و تسبب الغرغرينا الغازية Gangrene gas وبعضها منتج للسموم الخارجية والتى يمكن أن تستخدم فى التقسيم،وتخمر الجلوكوز و تنتج H_2S من الـ Sulphit.

١-نوع الـ*Clostridium acetobutylicum*

الإسم يدل على مقدرته على إنتاج الأسيتون وكحول البيوتانول ، ودرجة الحرارة المثلى ٣٧ °م ، وعند نموه فى بيئة أجار الجلوكوز ينتج كمية كبيرة من الغاز(كبريتيد الهيدروجين) و بذلك فإن نموه ينتج عنه حمض الخليك و البيوتيريك و اللاكتيك و البيوتانول و الأسيتون و CO_2 وكمية كبيرة من الهيدروجين و يمكن تصنيفه عن الأنواع الأخرى بإحتياجاته للببتون والبارا أمينوبنزويك وقد يحتاج إلى بعض الفيتامينات والأحماض الأمينية.

٢-نوع الـ *Clostridium botulinum*

يعزل من النباتات و أمعاء الأسماك والطيور و يسبب التسمم البوتشيلينى فى الأغذية المعلبة و ينتج سبعة أنواع من السموم يطلق عليها A,B,C,D,E,F and G وهى سموم خارجية Exotoxins و ٠,٢ ميكروجرام من السم تكفى للوفاة حيث تمتص هذه السموم فى الأمعاء الدقيقة وتحلل الخلايا المكونة لعضلات الجهاز التنفسى و تسبب شللاً فى الجهاز العصبى المركزى وتبدأ الأعراض بإضطربات معوية حادة يعقبها غثيان و قىء و إسهال وفى المراحل المتأخرة يحدث إمساك ، ويمكن تحطيم السم بالغليان لمدة ١٥ دقيقة، والفترة التى تمر من تناول الغذاء الملوث و بداية ظهور الأعراض المرضية تتراوح بين ١٢ – ٧٢ ساعة ، ودرجة الحرارة المثلى تتراوح بين ٣٠- ٤٠ °م و يمكن تثبيط نموه على ٦,٥ % ملح و ٢٠ % أملاح صفراء وكل سلالاته حساسة للبنسيلين Penicillin و الكلورامفينيكول Cloramphenicol التتراسيكلين Tetracyclin .

٣-نوع الـ *Clostridium perfrigenes*

هذا النوع يفرز سمومًا خارجية وقد قسمت إلى خمسة أنواع A,B,C,D and E و هى تنتج كميات كبيرة من الغاز و يسبب التخمر المتأخر(التخمر العصفى) Stormy فى الجبن الجاف ، و يكون غازات فى الجبن المطبوخ ودرجة الحرارة المثلى ٣٧ °م ، و يسبب الغرغرينا الغازية Gangrene gas للإنسان و الحيوان.

٤-نوع الـ *Clostridium putrefaciens*

لا يستطيع النمو على ٣٧°م ، ودرجة الحرارة المثلى ٢٠-٢٥°م ، غير متحرك و يتواجد فى تكوينات خيطية طويلة وبذلك فإن الخلايا تتواجد

مفردة فى أزواج أو فى سلاسل طويلة، الجراثيم دائرية أو بيضاوية أو طرفية أو وسيطية .

5-نوع الـ *Clostridium sporogenes*

درجة الحرارة المثلى له ٣٧° م ، ويؤدى إلى تزنخ جبن الإمينتال الفنلندى ، أما فى الجبن المطبوخ فيسبب التخمر العصفى ، كما إنه أيضا يعمل على تحليل البروتين و إرتفاع الـpH ، مما ينتج عنه روائح كريهه ، بالإضافة إنه يسبب النتانه البيضاء White stinkes فى الجبن السويسرى و يمنع تكوين العيون.

6-نوع الـ *Clostridium butyricum*

يسبب روائح كريهة فى الجبن المطبوخ ، و درجة الحرارة المثلى ٣٤°م ، ويؤدى إلى التخمر العصفى ، حيث يعمل على تفتيت كثرة الجبن إلى جزئيات صغيرة.

٧-نوع الـ *Clostridium tyrobutyricum*

أهم ما يميز هذا النوع هو مقاومته للملح و الـpH الحامضى ، بالإضافة إلى أنه يسبب التزنخ فى جبن الإمينتال الفنلندى ، و أيضا يسبب التخمر المتأخر.

ثانيا: صف الـ *Bacilli*

كما فى الدياجرام السابق فإن صف الـ*Bacilli* يتبع قبيلة *Phylum* الـ *Firmicutes*ويحتوى على رتبتين الأولى هى الـ *Lactobacilliales* وهى تضم أربع عائلات هامة هى *Lactobacillaceae* و *Enterococcaceae* و *Streptococcaceae* و *Leuconostocaceae*، أما الثانية فهى رتبة الـ *Bacillales* وهى تضم

ثلاث عائلات هى *Bacillaceae* و *Listeriaceae* و *Staphylococcaceae*.

رتبة الـ ***Lactobacilliales***

عائلة الـ ***Lactobacillaceae***

جنس الـ ***Lactobacillus***

الوضع التقسيمى

***Domain**: Bacteria*

Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.

Class III: *Bacilli*

Order II: *Lactobacilliales*

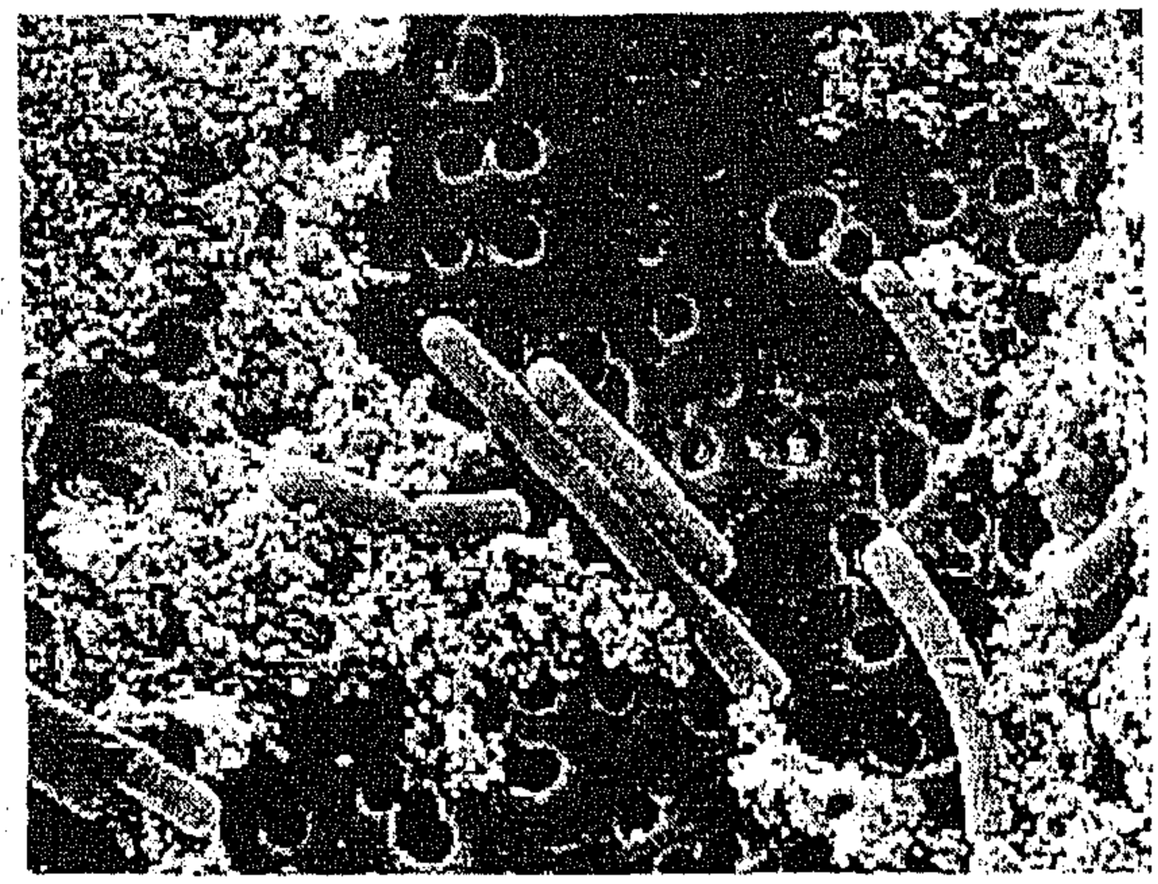
Family I: *Lactobacillaceae*

Genus I: *Lactobacillus*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

كما فى شكل (٧) فإن الخلايا عصوية قصيرة أو طويلة توجد مفردة أو فى سلاسل (٠,٥ – ١,٢ × ١ – ١٠ ميكرون) غير متحرك و عندما توجد الحركة فإنها تتم بواسطة الأسواط ، غير متجرثم ، عادة موجب لصبغة جرام أى يظهر باللون البنفسجى وذلك لأن سطحه يحتوى على ملح الماغنيسيوم لحمض الريبونيوكليك Ribonucleic acid و الذى يكون معقدًا مع الكريستال البنفسجى و البروتين الخلوى و مركب اليود ، ويمكن لهذه الخلايا أن تفقد إيجابيتها للصبغة وذلك فى حالة معاملتها بانزيم الريبونيوكليز Ribonuclase

أو الفورمالدهيد حيث يجعلها مختزلة ، أو إذا حدث تقدم فى السن أو عند ارتفاع الحموضة للوسط الذى تعيش به البكتيريا .



شكل رقم (٧) : الـ *Lactobacillus*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

الأنواع تحب القليل من الهواء أو تكون لاهوائية إجبارًا ،حيث إن غالبية أنواع هذا الجنس يفضل تركيز ١٠% من CO_2 و ٩٠ % من N_2 و بعضها لا يمكنها تكوين الفيتامينات اللازمه لنموه لذلك لا تنمو فى الأغذية الفقيرة فى محتواها من الفيتامينات ، وهو سالب لإنزيم الكتاليز، كما يمكنه النمو على درجة حرارة تتراوح ما بين ٢- ٥٣ °م و الدرجة المثلى ما بين ٣٠- ٤٠ °م و الـpH الأمثل ٥,٥- ٦,٢ و يمكنه النمو على pH ٥ أو أقل و يقل النمو على بيئة ذات pH متعادل أو فى بدء الحالة القلوية، و عندما ينمو فى البيئة فإنه يخفض الـpH للبيئة و لذلك فهو مهم فى التغذية بغرض خفض الـpH للقناه الهضمية مما يؤدى إلى منع نمو الميكروبات الممرضة و من ناحية تواجده فى اللبن فهو لا يتواجد فى اللبن المحلوب من الضرع مباشرة و لكن يحدث التلوث به من الأتربة و أوعية اللبن و يتميز بسرعة نموه و تواجده

فى الـpH المنخفض نسبيًا، و لعزله لابد من توفير وسط حمضى و مصدر للأحماض الأمينية ، ببتيدات ،حمض النيوكليك و الأملاح و بعض الأحماض الدهنيه المنشطة مثل حمض الأوليك، وأهم البيئات المستخدمة فى عزله MRS(de Man, de; Rogosa, and Sharpe , M. Elisabeth) و ذلك عندما يكون هذا الجنس هو السائد لأن تلك البيئة يتوافر بها جميع الإحتياجات الغذائية و بالتالى يمكن أن ينمو عليها العديد من الأجناس الأخرى ويمكن منع نمو الخمائر بإضافة Cychlohexiimide بتركيز ١٠٠ مجم/لتر ، و لعزل السلالات اللاهوائية منها يمكن إضافة ٠,٠٥ % Cystiene (W/V) و التحضين اللاهوائى.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

تعد من بكتيريا حمض اللاكتيك الحقيقية The true lactic acid bacteria أى يخمر سكر اللاكتوز و ينتج L(+) of lactic acid (حيث ان نوع حمض اللاكتيك المتكون يكون فى الصورة L، D حسب نوع الإنزيم Lactic dehydrogenase)، و لا يختزل النترات ولا يسيل الجيلاتين ولا يهضم الكازين ولكن ينتج كمية صغيرة من النيتروجين الذائب ولا يكون الإندول أو كبرتيد الهيدروجين، يخمر المواد الكربوهيدراتية و ينتج حمض اللاكتيك و الفورميك و الخليك و البروبيونيك و البيوتريك هذا علاوة على الكحول و ثانى أكسيد الكربون.

يقسم هذا الجنس إلى انواع :-

١-أنواع مختلطة التخمر إجبارًا Obligately Heterofermentative

تخمر السكريات السداسية أو السكريات الخماسية إلى حمض اللاكتيك بالإضافة الى كميات محسوسة من المركبات العضوية الأخرى ، وتنتج CO_2

من الجلوكوز ، و ترجع قدرتها على تخمير السكريات الخماسية لأنها تحتوى على إنـزيم Phosphoketolase ، مثـل *Lactobacillus kefir* *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus brevis,* *Lactobacillus bifermentans*.

٢-أنواع متجانس التخمر إجبارًا **Obligately Homofermentative**

تخمر السكريات السداسية و لا تخمر السكريات الخماسية إلى حمض اللاكتيك كناتج أساسى بالإضافة إلى قليل من المركبات العضوية الأخرى ،و ترجع قدرتها على عدم تخمير السكريات الخماسية لأنها لا تحتوى على إنزيم Phosphoketolase ، مثـــل *Lactobacillus acidophilus,* *Lactobacillus jensennii,* *Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus,* *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* , *Lactobacillus lactis*.

٣-أنواع مختلطة التخمر اختيارًا

Facultatively Heterofermentative

تخمر السكريات السداسية و قد تخمر السكريات الخماسية إلى حمض اللاكتيك بالإضافة إلى كميات محسوسة من المركبات العضوية الأخرى(حمض الخليك و ثانى أكسيد الكربون و كحول الإيثانول) و ترجع قدرتها على تخمير السكريات الخماسية لأنها تحتوى على إنزيم Phosphoketolase، مثل *Lactobacillus plantarum* , *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus casei,* و *Lactobacillus rhamnosus*.

الاصابة بالفاج

ترجع خطورة الإصابة بالفاج إلى تقليل قدرة الأنواع المستخدمة كبادىء فى الصناعات اللبنية على إنتاج الحامض.

انتاجها للبكتيريوسينات Bacteriocins

وجد أن الأنواع المتجانسة التخمر والمختلطة التخمر لها القدرة على تثبيط بعض البكتيريات الأخرى و تختلف المواد المنتجة بواسطة هذه البكتيريات من بكتيريا إلى أخرى ولذلك ممكن أن تتخذ تلك الأنواع كدليل للتقسيم.

١-نوع الـ *Lactobacillus delbrueckii*

متجانس التخمر إجبارًا ،و بسبب التقارب الشديد بين *bulgaricus* و *lactis* فإنهم وضعا تحت النوع *Lactobacillus delbrueckii* يتميز هذا الجنس بإعطاء نمو جيد على ٤٥ °م و كذلك على ٤٨- ٥٢ °م ، و الـ DNA متجانس ويحتاج إلى النياسين و الريبوفلافين و B_{12} للنمو.

٢-تحت نوع *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*

متجانس التخمر إجبارًا ، يستخدم فى تقدير بعض المضادات الحيوية فى اللبن ، عزل من اليوغورت و الجبن و درجة الحرارة المثلى ٤٥ °م و لا ينمو على ١٥ °م و يفضل الـ pH المنخفض نسبياً ، و يخمر سكر الجلوكوز و اللاكتوز و الفركتوز و ينتج ١,٨% حمض لاكتيك فى اللبن و لا يخمر الجالاكتوز و التريهالوز و الرافينوز و المالتوز ، ولا ينتج الأمونيا من الأرجينين.

٣ـتحت نوع ***Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis***

متجانس التخمر إجبارًا عزل من اللبن و اللبن المتخمر و درجة حرارته المثلى ٤٠°م و ينمو على ٤٥°م ، و لا ينمو على ١٥°م، ينتج ١,٨% حمض لاكتيك فى اللبن وينتج بكتيريوسين يسمى لاكتاسين Lactacin .Aand B

٤ـنوع الـ ***Lactobacillus acidophilus***

متجانس التخمر إجبارًا ،وعزل من براز الأطفال و الجهاز الهضمى للإنسان و الحيوان ومن فم الإنسان و الجهاز التناسلى الأنثوى و نسبة الـ G+Cتتراوح بين ٣٢ -٣٧ % ، يتحمل التوتر السطحى المنخفض لذا فإن نموه فى القناه الهضمية يؤدى إلى خفض رقم الحموضة وتصل الحموضة إلى ١,٨ % وينمو على ٤٥°م ولا ينمو على ١٥°م و درجة حرارته المثلى ٣٧°م ، ولا ينمو فى وجود ٤ % NaCl ويمنع البكتيريا التعفنية من النمو، و يخمر سكر الفراكتوز و الجالاكتوز و المالتوز و لايخمر الميليزيتوزMelizitose، و يستخدم كبادىء لإنتاج لبن الأسيدوفلس.

٥ـنوع الـ ***Lactobacillus helveticus***

متجانس التخمر إجبارًا ، و عزل من اللبن الحامض والجبن خاصة الجبن السويسرى و يعطى نمو جيد على ٤٥°م ولا ينمو على ١٥°م و ربما كان سبب إستعماله كبادىء هو تحمله للحراره المرتفعة و ينتج بكتيريوسين يسمى لاكتوسين ٢٧ ، Lactocin 27 و يخمرالراميوز و ينتج ٢% حمض لاكتيك فى اللبن و لا يمكنه النمو فى ٤ % املاح صفراء.

٦ـنوع الـ ***Lactobacillus casei***

مختلط التخمر اختيارًا ،و يتحمل حموضة ٢ % وله مدى حرارى واسع يتراوح بين ١٥-٤٠ °م ودرجة الحرارة المثلى ٣٠ °م و يلعب دور فى عملية تسوية الجبن التشيدر حيث يحلل البروتين مكون بعض البتيدات لذلك يزيد البروتين الذائب و نسبة الـG+C تتراوح بين ٤٥-٤٧ % ، عزلت من اللبن والجبن والجهاز الهضمى للإنسان و الحيوان والجهاز التناسلى ويخمر سكر الفراكتوز و الجالاكتوزو المالتوزو الميليزيتوزMelizitose و لايخمر الملبيوز والرافينوز و ينتج بكتيريوسين يسمى كازياسين ٨٠ Caseicin 80 .

٧ـنوع الـ ***Lactobacillus plantarum***

مختلط التخمر اختيارًا ،و عزل من كثير من المنتجات اللبنية و درجة حرارته المثلى ٣٠ °م ، ينمو على ١٥°م و لا ينمو على 45 °م و يفرز بعض المضادات البكتيرية ، و ينتج بكتيريوسين يسمى بلانتاريسين إية Plantaricin F. ويخمر سكر الفراكتوز و الجالاكتوزو المالتوز و الملبيوز لايخمر الميليزيتوز Melizitose و الرافينوز، و يمكنه النمو فى ٤ % أملاح صفراء.

٨ـنوع الـ ***Lactobacillus brevis***

مختلط التخمر اختيارًا و يخمر الأرابينوز، و المالتوز و الريبوز و درجة حرارته المثلى تتراوح بين ٣٠-٣٥°م ، و لا ينمو على ٤٥ °م ، لكن ينمو على ١٥ °م .

9ـنوع الـ ***Lactobacillus rhamnosus***

مختلط التخمر اختيارًا ، ينمو على ١٥°م و 45 °م ، و يخمر كل من الريبوز و السوربيتول و السكروز ، ويستخدم كبكتيريا علاجية فى العديد من المنتجات اللبنية.

10-نوع الـ ***Lactobacillus bifermentans***

مختلط التخمر إجبارًا ، ينمو على 45 °م ، و يخمر كل من الريبوز و السوربيتول ولا يخمر السكروز ، و يسبب شقوقًا صغيرة فى جبن الإيدام والجودا.

11-نوع الـ ***Lactobacillus paracasei***

ينمو على 15 °م ، و يخمر كل من الريبوز و السكروز ، و يستخدم كبكتيريا علاجية فى العديد من المنتجات اللبنية.

12-نوع الـ ***Lactobacillus fermentum***

مختلط التخمر إجبارًا ، لا ينمو على ١٥°م ، لكن يمكنه النمو على 45 ° م ، وينتج الأمونيا من الأرجينين ، و يخمر الرافينوز و الريبوز و السكروز.

عائلة الـ ***Enterococcaceae***

جنس الـ ***Enterococcus***

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*

Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.

Class III: *Bacilli*

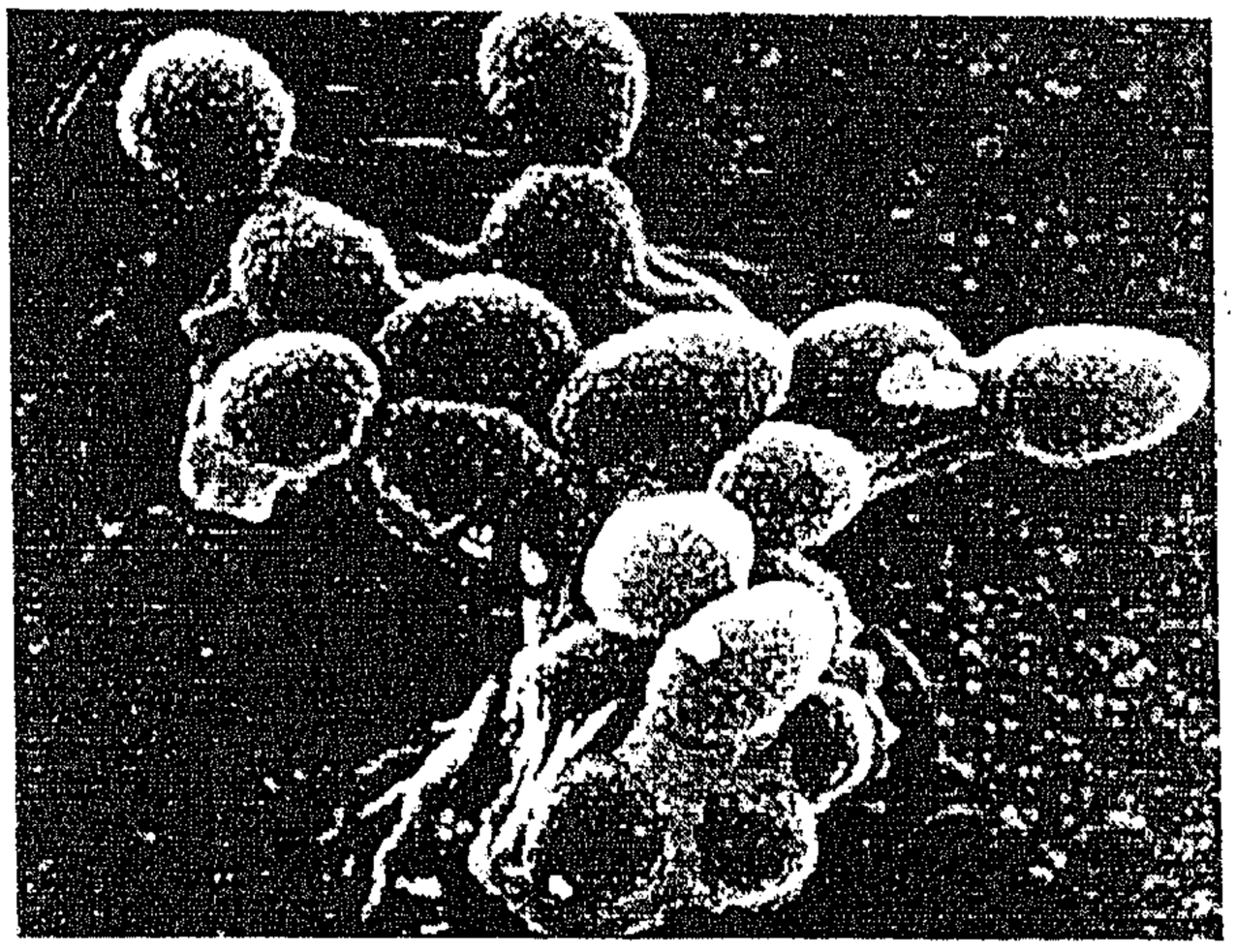
Order II: *Lactobacilliales*

Family VI: *Enterococcaceae*

Genus I: *Enterococcus*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا كروية (قطرها ٠,٦ – ٢,٥ ميكرون) يتواجد فى سلاسل قصيرة(شكل ٨) ، و يكون هناك إستطالة للخلايا فى السلاسل المتكونة ، غير متحرك ، موجب لصبغة جرام ، سالب للكتاليز.



شكل رقم (٨) : الـ *Enterococcus*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

شكل المستعمرة على البيئات الصلبة ناعم ذو لون كريمى أو أبيض ، ونادرًا ما يكوّن صبغات و درجة الحرارة المثلى تتراوح بين ٣٧ ^{0}م ، و ينمو على ١٠ ^{0}م و ٤٥ ^{0} م، أيضا يستطيع النمو على pH ٩,٦ و ملح ٦,٥ % و يتحمل ٤٠ % أملاح صفراء.

١-نوع الـ *Enterococcus faecalis*

الاسم القديم له *Streptococcus faecalis* ، و يسبب هذا النوع التسمم الغذائى ، ومدة الحضانة تتراوح من ٢ – ١٨ ساعة و من أعراض

التسمم الغذائى : الشعور بالغثيان و القيء ، الإسهال ، الصداع ، الإغماء و إرتفاع درجة الحرارة و نادرًا ما تحدث الوفاة .

ونادرًا ما يكوّن صبغات و شكل المستعمرة على البيئات الصلبة ناعم ذو لون كريمى أو أبيض ويتبع المجموعة D من تقسيم لانسفيلد و ترجع الخواص الانتيجينية إلى ١١ نوع من عديدات التسكر و التى تحتوى N- acetylglucose amine و الموجوده بالجدار الخلوى ، وهذ النوع يخمر السكريات منتج حمض لاكتيك بالإضافة إلى بعض الأحماض العضوية الأخرى مثل الفورميك والخليك و الإيثانول و يستطيع تحمل ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة فى البيئة المتعادلة و درجة حرارته المثلى ٣٧°م و لكن مقاومته للحرارة تتأثر بالرقم الهيدروجينى للبيئة و عمر الخلية ، و يستطيع النمو على pH ٩,٦ ، أيضا له القدرة على اختزال لبن عباد الشمس مكون خثرة ، يحلل الدم من طراز بيتا و ينمو فى وجود ٠,١ % أزرق الميثيلين ، و يتبعه تحت النوع *Enterococcus faecalis* ssp. *liquefaciens* .

٢-نوع الـ ***Enterococcus faecium***

الاسم القديم له *Streptococcus faecium* و يتبع المجموعة D من تقسيم لانسفيلد و عند تنميته على ٠,٠٤% بوتاسيوم تيليوريت تظهر المستعمرة باللون الإسود. يستطيع تحمل ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة فى البيئة المتعادلة ، لا يحلل الجيلاتين و الكازين و يحلل الدم من طراز ألفا ، ويتواجد طبيعياً فى القناه الهضمية فى الإنسان و الحيوان و الحشرات و النباتات و وجوده فى الأغذية يدل على عدم النظافة و يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح و النمو على pH ٩,٦ و نسبة G+C تكون ٤٢ %.

٣ـنوع الـ ***Enterococcus bovis***

قديمًا كان تسمى *Streptococcus bovis* ، يتبع مجموعة D من تقسيم لانسفيلد و يستطيع النمو على pH ٩,٦ و ٦,٥ % ملح وتكوّن غلافاً من عديد التسكر فى بيئة السكروز و لا يستطيع النمو على ٠,١% أزرق الميثيلين ، يتواجد هذا النوع باستمرار فى براز و لعاب الأبقار و منهم يصل إلى اللبن و يستطيع مقاومة حرارة البسترة و يمكن عزله بسهولة من الألبان المبسترة إذا حفظت على حرارة الغرفة و كذلك عزل من بعض عينات جبن القالب Brick.

٤ـنوع الـ ***Enterococcus malodoratus***

لا ينمو على ٤٥ ° م ، لكن يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح و لا يتحمل ٠.٠٤ % Tellurite ، ويخمر كل من المانيتول و الرافينوز و السكروز و اللاكتوز.

٥ـنوع الـ ***Enterococcus durans***

ينمو على ٤٥ ° م و على ملح ٦,٥ % و لا يتحمل ٠,٠٤ % Tellurite ، ويخمر اللاكتوز و لا يخمر الرافينوز و السكروز.

عائلة الـ ***Leuconostocaceae***

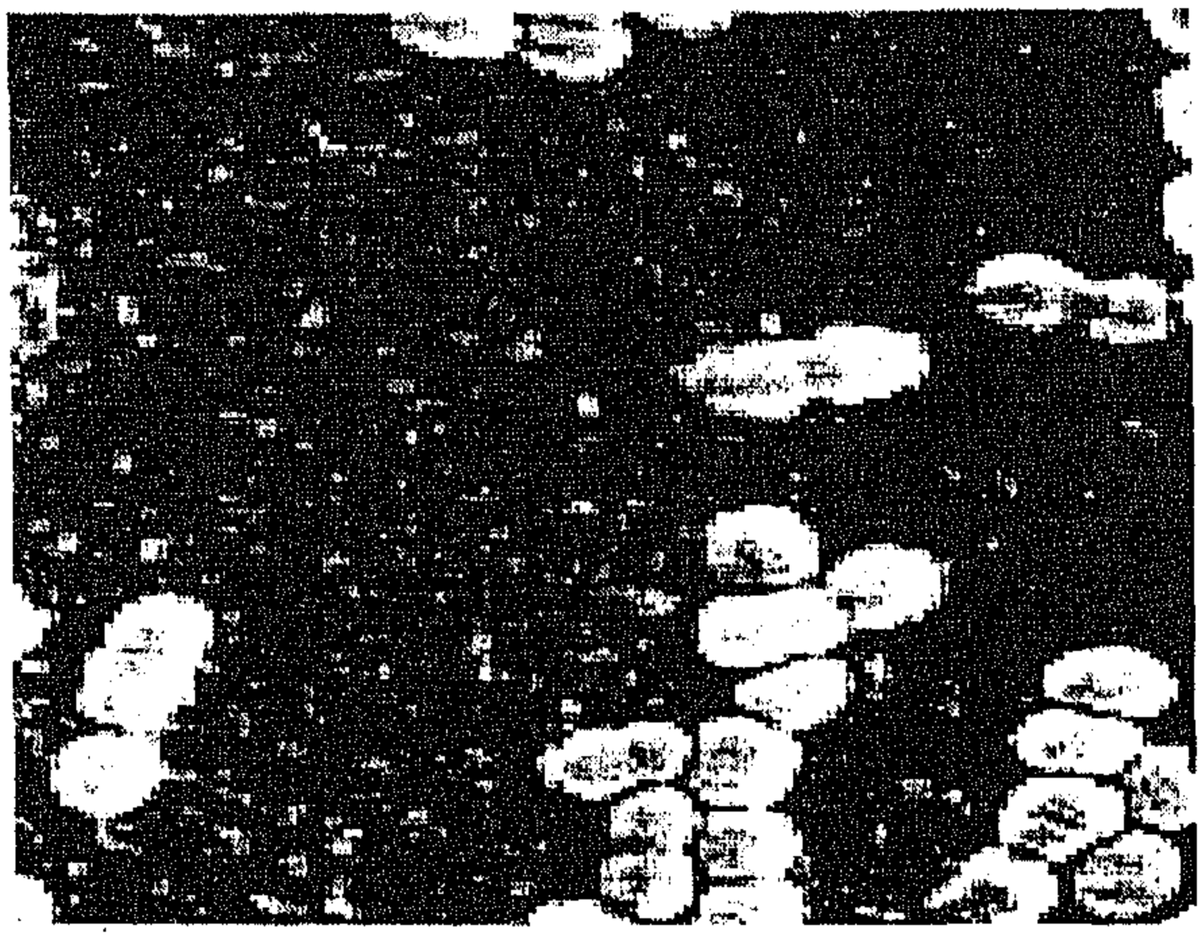
جنس الـ ***Leuconostoc***

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.
Class III: *Bacilli*
Order II: *Lactobacilliales*
Family V: *Leuconostocaceae*
Genus I: *Leuconostoc*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

عندما ينمو فى اللبن يكون شكل الخلايا كروية وعندما ينمو فى بيئة صلبة يكون شكلها عصويًا قصيرًا بنهاية مستديرة بحيث يصعب تفرقتها بين العصوية و الكروية و يتواجد فى أزواج أو فى سلاسل موجبة لصبغة جرام ، غير متحرك و غير مكون للجراثيم (شكل رقم ٩).



شكل رقم (٩) : الـ *Leuconostoc*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

مستعمرته صغيرة فهى دائما أقل من ١ مم فى القطر ، ناعمة دائرية و رمادية مبيضة ، و لاهوائى اختياريًا و سالب للكتاليز، درجة الحرارة المثلى هى ٣٠° م و يستطيع النمو فى مدى حرارى يتراوح بين ٥- ٤٠° م و ينمو على ١٠°م و لا ينمو على ٤٥° م ، يحتاج نموه لعوامل نمو عديدة مثل حامض النيكوتينك مع الثيامين و البيوتين .

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

غير محلل للبروتين ، و يخمر الكربوهيدرات عن طريق Hexomonophosphate and phosphoketolase path ways و يفتقر

إلـى Fructose1,6 diphosphate and glucose 6 phosphate dehydrogenase ، وهـو مختلطـة التخمـر إجبـارًا، حيـث يخمـر الجلوكـوز و الجلاكتوز و اللاكتوز، و ينتج ٠,٢-٠,٤% حمض لاكتيك فى اللبن، و له القدرة علـى تمثيل الستـرات و لا ينـتج الأمونيـا مـن الأرجنـين ،يكـون الدكسـتران عنـد تنميته فى بيئة تحتوى على السكروز بحيث يحول البيئة إلى قوام لزج لذلك لـه مشاكل فى صـناعة السكر إذا حدث تلوث بـه و يمكنـه النمو علـى تركيز ٥٥-٦٠% سكر ،و ينمـو فـى اللـبن بصـورة ضـعيفة إلا إذا تـم تقويـة اللـبن بـ ١% مستخلص خميرة و جلوكوز ، و يخمر السترات إلى مادة الداى اسيتايل وبالتالى تكوين مركبات النكهه فى الزبد.

١- تحـت النـوع *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*

يحمض اللبن مسبب تجبنه مكون غازات و ينتج بكتيريوسين يسمى ميسنتروسين5 Mesenterocin 5 ، يثبط *Listeria monocytogenes* ، و لا يثبط مزراع البادىء الأخرى و لا يتحمل التسخين على٥٥°م لمدة نصف ساعة ، و الحرارة المثلى له ٢٥ °م .

٢- تحت النوع ***Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris***

٣- تحت النوع ***Leuconostoc mesenteroides* ssp. *lactis***

كلاهما يخمرا السترات منتجين مركبات الطعم و الرائحة و لذلك فهما يستخدمان فى صناعة الزبد كبادىء ، كما إنهما يخمران الفركتوز و الأرابينوز و التريهالوز ، ويضافان إلى جبن الـCottage لمنع فسادها من الـ *Pseudomonas*.

٤- تحت النوع ***Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum***

الإسم يدل على قدرته على إنتاج الدكستران من السكروز و درجة حرارته المثلى ٢٥ °م ، ويخمر السكروز و التريهالوز و لا ينمو على pH ٤,٨ .

٥- نوع الـ ***Leuconostoc paramesenteroides***

لا يستطيع إنتاج الدكستران من السكروز و درجة حرارته المثلى ٢٥ °م ، ويخمر الفركتوز و التريهالوز و لا ينمو على pH ٤,٨ .و يتحمل نسبة ٦,٥ % ملح ، و يستخدم مع بادئات أخرى فى صناعة الجبن المخلل.

عائلة الـ ***Streptococcaceae***

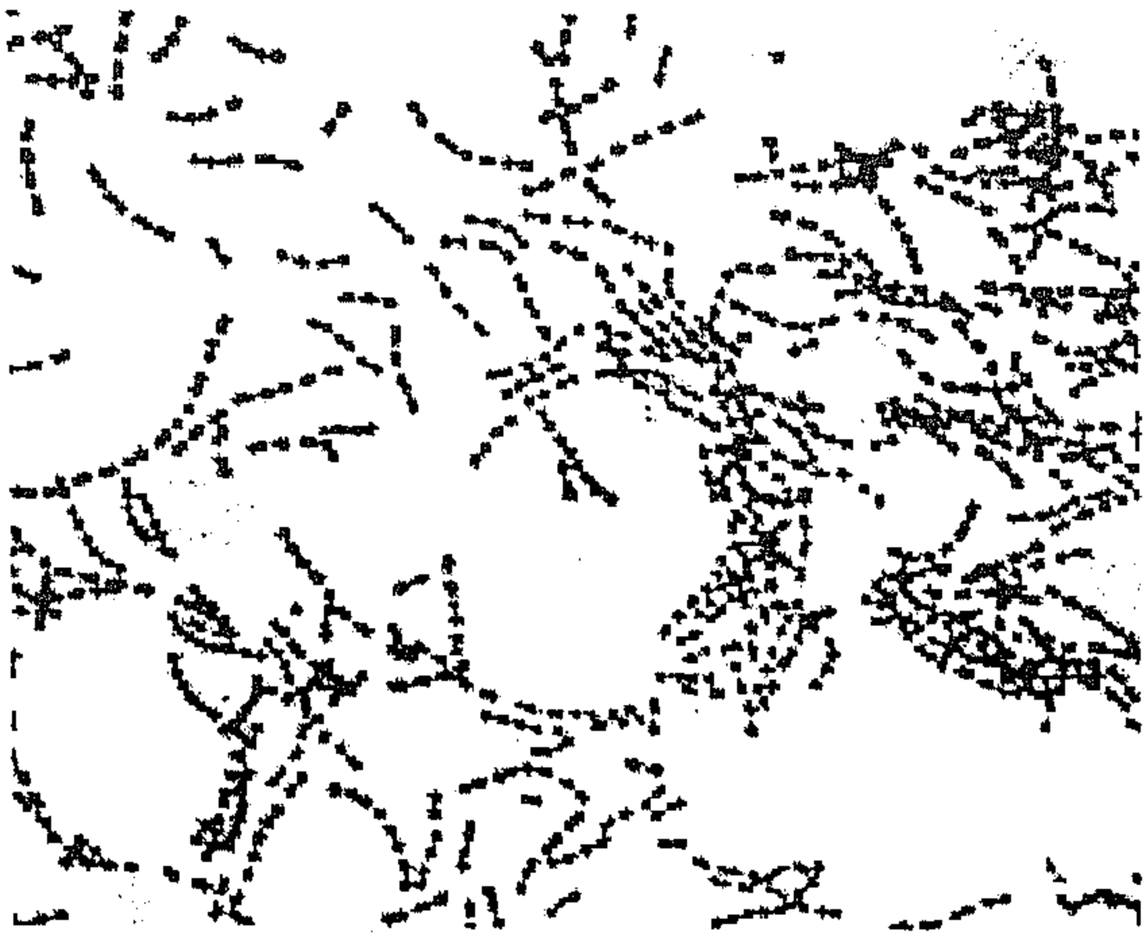
جنس الـ ***Streptococcus***

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.
Class III: *Bacilli*
Order II: *Lactobacilliales*
Family VI: *Streptococcaceae*
Genus I: *Streptococcus*

Morphology Charateristics الخصائص الظاهرية

الخلايا كروية (قطرها ٠,٥ – ٢ ميكرون) ، يتواجد فى أزواج أو سلاسل (شكل رقم ١٠) و ذلك عند تنميته فى البيئات السائله ، غير متحرك و غير مكون للجراثيم و موجب لصبغة جرام.



شكل رقم (١٠) : الـ *Streptococcus*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لاهوائى إختيارًا ويحتاج فى بعض أنواعه إلى تركيز أكبر من ثانى أكسيد الكربون يصل إلى ٥-١٠ % ، سالب لاختبار الكتاليز، ونمو هذا الجنس على البيئات الصناعية ضعيف نوعاً ما و احتياجاته الغذائية معقدة فهو يحتاج للأحماض الأمينية و بعض الفيتامينات و يمكن توفير ذلك بإضافة مستخلص اللحم ومشتقاته بالإضافة إلى مستخلص الخميرة كمصدر للفيتامينات و المعادن و تظهر المستعمرات بقطر ١,٢ مم.

و يتواجد فى حلق الإنسان واللثة و جلد الإنسان والحيوان واللبن ومنتجاته والتربة و بعض أنواعه يتواجد طبيعيًا فى الأمعاء، حيث إن الجنس يحتوى على بعض الأنواع المتباينة الصفات لذلك فهناك العديد من البيئات الصناعية المستخدمة فى العزل و تستخدم بعض الإضافات من المواد الكيماوية او المضادات الحيوية لعزل بعض الأنواع أو قد يضاف الدم لتقوية بعض البيئات الصناعية و يمكن تداول زرع أنواعه على البيئات الصناعية مثل M_{17} كما يمكن حفظ المزارع فى لبن عباد شمس المضاف إليه ١% طباشير

-(كربونات كالسيوم) لمعادلة الحموضة أو تحفظ مدة اطول تحت تجميد على -٨٠°م.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

متجانس التخمر ، و يعد من بكتيريا حمض اللاكتيك الحقيقية The true lactic acid bacteria أى يخمر سكر اللاكتوز و ينتج L(+) of lactic acid ، وأهم ما يميز هذا الجنس هو قدرته على تحليل الدم، حيث عند تنميته على بيئة أجار مضاف إليها ٥ % دم خيل فإنه يحلل كرات الدم الحمراء و يكون منطقة رائقة حول المستعمرة ، لذلك يمكن تقسم هذا الجنس على حسب مقدرته على تحليل الدم كما يلى:-

١- α - haemolytic streptococci

يحلل الدم من طراز ألفا ويتبعه الأنواع التى تتواجد طبيعيًا فى الجزء العلوى من الجهاز التنفسى و الأسنان ويظهر حول المستعمرات التابعة لهذا النوع هاله رائقة مخضرة و ذلك نتيجة لتكوين صبغات خضراء من المثيوجلوبين Methaeglobin و يحطم الخلايا الحمراء جزئيا ويتبع هذا لنوع *Streptococcus viridans* .

٢- β - haemolytic streptococci

يحلل الدم من طراز بيتا و تظهر المستعمرات محاطة بمنطقة رائقة نتيجة التحطيم الكامل لكرات الدم الحمراء و إنتشار الهيموجلوبين فى الأجار تاركًا منطقة رائقة حول المستعمرة.

٣- γ - haemolytic streptococci

فى هذا لا يحدث تغير فى كرات الدام الحمراء و بالتالى يطلق على الأنواع التابعة له بالكرويات غير المحلله Nonhaemolytic streptococci .

التقسيم السيريولوجى لِلجنس:-

بتقدم علم المناعة أمكن دراسة التركيب الأنتيجينى للسلالات و الأنواع المختلفة فقام لانسفيلد Lancefield (١٩٣٣م) بتقسيم هذا الجنس إلى عدة مجاميع أنتيجينية تبعا للحروف ويوجد الأن ١٤ مجموعة سيريولوجية (A,B,C,D,E,F,G,----and N) و التى تعتمد على عديدات التسكر الموجوده فى الجدار الخلوى على حمض التشيويك Teichoic acid وهذا الحامض يتواجد بين السطح الداخلى للجدار الخلوى و الغشاء البلازمى فمثلاً نجد أن المجموعة A من هذا التقسيم تحتوى على عديد التسكر N-acetylglucose amine and raffinose.

جدول(٤): تقسيم لانسفيلد Lancefield للجنس إلى عدة مجاميع انتيجينية.

المجموعة	النوع الممثل لهذة المجموعة
Group A	*Streptococcus pyogenes*
Group B	*Streptococcus agalactiae*
Group C	*Streptococcus dysgalactiae*
Group D	*Enterococcus faecalis* *Enterococcus bovis* *Enterococcus durans* *Enterococcus faecalis* ssp. *Liquifaciens*
Group N	*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*

١-نوع الـ ***Streptococcus pyogenes***

هذا النوع له القدرة على إنتاج الصديد ، ولا يستطيع النمو لا على ١٠ أو ٤٥°م حيث أن درجة حرارته المثلى ٣٧°م ولا يتحمل تركيزات قدرها ٠,١ % أزرق الميثيلين فى اللبن ، و لا ينمو على ٦,٥ % أو ٤٠ % أملاح صفراء أو عند pH ٩,٦ و يحلل الدم من طراز بيتا ، و

يتبع المجموعة السيريولوجية A من تقسيم لانسفيليد ، ويمكن تمييز *Streptococcus pneumoniae* عن *Streptococcus pyogenes* بأن الأول يتبع طراز الفا . يعتبر هذا النوع من البكتيريا الممرضة للإنسان إذ يسبب الحمى القرمزية Scarlet Fever و إلتهاب الحلق كما قد يسبب إلتهاب الضرع ويمكن للإنسان المصاب أن ينقل العدوى لضرع الحيوان الحلوب و لحسن الحظ فإن هذه البكتيريا تباد بحرارة البسترة ،وهو حساس جدا للبنزيل بنسيلين، كما ينتج سموم الإيروثروجينك و البيروجينك Erythrogenic toxins Pyrogenic toxins.

٢-نوع الـ ***Streptococcus agalactiae***

هذا النوع منتج للصديد ، يوجد في الجهاز التنفسي و ضرع الحيوان الحلوب والبراز و البول و يباد بحرارة البسترة ، و يتبع المجموعة السيريولوجية B من تقسيم لانسفيلد ، و ينمو على تركيز ١٠ و ٤٠ % أملاح صفراء، متجانس التخمر اللاكتيكي و يسبب إلتهاب الزور و الحمى القرمزية ويفرز العديد من السموم الإيروثروجينك و البيروجينك Erythrogenic toxins , Pyrogenic toxins و هو حساس جداً للبنسيلين حيث إنّ الحد الأدنى المثبط له قد يصل فى كثير من السلالات إلى ٠,٠٠٤ ميكرو جرام /مل و النسبة المئوية للـ G+C تتراوح بين ٣٤,٥-٣٨,٥ ، و يحلل الدم من طراز بيتا ، و يسبب إلتهاب حمى الضرع و الإلتهاب السحائى .

٣-نوع الـ ***Streptococcus thermophilus***

يحلل الدم من طراز الفا و قد سبق وضعها تحت *Streptococcus salivarius* و سميت *Streptococcus salivarius* ssp.

thermophilus و قد تم فصله مرة أخرى تحت نوع مستقل ، كما أنه تخمر الجلوكوز و اللاكتوز و ينتج ٠,٦ % حمض لاكتيك فى اللبن ، و لا ينمو فى وجود ٠,١ % أزرق ميثيلين ، و ينتج الأمونيا من الأرجنين ولا يختزل الـ Tetrazolium و غير محلل للكازين و الجيلاتين و درجة الحرارة المثلى ٤٥°م ، و لا ينمو على ١٥°م ، يستطيع تحمل ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة و لا ينمو على ١٠°م ، و درجة الحرارة المثلى ٤٠-٤٥ °م و يستخدم فى صناعة اليوغورت كما إنه يتبع مجموعة D من تقسيم لانسفيلد و حساس جداً لوجود البنسيلين و الإستربتوميسين فتركيز قدره ٠,٠١ وحدة و ٥ ميكروجرام /مل على الترتيب يمنعا نموه لذلك يجب التأكد من خلو اللبن منهما عند إستخدمه فى تنمية هذا النوع ، ويمكن عزله بتنميته على ٤٥°م فى لبن عباد شمس.

٤-نوع الـ ***Streptococcus ubris***

ينمو على ١٠°م ، و لا ينمو على ٤٥°م ، لا يستطيع النمو على pH ٩.٦ و يخمر اللاكتوز و المانيتول ، و يسبب مرض حمى الضرع.

٥-نوع الـ***Streptococcus dysagalactiae***

لا ينمو على ١٠°م أو ٤٥°م ، كما لا يستطيع النمو على pH ٩,٦ أو فى ٠,١ % أزرق الميثيلين أو النمو فى تركيز ٦,٥ % ملح و يخمر اللاكتوز ولا يخمر الرافينوز و المانيتول ، و يسبب مرض حمى الضرع ، و إلتهاب الزور.

٦-نوع الـ ***Streptococcus parauberis***

ينمو على ١٠°م ، و لا ينمو على ٤٥°م ، لا يستطيع النمو على pH ٩,٦ ، لكن يمكنه النمو فى 4 % ملح ، ولا تستطيع النمو فى تركيز ٦,٥ % ملح و يخمر التريهالوز. ،و يسبب مرض حمى الضرع.

٧-نوع الـ ***Streptococcus bovis***

لا ينمو على ١٠°م أو ٤٥°م ، يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح و ٤٠ % أملاح صفراء ، يخمر اللاكتوز و لايخمر التريهالوز.

جنس الـ ***Lactococcus***

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.
Class III: *Bacilli*
Order II: *Lactobacilliales*
Family VI: *Streptococcaceae*
Genus II: *Lactococcus*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

الخلايا كروية (٠,٥ – ١,٢ × ٠,٥ – ١,٥ ميكرون)، موجب لصبغة جرام(شكل ١١) ، سالب للكتاليز.

شكل رقم (١١) : الـ ***Lactococcus***.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

يستطيع النمو على ١٠ °م ولا يمكنه النمو على ٦,٥ % ملح أو ٤٥° م ، درجة الحرارة المثلى ٣٠°م ولا يمكنه النمو على pH ٩,٦ . يمكن عزله من النباتات وذلك بغمس المواد النباتية فى لبن عباد الشمس والتحضين على ٣٠ °م أو بالتنمية على بيئة MRS المضاف لها ٠,٠١ % Tetrazolium بالإضافة إلى ١,٥ % أجار و تعويض ٤٠ % من الجلوكوز فى البيئة بسكر المانيتول، ولا ينمو على ٥ % ملح ويمكن حفظه فى لبن عباد الشمس المضاف له ١,٠-٠,٥ % كربونات كالسيوم (طباشير) حيث إنه لا يتحمل حموضة تزيد عن ٠,٩ %، ويتم حفظه تحت التجميد و المقدرة المعيشية فى البيئات الصلبة أو السائله فقيرة.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يعد من بكتيريا حمض اللاكتيك الحقيقية The true lactic acid bacteria أى تخمر سكر اللاكتوز و ينتج حمض اللاكتيك من النوع L(+)،متجانس التخمر، كما يستطيع أن يخمر كل من النشا و الإنيولين و الرافينوز و سكر القصب،و يحلل الدم من طراز ألفا و بعض أنواعه له القدرة على تخمير السترات مكون الداى أسيتيل ، يتبع مجموعة N من تقسيم لانسفيلد حيث يحتوى الجدار الخلوى على Glycerol Teichoic acid المحتوى على Galatose Phosphate ومقدرته على تحليل البروتين ضعيفة.

١ - تحت النوع الـ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*

يستخدم كبادىء فى العديد من الألبان المتخمرة و الجبن(التشدر و الفتا و الكوارج) كما أن بعض السلالات تفرز الـ Nisin وهو ثابت فى البيئات الحامضية (pH) 4.6 و يقاوم الغليان و له تأثير موقف لنمو البكتيريات العصوية اللاهوائيه *Clostridium* و لذلك فقد أنتج هذا

البكتيريوسين على نطاق تجارى لإضافته إلى الجبن المطبوخ والتى عادة ما تفسد بسبب *Clostridium* الذى يقاوم درجة حرارة البسترة أو الطبخ و يكون غازات .

٢ـ تحت النوع الـ ***Lactococcus lactis* ssp. *cremoris***

يستخدم كبادىء فى صناعة العديد من أنواع الجبن (الفتا و التشيدرو الجودا و الإيدام) كما أنه يكسبها الطعم المميز بعد فترة التسوية أيضا هذا النوع يفرز بكتيريوسين يسمى Diplococcin و لا يمكنه النمو على درجات حرارة أعلى من ٣٧ °م.

٣ـتحت النوع الـ ***Lactococcus lactis* ssp. *diacetilactis***

يستطيع تخمير السترات منتج مركبات الطعم و النكهة (الداى اسيتيل و الاسيتايل ميثيل كربونيل) التى تكسب الزبد الطعم المميز له.، و يستخدم كبادىء فى جبن الـCottage و اللبن الخض.

عائلة الـ***Bacillaceae***

جنس الـ ***Bacillus***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.
Class III: *Bacilli*
Order I: *Bacillales*
Family I: *Bacillaceae*
Genus I: *Bacillus*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

الخلايا عصوية (٠,٥ – ٢,٥ × ١,٢ – ١٠ ميكرون) قصيرة أو طويلة توجد مفردة أو فى سلاسل (شكل ١٢) غير متحرك و عندما توجد

الحركة فإنها تتم بواسطة الأسواط ، عادةٍ موجب لصبغة جرام ، متجرثم أى أن البكتيريا لها القدرة على تكوين جرثومة، ونعنى بالجرثومة هى ذلك التكوين الخامل داخل الخلية البكتيرية و الذى يتكون لعدم ملائمة الظروف البيئية للنمو و بتوافر الظروف تبدأ الجرثومة فى النمو منتجة الخلية الخضرية المفردة وتتسم الجرثومة بالصفات التالية:-

١-أنها أكثر قابلية لمقاومة السموم الكيماوية.

٢-تقاوم الحرارة و الظروف غير الملائمة الأخرى كنقص الغذاء أو إرتفاع الحموضة أو نقص الرطوبة وتستطيع البقاء على تلك الصورة لسنين طويلة إلى أن تتوافر الظروف الملائمة.

وللحصول على البكتيريا المتجرثمة فى معلق فإنة يتم بإحداث صدمة حرارية على ٨٠ °م لمدة ٥-١٠ دقائق للتخلص من الخلايا الخضرية الحية ، وكان يعتقد قديمًا أن الجراثيم تتكون عند سيادة بعض الظروف غير الملائمه و لكن هذا غير صحيح لأنها تتكون قبل حلول هذه الظزوف غير الملائمة و لكنها تبدأ فى التكوين قبل نهاية الطور اللوغاريتمى ومن العجيب أن الظروف الملائمة لعملية التجرثم هى نفسها الملائمة للنمو الخضرى و لكن كما سبق أن ذكرنا أن التجرثم غالبًا ما يحدث فى نهاية الطور اللوغاريتمى وهناك ثلاث ملاحظات بالنسبة للتجرثم:-

١- أن التجرثم يبدأ عندما ينخفض مستوى المواد الغذائية فى البيئة وليس لتجمع نواتج النمو.

٢- إضافة بعض المواد السامة كالأحماض العضوية أو السموم خارجية أو المعادن الثقيلة أو مطهرات لم تسرع من التجرثم بل أخمدته أو قللته.

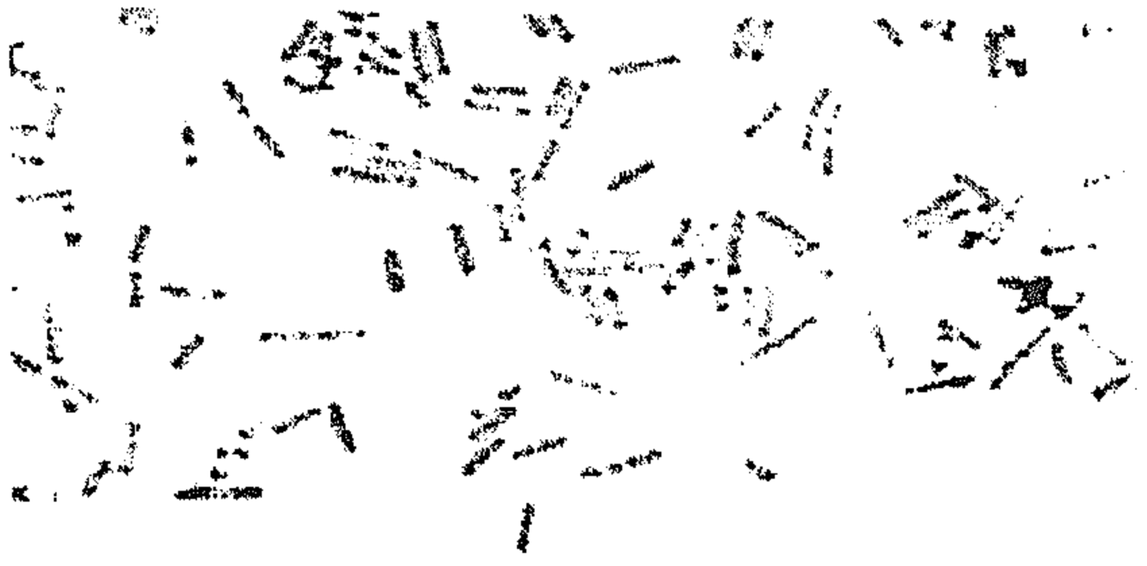
٣- الخلايا المغسولة بالماء المقطر تجرثمت بالرغم من خلوها من المواد السامة أو نواتج النمو.

٤- أن عملية التجرثم تعتمد على وجود مصدر من الجلوكوز و النتروجين فى البيئة وغياب إحدى هذه المواد يوقف التجرثم فى بعض أنواع البكتيريا و عمومًا فإنه يمكن القول أن التجرثم ما هو إلا تحول للبروتين الخضرى الغنى بالنشاط الإنزيمى إلى البروتين الجرثومى الأقل نشاط إنزيميًا و عمومًا فإن الجراثيم تتكون من مكونات الخلايا الخضرية ولكن تحتوى على حوالى ٥-١٥ % Dipicolinic acid وهذا لا يتواجد بالخلية الخضرية كذلك يتواجد الكالسيوم بنسبة أكبر منه فى حالة الخلايا الخضرية ولأثبات أن مكونات الجرثومة تكون داخلية فإن هذا يمكن إثباته بحدوث التجرثم فى الماء المقطر.

وفى أول مراحل التجرثم:-

١- تزداد اللزوجة للمستعمرة و يزداد اللمعان و المقدرة على عكس الضوء .

٢- يتكون جدار الجرثومة من ١-٤ طبقات و تختلف من نوع إلى أخر أما الجدار الداخلى فهو الذى ينشأ منه جدار الخلية الخضرية عند الإنبات و من الملاحظ إنه يحدث نقص فى النشاط الانزيمى بالخلية ما عدا إنزيم الانين رأسيماز Alanine Racemase و الذى له دور بعد ذلك فى عملية الإنبات، والسبب فى مقاومة الجراثيم للظروف البيئة غير المناسبة غير معروف تماما و لكن يمكن أن يكون ذلك إلى تواجد الماء فى صورة مقيدة مع البروتينات الفردية وليس حراً كما هو فى الصورة الخضرية وهذا يعطى مقاومة أكثر للبروتين و يكون أكثر مقاومة للدنترة.



شكل رقم (١٢) : الـ *Bacillus*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

تتميز أنواع هذا الجنس بأن أفراده هوائية موجبة لصبغة جرام وتتراوح درجة حرارتها ما بين ـ ٥ الى ٤٥°م ، بعض أنواعة تستطيع أن تنمو على درجات مرتفعة قد تصل إلى ٦٥°م ، و الـpH لها يتروح بين ٢-٨.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

الكثير من أنواعة لها القدرة على هدم المواد البروتينية بقوة كما تسبب ليونة أنسجة المخللات خاصة الخيار، و تحليل بروتين اللبن .

يتبع هذا الجنس ٣٤ نوع ومن أهم الأنواع:-

١-نوع الـ *Bacillus subtilus*

عصويات نادرًا ما يتواجد فى سلاسل ، مستعمرته على بيئة الأجار دائرية غير منتظمة ذات سطح غير لامع ،يحلل البكتين و عديدات التسكر فى النباتات و إحتياجاته الغذائية بسيطة فقد ينمو على بيئة تحتوى على جلوكوز و أملاح أمونيوم كمصدر للأمونيا والكربون منتجة للجراثيم ، ودرجة الحرارة المثلى ٣٧° م و يسبب رائحة البيض الفاسد فى اللبن المبخر ، نسبة الـ C+G تتراوح بين ٤١,٥-٤٧,٥% ومنتج لبكتيريوسين يسمى سبترين.

٢-نوع الـ ***Bacillus anthracis***

يسبب الحمى الفحمية فى الحيونات ويمكن أن ينقل هذا المرض للإنسان و هو يشبه *Bacillus cereus* و لكن يختلف فى بعض الصفات ويحتاج إلى مجموعة من الأحماض الأمينية لنموه ونسبة الـ C+ G تتراوح بين ٣٢,٢-٣٣,٩%.

٣-نوع الـ ***Bacillus cereus***

تنتشر أفراد هذا النوع فى التربة و الغبار كما تعزل من اللبن و يتميز بشدة تحليله لبروتينات اللبن ، ويمكن أن يوجد فى سلاسل و مظهر النمو للمستعمرات غير لامع زجاجى ، و درجة حرارته المثلى ٣٠°م ، و جراثيمه مقاومة لـ ٦٣°م لمدة نصف ساعة ، و بعض سلالاته تفرز سموم وإنزيمات محللة للجدر الخلوية البكتيرية و بعضها مفرز للإنزيمات المحللة للبروتينات مثل إنزيم الرنين و بالتالى تسبب التجبن الحلو Sweet curdling، تفرز بعض الصبغات التى قد تعطى للبيئات اللون الغامق ، و يحتاج إلى العديد من الأحماض الأمينية و البيوتين والثيامين.

٤-نوع الـ ***Bacillus coagulans***

يدل من التسمية على أنه يسبب ترسيب الكازين قبل وصول اللبن السائل إلى الحموضة اللازمة لتجبنه ،تختلف إحتياجاته الغذائية من الفيتامينات و الأحماض الأمينية وهو يفرز إنزيمات مجبنة للكازين ولذلك فهو يسبب التجبن الحلو ودرجة الحرارة المثلى ٤٥ °م.

٥-نوع الـ ***Bacillus megaterium***

اسمه يعنى العملاق الكبير ومستعمراته غير لامعة ويسبب اللون البنى أو الأسود للبيئة وبعض سلالاته يستخدم فى تكوين البروتين الخلوى.

٦-نوع الـ ***Bacillus stearothermophilus***

يتميز هذا النوع بمقدرته على النمو على درجات حرارة عالية ، لذلك يسبب الفساد الحمضى فى الأغذية المعلبة بدون غاز ، و درجة حرارته المثلى ٤٦ – ٦٥ °م ، والـ pH الأمثل له ٤,٨ – ٥,٣ ، و بعض سلالاته يستخدم فى تقدير المضادات الحيوية لأنه لا يتأثر بها.

7-نوع الـ ***Bacillus licheniformis***

يستطيع تخمير كل من الجلوكوز و الأرابينوز و المانيتول ، كما يمكنه تحليل الكازين و النشا و اختزال النترات إلى نيتريت ، ومشكلته أنه ممرض يسبب تسممًا يشبه تسمم الإسهال الذى ينتج عن الإصابة بـ *Bacillus cereus*.

عائلة الـ *Listeriaceae*

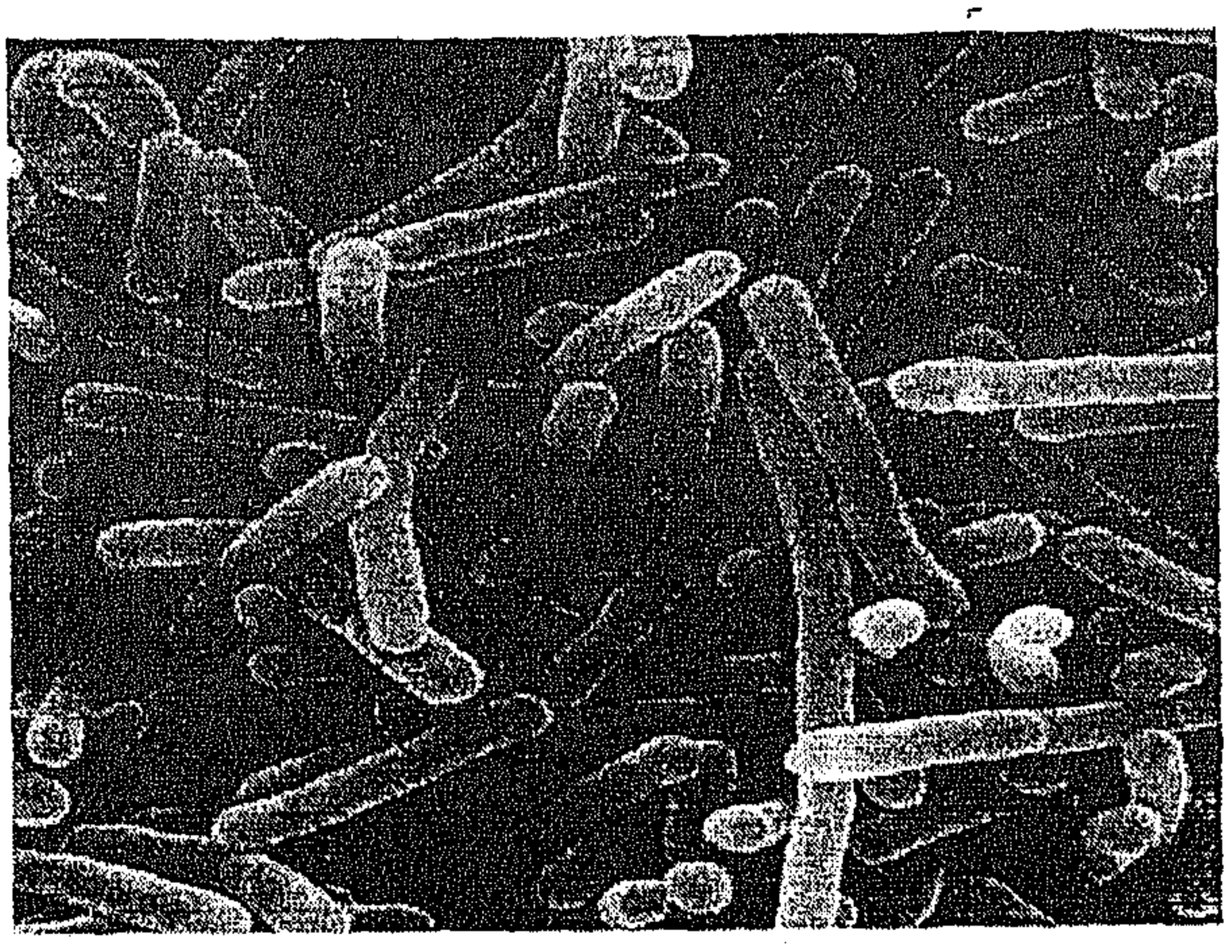
جنس الـ *Listeria*

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.
Class III: *Bacilli*
Order I: *Bacillales*
Family IV: *Listeriaceae*
Genus I: *Listeria*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

أفراد هذا الجنس عصويات منحنية (٠,٤ – ٠,٥ × ٠,٥ – ٢ ميكرون)، توجد مفردة أو فى سلاسل(شكل رقم ١٣) متحرك بأسواط ، موجب لصبغة جرام ، غير متجرثم ، و لا يكون كبسولة .



شكل رقم (١٣) : الـ *Listeria*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

تتميز أنواع هذا الجنس بأن أنواعه هوائية أو لا هوائية إختيارا، ودرجة حرارته المثلى ٣٧°م ،و يمكن أن تنمو فى مدى حرارى يتراوح بين ٢-٤٢°م ، موجبة للكتاليز، الكثير من أنواعة لها القدرة على النمو على ١٠°م ، تنمو فى مدى واسع من الـ pH يتراوح بين ٥,٦-٩,٨ ، و تحتاج إلى كمية قليلة من الأكسجين ، و لا تتحمل pH أقل من ٥ .

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

موجب لاختبار Voges – Proskauer ، ويخمر سكر اللاكتوز الجلوكوز و ينتج حمض اللاكتيك من النوع L(+) ، و يسبب مرض الإلتهاب السحائي و الإجهاض للإنسان.

١ - نوع الـ ***Listeria monocytogenes***

يسبب الإلتهاب السحائي و الإجهاض للإنسان .

٢ - نوع الـ ***Listeria murrayi***

ينتج الحامض من اللاكتوز و المانيتول و موجب لاختبار فوجس بروسكاور Voges –Proskauer ، و له القدرة على إختزال النترات.

٣ - نوع الـ ***Listeria ivanovii***

ينتج الحامض من اللاكتوز و لا يخمر الرافينوز والمانيتول و موجب لاختبار فوجس بروسكاور Voges –Proskauer ، و لا يختزال النترات.

٤ - نوع الـ ***Listeria innocua***

ينتج الحامض من اللاكتوز و لا يخمر المانيتول و موجب لاختبار فوجس بروسكاور Voges –Proskauer ، و لا يختزال النترات.

عائلة الـ ***Staphylococcaceae***

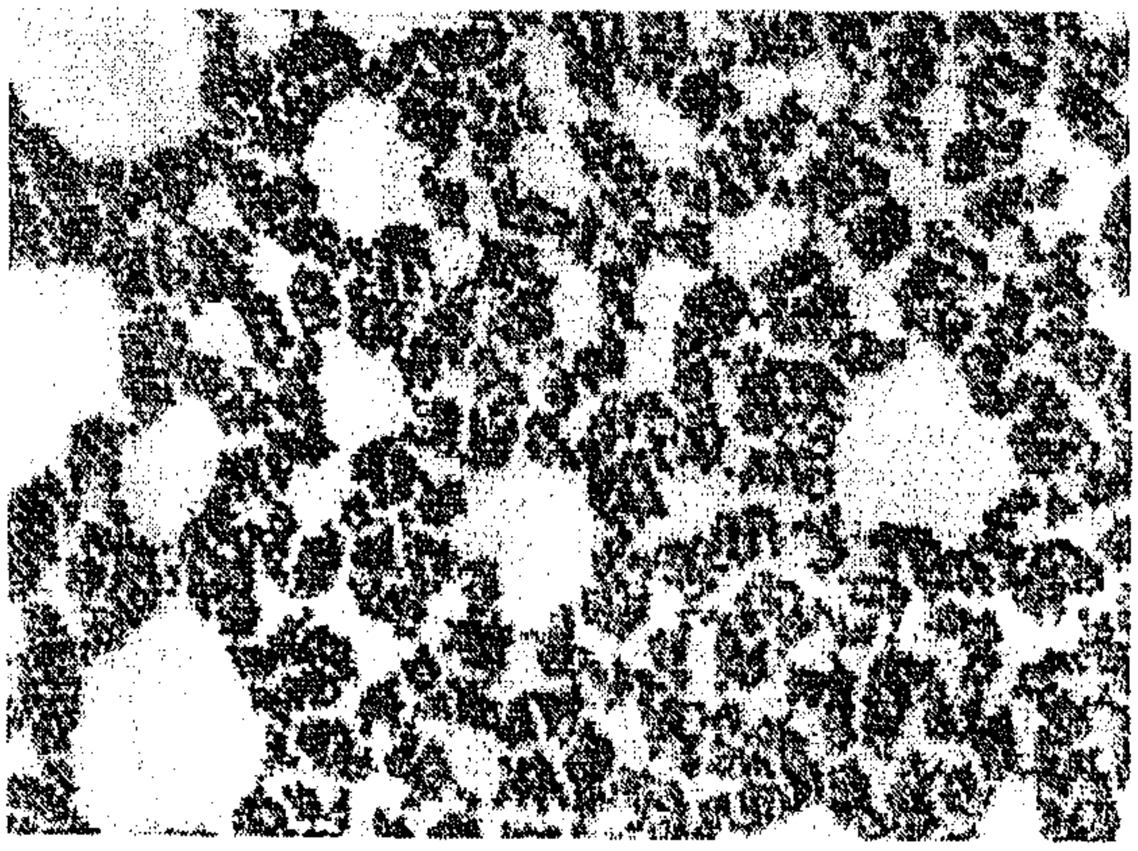
جنس الـ ***Staphylococcus***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIII: *Firmicutes* .Phy.nov.
Class III: *Bacilli*
Order I: *Bacillales*
Family V: *Staphylococcaceae*
Genus I: *Staphylococcus*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا كروية (٠,٥ – ١,٥ ميكرون) ، موجب لصبغة جرام (شكل رقم ١٤) ، غير متجرثم، غير متحرك ، تتواجد الخلايا المعزولة على البيئات الصلبة فى تجمعات على شكل عناقيد العنب و بعضها يتواجد فى أزواج أو سلاسل ، وعند تنميته على البيئات الصلبة يكون الصبغات وهو موجب للكتاليز وخلاياه تكون أغلفة فى الساعات الاولى من النمو ويختفى الغلاف بعد مرور ١٨ ساعة.



شكل رقم (١٤) : الـ *Staphylococcus*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

تتميز أنواع هذا الجنس بأن أنواعه هوائية اختيارًا ، و درجة الحرارة المثلى ٣٧ °م.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

له القدرة على اختزال النترات إلى نيتريت ، ويستطيع تخمير سكر المانيتول و يحلل الأرجنين منتج غاز الأمونيا و تستطيع الأنواع النمو فى ١٠ % ملح.

١ـ نوع الـ *Staphylococcus aureus*

بالإضافة إلى الخصائص السابق ذكرها يمكن تنمية هذا النوع على البيئات العادية على ١٢ـ٤٤ °م ،ودرجة الحرارة المثلى ٣٧°م ، وهو لاهوائى اختيارًا

أى يستطيع النمو فى الظروف اللاهوائيه أو الهوائيه ولكن النمو يكون بصورة أحسن فى الظروف الهوائيه حيث يكون صبغات والذى يفشل فى تكوينها فى الظروف اللاهوائية ، وعلى البيئات الصلبة يكون شكل المستعمرة دائريًا والسطح ناعم و ذات قطر يتراوح ما بين ٦-٨ مم فى البيئات العادية و يقل القطر على البيئات التفريقية وتكون المستعمرة ألوان متعددة من الأبيض الرصاصى إلى الأصفر الذهبى و البرتقالى وتتميز البكتيريا الممرضة باللون البرتقالى الذهبى أو الأصفر الذهبى و يتأثر تكوين الصبغات بالظروف البيئية و تنمو جيداً على ١٠ % ملح و يقل النمو حتى ١٥ % ملح وتنمو فى رقم حموضة يتراوح بين ٧- ٧,٥ . أما بالنسبة للنشاط الحيوى فإنه يخمر السكريات منتج حامض بدون غاز كما له القدرة على تحليل المانيتول وبذلك يمكن عزله بتوفير المانيتول كمصدر للكربون فى البيئة الغذائية كما أنه يحلل الجيلاتين و يسبب إسالته كما يحلل الأرجنينين منتج الأمونيا و له القدرة على تحليل صفار البيض ويفرز إنزيم Coagulase الذى يجلط بلازما الدم فى حالة الأنواع الممرضة ولذلك يتخذ هذا الإختبار للتعرف على البكتيريا الممرضة المفرزة للسموم.

كيفية اجراء اختبار تجلط بلازما الدم:-

١- تنمى السلالة المختبرة على بيئة Neutrient broth أو بيئة مستخلص أجار المخ و القلب Brain Heart Infusion Agar وتحضن على ٣٠ °م لمدة ١٨-٢٤ ساعة.

٢- تحضر بلازما الدم(عبارة عن سائل بروتينى تتعلق فيه كرات الدم الحمراء و البيضاء و الصفائح الدموية و نحصل عليه من الإنسان أو الأرانب أو الأبقار) ونضع نصف مل فى كل انبوبة إختبار ثم نضيف قطرتين من المزرعه السابق تنشيطها و نحضن على ٣٧ °م لمدة ١-٢ ساعة.

٣- تختبر الأنابيب من حيث تجلط البلازما من عدمه فإذا حدث تجلط دل ذلك على أن النوع هو *Staphylococcus aureus* وإذا كانت النتيجة سالبة دل على أن هذا الميكروب غير ممرض.

يتواجد *Staphylococcus aureus* على جلد الإنسان حيث وجد أن ١ مل من مياه الإستحمام لشخص ما يحتوى على ١٠٠ الف خلية لكنها غير ممرضة كما إنه يتواجد فى الأنف والجروح ولذلك فإن اتباع شروط النظافة و الشروط الصحية للمتعاملين فى صناعة الألبان والأغذية عامل مهم لإنتاج أغذية خالية من السموم.

أما بالنسبة لإفرازه للسموم فبعض السلالات لها القدرة على إفراز سموم داخلية Entertoxins A, B, C, D and E و السم يسبب إلتهاب وإضطربات فى المنطقة بين المعدة و الأمعاء Gastroenteritis و فترة الحضانة ١ ــ ٦ ساعات و الكمية اللازمة لحدوث التسمم هى ١ -٤ ميكروجرام و هذه الكمية لا تحدث الوفاة و لكن إذا زادت الجرعة إلى ١٠٠ مجم فتحدث الوفاه بعد ٦ أيام و تتمثل الأعرض فى ظهور إسهال وزيادة النبض إلى ١١٠ و ارتفاع الحرارة إلى ٣٨,٨ °م ، و السموم لا تتأثر بحرارة البسترة فى اللبن كما تسبب هذة البكتيريا تكوين الصديد وتدخل ضمن بكتيريا حمى الضرع ويجب أن نشير هنا أن عدم وجود البكتيريا فى الطعام لا يعنى عدم وجود السموم فقد تكون السموم قد تكونت خلال فترة نمو البكتيريا ثم ماتت البكتيريا لذا وجب الكشف عن السموم.

٢-نوع الـ ***Staphylococcus epidermidi***

ينشط نموه فى وجود ملح بتركيز ٧-١٠ % ويكون مواد لزجة تتأثر بالظروف البيئية و لاينمو على ١٥ % ملح و ينمو على البيئات العادية ، لا

هوائى اختيارًا و موجب لاختبار الكتاليز و لكنه ينمو بصورة أحسن هوائياً ويتميز عن الأنواع الأخرى فى أنه يكون صبغات وتفرز بعض سلالاته بكتيريوسينات والتى يكون لها تأثير مثبط لنمو الأنواع من نفس الجنس ويطلق عليه Staphylococccn ولا يخمر المانيتول ولا يجلط البلازما ويتواجد طبيعياً على جلد الإنسان و الحيوان.

٣ـنوع الـ ***Staphylococcus haemolytica***

كروى يتواجد فى أزواج أو رباعيات ، و ينمو جيداً فى ١٠ % ملح و ضعيف النمو فى ١٥ % ملح ، لاهوائى اختيارًا و موجب للكتاليز و لا يجلط البلازما .

٤ـنوع الـ ***Staphylococcus caprae***

ينمو على ٤٥ °م ، يخمر سكر اللاكتوز، يختزل النترات ، و لا ينتج إنزيم الـ Coagulase ، ويحلل الدم من النوع β .

٥ـنوع الـ ***Staphylococcus chromogenes***

لا ينمو على ٤٥ °م ، و ينمو على ١٥ °م و فى ١٠ % ملح ، يخمر سكر اللاكتوز و السكروز، يختزل النترات ، و لا ينتج إنزيم الـ Coagulase ، و يسبب مرض إلتهاب الضرع .

٦ـنوع الـ ***Staphylococcus hyicus***

لا ينمو على ٤٥ °م ، و ينمو على ١٥ °م ، و فى ١٠ % ملح ، يخمر سكر اللاكتوز و السكروز، يختزل النترات ، و لا ينتج إنزيم الـ Coagulase ، و يسبب مرض إلتهاب الضرع .

٢ ـقبيلة الـ *Actinobacteria*:

الشكل التالى يوضح ان هذه القبيلة تحتوى على صف الـ *Actinobacteria*والذى يحتوى على رتبتين هما *Bifidobacteriales* و *Actinomycetales*.

صف الـ *Actinobacteria*

هذا الصف يتبع قبيلة Phylum الـ*Actinobacteria* وهو يحتوى على رتبتين الأولى هى *Bifidobacteriales* وهى تضم عائلة الـ *Bifidobacteriaceae* أما الرتبة الثانية فهى *Actinomycetales* وهى تضم تحت رتبة *Micrococcineae* و تحت رتبة *Propionibacterineae* و تحت رتبة *Corynebacterineae* كما بالشكل التالى:-

Phylum B XIV: *Actinobacteria .Phy.nov.*

↓

Class I: *Actinobacteria*

↓

Subclass V: *Actinobacteridae*

Order I: *Actinomycetales*

↓

Order II *: Bifidobacteriales*
Family *I: Bifidobacteriaceae*
Genus *I: Bifidobacterium*

Suborder VI : ***Micrococcineae***
Family I: ***Micrococcaceae***
Genus I: ***Micrococcus***
Genus II: ***Arthrobacter***
Family II: ***Brevibacteriaceae***
Genus I: ***Brevibacterium***
Family VIII: ***Microbacteriaceae***
Genus I: ***Microbacterium***
Suborder VII : ***Corynebacterineae***
Family I: ***Corynebacteriaceae***
Genus I: ***Corynebacterium***
Family IV: ***Mycobacteriaceae***
Genus I: ***Mycobacterium***
Sub order IX: ***Propionibacterineae***
Family I: ***Propionibacteriaceae***
Genus I: ***Propionibacterium***

عائلة الـ ***Bifidobacteriaceae***

تتبع رتبة الـ *Bifidobacteriales*

جنس الـ ***Bifidobacterium***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*

Phylum B XIV: *Actinobacteria* .Phy.nov

Class I: *Actinobacteria*

Subclass V: *Actinobacteridae*

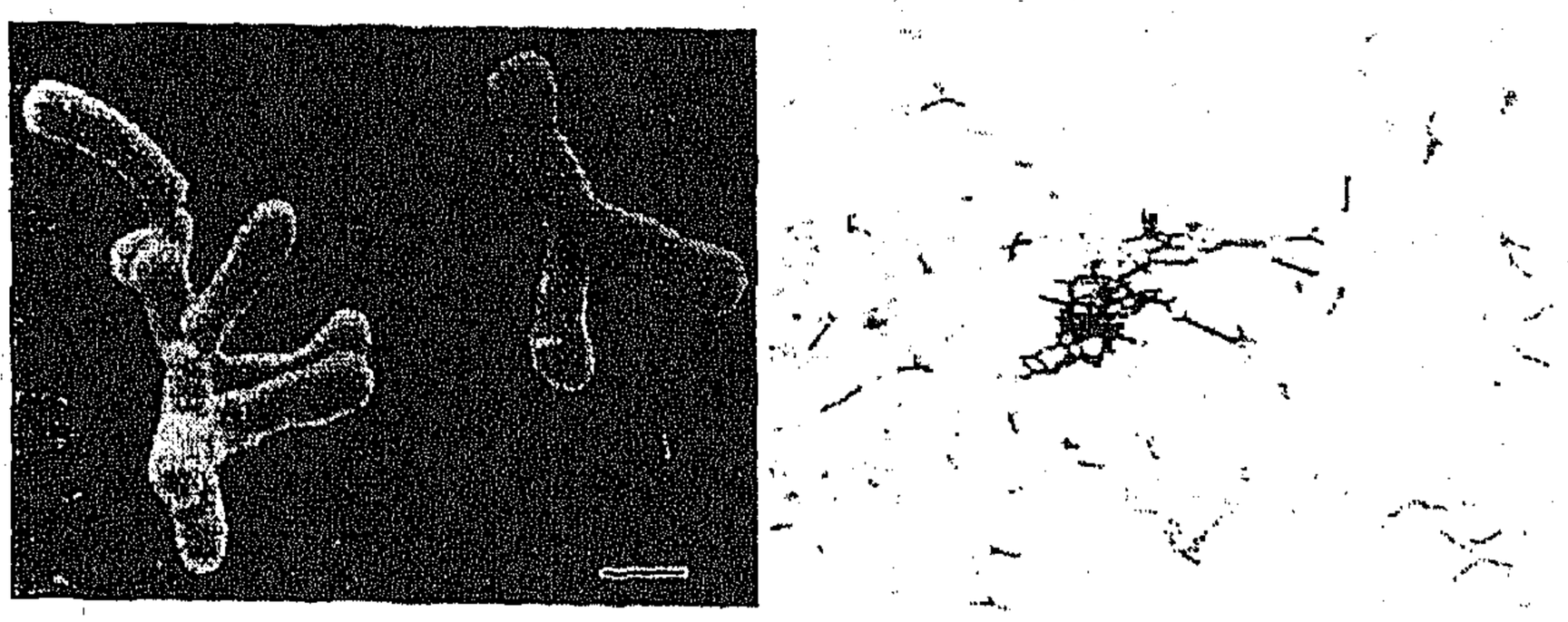
Order II: *Bifidobacteriales*

Family I: *Bifidobacteriaceae*

Genus I: *Bifidobacterium*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

خلاياه عصوية غير منتظمة الشكل حيث تكون أحيانا مدببة الأطراف أو تكون الخلايا العصوية غير منتظمة الإستقامة (٠,٥ – ١,٣ × ١,٥ – ٨ ميكرون) و توجد الخلايا مزدوجة في شكل حرف Y (شكل رقم ١٥) و المستعمرات ناعمة لونها أبيض إلى كريمي ذات قوام طري ، موجبة لصبغة جرام و لا تكون جراثيم وغير متحركة.



شكل رقم (١٥) : الـ *Bifidobacterium*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

درجة حرارته المثلى تتراوح بين ٣٧ – ٤١°م و الدنيا 27 °م ، لاهوائى و ينمو فى وجود ١٠ % CO_2 و سالب للكتاليز، و الـ pH الأمثل ٥,٦- ٧ و لا ينمو على pH أقل من ٥,٤ و أكثر من ٥,٨ . يعزل من البراز ومن القناة الهضمية و الجهاز التناسلى للإناث.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يخمر السكريات منتج حمض خليك : حمض لاكتيك بنسبة ٣ : ٢ و لا يكون غاز و قد يكون بعض الأحماض الأخرى بكميات صغيرة مثل حمض الفورميك و الإيثانول و نسبة G+C تتراوح بين ٥٥ – ٦٧% ، وتعد على بيئة MRS medium

المضـاف إليهـا ٣ جم lithium chloride لكل لتر و ١٥ مجم naladixic acid لكل لتر و ١٠٠ مجم neomycin sulphate لكل لتر بيئة.

١ـنوع الـ ***Bifidobacterium bifidium***

٢ـنوع الـ ***Bifidobacterium longum***

٣ـنوع الـ ***Bifidobacterium infantis***

٤ـنوع الـ***Bifidobacterium adolescentis***

كل الأنواع السابقة تستخدم كبكتيريا علاجية فى الأغذية الوظيفية حيث عند نموها فى القناه الهضمية تسبب خفض رقم الحموضة للبراز أى تزيد الحموضة مما يحد من نمو البكتيريا التعفنية فى الأمعاء ، كما إنها تحسن من هضم اللاكتوز ، تعمل على الإتزان الطبيعى لميكروبات الأمعاء ، و لذلك فإننا نهتم من الناحية الغذائية ببحث الوسائل و الطرق التى يمكن بها دمج هذا النوع فى بعض الألبان المتخمرة و المنتجات اللبنية لمد الإنسان بأعداد كبيرة منها حتى يحدث توازن فى أعداد البكتيريا التعفنية و بالتالى فلها قيمة صحية.

عائلة الـ ***Micrococcaceae***

تتبع رتبة الـ *Actinomycetales* و تحت رتبة الـ *Micrococcineae*.

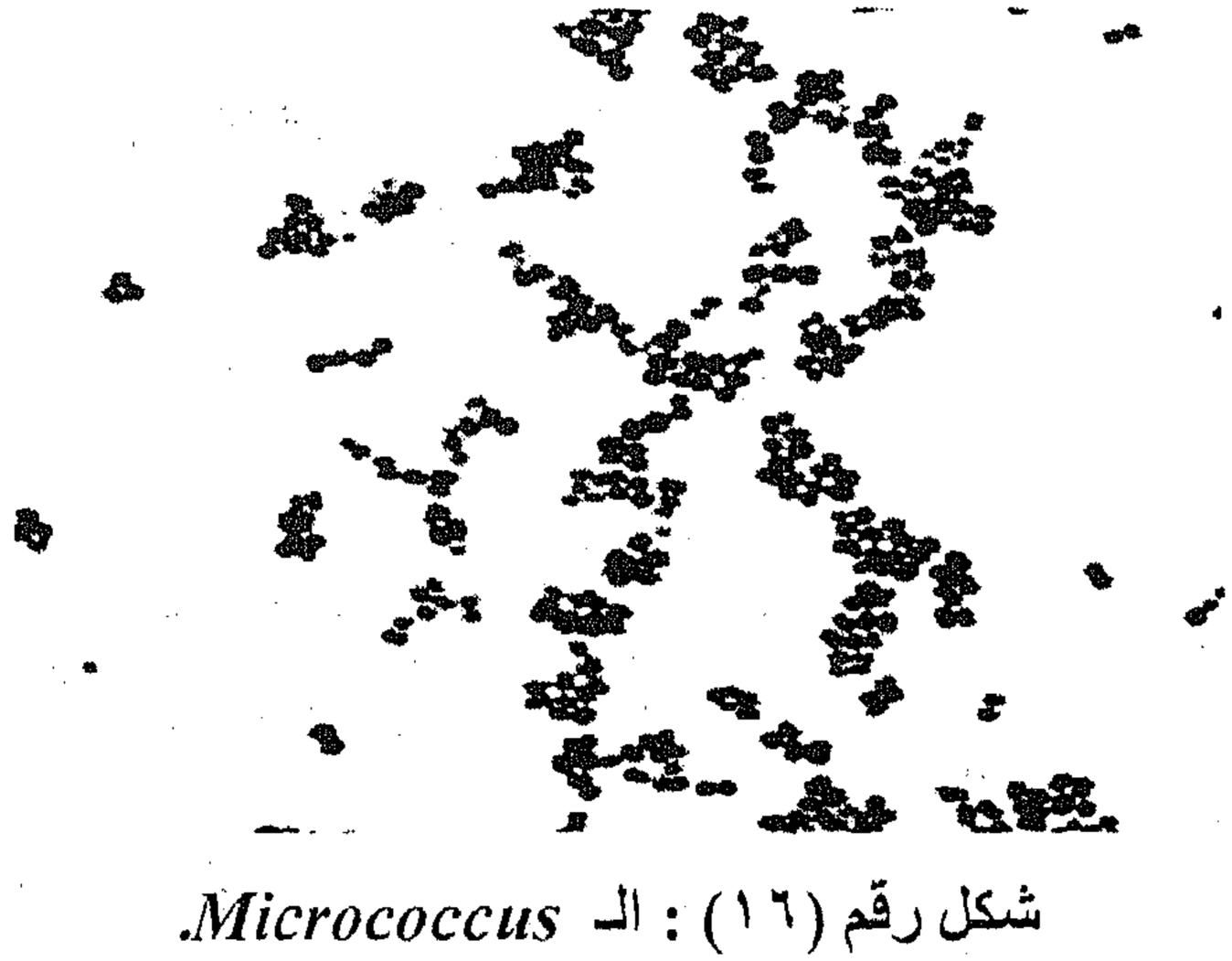
جنس الـ ***Micrococcus***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIV: *Actinobacteria* .Phy.nov.
Class I: *Actinobacteria*
Subclass V: *Actinobacteridae*
Order I: *Actinomycetales*
Suborder VI: *Micrococcineae*
Family I: *Micrococcaceae*
Genus I: *Micrococcus*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا كروية توجد فى أزواج أو رباعيات أو تجمعات غير منتظمة (قطرها من ٠,٥ – ٢ ميكرون) ، موجب لصبغة جرام(شكل رقم ١٦) ،غير متحرك ويكون جراثيم.



شكل رقم (١٦) : الـ *Micrococcus*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

يوجد طبيعًا على أسطح الجلد واللحوم باللون الأصفر والتربة والماء، و تتميز أنواع هذا الجنس بأنها هوائية إجبارًا ، موجبة للكتاليز ، وتتراوح درجة الحرارة المثلى بين ٣٥-٣٧ °م وهى عامة غير ممرضة للإنسان و تنمو جيدا على بيئة الأجار المغذى و شكل المستعمرات على البيئات الغذائية ذات مظهر مائى وتتخذ ألوانا عديدة مثل الأصفر و البرتقالى و البرتقالى المحمر والقرمزى و القرمزى المحمر ويمكن أن يتخذ شكل المستعمرة ولونها كصفة تفريقية بين أنواعه وتختلف الأنواع فى إحتياجاتها الغذائية فمثلاً نجد أن النوع *luteus* *Micrococcus* يمكنه النمو فى نيتروجين غير عضوى فى البيئة.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يخمر اللاكتوز، و يخمر الجلوكوز منتج حمض بدون غاز ، غالبية الأنواع تفرز صبغات كاروتينية مما يكسب شكل المستعمرة ألواناً متعددة سوف نذكرها فيما بعد و تستطيع الأنواع النمو فى ٥ % ملح ، و تتواجد طبيعياً ضمن ميكروفلورا اللبن والجبن الناتج منه لذلك لها دور مهم فى عملية تسوية الجبن ، حيث تفرز إنزيم خارجى extracellular proteinase يقوم بتحليل الـ - β casein ، ويمكن للأنواع التابعة لهذا الجنس النمو فى بيئات تحتوى على NaCl بنسبة ٠-٢٠ % كما أن هذا الجنس له المقدرة على تحليل البروتين ، لذلك فان تلوث الجبن بها أو وجود بقايا منها بعد البسترة يلعب دورًا فى تحليل الجبن ،و يمكن تمييز الجنسين *Micrococcus* , *Staphylococcus* عن بعضهما بعدة اختبارات ، حيث يتميز الجنس *Staphylococcus* بمقدرته على النمو فى بيئات تحتوى على مواد كيماوية لها صفة السمية مثل أملاح tellurit ، كذلك يتحمل تركيزات عالية من الملح ويستطيع أن يحلل صفار البيض و يفرز إنزيماً يجلط البلازما ويخمر سكر المانيتول.

١-نوع الـ *Micrococcus flavus*

يسبب مشاكل فى صناعة الألبان بسبب تكوين بقعة لونية على أسطح المنتجات اللبنية وذلك لمقدرته على إفراز صبغات لونها أصفر ، كما يمكنه أن يقاوم درجة حرارة البسترة و لذلك يمكن أن يوجد فى اللبن المبستر.

٢-نوع الـ *Micrococcus luteus*

ينمو على 30 ^{0}م ، و ٧,٥ % ملح ، و لا ينتج حمضًا من الجلوكوز و المانوز ، ويحلل الجيلاتين ، و لا يختزل النترات و حساس للمضاد الحيوى نوفوبيوسين Novobiocin و يفرز اللون الأصفر.

٣ـنوع الـ *Micrococcus rosues*

يفرز اللون الأحمر أو القرمزى.

4ـنوع الـ *Micrococcus varians*

درجة حرارته المثلى من ٢٥ - ٣٧ °م ، و يحلل الجيلاتين و يختزل النترات إلى نيتريت و ينتج حمضًا من الجلوكوز ، و لا ينمو على ٤٥ °م

عائلة الـ *Brevibacteriaceae*

هذه العائلة تتبع تحت الرتبة الـ*Micrococcineae*

جنس الـ *Brevibacterium*

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIV: *Actinobacteria* .Phy.nov
Class I: *Actinobacteria*
Subclass V: *Actinobacteridae*
Order I: *Actinomycetales*
Suborder VI: *Micrococcineae*
Family II: *Brevibacteriaceae*
Genus I: *Brevibacterium*

Morphology Charateristics الخصائص الظاهرية

الخلايا عصوية (٠,٦ – ١,٢ × ١,٥ – ٦ ميكرون) ممكن أن تتكور نهايتها على البيئات المعقدة و قد تظهر متفرعة الشكل أحياناً نتيجة لتقارب الخلايا من بعضها و تترتب الخلايا بحيث تكون زاويا فى شكل حرف V ، وهو موجب لصبغة جرام (شكل رقم ١٧) و لايكون جراثيم ، غير متحرك.

شكل رقم (١٧) : الـ *Brevibacterium*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

درجة حرارته المثلى تتراوح بين ٢٠- ٣٥ °م ، هوائى إجبارًا ، منتج للكتاليز و يكون صبغات (لونها أصفر إلى برتقالى محمر) و يمكن تشجيع بعض سلالاته بإضافة كلوريد الصوديوم للبيئة. عزل من الروث و الأعلاف و التربة.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

له القدرة على تحليل البرو تين ، يخمر الجلوكوز منتج أحماضًا بدون غازات و يمكنه النمو على pH ٩,٨ ، و لاينمو فى pH أقل من ٥ .

١-نوع الـ *Brevibacterium linens*

درجة الحرارة المثلى له ٢١ °م ، يتحمل الملوحة فهو ينمو على ٨ ــ ١٥ % ملح ،لا يستطيع النمو على pH ≥ ٥ ، و يتواجد فى الدريس و السماد العضوى و التربة و يستطيع النمو على pH ٩,٦ و يستخدم كبادىء فى جبن اللمبرجر Limburger ، حيث يحلل البروتين أثناء التسوية فيؤدى إلى تحسين الطعم و النكهة.

٢-نوع الـ ***Brevibacterium casei***

يستخدم مع *Brevibacterium linens* فى تسوية الجبن القالب.

٢-نوع الـ ***Brevibacterium iodinum***

له القدرة على تحليل الجيلاتين ، و إفراز صبغات حمراء ، وأسمه القديم *Brevibacterium erythrogenes*.

عائلة الـ ***Propionibacteriaceae***

تتبع تحت رتبة الـ *Propionibacterineae*

جنس الـ ***Propionibacterium***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*

Phylum B XIV: *Actinobacteria* .Phy.nov

Class I: *Actinobacteria*

Subclass V: *Actinobacteridae*

Order I: *Actinomycetales*

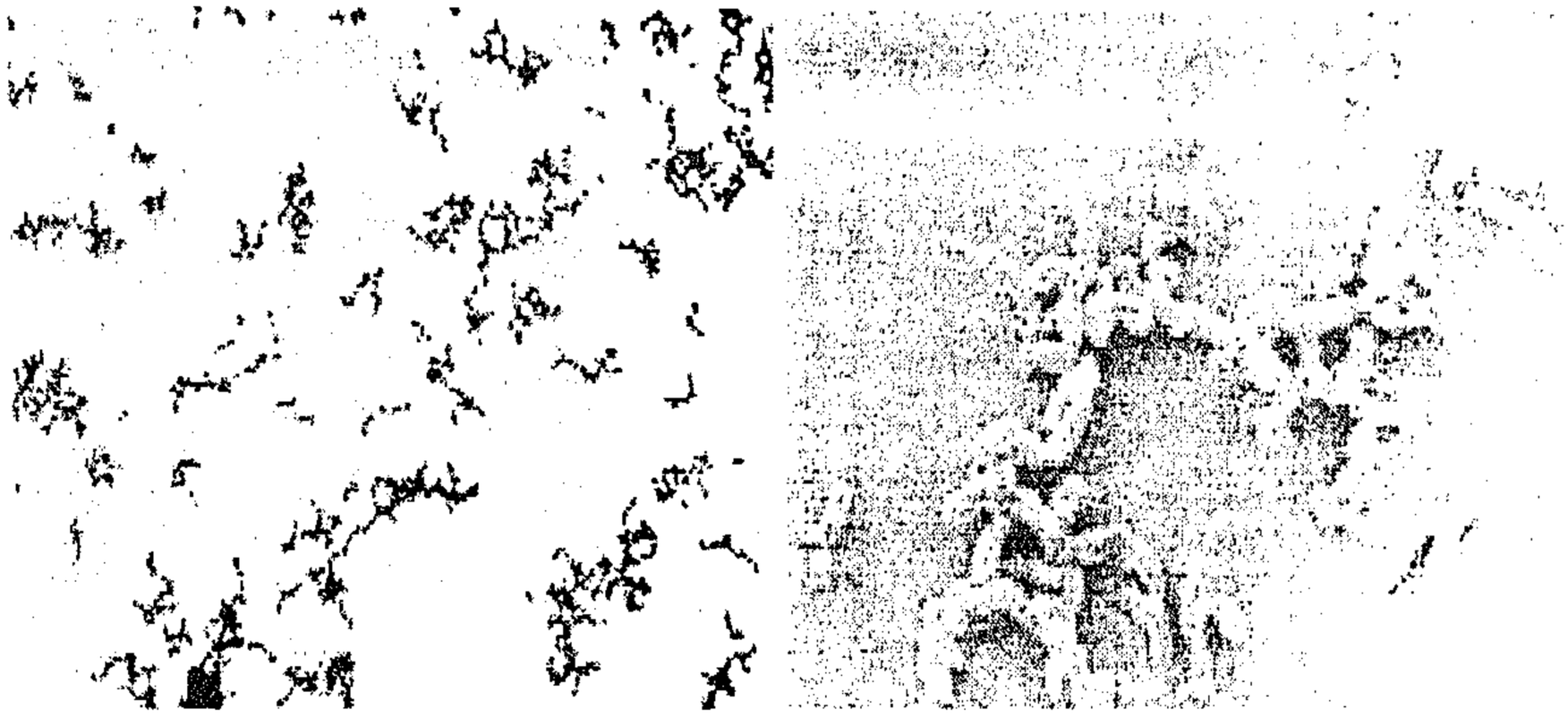
Suborder IX: *Propionibacterineae*

Family I: *Propionibacteriaceae*

Genus I: *Propionibacterium*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

الخلايا عصوية غير منتظمة نهايته مستديرة و يمكن أن تكون عصويات متكورة و تتواجد خلاياها فى شكل حرفى V, Y (٠,٥ – ٨ × ١ – ٥ ميكرون) و هو موجب لصبغة جرام(شكل رقم ١٨)، غير متحرك و غير متجرثم.



شكل رقم (١٨) : الـ *Propionibacterium*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

يعتبر لا هوائى اختيارًا و يتحمل الظروف الهوائية و منتج للكتاليز و حرارته المثلى ٣٠ - ٣٧ ^{0}م و يمكن أن تنمو فى مدى حرارى يتراوح بين ١٥- ٤٥ ^{0}م ، و الـpH الأمثل له ٧ و يستطيع أن ينمو فى ٢٠ % أملاح صفراء، و نسبةالـ G+C تتراوح بين ٥٣ ـ ٦٣ % و لا ينمو على ١٠% ملح، لكن ينمو على ٦,٥ % ملح.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يخمر السكريات منتج حمض البروبيونيك و حمض الخليك و كمية أقل من حمض اللاكتيك بالإضافة إلى غاز CO_2.

١-تحت نوع الـ *Shermnii* ssp. *freudenreichii*

Propionibacterium

مسئول عن تكوين العيون ، وإنتاج حامض البروبيونيك و الخليك فيظهر الطعم و النكهه المميزه للجبن السويسرى.

٢-نوع الـ ***Propionibacterium thoenii***

ينتج حمضًا من المالتوز و السكروز و لا ينتج الإندول و لا يحلل الجيلاتين و يحلل الدم من طراز β ، و يسبب بقعاً حمراء على جبن الإمينتال .

٣-نوع الـ ***Propionibacterium jensenii***

ينتج حمض من المالتوز و السكروز و لا ينتج الإندول و لا يحلل الجيلاتين و لا يحلل الدم من طراز β .

عائلة الـ ***Corynebacteriaceae***

تتبع تحت رتبة الـ *Corynebacterineae*

جنس الـ ***Corynebacterium***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*

Phylum B XIV: *Actinobacteria* .Phy.nov

Class I: *Actinobacteria*

Subclass V: *Actinobacteridae*

Order I: *Actinomycetales*

Suborder VII: Corynebacterineae

Family I: *Corynebacteriaceae*

Genus I: *Corynebacterium*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

يتميز هذا الجنس بأن الخلايا عصوية غير منتظمة توجد فى تجمعات (٠,٢ – ١,١ × ٠,٣ – ٨,٥ ميكرون) ، موجب لصبغة جرام (شكل رقم ١٩) .غير متحرك و غير متجرثم.

شكل رقم (١٩) : الـ *Corynebacterium*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

درجة حرارته المثلى ٣٧ °م ، هوائى عادة و موجبة للكتاليز.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يختزل النترات ، وينتج حمضاً من الجلوكوز و الكربوهيدرات بدون غاز ، لا يتحمل حرارة البسترة، متطفل و ممرض للإنسان و الحيوان.

١-نوع الـ ***Corynebacterium diphtheria***

يسبب مرض الدفيتريا للإنسان .

٢-نوع الـ ***Corynebacterium pyogenes***

يشترك مع العديد من البكتيريا فى مرض إلتهاب الضرع للحيوان.

٣-نوع الـ ***Corynebacterium renale***

يشترك مع العديد من البكتيريا فى مرض إلتهاب الضرع للحيوان.

٤-نوع الـ ***Corynebacterium striatum***

يشترك مع العديد من البكتيريا فى تلوث اللبن.

عائلة الـ ***Mycobacteriaceae***

تتبع تحت رتبة الـ *Corynebacterineae*.

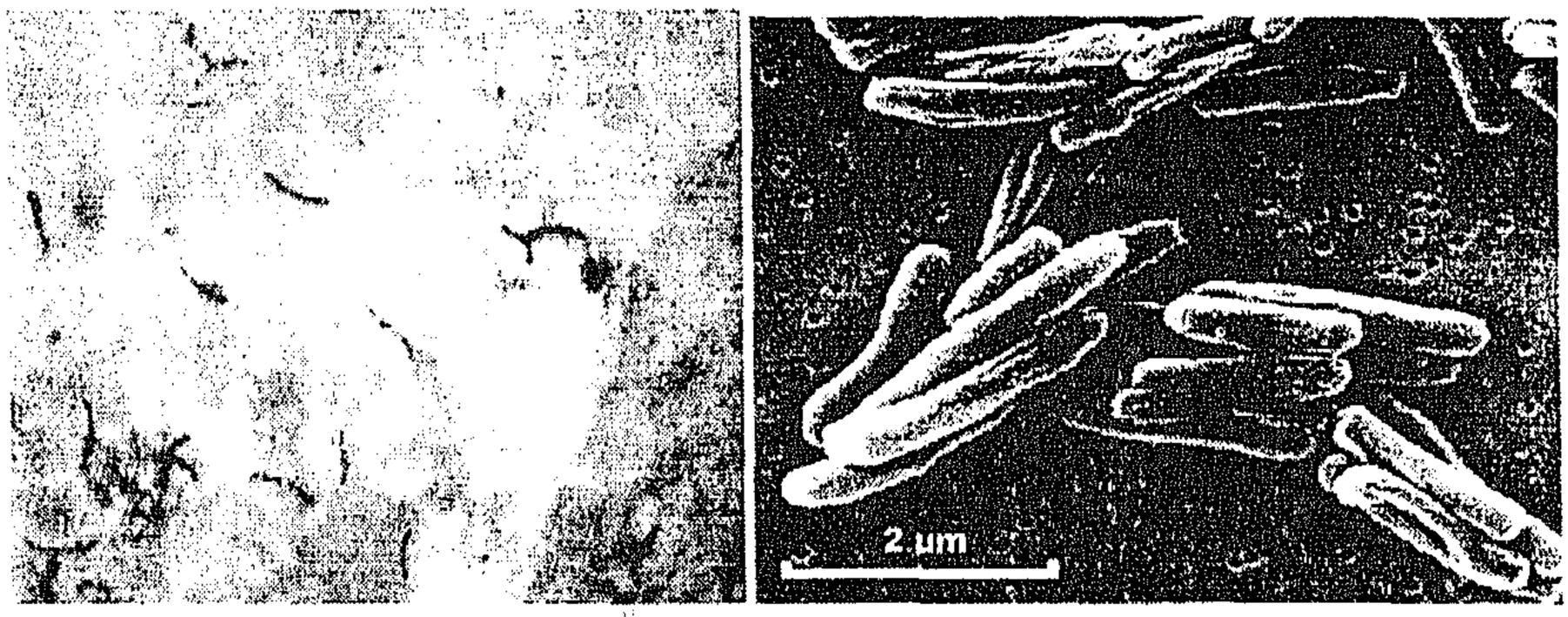
جنس الـ ***Mycobacterium***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XIV: *Actinobacteria* .Phy.nov
Class I: *Actinobacteria*
Subclass V: *Actinobacteridae*
Order I: *Actinomycetales*
Suborder VII: *Corynebacterineae*
Family IV: *Mycobacteriaceae*
Genus I: *Mycobacterium*

Morphology Charateristics الخصائص الظاهرية

الخلايا عصوية قصيرة (٠,٢ – ٠,٧ × ١ – ١٠ ميكرون) ، موجب لصبغة جرام (شكل رقم ٢٠) و موجب للصبغ المقاوم، غير متحرك.



شكل رقم (٢٠) : الـ ***Mycobacterium***.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

من أكثر ميكروبات اللبن مقاومة للحرارة لذلك أختيرت درجة حرارة البسترة بحيث تقضى نهائيًا على هذا الجنس ،يتميز بأن الخلايا تحتوى على حمض الميكوليك Mycollic acid المسئول عن إيجابية الصبغ المقاوم للأحماض.

١ـتحت نوع ***Mycobacterium tuberculosis*** **ssp.** ***hominis***

يسبب السل للإنسان.

٢ـتحت نوع ***Mycobacterium tuberculosis*** **ssp.** ***bovis***

يسبب السل للأبقار.

٣ـ النوع الـ ***Mycobacterium avium***

يسبب السل للطيور.

٣ـقبيلة الـ Proteobacteria:

هذه القبيلة تنقسم إلى ٥ صفوف هم:*Alphaproteobacteria* و *Betaproteobacteria* و *Gammaproteobacteria* و *Deltaproteobacteria* و *Epsilonproteobacteria* .

Phylum B XII: ***Proteobacteria***

Class I: ***Alphaproteobacteria***

Class II : ***Betaproteobacteria***

Class III : ***Gammaproteobacteria***

Class IV : ***Deltaproteobacteria***

Class V :

Epsilonproteobacteria

Class I: *Alphaproteobacteria*

Order I: *Rhodospirillales*
Family II: *Acetobacteraceae*
Genus I: *Acetobacter*

Order VI: *Rhizobiales*
Family VIII: *Hyphomicrobiaceae*
Genus XIX; *Xanthobacter*

Order VI:*Rhizobiales*
Family III:*Brucellaceae*
Genus I: *Brucella*

Class II: *Betaproteobacteria*

Order I: *Burkholderials*
Family IV: *Alcaligenaceae*
Genus I: *Alcaligenes*
Genus II: *Achromobacter*

Order VI : *Rhodocyclales*
Family *I:Rhodocyclaceae*
Genus IV: *Propionivibro*

Class III : *Gammaproteobacteria*

Order VIII : *Xanthomonadales*
Family I: *Xanthomonadaceae*
Genus I : *Xanthomonas*

Order VIII: *Pseudomonadales*
Family I:*Pseudomonaceae*
Genus I: *Pseudomonas*

Order XII : *Enterobacteriales*
Family I: *Enterobacteriaceae*
Genus I : *Escherichia*
Genus X : *Citrobacter*
Genus XIII: *Erwinia*
Genus XVI : *Klebsiella*
Genus XXVIII : *Proteus*
Genus XXXIII : *Serratia*
Genus XXXIV: *Shigella*
Genus XXXII:*Salmonella*
Genus XL: *Yersinia*
Genus XII: *Enterobacter*

عائلة الـ *Acetobacteraceae*

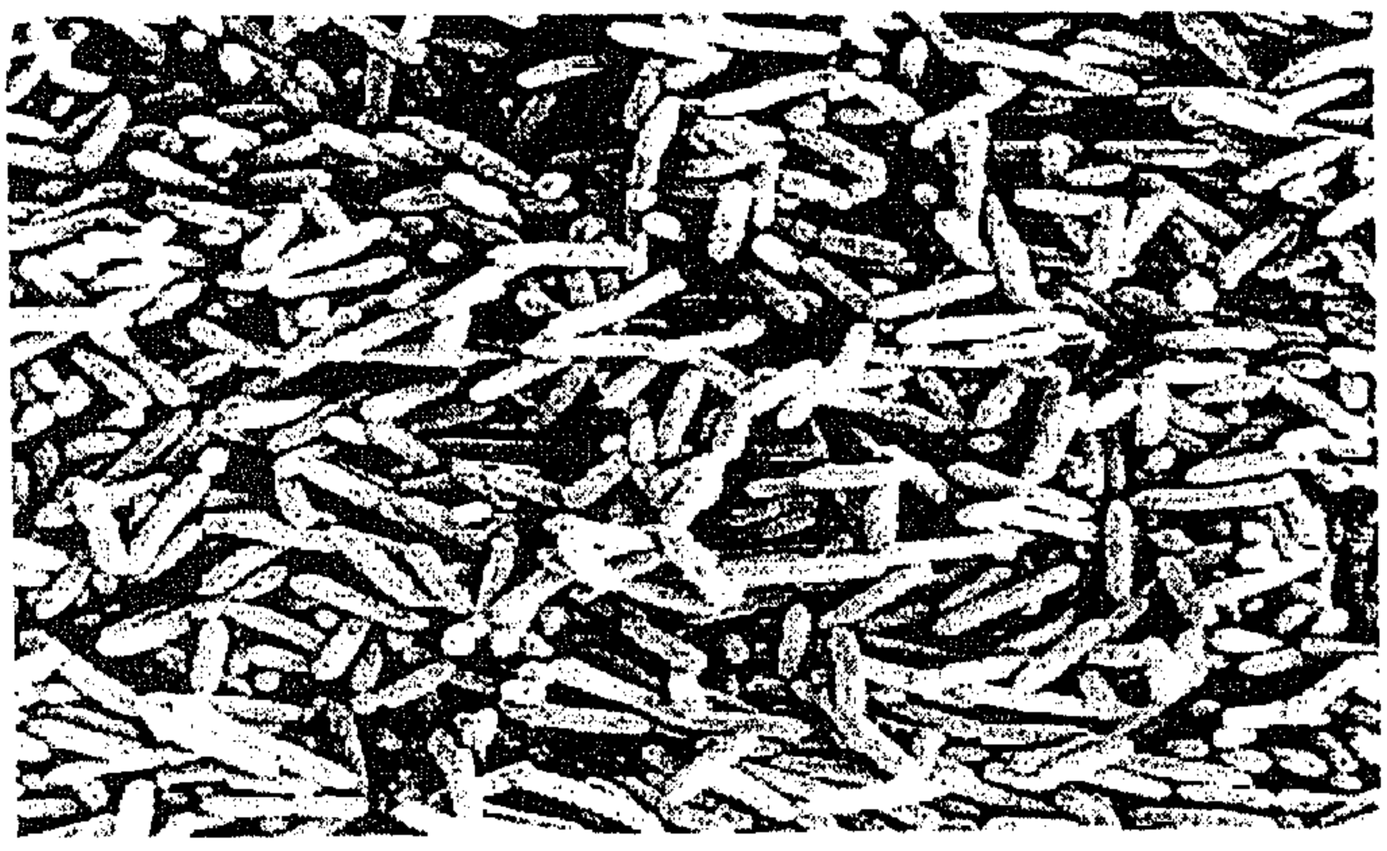
جنس الـ *Acetobacter*

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*.Phy.nov.
Class I: *Alphaproteobacteria*
Order I: *Rhodospirillales*
Family II: *Acetobacteraceae*
Genus I: *Acetobacter*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا عصوية مستقيمة أو منحنية قليلاً(شكل رقم ٢١) ، سالب لصبغة جرام و متحرك بالأسواط الجانبية و بعضه غير متحرك.



شكل رقم (٢١) : الـ *Acetobacter*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

هوائية إجبارًا ، له مدى حرارى يتراوح بين ٥ – ٤٠ °م والـ pH الأمثل له يتراوح بين ٥,٤ – ٦,٥ ، أما الـ pH الأدنى له ٤.

١-نوع الـ *Acetobacter acetic*

يسبب حموضة عصير الخضروات و له المقدرة على أكسدة كحول الإيثيل إلى حمض خليك و يستخدم فى إنتاج حمض الخليك و الخل من عصائر الفواكهه و السكريات.

عائلة الـ *Brucellaceae*

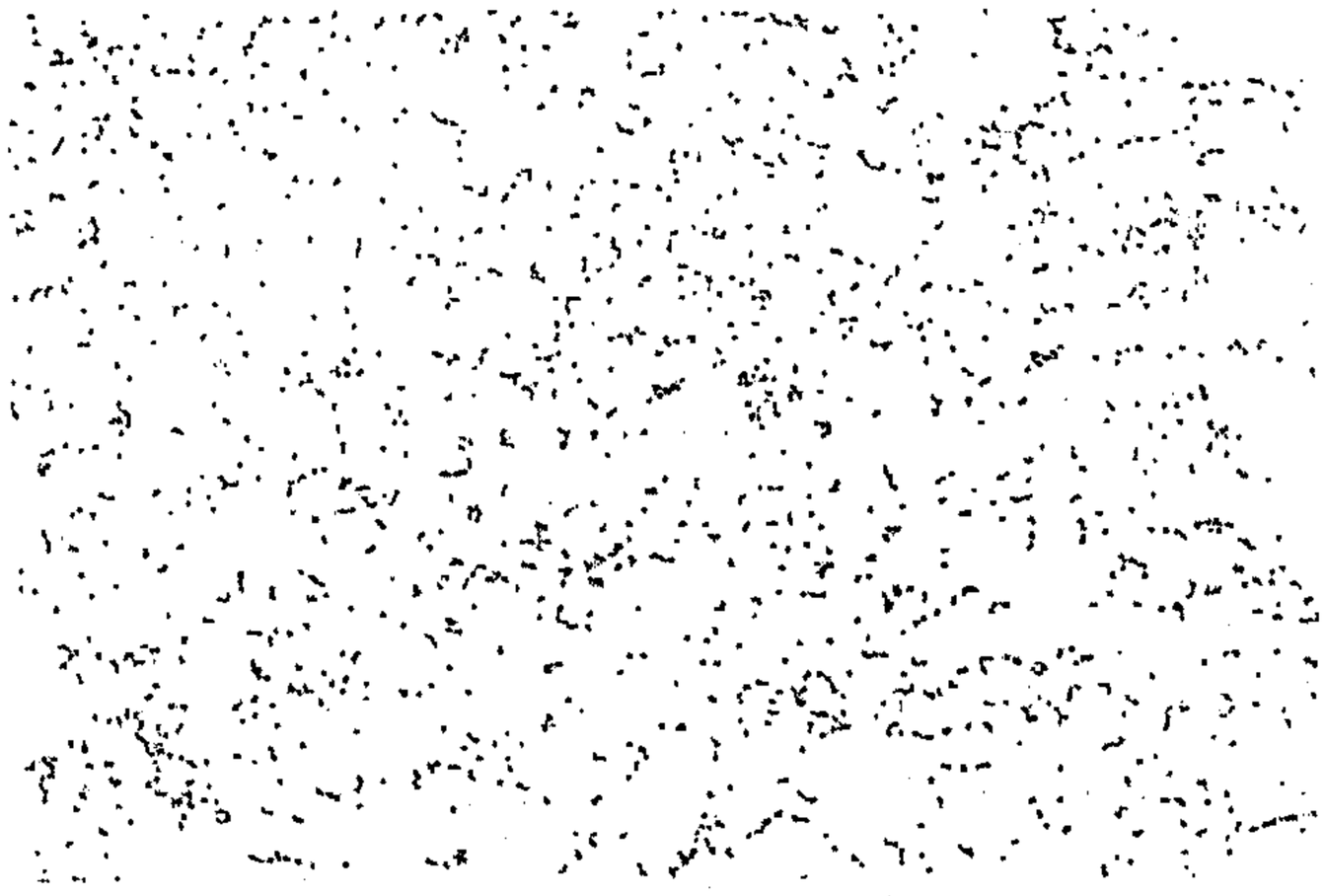
جنس الـ *Brucella*

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*.Phy.nov.
Class I: *Alphaproteobacteria*
Order VI: *Rhizobiales*
Family III: *Brucellaceae*
Genus I: *Brucella*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

الخلايا عصوية قصيرة (٠,٥ – ٠,٧ × ٠,٦ – ١,٥ ميكرون) (شكل رقم ٢٢) ، غير متحرك.



شكل رقم (٢٢) : الـ *Brucella*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

هوائى إجبارًا ، درجة الحرارة المثلى لـه ٣٧ °م والـ pH الأمثل لـه يتراوح بين ٦,٦ــ ٧,٤.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا ينـتج الإنـدول ، وفـى البيئـات التقليديـة لا ينـتج الحـامض مـن الكربوهيدرات ، و ليس لـه القدرة علـى تحليل كرات الدم الحمراء و لا يحلل الجيلاتين ، كما إنه سالب لاختبار Voges-Proskauer.

١-نوع الـ ***Brucella abortus***

لا يتحمل حموضة تزيد عن ٠,٥% ، ويسبب الإجهاض المعدى فى الحيوان.

٢-نوع الـ ***Brucella melitensis***

ممرضة للماعز و الأغنام ، و لا يتحمل حموضة تزيد عن ٠,٥%.

٣-نوع الـ ***Brucella suis***

يسبب الإجهاض المعدى فى الخنازير.

٤-نوع الـ ***Brucella ovis***

يسبب الإجهاض المعدى فى الأغنام.

عائلة الـ ***Alcaligenaceae***

جنس الـ ***Alcaligenes***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*.Phy.nov.
Class II: *Betaproteobacteria*
Order I: *Burkholderials*
Family IV: *Alcaligenaceae*
Genus I: *Alcaligenes*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

كما فى شكل رقم (٢٣) الخلايا عصوية مستقيمة ، عصويات كروية ، كرويات (٠,٨ – ٢,٦ ميكرون)، هوائى إجبارًا ، سالب لصبغة جرام، و البعض منها يكون كبسولات .

شكل رقم (٢٣) : الـ *Alcaligenes*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

درجة حرارته المثلى ٢٠ ^{o}م ، يتواجد فى المياه و التربة و المخلفات و القناه الهضمية للإنسان.

١ـنوع الـ ***Alcaligenes viscolactis***

يسبب الحاله القلوية للبن و العيب الخيطى اللزج Stringy Milk or Ropy Milk.

عائلة الـ ***Xanthomonadaceae***

جنس الـ ***Xanthomonas***

الوضع التقسيمى

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*.Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order VIII: *Xanthomonadales*
FamilyI: *Xanthomonadaceae*
Genus I: *Xanthomonas*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

الخلايا عصوية مستقيمة أو منحنية ، سالب لصبغة جرام ، غير متجرثم، يتحرك بواسطة الأسواط الطرفية حيث إنه يمتلك سوط واحد ، و بعض أنواعه ممرض للنبات و عزل من الخضروات حيث يصيب الجذور ببعض الأمراض.

١-نوع الـ *Xanthomonas maltophilia*

درجة حرارته المثلى ٣٥ °م ، و يفرز هذا النوع صبغة الزانثان Xanthan (صفراء) و لذلك يستخدم فى إنتاج صبغات طبيعية ، وليس لديه القدرة على اختزال النترات.

عائلة الـ ***Pseudomonaceae***

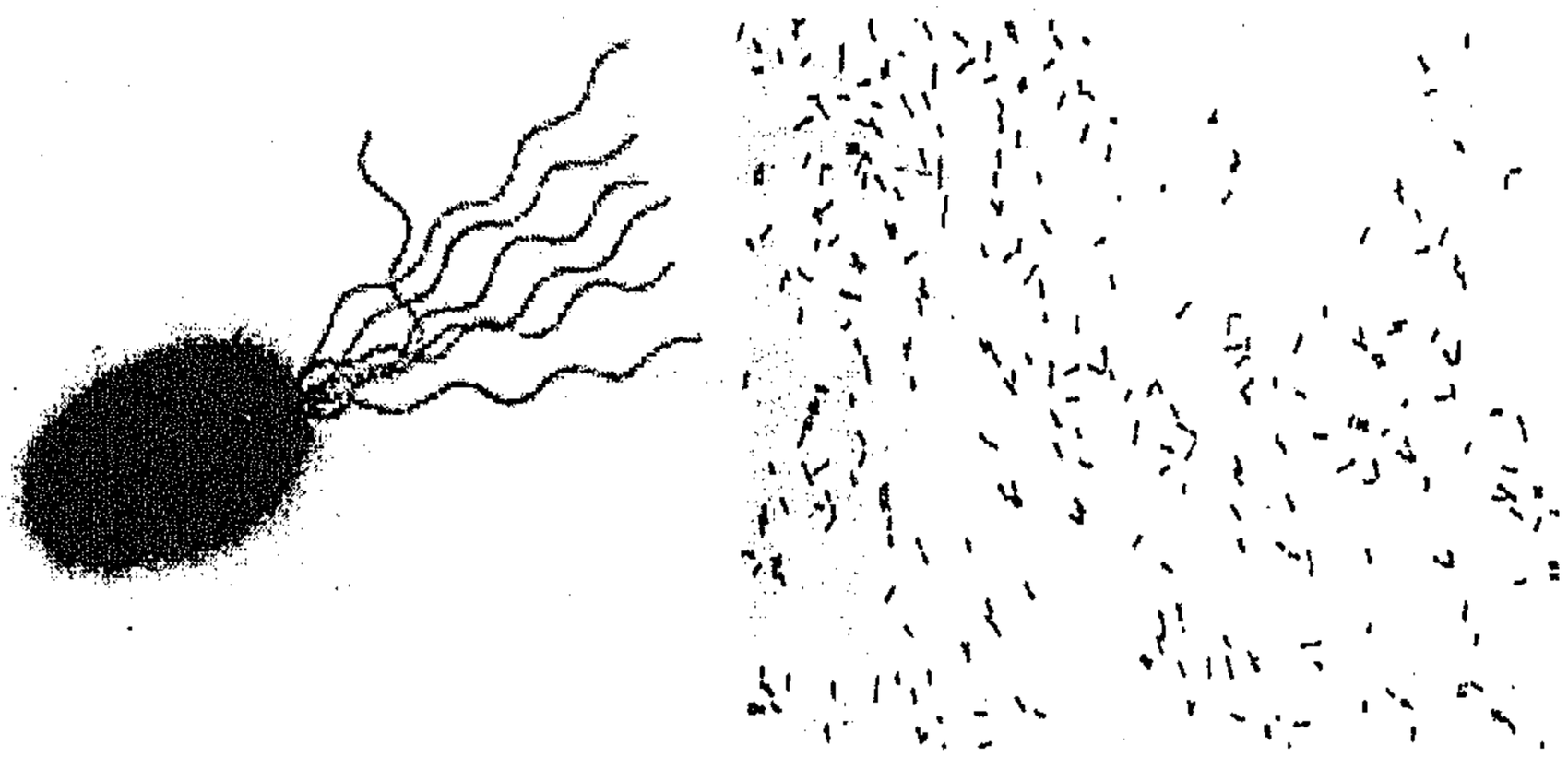
جنس الـ ***Pseudomonas***

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*.Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order VIII: *Pseudomonadales*
Family I:*Pseudomonaceae*
Genus I: *Pseudomonas*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايـــا عصـــويه مســـتقيمة أو منحنيـــة (٠,٥ – ١ × ١,٥ – ٥ ميكـرون)، سـالب لصـبغة جـرام (شـكل رقـم ٢٤) ، غيـر متجـرثم، يتحـرك بواسطة الأسواط الطرفية حيث أن بعض الأنـواع تمتلك سوط واحد والبعض الأخر يمتلك مجموعة طرفية .



شكل رقم (٢٤) : الـ *Pseudomonas*.

الخصائص المزرعية Cutural Charateristics

هوائى إجبارًا و موجب للكتاليز، و معظم أنواعه لا تحتاج لعوامل نمو عضـوية و لايستطيع النمو على pH ٤,٥، و بعض الأنـواع لهـا القدرة علـى إستخدام H_2 , CO_2 كمصـدر للطاقـة (ذاتيـة التغذيـة) ، غالبيـة سـلالات هـذا الجنس تستطيع النمو على البيئات الفقيرة فيمكنها النمو على بيئة معدنية تحتوى على أيون الامونيوم أو النترات و حمض عضوى كمصدر للكربون و الطاقة، و بعـض الأنـواع تحتـاج إلـى عوامـل نمـو عضـوية مثـل تواجـد الميثيـونين و البيوتين أو $V\ B_{12}$ ، و ينمو فى مدى حرارى يتراوح من ٤ – ٤٣ °م لذلك نجـد أنـه يسـتطيع النمـو علـى درجـة حـرارة التبريـد ممـا يسـبب فسـاد الأغذيـة المحفوظة و يحتاج بشدة إلـى CO_2 للنمو و يستطيع النمو علـى هـواء يحتـوى

٢٥ % O_2 و ذلك لإحلال O_2 محل CO_2 ودرجة حرارته المثلى ٢٨ °م ، و ينمو فى مدى pH يتراوح من ٥,٦ – ٨ و عزل من التربة و الماء و الخضروات و الجهاز الهضمى فى الإنسان.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

بعض الأنواع لها القدرة على تثبيت النيتروجين، و بعض أنواعه لها القدرة على النمو فى الماء المقطر مثل *Pseudomonas aeruginosa* ، كما لها القدرة على تحليل البروتين فى الغذاء لإحتوائها على الإنزيمات المحللة للبروتين، و تحدث عيوباً لونية فى المنتجات الغذائية نظرًا لمقدرتها على إفراز العديد من الصبغات (الأخضر ، الأخضر المزرق، الأصفر ، البرتقالى ، البنى الخفيف) كما تفرز بعض الاصباغ الفلوروسنتية مثل Fluorescein , (أصفر مخضر) و البايوروبين Pyorubin (أحمر) والبايوسيانين Pyocyanin (أزرق مخضر) و التى يمكن الكشف عن الأخيرة بالتعرض للأشعه فوق البنفسيجية ، و بعض أنواعه تحلل الدهون وذلك لإنتاجها إنزيم الليبيز الذى يحلل الدهن مسببًا فساد الأغذية الدهنية ، وبعض أنواعه ممرضة للإنسان مثل النوع *Pseudomonas aeruginosa* الذى يفرز سمومًا بكتيرية معوية ، و نظرًا لمقدرته على تحمل درجات الحرارة المنخفضة فهى تسبب فساد الأغذية المحفوظة تحت التبريد و الأغذية المجمدة و لا يوجد فى الأغذية المعاملة حراريًا لعدم مقدرته على مقاومة الحرارة.

١-نوع الـ *Pseudomonas putrefaciens*

مقاوم إلى تركيز ٤ %ملح ، و لا ينمو على pH ≤ ٥,٣ و له القدرة على تحليل البروتين ، ويسبب فساد اللحوم و الأغذية و الجبن المطبوخ و

يكون الطبقة اللزجة على السطح و الطعوم المرة و طعم الفاكهه و الطعم المتزنخ.

٢-نوع الـ ***Pseudomonas fargi***

له القدرة على تحليل الجيلاتين و يسبب الطبقة اللزجة على السطح و الطعوم المرة و الطعم المتزنخ فى المنتجات اللبنية.

٣-نوع الـ ***Pseudomonas flurescens***

يسبب عيب التزنخ فى المنتجات اللبنية الدهنية ، وذلك لإنه يفرز إنزيمات الـLipases ، كما إنه يفرز إنزيمات الـ Proteases التى تسبب الطعم المر ، و يسبب العيوب اللونية نظرًا لإفرازها الصبغات الخضراء المصفرة الفلورسنتية Fluorescein.

٤-نوع الـ ***Pseudomonas visicularis***

له القدرة على إفراز الصبغات ذات اللون الأصفر أو البنى فى الجبن الكوخ ،و أيضًا يؤدى إلى ظهور رائحة كريهة و طعم نتن.

٥-نوع الـ ***Pseudomonas mucidolans***

٦-نوع الـ ***Pseudomonas anguiliseptica***

الاثنين لهما القدرة على تحليل البروتينات ، مما يؤدى إلى ظهور الرائحة النتنه.

٧-نوع الـ ***Pseudomonas aeruginosa***

له القدرة على تحليل البروتين ، كما ينتج صبغات سوداء على الزبد.

عائلة الـ *Enterobacteriaceae*

جنس الـ *Escherichia*

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria* Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order XII: *Enterobacteriales*
Family I: *Enterobacteriaceae*
Genus I: *Escherichia*

الخصائص الظاهرية **Morphology Charateristics**

الخلايا عصوية تتواجد مفردة أو فى أزواج (١,١ – ١,٥ × ٢ – ٦ ميكرون)، مكونة للأغلفة، متحرك بواسطة الأسواط ، سالب لصبغة جرام (شكل رقم ٢٥).

10 µm

شكل رقم (٢٥) : الـ *Escherichia*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لاهوائى اختيارًا حيث يحتوى على نظامى التخمر و التنفس الهوائى ، درجة الحرارة المثلى له ٣٧ °م و يكون شكل المستعمرة على بيئة الأجار المغذى ناعمة ورطبة وذات لون رصاصى لامع أو قد تكون المستعمرات خشنة .

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يختزل النترات إلى نيتريت وموجب مع اختبار أحمر الميثيل ، و ينتج الإندول ، يمكن أن يستهلك الخلات كمصدر للكربون ولكنه لايخمر السترات و يخمر اللاكتوز و الجلوكوز منتج أحماض الخليك واللاكتيك و الفورميك ويصحب ذلك تكوين غاز $CO_2:H_2$ بنسبة ١:١.

بعض سلالات الـ *Escherichia coli* تفرز سموم داخلية ، و قد تم دراسة نوعين من هذة السموم Thermabile toxins and Thermostable toxins وقد يفرزان معاً أو كل على حدة و يمكن تقسيم العديد من السلالات تحت نوع *Escherichia coli* تبعًا للتقسيم السيريولوجى و المبنى على المركبات الكيماوية للأغلفة المحيطة بالخلية أو تركيب الجدار الخلوى إلى عدة مجموعات سيريولوجية O,K,H كما يمكن تقسيم العديد من السلالات باستخدام البكتيريوفاج الخاص بكل سلالة.

يتبع هذا الجنس مجموعة بكتيريا الكوليفورم حيث إن هذه المجموعة تتكون من أربعة أجناس هى *Escherichia ,Citrobacter,Klebsiella, Enterobacter* و هذه المجموعه توجد طبيعيًا فى الأمعاء الغليظة ، حيث أن وجودها بالأعداد المناسبة لايسبب مشاكل للإنسان ، كما أنها تخلق بعض الفيتامينات التى يحتاجها الإنسان و لكن اذا تكاثرت هذة الميكروبات بشدة بالأمعاء نتيجة لوصول مواد كربوهيدراتية لم تمتص بالأمعاء الدقيقة و

وصلت إلى الأمعاء الغليظة فإن ذلك سوف يؤدى إلى تخمرها بواسطة الـ *Escherichia coli* مكونة غازات مما يؤدى إلى الإرتباك المعوى و تحدث هذه الظاهرة فى الأفراد الذين يتناولون ألباناً على فترات متباعدة و بالتالى يعانون من مشكلة نقص إنزيم اللاكتيز فلا يحدث تحلل لسكر اللبن (سكر اللاكتوز) إلى جلوكوز و جالاكتوز فيصل إلى الأمعاء الغليظة على صورة لاكتوز فتقوم بكتيريا الـ *Escherichia coli* بتخميره فيؤدى ذلك إلى مشاكل معوية أو قد يؤدى ذلك إلى إرتفاع الـ pH البراز مما يسبب الإسهال للإنسان خاصة الأطفال نتيجة للسموم المفرزة بواسطة تلك الميكروبات كما يمكن أن يتزايد عددها فى حالة استهلاك مواد ملوثة بها.

١ـ نوع الـ *Escherichia coli*

تعد من البكتيريا الكاذبة The pseudo lactic acid bacteria و المختلطة التخمر حيث تنتج D(-) or DL of lactic acid من أهم الأنواع التى تهمنا تحت هذا الجنس و تتميز بأنها عضوية قصيرة سالبة لصبغة جرام ، تخمر اللاكتوز منتجة حمض و غاز $H_2 : CO_2$ بنسبة ١:١. تتواجد فى اللبن الخام عن طريق الأتربة ، الروث، جلد الحيوان بأعداد قليلة وإذا حفظ اللبن دون تبريد تتكاثر و بالتالى نعانى من مشاكلها فى الصناعة خاصة أنه فى كثير من الحالات يصنع الجبن من اللبن الخام و يؤدى وجودها إلى وجود ثقوب منتشرة فى الجبن مع روائح غير مرغوبة و يلزم للتغلب على هذا العيب أن يستخدم لبن مبستر فى صناعة المنتجات اللبنية حيث إن البسترة تقضى نهائيا عليها.

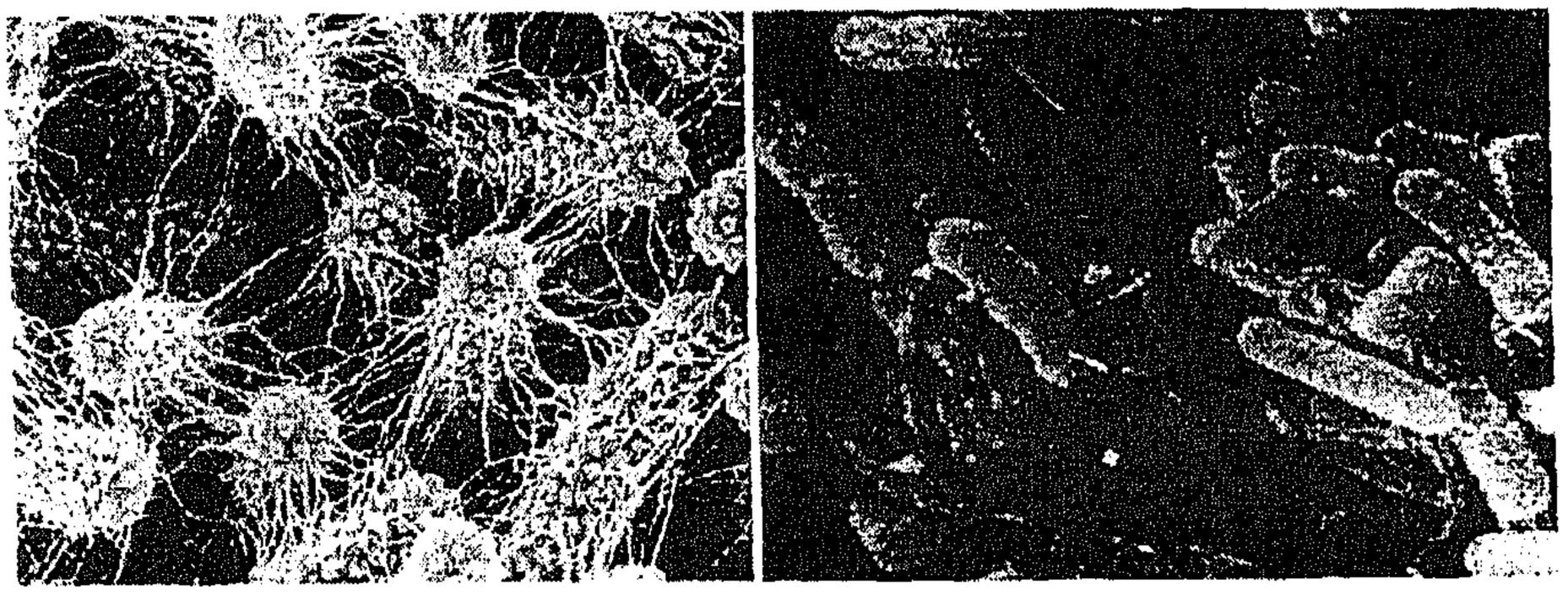
جنس الـ *Klebsiella*

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*. Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order XII: *Enterobacteriales*
Family I: *Enterobacteriaceae*
Genus XVI : *Klebsiella*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا عصوية مفردة أو فى أزواج (٠,٣ – ١ × ٠,٦ ـ٦ ميكرون)، و غير متحرك سالب لصبغة جرام(شكل رقم ٢٦) ولاهوائى اختيارًا ، و الخلايا تكون كبسولات .



شكل رقم (٢٦) : الـ *Klebsiella*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

درجة حرارته المثلى٣٧ °م ،و السلالات تكون كبسولات بحجم كبير و لذلك تكون المستعمرات لزجة ، و عزل من المجارى و التربة و البلعوم و الماء.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

غالبية السلالات تستهلك السترات كمصدر وحيد للكربون وتخمر الجلوكوز مكونة حمض وغاز وتكون aceton وbutanol ولذلك فهى موجبة لاختبار فوجس بروسكاور وهى توجد فى الأمعاء الغليظة ولكن بأعداد أقل مقارنة بـ *Escherichia coli* و من أهم صفاتها أنها موجبة لتكوين الإندول وتستطيع تحليل الجيلاتين و موجبة لاختبار أحمر الميثيل Methyl Red.

١-نوع الـ ***Klebsiella pneumonia***

موجودة طبيعياً فى القناه الهضمية و لكن بأعداد قليلة ويسبب مع ميكروبات أخرى مرض حمى الضرع وكذلك يسبب مشاكل بالجهاز البولى.

جنس الـ ***Shigella***

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*. Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order XII: *Enterobacteriales*
Family I: *Enterobacteriaceae*
Genus XXXIV: *Shigella*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا عصوية ، سالب لصبغة جرام (شكل رقم ٢٧)، متحرك بالأسواط ، لاهوائى اختياريًا موجب للكتاليز .

شكل رقم (٢٧) : الـ *Shigella*.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يختزل النترات إلى نيتريت، يخمر السكريات بدون تكوين غاز ولا يستطيع تخمير السترات أو المنولايت Malonate كمصدر أساسى للكربون ، غير منتج للـ H_2S و لاينمو فى بيئة تحتوى على سيانيد البوتاسيوم

١-نوع الـ *Shigella dysenteriae*

يوجد فى الأغذية و المياه و خطورته أنه ممرضة للإنسان يسبب الدوسنتاريا الباسيلية أو البكتيرية كما يمكن أن تكون الكلاب مصدر عدوى ، و يسبب العدوى إذا وجد بأعداد قليلة ولا يحتاج عزله لتقوية البيئة ويختلف عن الـ*Escherichia coli* بأنه غير مخمر للاكتوز ويخمر السكريات بدون إنتاج غاز ولايخمر المانيتول ولا ينتج الإندول ويباد بالبسترة و درجة الحرارة المثلى ٣٧ °م ويمكن أن ينمو فى اللبن المحفوظ على ١٥ °م.

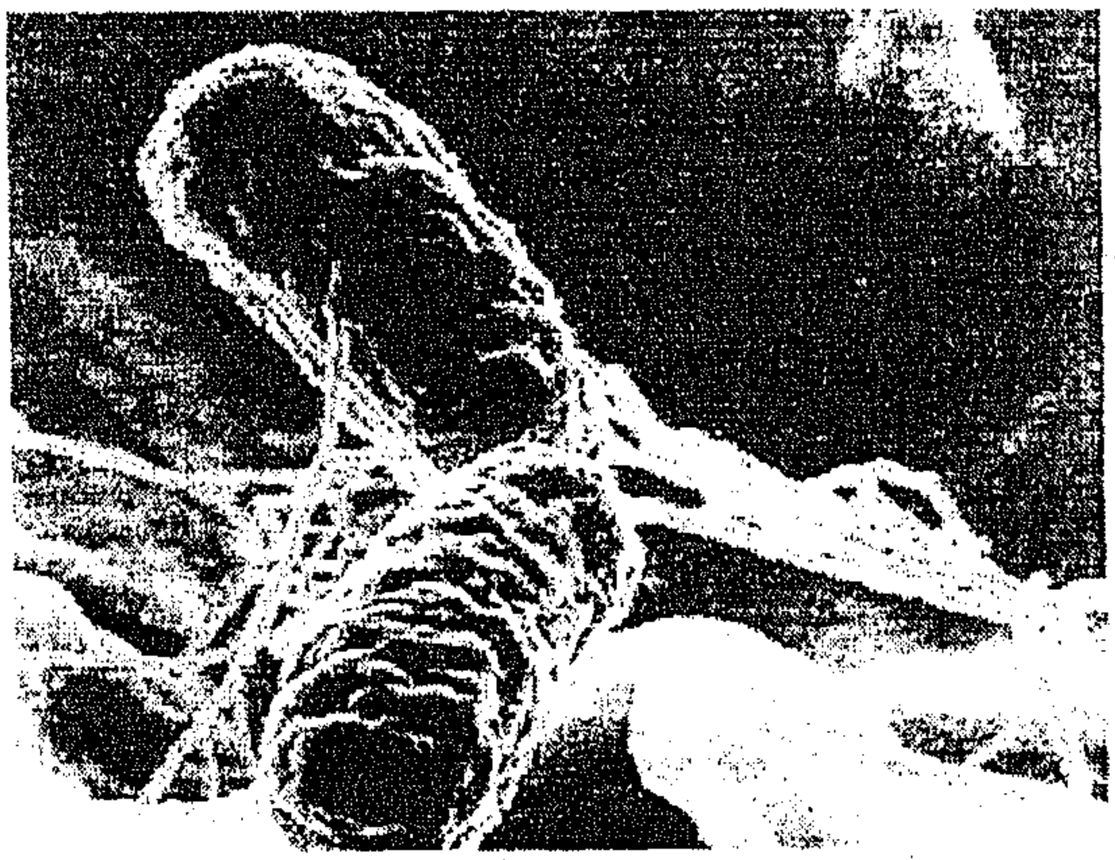
جنس الـ *Salmonella*

الوضع التقسيمى:-

Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*. Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order XII: *Enterobacteriales*
Family I: *Enterobacteriaceae*
Genus XXXII: *Salmonella*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا عصوية (٠,٥ – ٠,٧ × ١ – ٣ ميكرون) متحرك بواسطة الأسواط (شكل رقم ٢٨) ، سالب لصبغة جرام ، لاهوائى اختياريًا .



شكل رقم (٢٨) : الـ *Salmonella*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

عزل فى أواخر القرن الـ١٩ من المجارى و التربة و الحيوان و الإنسان و الماء والمستعمرة ذات قطر ٢- ٤ مم ، وعزل من جلد الدواجن ويكون موجود فى بعض الحيونات ولعزله لابد من إستخدام بيئة مقواه تحتوى على مثبطات مثل بيئة الـ Tetrathionate broth لمنع المجاميع الأخرى من النمو حيث إن هذه البيئة التخصيصية تسمح بنمو *Salmonella* ولا تسمح

بنمو الميكروبات الأخرى و تستخدم هذه البيئة عند العزل من الأغذية أو العينات المراد تحليلها و لكن فى حالة تنمية السلالات النقية فتستخدم بيئات عامة ،و مظهر المستعمرة على بيئة Brilliant green agar قرمزى ذات حواف محاط حمراء لامعه و عند تخمرها للسكروز أو اللاكتوز تأخذ لون أصفر إلى أخضر .

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يحلل الجيلاتين ، يكون غازًا عند تخميره للجلوكوز ، المالتوز ، المانيتول ، السوربيتول و لا يخمر السكروز و اللاكتوز و يستهلك السترات كمصدر وحيد للكربون ولا يكون الإندول و يختزل النترات Nitrates إلى نيتريت Nitrites و لا يخمر اللاكتوز Lactose و الإينوسيتول inositol و السكروز sucrose و يمكن تقسيمه بواسطة التقسيم السيريولوجى إلى O,H,G و يستخدم التقسيم السيريولوجى فى التعرف عليه والذى يعتمد على الأنتيجين أو مولد الأجسام المضادة فى محلول السيرم وأمكن تقسيم الـ *Salmonella* إلى مجموعتين:-

١- Somatic antigen

التى يرتبط فيها الأنتيجين بالمواد الموجودة على الخلية.

2-Flagaller antigen

التى يرتبط فيها الأنتيجين بالمواد الموجودة على الأسواط.

و أهم الاختبارات التى تجرى عليها هى اختبار الحركة واختبار التخمر.

١-نوع الـ ***Salmonella typhi***

يسبب الإصابة بمرض التيفود للإنسان.

٢-نوع الـ ***Salmonella typhimurium***

يسبب التسمم الغذائى وأعراض الإصابة تكون مثل التى تسببها السموم المفرزه من بكتيريا *Staphylococcus aureus* وفترة الحضانه تتراوح بين

١٢- ٣٠ ساعة بعد وصول البكتيريا إلى القناه و ربما كانت هذه الفترة هى التى تحتاجها البكتيريا لإفراز سمومها وهنا يجب أن نذكر أن السموم التى تفرزها بعض أنواع الـ *Salmonella* تكون داخلية Endotoxins أما التى تفرزها بكتيريا *Staphylococcus aureus* فهى خارجية Exotoxins وعلى هذا يمكن التفرقة بين أعراض التسمم للنوعين ،حيث أن الأعراض التى تسببها البكتيريا العنقودية تظهر بعد فترة أقصر جدًا من تلك التى تسببها أنواع جنس *Salmonella* ومن حسن الحظ أن المعاملة الحرارية المستعملة فى حرارة البسترة تبيد هذه البكتيريا.

٣-نوع الـ ***Salmonella paratyphi***

يسبب حمى الباراتيفود للإنسان.

جنس الـ ***Enterobacter***

الوضع التقسيمى:-

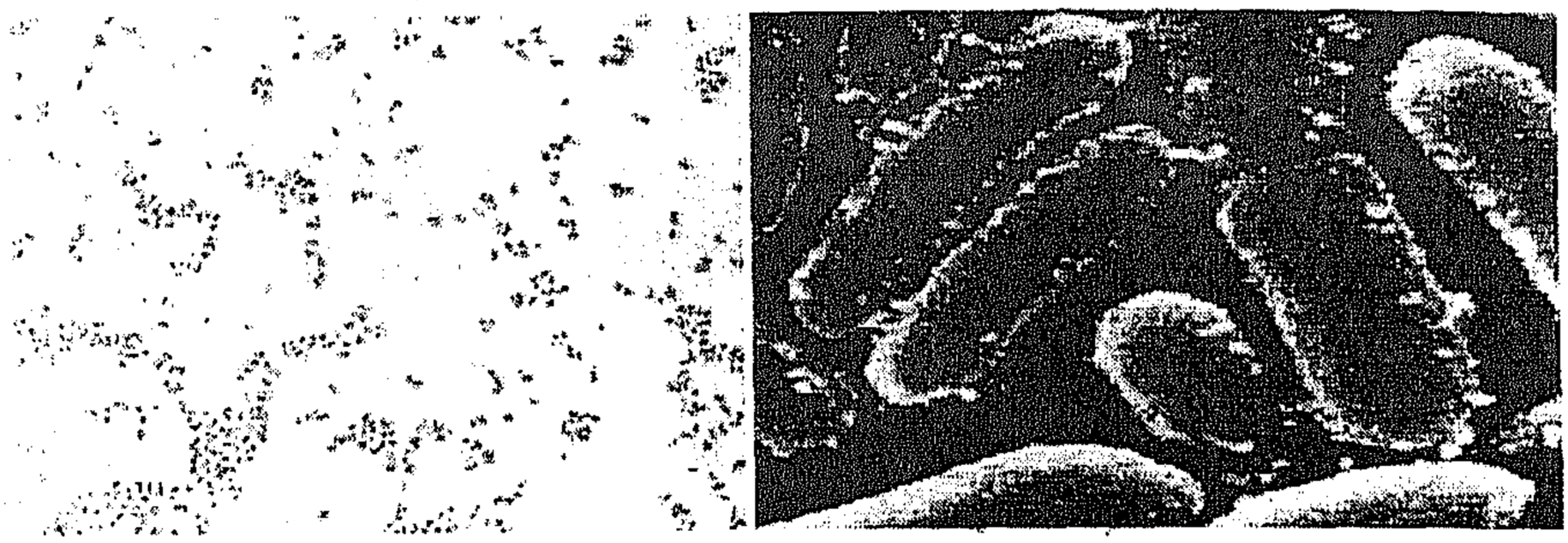
Domain: *Bacteria*
Phylum B XII: *Proteobacteria*. Phy.nov.
Class III: *Gammaproteobacteria*
Order XII: *Enterobacteriales*
Family I: *Enterobacteriaceae*
Genus XII: *Enterobacter*

Morphology Charateristics الخصائص الظاهرية

الخلايا عصوية قصيرة (٠,٦ – ١ × ٢ – ٣ ميكرون) ، سالب لصبغة جرام، متحركة بالأسواط (شكل رقم ٢٩) ، لاهوائى اختياريًا .

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

درجة الحرارة المثلى له ٣٠ - ٣٧ °م وتوجد فى الأمعاء الغليظة وهى غير مرضية وهى توجد أساساً فى المجارى و التربة والخضروات.



شكل رقم (٢٩) : الـ *Enterobacter*.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

سالب لاختبار أحمر الميثيل و موجب لإختبار فوجس بروسكاور ، ويعد من البكتيريا الكاذبة The pseudo lactic acid bacteria و المختلطة التخمر حيث ينتج D(-) or DL of lactic acid ، يخمر الكربوهيدرات منتج حمض وغاز $H:CO_2$ بنسبة ٢:١ ولا يكون الغاز على ٤٤,٥ °م من الجلوكوز، جميع السلالات موجبة لاختبار فوجس برسكاور.

١-نوع الـ *Enterobacter aerogenes*

حيث إن كلمة Entero تعنى أمعاء و كلمة bacter تعنى عصوية وكلمة Aerogenes تعنى مولدًا للهواء، يخمر اللاكتوز و الجلوكوز و المليبيوز ، و لا ينتج الإندول و سالب لاختبار أحمر الميثيل ، و ليس له القدرة على تحليل الجيلاتين و اليوريا.

٢-نوع الـ *Enterobacter cloacae*

حيث أن كلمة Entero تعنى أمعاء و كلمة bacter تعنى عصوية و كلمة *cloacae* تعنى بلوعة ، ووجود هذا النوع فى اللبن ومنتجاته دليل على التلوث بها من الصرف الصحى أو التربة أو الماء.

<u>الامتحان البعدى:-</u>

السؤال الأول :اختر إجابة واحدة

١-مركز الثروة الميكروبية فى مصر هو

A. CAIM

B. ATTCC

C. NRRL

٢-تعمل مراكز الثروة الميكروبية على

A. إنتاج البادئات

B. عزل السلالات الميكروبية

C. A و B معًا

٣-يستخدم فى الانتخاب بالتثبيط

A. Tween 80

B. أملاح الصفراء

C. A و B معًا

٤-من الاختبارت التى تجرى للتعرف على نوع البكتيريا

A. قياس قدرتها على إسالة الجيلاتين

B. نموها فى لبن عباد الشمس

C. A و B معًا

٥-من الطرق الحديثة المستخدمة للتعرف على البكتيريا

A. البكتريوفاج

B. التحاليل الوراثية

C. A و B معًا

C. ٩٥ °م / ٢ ق

٩-يحدث إلتحام للـ Primer فى تكنيك PCR على

A. ٥٥ ـ ٦٥ °م / ١ ق

B. ٤٥ ـ ٥٥ °م / ١ ق

C. ٦٥ ـ ٧٥ °م / ١ ق

١٠-يجرى إختبار الكتاليز بإستخدام

A. H_2O_2

B. H_2O

C. A و B معًا

١١-جنس الـ *Clostridium* :

A. لا هوائى اختياريًا

B. لا هوائى إجباريًا

C. هوائى إجباريًا

١٢-الـ *Clostridium perfrigenes* تنتج سمومًا

A. داخلية

B. خارجية

C. A و B معًا

١٣-جنس الـ *Bacillus*

A. هوائى يكون جراثيم

B. هوائى لا يكون جراثيم

C. لاهوائى يكون جراثيم

١٤- *Lactobacillus kefir*

A. مختلط التخمر إجباريًا

B. مختلط التخمر اختياريًا

C. متجانس التخمر إجبارًا

١٥-*Lactobacillus acidophilus*

A. تستخدم كبكتيريا علاجية

B. تستخدم فى إنتاج لبن الأسيدوفلس

C. A و B معًا

١٦-تعزل الـ *Lactobacillus* على بيئة

A. MRS

B. M17

C. A و B معًا

١٧-وجوده فى الغذاء يدل على عدم النظافة

A. *Lactobacillus*

B. *Lactococcus*

C. *Enterococcus*

١٨-الاسم القديم للـ *Enterococcus faecium*

A. *Staphylococcus faecium*

B. *Streptococcus faecium*

C. *Lactococcus faecium*

١٩-*Clostridium sporogenes* تسبب

A. التخمر العصفى

B. التخمر المتأخر

C. A و B معًا

٢٠-لها دور فى تسوية جبن التشيدر

A. *Lactobacillus acidophilus*

B. *Lactobacillus casei*

C. *Lactobacillus paracasei*

٢١-خلايا الـ *Leuconostoc*

A. كروية

B. عصوية

C. A و B معا

٢٢-جنس الـ *Streptococcus*

A. لا هوائى إجبارًا

B. لا هوائى اختيارًا

C. هوائى اختيارًا

٢٣-جنس الـ *Streptococcus*

A. متجانس التخمر

B. مختلط التخمر

C. جميع الإجابات خطأ

٢٤-النوع *Streptococcus pyogenes* يتبع مجموعة

A. A من تقسيم لانسفيلد

B. B من تقسيم لانسفيلد

C. C من تقسيم لانسفيلد

٢٥- *Streptococcus thermophilus*

A. لا ينمو فى ٠,١ % أزرق الميثيلين

B. ينمو فى ٠،١ % أزرق الميثيلين

C. ينمو فى ١٠% أملاح صفراء

٢٦-جنس الـ *Lactococcus* خلاياه

A. كروية سالبة للكتاليز

B. عصوية موجبة للكتاليز

C. كروية موجبة للكتاليز

٢٧-*Lactococcus lactis*

A. تنتج النيسين

B. تنتج اللاكتوسين

C. تنتج البنسيلين

٢٨-*Lactococcus lactis*

A. تنمو على ١٠ °م ، و لا تنمو على ٦،٥ % ملح

B. لا تنمو على ١٠ °م ، و لا تنمو على ٦،٥ % ملح

C. لا تنمو على ١٠ °م ، و تنمو على ٦،٥ % ملح

٢٩-عند حفظ الـ *Lactococcus* يضاف الى لبن عباد الشمس ٠،١ ــ ٠،٥ % من

A. كربونات كالسيوم

B. هيدروكسيد صوديوم

C. بيكربونات الصوديوم

٣٠-درجة الحرارة المثلى للـ *Lactococcus*

A. ٣٠ °م

B. ٣٧ °م

C. ٢١ °م

<u>الامتحان البعدى:-</u>

اختر إجابة واحدة:-

١-من مواصفات الجرثومة المتكونة بالبكتيريا إنها مقاومة للـ

A. السموم الكيماوية

B. للحرارة

C. A و B معًا

٢- *Bacillus anthracis* تسبب الحمى

A. الفحمية

B. القلاعية

C. المتموجة

٣-خلايا الـ *Listeria*

A. عصوية موجبة لصبغة جرام

B. عصوية سالبة لصبغة جرام

C. كروية موجبة لصبغة جرام

4-*Listeria monocytogenes* تسبب

A. الإجهاض للإنسان

B. الإلتهاب السحائى

C. A و B معًا

٥- *Staphylococcus aureus* تنتج سمومًا

A. خارجية

B. داخلية

C. A و B معًا

٦- *Staphylococcus epidermidi*

A. تنمو على ١٥ % ملح

B. لا تنمو على ١٥ % ملح

C. تنمو على ١٦ % ملح

٧- *Staphylococcus hyicus* تسبب مرض

A. حمى الضرع

B. الحمى القلاعية

C. الحمى الفحمية

٨-مكونات الجرثومة تكون

A. خارجية

B. داخلية

C. A و B معًا

٩- *Bacillus cereus* تسبب التجبن

A. الحلو

B. الحامضى

C. A و B معًا

١٠- *Listeria* تتحمل pH

A. أقل من ٥

B. أكبر من ٥

C. أقل من ٤

١١-خلايا الـ *Bifidobacterium*

A. عصوية سالبة لصبغة جرام

B. كروية موجبة لصبغة جرام

C. عصوية موجبة لصبغة جرام

١٢-درجة الحرارة المثلى للـ *Bifidobacterium*

A. ٣٧ – ٤١ °م

B. ٢٧ – ٣١ °م

C. ٤٢ – ٤٧ °م

١٣-يتميز جنس الـ *Micrococcus* بقدرته على إفراز

A. صبغات

B. سموم

C. إنزيمات محللة للدهن

١٤-تستخدم الـ *Brevibacterium casei* فى تسوية جبن الـ

A. القالب

B. الإمينتال

C. A و B معًا

١٥-*Propionibacterium*

A. لا هوائية اختياريًا

B. لا هوائية إجباريًا

C. هوائية اختياريًا

١٦-تستطيع الـ *Propionibacterium* أن

A. تنمو فى ٢٠ % أملاح صفراء و ٦،٥ % ملحًا

B. تنمو فى ٢٠ % أملاح صفراء و لا تنمو ٦،٥ % ملحًا

C. تنمو ٦،٥ % ملح و لا تنمو فى ٢٠ % أملاح صفراء

١٧-*Corynebacterium pyogenes* تسبب

A. التهاب الضرع

B. الحمى المتموجة

C. الحمى الفحمية

١٨- *Mycobacterium tuberculosis* ssp. *hominis* تسبب

A. السل للإنسان

B. السل للأبقار

C. السل للطيور

١٩-تستخدم الـ *Bifidobacterium*

A. كبكتيريا علاجية

B. فى إنتاج النيسين

C. A و B معا

٢٠- *Micrococcus luteus*

A. تنمو على ٧،٥ % ملح

B. تنمو على ١٠ % ملح

C. تنمو على ١٥ % ملح

٢١-يتميز جنس الـ *Acetobacter* بانه

A. عصوى سالب لصبغة جرام

B. كروى موجب لصبغة جرام

C. عصوى موجب لصبغة جرام

٢٢- *Brucella abortus* تسبب

A. الإجهاض المعدى للحيوان

B. الحمى المالطية

C. A و B معًا

٢٣-يسبب الحالة القلوية للبن

A. *Xanthomonas*

B. *Alcaligenes*

C. *Bacillus*

٢٤- *Pseudomonas*

A. تفسد الجبن المطبوخ

B. تسبب الطعم المتزنخ

C. A و B معًا

٢٥- *Pseudomonas aeruginosa* تنتج صبغات

A. صفراء على الجبن

B. سوداء على الزبد

C. A و B معًا

٢٦- *Escherichia coli*

A. عصوية متحركة بالأسواط

B. عصوية غير متحركة

C. كروية سالبة لصبغة جرام

٢٧- *Escherichia coli*

A. تفرز سمومًا خارجية

B. تفرز سمومًا داخلية

C. لا تفرز سمومًا

٢٨- *Acetobacter* له pH أمثل

A. يتراوح بين ٤،٥ -٦،٥

B. يتراوح بين ٤،٤ــ ٥،٤

C. يتراوح بين ٣،٤ ــ ٤،٤

٢٩- *Brucella*

A. هوائية إجبارًا

B. لا هوائية اختيارًا

C. لا هوائية إجبارًا

٣٠- *Pseudomonas fargi* تسبب

A. الطبقة اللزجة على المنتجات اللبنية

B. التزنخ فى المنتجات الدهنية

C. A و B معًا

٣١- *Klebsiella pneumonia* تسبب

A. حمى الضرع

B. التهاب الضرع

C. الحمى القلاعية

٣٢- *Shigella*

A. تسبب الدوسنتاريا البكتيرية

B. عصوية سالبة لصبغة جرام

C. A و B معًا

٣٣- *Salmonella*

A. عصوية لا هوائية إختيارا

B. عصوية هوائية إجبارا

C. عصوية لا هوائية إجبارا

٣٤- *Salmonella*

A. تفرز سموم داخلية

B. تفرز سموم خارجية

C. لا تفرز سموم

٣٥- *Enterobacter*

A. عصوية متحركة بالأسواط

B. كروية متحركة بالأسواط

C. كروية غير متحركة

٣٦- *Enteobacter* توجد فى

A. التربة

B. الأمعاء الغليظة

C. A و B معًا

٣٧-وجود الـ *Enterobacter* فى اللبن يدل على

A. تلوث اللبن من الصرف الصحى

B. تلوث اللبن بالماء

C. A و B معًا

٣٨-يمكن أن تنمو على ١٥ °م

A. *Shigella*

B. *Streptococcus*

C. *Salmonella*

٣٩- Salmonella typhi تسبب

A. التيفود للإنسان

B. إلتهاب الزور

C. A و B معًا

٤٠-يمكن القضاء على الـ *Salmonella* بـ

A. البسترة

B. الغلى

C. A و B معًا

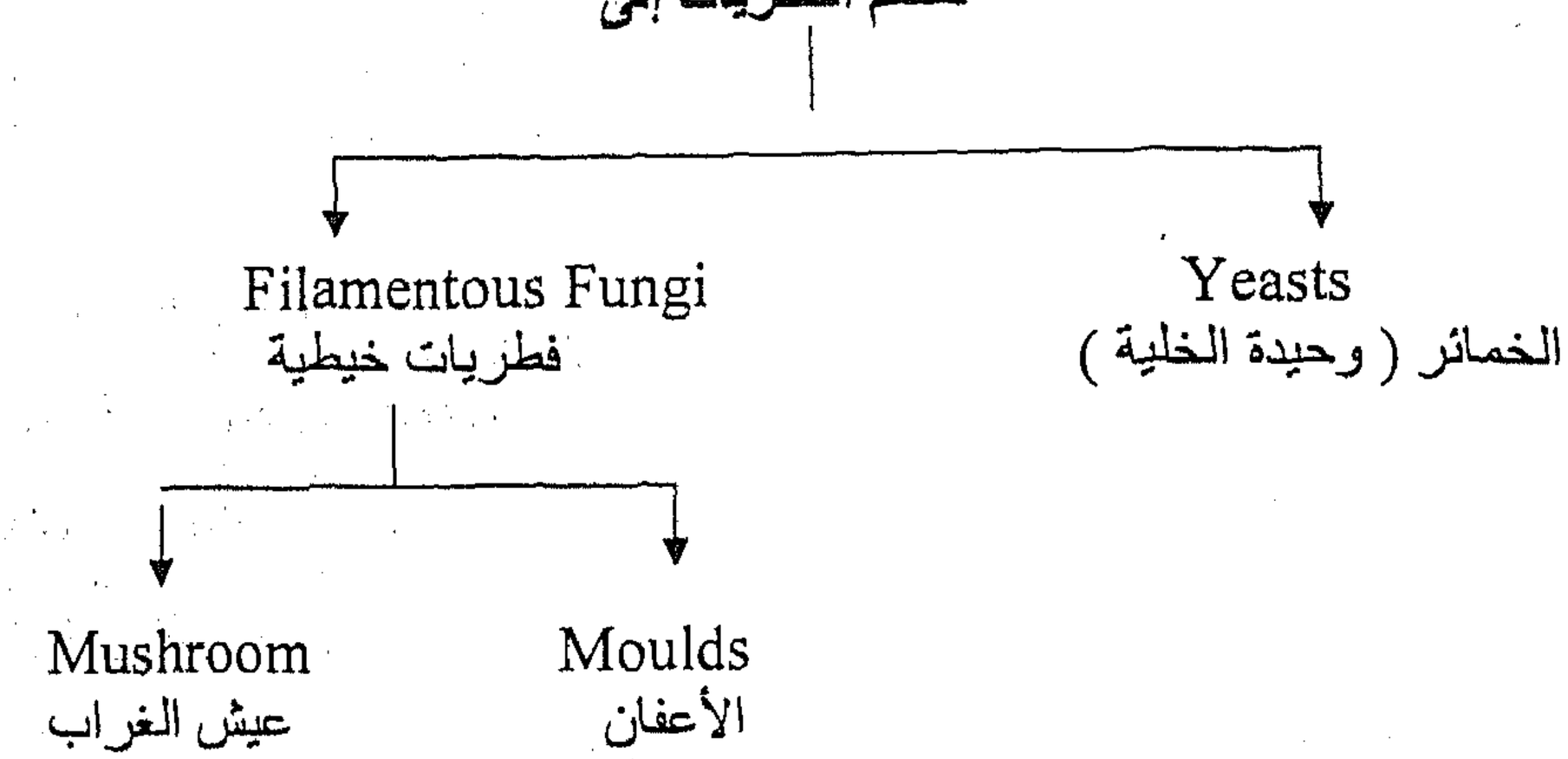
الباب الرابع

الباب الرابع

تقسيم فطريات اللبن ومنتجاته

فطريات اللبن

تضم مملكة الفطريات مجموعه كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة والجدير بالذكر أن عدد الفطريات غير محدد حتي الآن فنجد أن بعض الفطريات لم تعزل بعد ولم يتم التعرف عليها حتي الآن.



يهمنا في مجال الأغذيه الأعفان والخمائر.

أولاً : الأعفان Moulds

هي فطريات خيطية عديدة الخلايا.

خصائص الأعفان

١- معظم الأعفان التى توجد فى الألبان و منتجاتها هوائية و احتياجتها الغذائية بسيطة.

٢- تستطيع أن تنمو فى مدى حرارى واسع يتراوح بين صفر- ٣٧ °م و درجة الحرارة المثلى حوالى ٢٧ °م.

٣- رقم الحموضة يتراوح بين ٢-٨,٥ ، ولكنها تفضل الوسط الحامضى، و تحتاج إلى ماء بكمية أقل من الكمية التى تحتاجها البكتيريا و الخمائر .

٤- تتكاثر جنسيًا بالجراثيم الجنسية (الجراثيم الزيجية Zygospores - الجراثيم الأسكية Ascospores) أما التكاثر اللاجنسى فيتم بالجراثيم الأسبورانجية Sporangiospores أو الكونيدية Conidiospores أو الأرثروية Arthrospores أو البلاستووية Blastospores أو الكلاميدية Clamydospores .

٥- تباد بسهولة بالحرارة.

تقسيم أعفان اللبن

تحت قسم *Deuteromycetes*

جنس الـ *Aspergillus*

الوضع التقسيمى:-

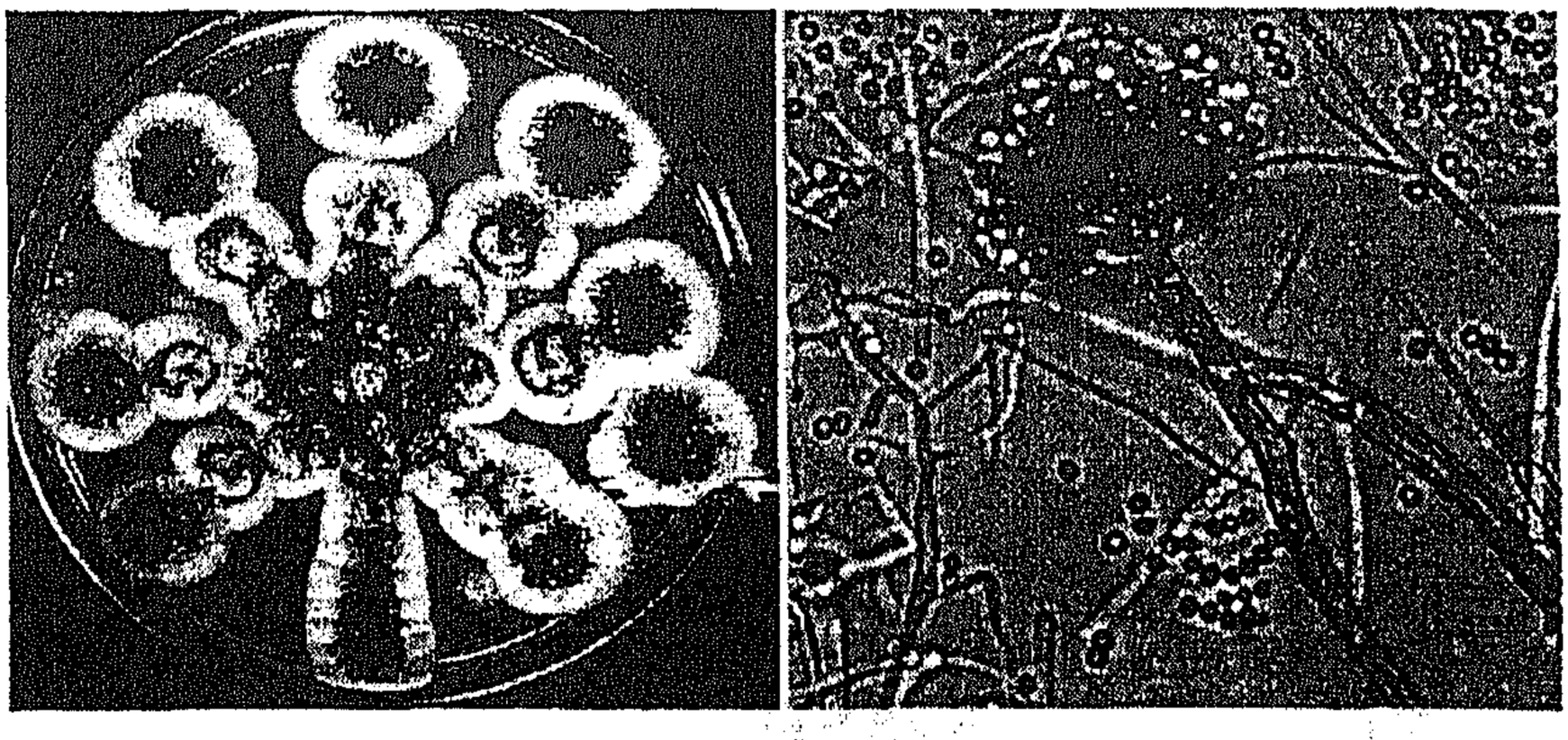
Kingdom: *Mycetae*
Division: *Eumycota* (*Eumycetes*)
Subdivision: *Deuteromycotina*
Order: *Monitiales*
Family: Monitiaceae
Genus: *Aspergillus*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

أهم ما يميزه وجود خلية القدم وهى تنتج من انتفاخ خلية من خلايا الميسيليوم و يزداد سمك الجدار و يخرج الحامل الكونيدي منها حاملا جراثيم كونيدية في سلاسل (شكل رقم ٣٠).

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لون الجراثيم الكونيدية يتراوح بين الأسود والبنى و الأخضر



شكل رقم (٣٠) : الـ *Aspergillus*

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

بعض أنواعه لها القدرة على إفراز السموم الفطرية Aflatoxins

١ـنوع الـ *Aspergillus niger*

يسبب فساد كثير من أنواع الجبن حيث ينمو على أسطح الجبن فى غرف التسوية معطيا لونا أسود.

٢ـنوع الـ *Aspergillus repens*

يسبب ظهور عيب الأزرار فى اللبن المكثف المحلى.

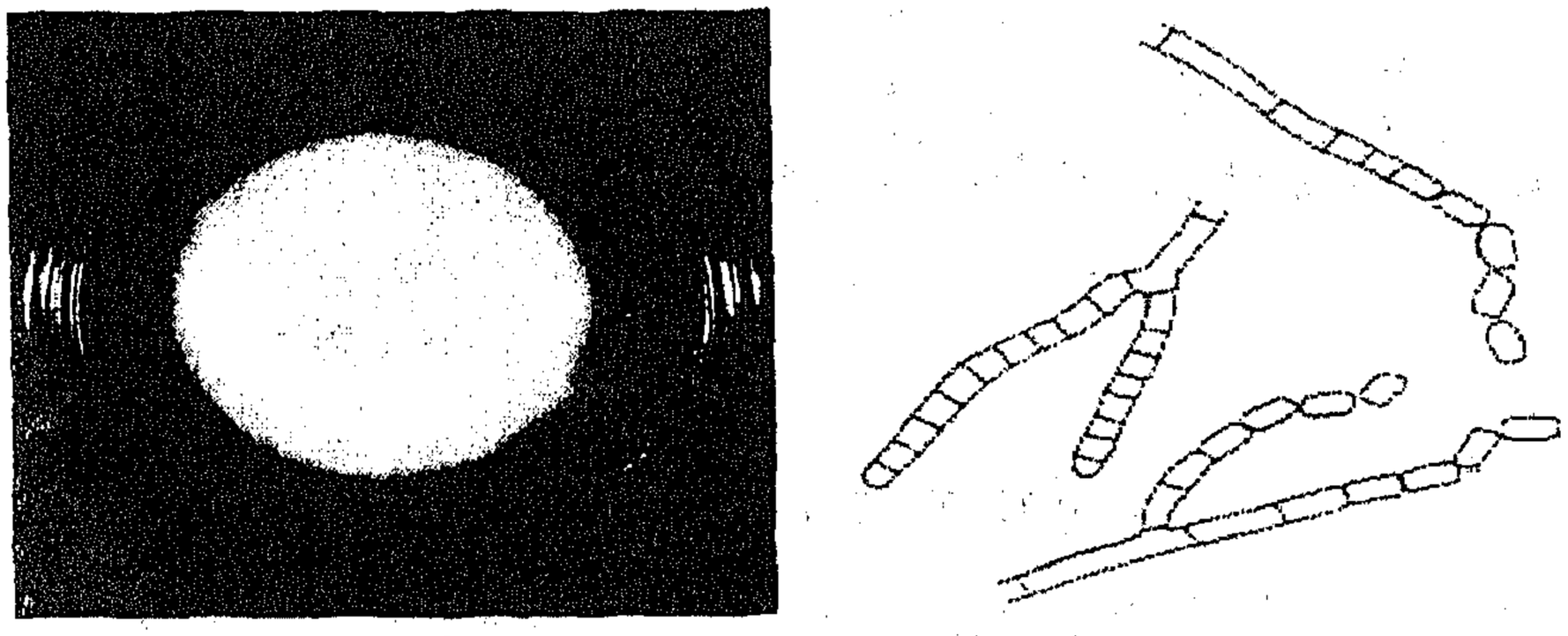
جنس الـ *Geotrichum*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Division: *Eumycota* (*Eumycetes*)
Subdivision: *Deuteromycotina*
Order: *Monitiales*
Family: Monitiaceae
Genus: *Geotrichum*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

أهم ما يميزه أن الهيفا مقسمه إلي جراثيم أرثوويه ،و قد تكون كروية أو بيضاية أو مستطيلة (شكل رقم ٣١).



شكل رقم (٣١) : الـ *Geotrichum*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لونه أبيض كريمي عند نموه علي منتجات الألبان .

الصفات الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يتحمل حرارة البسترة.

١ـ نوع الـ *Geotrichum candidum*

يعرف بعفن الماكينات أو فطر الألبان Dairy Molds ، و يسبب فساد الألبان المتخمرة و القشدة المتخمرة و الجبن القريش ، حيث يفضل الوسط الحامضى ، ويسبب الطعم الخميرى فى العديد من المنتجات اللبنية ، و وجوده فى المنتجات اللبنية يدل على عدم توفر شروط النظافة أو حدوث تلوث به بعد البسترة.

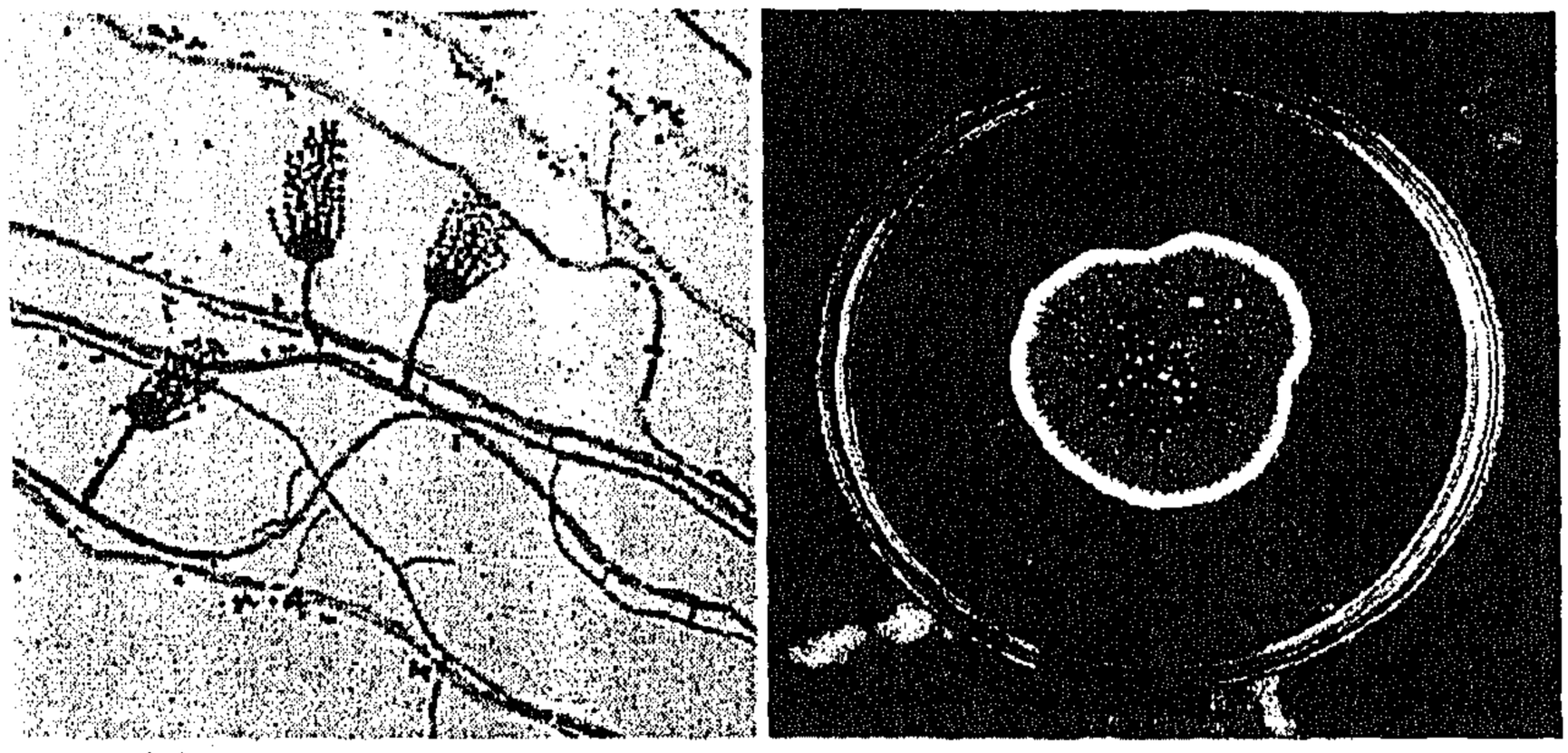
جنس الـ *Penicillium*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Division: *Eumycota* (*Eumycetes*)
Subdivision: *Deuteromycotina*
Order: *Monitiales*
Family: Monitiaceae
Genus: *Penicillium*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

أهم ما يميزه أن رأس الكونيديا تشبه المكنسة وأن الهيفا و الحامل الكونيدي مقسمة (شكل رقم ٣٢).



شكل رقم (٣٢) : الـ *Penicillium*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لونه أبيض كريمي عند نموه علي منتجات الألبان .

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يتحمل حرارة البسترة و ينتج سموم (أكثر من ١٠٠سم فطرى Aflatoxins).

١ـنوع الـ ***Penicillium camemberti***

يستخدم كبادىء فى تسوية الجبن الكاممبرت ، وأيضا جبن البراى Brie ، كما يشترك مع الـ *Aspergillus* فى تكوين ما يسمى بالأزرار (ميسيليوم العفن مع كازين اللبن) فى اللبن المكثف المحلى.

٢ـنوع الـ ***Penicillium roqueforti***

يستخدم كبادىء فى تسوية الجبن المعروفة بالجبن الأزرق مثل جبن الركفورد ، حيث يعطى لون أخضر مزرق.

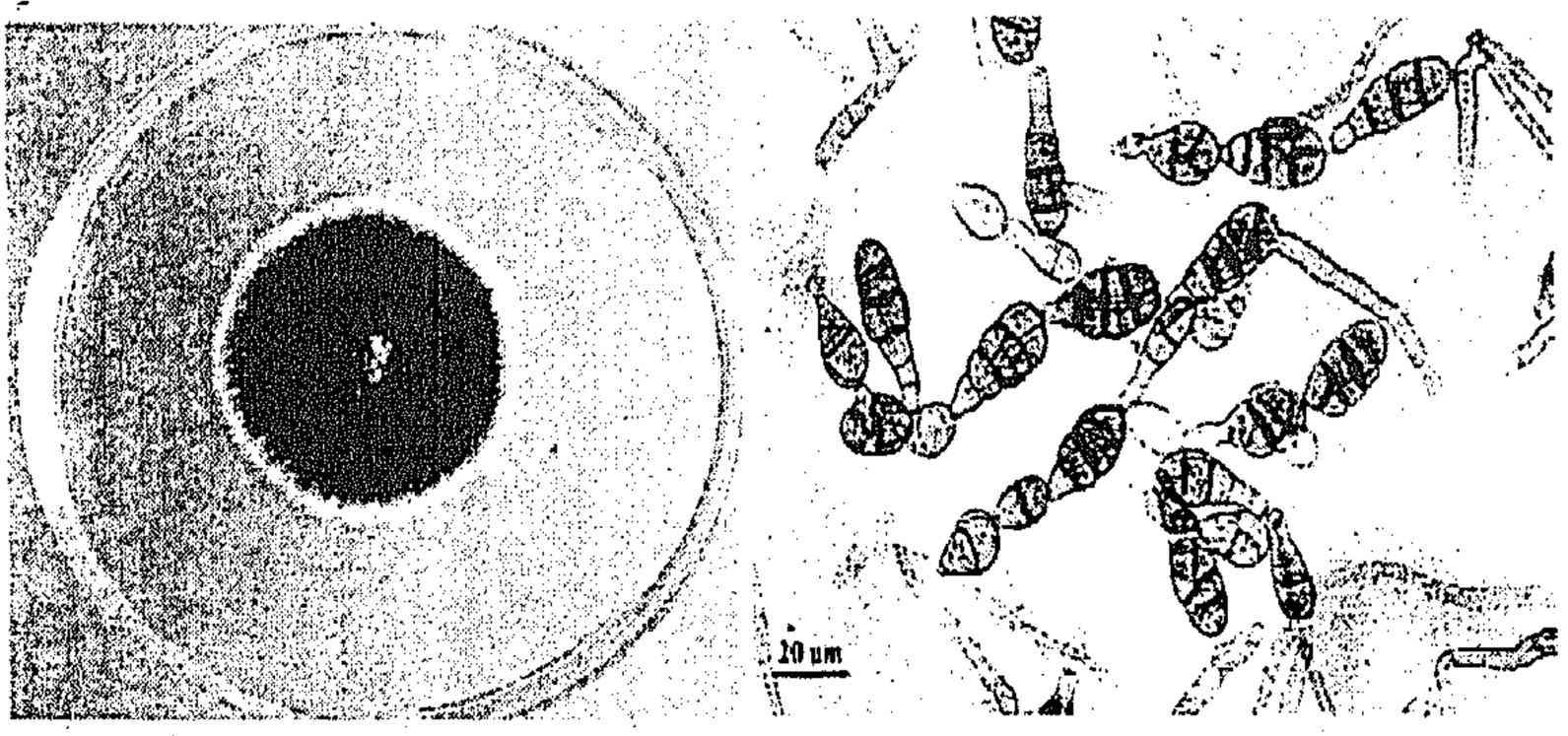
جنس الـ *Alternaria*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Division: *Eumycota* (*Eumycetes*)
Subdivision: *Deuteromycotina*
Order: *Monitiales*
Family: *Dematiaceae*
Genus: *Alternaria*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

أهم ما يميزه أن الهيفات مقسمه ذات لون رمادى مخضر و الكونيديا بيضاوية الشكل(شكل رقم ٣٣).



شكل رقم (٣٣) : الـ *Alternaria*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لونه غامق عند نموه علي الجبن و الزبد، ويظهر طعوم غير مرغوبة .

تحت قسم *Zygomycotina*

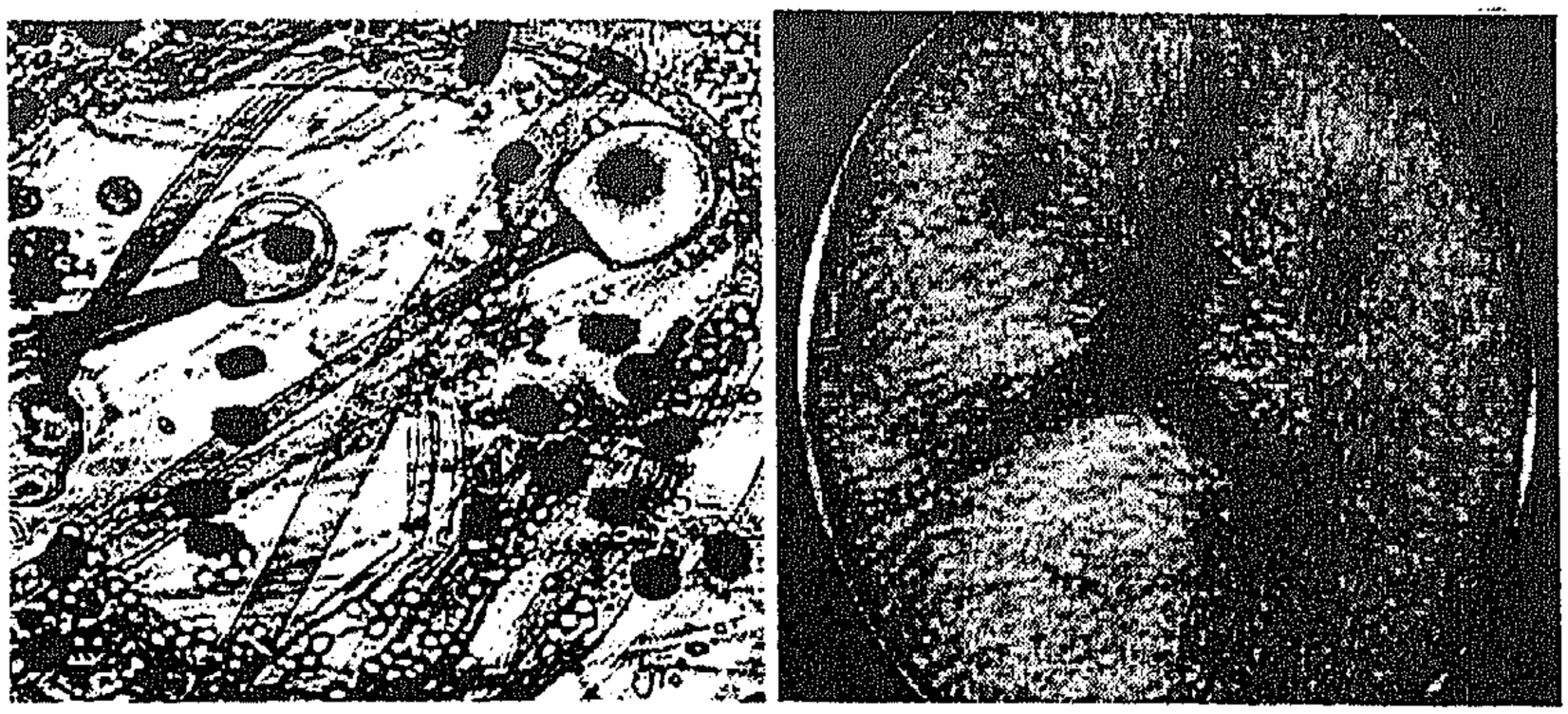
جنس الـ *Mucor*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Division: *Eumycota* (*Eumycetes*)
Subdivision: *Zygomycotina*
Class: *Zygomycetes*
Genus: *Mucor*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

أهم ما يميزه أن الهيفات غير مقسمه (شكل رقم ٣٤).



شكل رقم (٣٤) : الـ *Mucor*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لونه أسود عند نموه علي منتجات الألبان.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يتحمل حرارة البسترة.

١-نوع الـ *Mucor mucedo*

يؤدى إلى فساد جبن الكوخ و الزبد و ظهور بقع سوداء عليهم.

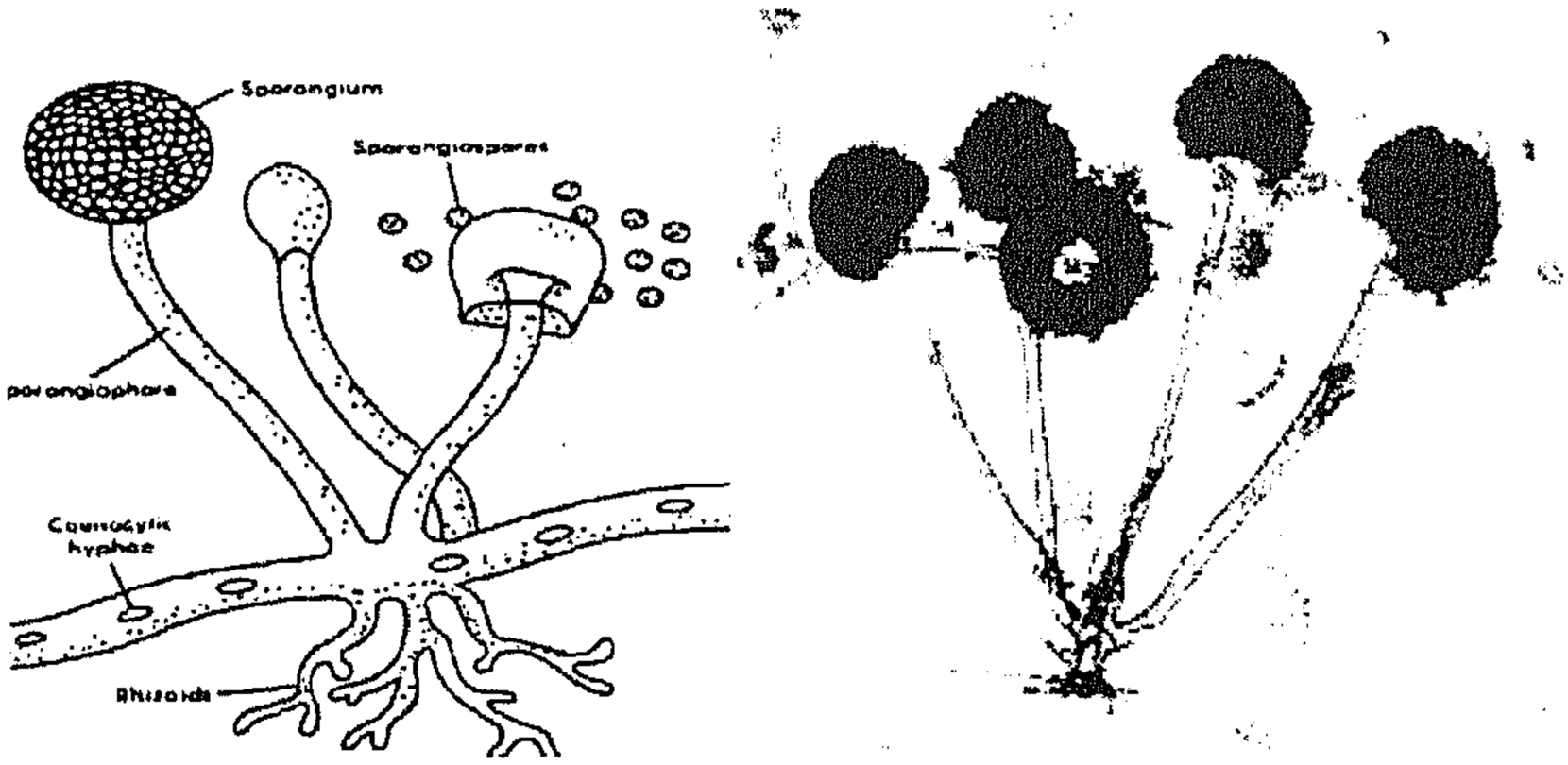
جنس الـ *Rhizopus*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Division: *Eumycota* (*Eumycetes*)
Subdivision: *Zygomycotina*
Class: *Zygomycetes*
Genus: *Rhizopus*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

أهم ما يميزه وجود أشباه الجذور و الهيفا غير مقسمة (شكل رقم ٣٥).



شكل رقم (٣٥) : الـ *Rhizopus*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لونه أسود عند نموه علي منتجات الألبان .

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يتحمل حرارة البسترة.

١ـنوع الـ ***Rhizopus mucedo***

أيضا هذا الجنس يؤدى إلى فساد الزبد و ظهور بقع سوداء عليهم.

١ـنوع الـ ***Rhizopus stolonifer***

هو عفن الخبز و يؤدى إلى تكوين بقع سوداء على الزبد و اسمه القديم *Rhizopus nigricans* ، و يستخدم كبادىء فى جبن الجاملوست Gammelost .

ثانيا : الخمائر Yeasts

هي فطريات وحيدة الخلية.

خصائص الخمائر

١- معظمها هوائية موجبة لصبغة جرام ، وغير متحركة و تحتاج إلى مصدر للكربون و النيتروجين كى تنمو.

٢- تستطيع أن تنمو فى مدى حرارى واسع يتراوح بين صفر-٤٧ °م و درجة الحرارة المثلى حوالى ٣٠°م.

٣- رقم الحموضة الأمثل يتراوح بين ٤-٤,٥، و تحتاج إلى ماء بكمية أقل من الكمية التى تحتاجها البكتيريا و كمية أكبر من التى تحتاجها الأعفان.

٤- تتكاثر جنسيًا بالإنقسام أو بالتبرعم (طرفى- جانبى متعدد- ثنائى الطرف) أما التكاثر اللاجنسى فيتم بالجراثيم الأسكية.

٥- حجم خلية الخميرة (٢-١٠ ميكرومتر) أكبر من حجم خلية البكتيريا.

تحت قسم *Ascomycotina*

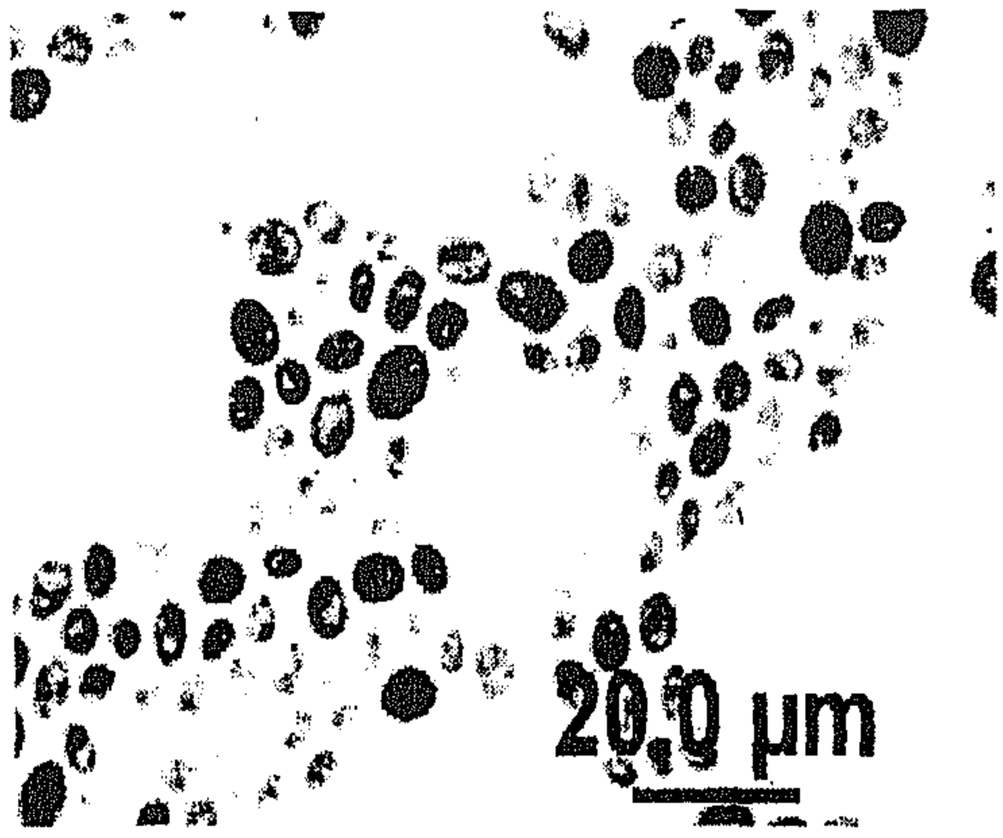
جنس الـ *Saccharomyces*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Subdivision: *Amastigomycotina*
Class: *Hemiascomycetes*
Order: *Endomycetales*
Family: *Saccharomycetaceae*
Genus: *Saccharomyces*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا كروية أو مستطيلة أو أسطوانية ، هوائى (شكل رقم ٣٦) .



شكل رقم (٣٦) : الـ *Saccharomyces*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لون المستعمرة أبيض أو كريمى ، ودرجة الحرارة المثلى له ٣٠ °م و لا ينمو على ٥ °م أو ٥٣ °م ،ويعد من الخمائر الحقيقة True Yeasts لأنه يتكاثر جنسيًا وينتج جراثيم أسكية ، كما يمكنه أن يتكاثر لا جنسى بالتبرعم الجانبى المتعدد.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يستطيع أن يخمر العديد من السكريات خاصة سكر القصب (السكروز) لذلك يسبب فساد العديد من الأغذية مثل الخيار والمايونيز و العسل و السكر.

١-نوع الـ *Saccharomyces lactis*

يسبب تلف منتجات الألبان حيث يقوم بتخمير سكر اللاكتوز و يكون غاز فى الجبن .

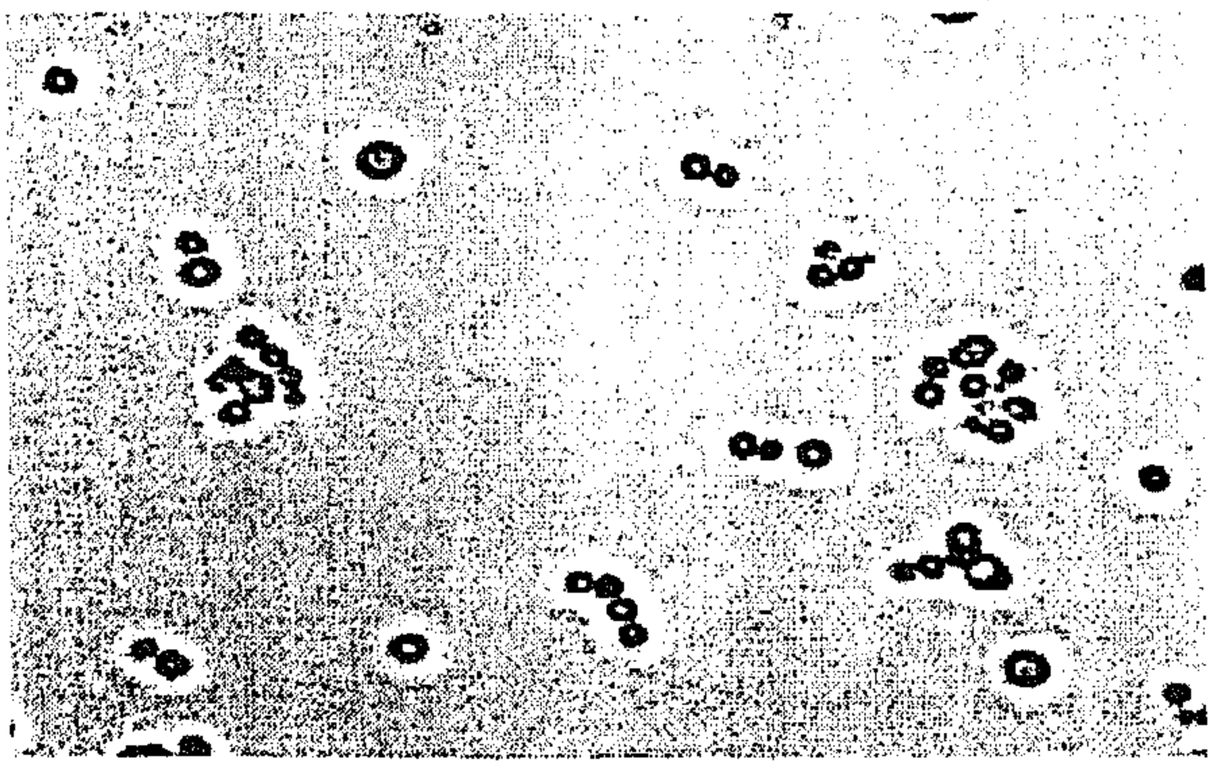
جنس الـ *Debaryomyces*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Subdivision: *Amastigomycotina*
Class: *Hemiascomycetes*
Order: *Endomycetales*
Family: *Saccharomycetaceae*
Genus: *Debaryomyces*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

كروى ، هوائى (شكل رقم ٣٧) .



شكل رقم (٣٧) : الـ *Debaryomyces*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

يعد من الخمائر الحقيقة True Yeasts لأنه يتكاثر جنسيًا وينتج جراثيم أسكية ، أيضا يمكنه أن يتكاثر لا جنسى بالتبرعم الجانبى المتعدد.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

لا يستطيع تخمير سكر اللاكتوز،ويستطيع النمو علي تركيز ١٩ % ملح، و لا يمكنه تمثيل النترات.

١ـنوع الـ ***Debaryomyces hansenia***

يسبب فساد الجبن خاصة الجبن الدمياطى أثناء التخليل و الجبن القريش.

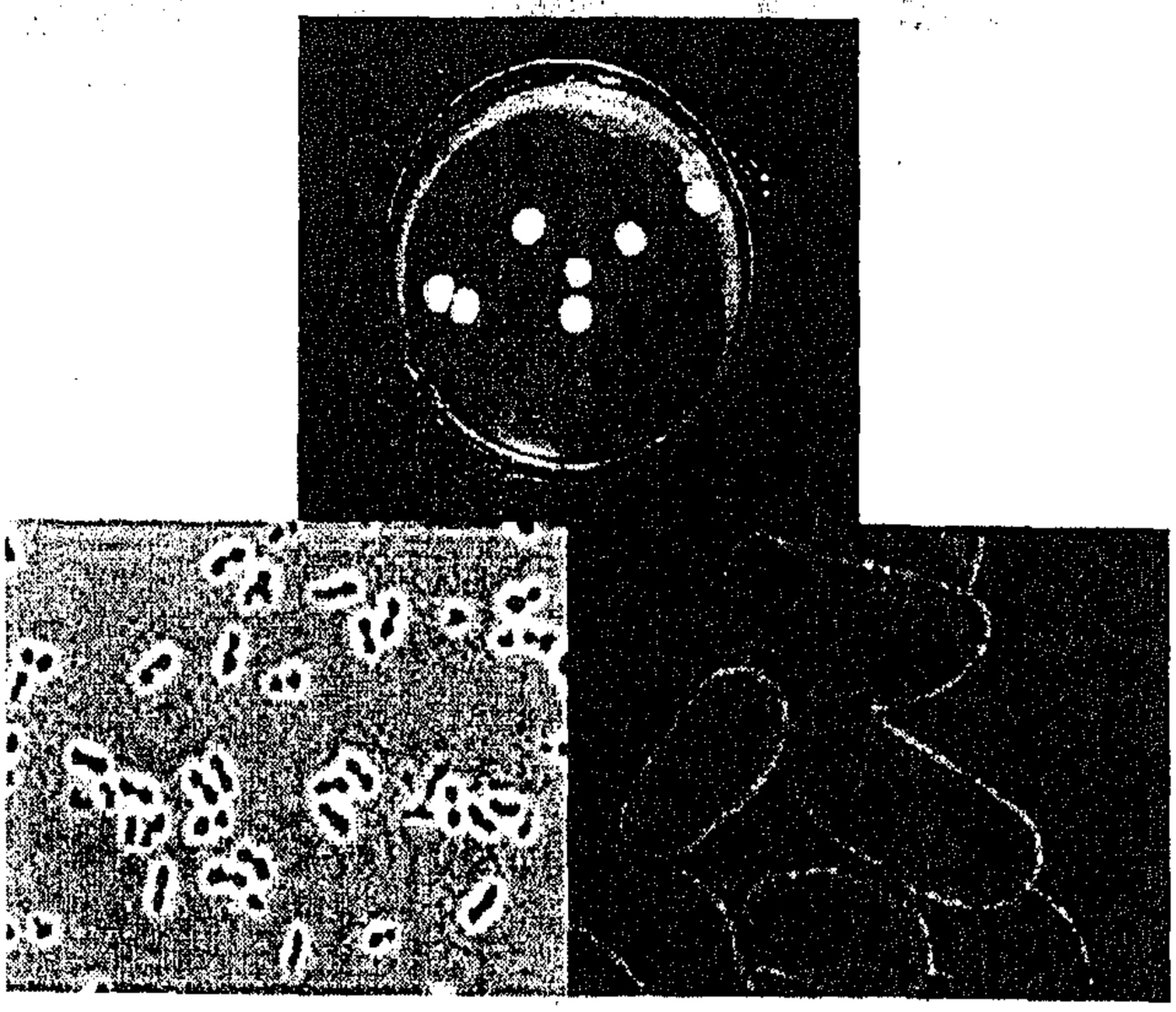
جنس الـ *Kluyveromyces*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Subdivision: *Amastigomycotina*
Class: *Hemiascomycetes*
Order: *Endomycetales*
Family: *Saccharomycetaceae*
Genus: *Kluyveromyces*

Morphology Charateristics الخصائص الظاهرية

خلاياه مستطيلة أو أسطوانية أو كروية ، هوائية (شكل رقم ٣٨).



شكل رقم (٣٨) : الـ *Kluyveromyces*

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

يستطيع أن ينمو فى مدى حرارى يتراوح بين ٥-٤٦ °م و درجة حرارته المثلى ٣٧ °م ،ويعد من الخمائر الحقيقة True Yeasts لأنه يتكاثر جنسيًا وينتج جراثيم أسكية ، أيضا يتكاثر لا جنسيًا بالتبرعم الجانبى المتعدد.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يستطيع تخمير سكر اللاكتوز ،ويستطيع النموعلي تركيز عالى من السكر و ليس له القدرة على تمثيل النترات.

١-نوع الـ *Kluyveromyces marxianus*

درجة حرارته المثلى ٣٧ ° م و إسمه القديم *Saccharomyces fragilis* ، و يسبب تلف منتجات الألبان مثل الجبن الإيطالى ، حيث يقوم بتخمير سكر اللاكتوز، كما إنه يدخل ضمن بادىء الكفير.

٢-تحت نوع *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*

لا يخمر اللاكتوز ،و يكون غازات فى الجبن ، كما يستخدم فى تخمير الشرش و إنتاج الكحول منه.

تحت قسم *Deuteromycotina*

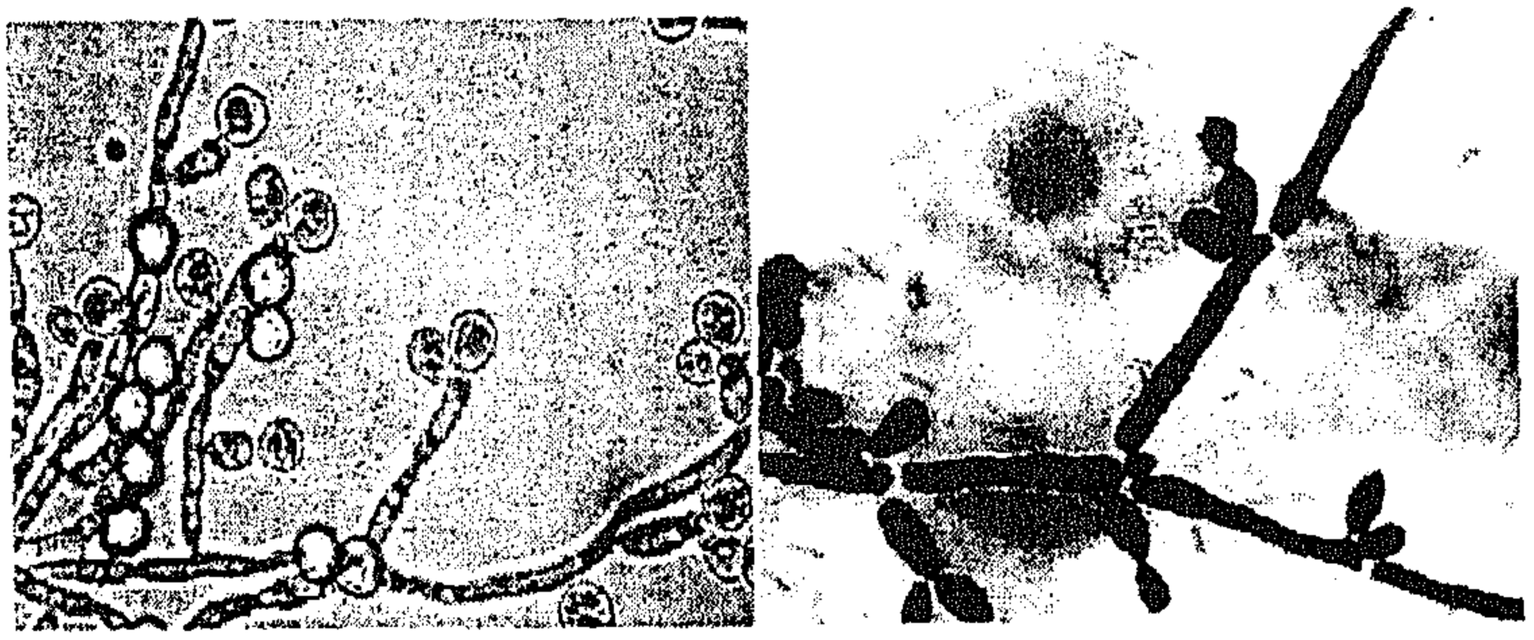
جنس الـ *Candida*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Subdivision: *Deuteromycotina*
Class: *Blastomycetes*
Family: *Cryptococcaceae*
Genus: *Candida*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا مستطيلة أو بيضاوية أو كروية ، هوائية (شكل رقم ٣٩).



شكل رقم (٣٩) : الـ *Candida*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

يستطيع أن ينمو فى مدى حرارى يتراوح بين ٥ - ٤٦ °م ،ويعد من الخمائر الكاذبة False Yeasts لأنه لا يتكاثر جنسيًا ، كما يمكنه أيضا أن يتكاثر لا جنسيًا بالتبرعم الجانبى المتعدد.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يستطيع تخمير سكر اللاكتوز ،ويستطيع النموعلى pH ٦,٥.

١-نوع الـ *Candida lipolytica*

يحلل الدهن حيث يفرز إنزيم الليباز و بالتالى يتلف الزبد ، كما يستخدم كبادىء فى تسوية جبن الركفورد.

٢-نوع الـ *Candida krusei*

له القدرة على النمو على أسطح منتجات الألبان و تكوين فيلما ، و يعمل على تنشيط بادئ حامض اللاكتيك، وذلك لانه يؤكسد حمض اللاكتيك ، كما أنه يقلل من تركيز الأكسجين.

٣ـنوع الـ ***Candida holmii***

يستخدم كبادىء فى صناعة الكفير، حيث يتواجد فى حبوب الكفير و يسبب نكهة الخميرة فى الزبد و اللبن الخض.

٤ـنوع الـ ***Candida lacticondensi***

يؤدى إلى انتفاخ عبوات اللبن المكثف المحلى و ذلك لأنه يكون غازات، وهو يخمر الجلوكوز و لا يستطيع أن يخمر المانيتول و اللاكتوز.

٥ـنوع الـ ***Candida kefyr***

يمكن أن يكتب *Candida kefir* و يخمر اللاكتوز و لا يستطيع أن يحلل النترات ، ويسبب فى ظهور عيب الطعم الخميرى فى القشدة و هو يدخل فى بادىء الكفير و اللبن الخض.

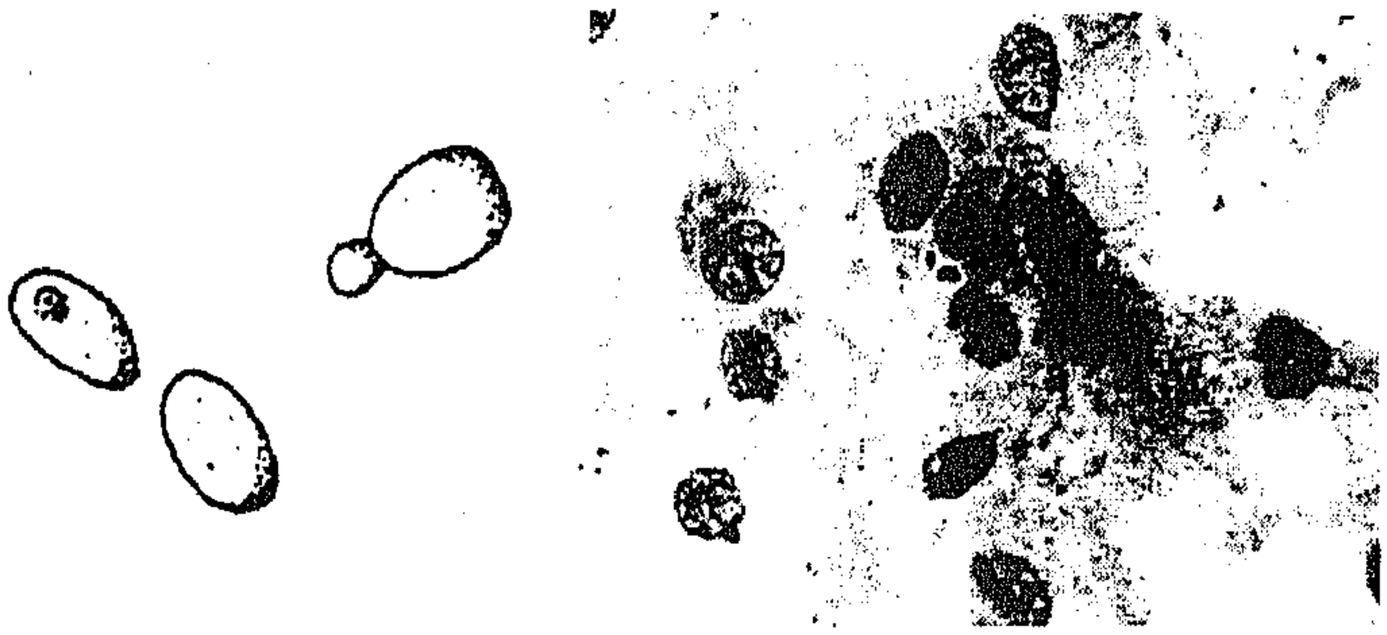
جنس الـ *Torulopsis*

الوضع التقسيمى:-

Kingdom: *Mycetae*
Subdivision: *Deuteromycotina*
Class: *Blastomycetes*
Family: *Cryptococcaceae*
Genus: *Torulopsis*

الخصائص الظاهرية Morphology Charateristics

الخلايا مستطيلة أو بيضاوية أو كروية ، هوائية (شكل رقم ٤٠) .



شكل رقم (٤٠) : الـ *Torulopsis*.

الخصائص المزرعية Cultural Charateristics

لـون المسـتعمرة أبـيض أو كريمـى ، و يشـمل مجموعـة مـن الخمـائر الكاذبـة False Yeasts و مجموعـة أخـرى الخمـائر الحقيقيـة True Yeasts ، أيضـا يتكاثر لا جنسيًا بالتبرعم الجانبى المتعدد.

الخصائص الفسيولوجية Physiology Charateristics

يتحمل تركيزات عالية من الملح تتراوح بين ٢-٢٢% ، و يسبب هذا الجنس فساد الجبن القريش حيث يكون لزوجة علي سطح الجبن كما يسبب فساد اللبن المكثف المحلي و القشدة والزبد.

١ـتحت نوع *Torulopsis lactis condensi*

يسبب فساد اللبن المكثف المحلي حيث يؤدى إلى انتفاخ العبوات.

٢ـنوع الـ *Torulopsis holmii*

يسبب فساد القشدة والزبد.

<u>الامتحان البعدى:-</u>

اختر إجابة واحدة:-

١-أعفان اللبن

A. هوائية تفضل pH ٣

B. لا هوائية تفضل pH ٣

C. هوائية تفضل pH ٩

٢-أعفان اللبن تحتاج الى الماء بكمية

A. أكبر من التى تحتاجها البكتريا

B. أقل من التى تحتاجها الخمائر

C. أكبر من التى تحتاجها الخمائر

٣-التكاثر الجنسى بأعفان اللبن يتم بـ

A. الجراثيم الزيجية

B. الجراثيم الأسكية

C. A و B معًا

٤-أعفان اللبن

A. مقاومة للحرارة

B. حساسة للحرارة

C. جميع الإجابات خطأ

٥-أهم ما يميز جنس الـ *Aspergillus*

A. وجود خلية القدم

B. إفرازه للسموم الفطرية

C. A و B معًا

٦- *Aspergillus repens* يسبب

A. لونًا أسود على الجبن

B. عيب الأزرار فى اللبن المكثف المحلى

C. A و B معًا

٧-يطلق على *Geotrichum candidum*

A. عفن الماكينات

B. فطر اللبن الأبيض

C. A و B معًا

٨-*Penicillium* يتميز بـ

A. رأس الكونيديا تشبة المكنسة

B. تنتج أكثر من ١٠٠ سم فطرى

C. A و B معًا

٩-الهيفات مقسمة و لونها رمادى مخضر و تكون لون غامق على الزبد و الجبن

A. *Alternaria*

B. *Mucor*

C. *Penicillium*

١٠-يستخدم كبادىء فى صناعة جبن الجاملوست Gammelost

A. *Rhizopus stolonifer*

B. Rhizopus mucedo

C. *Geotrichum candidum*

١١-خمائر اللبن معظمها

A. هوائية سالبة لصبغة جرام

B. لا هوائية موجبة لصبغة جرام

C. هوائية موجبة لصبغة جرام

١٢-درجة الحرارة المثلى لخمائر اللبن

A. ٣٥ م°

B. ٢٠ م°

C. ٣٠ م°

١٣-يتم التكاثر الجنسى فى خمائر اللبن

A. بالانقسام

B. بالتبرعم

C. A و B معًا

١٤-حجم خلية الخميرة

A. أكبر من حجم خلية البكتيريا

B. أصغر من حجم خلية البكتيريا

C. متساوية مع حجم خلية البكتيريا

١٥-تسبب غاز فى الجبن

A. *Saccharomyces lactis*

B. *Debaryomyces hansenia*

C. A و B معًا

١٦-يدخل ضمن بادىء الكفير

A. *Kluyveromyces marxians*

B. Candida kefir

C. A و B معًا

١٧-يسبب الطعم الخميرى فى القشدة

A. *Candida kefir*

B. *Candida holmii*

C. *Candida krusei*

١٨- *Torulopsis*

A. تسبب فساد اللبن المكثف المحلى

B. يسبب طبقة لزجة على سطح الجبن القريش

C. A و B معًا

١٩-يسبب انتفاخ فى عبوات اللبن المكثف المحلى

A. *Torulopsis lactis condense*

B. *Torulopsis holmii*

C. A و B معًا

٢٠-تنشط من نمو بكتيريا حمض اللاكتيك

A. لأنها تؤكسد حمض اللاكتيك

B. تقلل من تركيز الأكسجين

C. A و B معًا

الباب الخامس

ميكروبيولوجى البادئات

البادئات Starters

هى مزارع ميكروبية نقية قد تكون بكتيريا أوعفنًا أو خميرة أو خليطًا منهم ، تضاف عمداً إلى اللبن لإكساب المنتج اللبنى صفاتٍ مرغوبة .

وظائف البادئات:-

١) يقوم بإنتاج الحموضة بالكمية و السرعة المطلوبة فى المنتج اللبنى.

٢) يعمل على إنتاج مركبات النكهه المطلوبه فى المنتجات اللبنية.

٣) يقوم بإنتاج غاز ثانى أكسيد الكربون بمعدل ثابت فى الجبن.

٤) يعمل على مقاومة البكتيريوفاج(فيروس البكتيريا).

٥) يقوم بتكوين المواد اللزجة.

أنواع البادئات المستخدمة فى المنتجات اللبنية:-

١) بادئات لإنتاج النكهة Flavour

يجب أن تقوم البادئات بإنتاج طعم ورائحة مطابق لنوع التخمر ، لذلك يتم اختبار قدرتها على إنتاج مركبات الأسيتالدهيد و الداى أستيل(جدول ٥) .

٢) بادئات لإنتاج الحموضة Acidity

عملية إنتاج الحموضة أثناء تصنيع الجبن أو الألبان المتخمرة هامة جدًا و ذلك لأنها تؤثر بصورة مباشرة على القوام والتركيب المرغوب فى المنتجات اللبنية و لابد أن تصل الحموضة خلال ٧-٢٠ ساعة إلى ٠.٨% على حسب نوع البادىء و نوع المنتج اللبنى (جدول٦).

جدول(٥): أهم البادئات المستخدمة لإنتاج النكهة فى بعض المنتجات اللبنية.

المنتج	البادىء	بعض مواصفات نموه
الجبن السويسرى	*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*	ينمو على تركيز ٦,٥ % ملح ، و درجة حرارته المثلى ٣٥°م.
الجبن التشيدر	*Enterococcus durans* , *Enterococcus faecalis*	درجة حرارتهما المثلى ٣٨°م ، كما يمكنهما النمو على ٦,٥% ملح.
جبن الكاممبرت والبراى Brie	*Penicillium camemberti* و *Penicillium caseicolum*	درجة حرارتهما المثلى ٢٧°م ، و لونهما أبيض كريمى على سطح الجبن.
جبن الركفورد	*Penicillium roqueforti*	درجة حرارته المثلى ٢٧°م، يعطى لون أخضر مرزق على الجبن.
واللامبرجر Limburger	*Brevibacterium linens*	درجة حرارته المثلى ٢١°م ، و ينمو على ١٥ % ملح.
اليوغورت	*Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*	درجة حرارتهما المثلى ٤٢°م ، لا يستطيعا النمو على ٦,٥ % ملح.
القشدة المتخمرة و لبن الخض المتخمر	*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*	لا يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح ، درجة حرارته المثلى ٣٢°م.

جدول(٦): أهم البادئات المستخدمة لإنتاج الحموضة فى بعض المنتجات اللبنية.

المنتج	البادىء	بعض مواصفات نموه
الجبن السويسرى	*Enterococcus durans*	درجة حرارته المثلى ٣٨°م ، كما يمكنه النمو على ٦,٥% ملح.
اليوغورت	*Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*	درجة حرارتهما المثلى ٤٢°م ، لا يستطيعان النمو على ٦,٥ % ملح.
جبن الإمنتال	*Lactobacillus acidophilus*	درجة حرارته المثلى ٣٧°م ، لا يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح.
القشدة المتخمرة و لبن الخض المتخمر	*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*	لا يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح ، درجة حرارته المثلى ٣٢°م.
جبن الكوخ	*Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* و *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*	لا يستطيعان النمو على ٦,٥ % ملح ، درجة حرارتهما المثلى ٣٢°م

٣- بادنات لتكوين اللزوجة Ropiness

إن المواد الهلامية المتكونة بواسطة البادىء هى عبارة عن سكريات عديدة ، تكون الغلاف حول الخلية البكتيرية أو قد تفرز هذه المواد الهلامية اللزجة منفردة ، و وظيفة هذه المواد الهلامية اللزجة تحسين القوام للمنتج اللبنى النهائى (جدول٧).

جدول(٧): يوضح أهم البادئات المستخدمة لإنتاج اللزوجة فى بعض المنتجات اللبنية.

المنتج	البادىء	بعض مواصفات نموه
اليوغورت	*Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii* ssp.*bulgaricus*	درجة حرارتهما المثلى ٤٢°م ، لا يستطيعان النمو على ٦,٥ % ملح.
ألبان متخمرة علاجية	*Bifidobacterium bifidum*	درجة حرارته المثلى 37°م.
جبن الإمنتال	*Lactobacillus acidophilus*	درجة حرارته المثلى ٤٢°م ، لا يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح.

٤- بادئات لتكوين الغاز Gas

إن معدل تكوين الغاز لابد أن يكون مناسبًا بالكمية والسرعة المطلوبة ، لأن تكوين الغاز بكمية كبيرة يؤثر سلبيًا على طعم و قوام الجبن.

جدول(8): أهم البادئات المستخدمة لتكوين الفلزات فى بعض المنتجات اللبنية.

المنتج	البادىء	بعض مواصفات نموه
الجبن السويسرى	*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*	ينمو على تركيز ٦,٥ % ملح ، و درجة حرارته المثلى ٣٥°م.
جبن الإمنتال	*Lactobacillus acidophilus*	درجة حرارته المثلى ٤٢°م ، لا يستطيع النمو على ٦,٥ % ملح.
جبن الركفورد	*Penicillium roqueforti*	درجة حرارته المثلى ٢٧°م و يعطى لون أخضر مرزق على الجبن.

طرق تنشيط بادىء الإضافة فى مصانع الألبان:-

تقسم طرق تنشيط بادىء الإضافة فى مصانع الألبان إلى طريقتين ، الأولى هى الطريقة التقليدية التى تستخدم لإنتاج كميات كبيرة لكنها تستغرق وقتا طويلاً و تكون عرضة للتلوث بالبكتيريوفاج ، أما الثانية فهى الطريقة الحديثة .

أولاً: الطريقة التقليدية لتنشيط بادىء الإضافة فى مصانع الألبان

١- يجرى تلقيح المزرعه الأم Mother culture بنسبة ١-٢% من المزرعه التجارية stock culture التى قد تكون فى صورة سائلة (

١٠ ^٨ خلية/مل) أو صورة مجفدة (١٠ ^٩ خلية/جم) أما الصورة المركزة المجمدة (١٠ ^١٠ خلية/ جم) والصورة المركزة المجفدة (١٠ ^١١ خلية/ جم) فيتم التلقيح بهما مباشرة فى تنك بادىء الإضافة (سعته ٥٠٠- ١٠٠٠ لتر).

٢- يجرى تلقيح المزرعه الوسيطة Intermediate بنسبة ١-٢% من المزرعه الأم Mother culture.

٣- . تضاف المزرعة الوسيطة إلى تنك بادىء الإضافة بنسبة ١-٢%.

ثانيا: الطريقة الحديثة لتنشيط بادىء الإضافة فى مصانع الألبان

هى طريقة جونز ، حيث يجرى تنشيط بادىء الإضافة فى تنك يشبه المخمر و يتوفر فيه الشروط التالية:-

١- أن يكون وعاء التخمر مجهزاً لاستيعاب و تحمل حجم وضغط اللبن أو البيئة القابلة للتخمر.

٢- إذا كانت عملية التخمر هوائية يجب أن يزود تنك التخمر بوسيلة تهوية تضمن دخول الهواء بصورة معقمة سواء باستخدام الحرارة أو باستخدام وحدة ترشيح الهواء.

٣- يجب أن يزود المخمر بوسائل لسحب بادىء الإضافة النهائي وذلك عن طريق مواسير ومضخات بأسفل تنك التخمر.

٤- لابد من مراقبة درجة الحرارة داخل تنكات التخمر بواسطة ثيرموستات .

٥- يجب أن يتوفر في تنك التخمر فتحة محددة لإضافة المزرعة النقية حتي لا يحدث تلوث.

٦- يجب أن يحتوي الـ Fermentorعلى وسائل لتنقية وتعقيم البيئة الغذائية المستخدمة فى عملية التخمر.

٧- يجب ألا تكون هذه الأوعية قابلة لنقل بعض المعادن السامة للبيئة القابلة للتخمر.

٨- بعد إجراء تفريغ تنك التخمر يجب إجراء عملية الغسيل والتعقيم والتطهير.

وهى تتم كالتالى:-

١- يجرى تعقيم البيئة المستخدمة فى التنشيط على ٩٠ °م لمدة ١٥ دقيقة و ذلك بهدف قتل الفاج و الكائنات الحية الدقيقة و خفض جهد الأكسدة و الاختزال ، بالإضافة إلى تثبيط المواد التى تعمل على تثبيط البادىء مثل اللاكتوفيرين و الجلوبيولينات و نظام اللاكتوبيروكسيديز وإنزيم الليزوزيم ، كما أن المعاملة الحرارية تؤدى إلى دنترة بروتينات الشرش فتزيد مقدرتها على الأرتباط بالماء و بالتالى تقلل من إنفصال الشرش كما يؤدى إلى انطلاق مجاميع السلفاهيدريل التى تزيد من نشاط بكتيريا البادىء.

٢- يتم ترشيح الهواء بعد تبريد اللبن لتجنب التلوث بالكائنات الحية الدقيقة.

٣- إجراء خطوة التلقيح من خلال الفتحة المخصصة لذلك بنسبة ٠,٥-٢ % على حسب نوع وحالة البادىء.

٤- يجرى التحضين على درجة الحرارة المثلى وهذه تتوقف على نوع البادىء المراد تنشيطه ، فمثلاً بادىء اليوغورت يحتاج ٤٢°م لمدة ٢-٣ ساعات ، أما البادئات المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة فهى تحتاج الى ٢١ °م لمدة ١٥-١٨ ساعة.

٥- سحب البادىء أو تبريده فى نفس التنك لحين الاستخدام الى ٤-٥°م لمدة لا تزيد ٤٨ ساعة حتى لا يقل نشاطه.

اختبارات جودة بادىء الإضافة:-

١- الاختبارات الحسية

تتم يوميا بواسطة أشخاص متخصصين ذوى خبرة فى هذا المجال عن طريق تقدير كل من النكهة (الطعم و الرائحة) ، بحيث تكون رائحته حامضية خفيفة خالية من أى رائحة غريبة و القوام ناعم متجانس لا يوجد به كتل ظاهرية وخلوه من الفجوات الهوائية و الثقوب ، بالإضافة إلى عدم وجود شرش منفصل.

٢- الاختبارات الكيماوية

تجرى هذه الاختبارات بهدف تقدير المركبات المسئولة عن النكهه سواء الأستوين Acetion فى حالة البادئات المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة أو الأسيتالدهيد فى حالة بادىء اليوغورت ، كما يتم تقدير الحموضة.

٣- الاختبارات الميكروبيولوجية

وهى عبارة عن:-

١- تقدير عدد بكتيريا حمض اللاكتيك

٢- تقدير عدد مجموعة الكوليفورم

٣- تقدير عدد الخمائر

٤- تقدير عدد الفطريات

بالإضافة إلى الفحص المورفولوجى للكائنات الحية الدقيقة.

مشاكل البادئات فى المصانع:-

١- زيادة كمية الحموضة المنتجة

إذا زادت الحموضة عن ٠,٨ % فإن هذا يرجع إلى زيادة كمية البادىء أو إلى إرتفاع درجة الحرارة المستخدمة فى التحضين أو إلى طول فترة التحضين.

٢- إنتاج الطعم المعدنى

إن نمو بكتيريا الـ *Leuconostoc* فى البادىء يؤدى إلى ظهور هذا الطعم ، أو إلى تأثير حمض اللاكتيك على جدار العبوة المعدنية ، كما قد يرجع هذا الطعم إلى التلوث بالمعادن.

٣- إنفصال الشرش

إن زيادة كمية الحموضة المنتجة بواسطة البادىء تعمل على زيادة إنفصال الشرش ، كما أن حدوث إهتزاز للعبوات أثناء فترة التحضين قد يؤدى إلى إنفصال الشرش ،بالإضافة إلى قلة الجوامد الكلية فى اللبن أو عدم إجراء عملية التجنيس للبن .

٤- عدم تكوين المركبات المسئولة عن النكهه

وجد أن زيادة فترة التحضين تؤدى إلى إستهلاك مركبات الطعم و الرائحة بواسطة بعض أنواع الـ *Leuconostoc* ،أما إرتفاع درجة حرارة التحضين عن ٣٢°م تؤدى إلى تقليل نشاط البادىء المسئول عن تكوين الطعم و الرائحة.

كما يحدث اختزال الـ 2,3 butyleneglycol إذا حفظت البادئات لفترة طويلة على درجة حرارة الثلاجة ، و وجود بقايا المطهرات و المنظفات و المضادات الحيوية تؤثر على البادىء وبالتالى تؤثر على إنتاج مركبات الطعم و الرائحة.

٥- قلة تكوين الحموضة

إذا كانت الحموضة المتكونة أقل من ٠,٧ % فإن ذلك يرجع إلى العديد من الأسباب أهمها:-

١- عدم إجراء المعاملة الحرارية للبن بكفاءة و بالتالى عدم تثبيط المواد المثبطة للبادىء و المتواجدة طبيعيا باللبن.

٢- أن درجة حرارة التحضين المستخدمة غير مناسبة للبادىء.

٣- وجود بقايا من المضادات الحيوية المستخدمة فى علاج الحيوانات المصابة بحمى الضرع.

٤- وجود بقايا المطهرات و المنظفات المستخدمة لتنظيف و تطهير الأوعية و الأدوات المستخدمة فى عملية الحليب.

٥- التلوث بالفاج أو البكتيريوفاج وسوف نتحدث عنه بشىء من التفصيل.

الفاج phage

يطلق علية أيضا البكتيريوفاج Bacteriophage وهوفيروس (غلاف بروتينى يوجد بداخله الحمض النووى و يعرف الحمض النووى بأنه الجينوم الذى يحتوى على المعلومات الوراثية لتضاعف البكتيروفاج و إحداث العدوى) يصيب البكتيريا وهو يسبب مشكلة كبيرة فى مصانع الألبان.

مشكلة الفاج أو البكتيريوفاج فى مصانع الألبان:-

فى مصانع الألبان تقوم صناعة الجبن و الألبان المتخمرة على البادئات التى تقوم بعملية التخمر لإنتاج حامض اللاكتيك ، ولكن وجد أن البكتيريوفاج يهاجم بكتيريا البادىء ويؤثر على عملية التخمر و إنتاج حامض اللاكتيك تبعاً لنوع الفاج كما يلى:-

١- الفاجات الفعالة تؤدى إلى تحلل خلايا البادىء وتوقف النمو وإنتاج الحامض تماماً.

٢- الفاجات غير الفعالة و الفاجات الخيطية لا تحلل خلايا البادىء ، لكنها تؤثر على إنتاج الحامض أثناء صناعة الجبن.

تقسيم الفاج أو البكتيريوفاج أو الفيروسات البكتيرية

يمكن تقسيم البكتيريوفاج مورفولوجيا إلى ٦ مجاميع هى:-

١- مجموعة A :-

تتميز هذه المجموعة بأن لها رأسًا سداسى الأبعاد و ذيلاً صلب ذو غمد قابل للانقباض يحمل فى نهايته أليافاً ، كما تحتوى على جينوم من الـ DNA المزدوج السلسلة.

٢- مجموعه B :-

هذه المجموعه أيضًا لها رأس سداسى الأبعاد ، لكن الذيل مرن ولا يوجد غمد قابل للانقباض و قد يوجد ألياف للذيل و قد لا يوجد ، كما تحتوى على جينوم من الـ DNA المزدوج السلسلة.

٣- مجموعة C :-

أهم ما يميز هذه المجموعه عن المجموعه B هى أن الذيل أقصر من الرأس السداسى الأبعاد ، كما تحتوى على جينوم من الـ DNA المزدوج السلسلة..

٤- مجموعه D :-

هذه المجموعه يكون الفاج عبارة عن رأس (وحدات بنائية Capsomeres كبيرة) بدون ذيل ، كما تحتوى على جينوم من الـ DNA المنفرد السلسلة.

٥- مجموعه E :-

مثل المجموعه D ، عدا أن الرأس عبارة عن وحدات بنائية Capsomeres صغيرة ، كما تحتوى على جينوم من الـ RNA المنفرد السلسلة.

٦- مجموعه F :-

فى هذه المجموعه يكون البكتيريوفاج خيطى، كما تحتوى على جينوم من الـ DNA المنفرد السلسلة.

علاقة الفاج أو البكتيريوفاج (الفيروسات البكتيرية) بالبكتيريا:-

١ - الفاجات الفعالة Virulent phages

إصابة البكتيريا بهذه الأنواع من الفاجات يبدأ بحدوث ادمصاص الفاج Phage Adsorption ، وهناك العديد من العوامل التى تؤثر على هذه العملية مثل زيادة كمية الأملاح فى البيئة يقلل من عملية الأدمصاص ،كذلك وجود أجسام مضادة للبكتيريا يمنع الأدمصاص لأن هذه الأجسام تغطى مناطق إستقبال الفاج على الخلية البكتيرية، أيضا وجود الإندول يعيق عملية الإدمصاص ، كذلك حدوث طفرة للفاج يجعله قادر على الإدمصاص كما أن الفاج لا يستطيع أن يعمل إدمصاص على جدار الخلايا البكتيرية الكبيرة فى السن و وجود التربتوفان على جدار الخلية البكتيرية يشجع من عملية الإدمصاص.

فى المرحلة التالية يبدأ الفاج بعد ذلك بحقن الحمض النووى DNA injection داخل الخلية البكتيرية ويلى ذلك حدوث تضاعف للفاج Phage Multiplication داخل الخلية البكتيرية ، بعد ذلك يحدث تحلل للخلية البكتيرية و انطلاق الفاج phage release ، و يطلق على الفترة من الإصابة بالفاج حتى انطلاق الفاج بفترة الكمون Latent period ، و قد يصل عدد وحدات الفاجات الناتجة عند تحلل الخلية البكتيرية إلى ١٠٠.

٢ - الفاجات غير الفعالة Avirulent phages

يطلق عليها فاجات معتدلة أو ليسوجينية Temperate or Lysogenic phages وعند الإصابه بهذا النوع يحدث تكامل DNA الفاج عند موقع معين مع كروموسوم الخلية البكتيرية ويصبح الحمض النووى للفاج محمولاً على كروموسوم الخلية البكتيرية و يعرف بالفاج الأولى Prophage ولا يؤدى إلى تحلل الخلية البكتيرية و ينقسم مع إنقسام الخلية البكتيرية و ينتقل من جيل إلى أخر وقد يتحول مع الوقت إلى فاج فعال.

٣- الفاجات الخيطية

هذه الأنواع تتضاعف داخل الخلية البكتيرية ولا تستطيع تحليل جدارها ، لكنها تتسرب خلال جدار الخلية البكتيرية إلى الخارج.

مقاومة البكتيريا للإصابة بالبكتيريوفاج أو الفاج:-

تتم مقاومة البكتيريا عن طريق:-

١- البكتيريا نفسها حيث تمتلك إنزيمات قطع داخلى Restriction Endonucleases تعمل على تقطيع الحمض النووى للبكتيريوفاج ، مما تفقده قدرته على إصابة البكتيريا العائل.

٢- الخلية البكتيرية العائل لا تمتلك مركز الاستقبال المتخصصة قد تكون من الليبوبولى سكاريد Lipopolysaccharide أو من الليبو بروتين Lipoprotein للادمصاص.

٣- أن البكتيريا البادىء تدمص البكتيريوفاج و يحدث لها الإصابة وتقتل ولكن لا ينتج بكتيريوفاجات جديدة وهذه هى ظاهرة الإصابة المجهضة Abortive Infection ،و بالتالى فإن هذه البكتيريا العائل تحمى باقى البادىء البكتيرى من الإصابة.

كشف وعد جزنيات البكتيريوفاج

Detection and Enumeration of Bacteriophage

أولاً : طريقة تثبيط الحموضة Acid Inhibition

يمكن الكشف عن البكتيريوفاج بقياس مقدرة البكتيريا العائل على إنتاج حموضة، حيث يتم إضافة التخفيف المناسب إلى عينات لبن معقم ويلقح ببكتيريا العائل (مصدر البكتيريوفاج) المناسب ويجرى التحضين على ٣٧° م وبعد

فترة معينة يتم المقارنة بين الـ pH الخاص بالعينة والـ pH الخاص بالكنترول (خالى من مصدر البكتيريوفاج) فإذا كان الفرق ≤ ٠,٣ وحدة pH فإن ذلك يدل على الإصابة بالبكتيريوفاج .

ثانيا: طريقة عد البقع الرائقة Plaque Count

الأساس العلمى فى هذه الطريقة أن البكتيريوفاج له فعل محلل لبكتيريا البادىء مما ينتج عنه منطقة رائقة Plaque (مستعمرات البكتيريوفاج) ، وتتم هذه الطريقة بإجراء طرد مركزى للبادىء ويؤخذ الشرش ليرشح بالميليبورفلتر (٠,٤٥ ميكرون) ثم يجرى التخفيف المناسب و يصب فى أطباق بترى تحتوى بيئة M_{17} أو MRS ويجرى التحضين على ٣٧°م لمدة ٥ ساعات فتظهر المناطق الرائقة وبالتالى يمكن معرفة عدد جزئيات البكتيريوفاج لكل ١ مل من الشرش.

الوضع التقسيمى للفيروسات:-

لقد قامت اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات International Committee on Toxonomy of Viruses فى عام ٢٠٠٠ م بتقسيم الفيروسات إلى أربع مجاميع بناءاً على خصائص مشتركة كما يلى:-

١- مجموعة الفيروسات المحتوية على DNA مزدوج السلسلة

٢- مجموعة الفيروسات المحتوية على DNA منفرد السلسلة

٣- مجموعة الفيروسات المحتوية على RNA مزدوج السلسلة

٤- مجموعة الفيروسات المحتوية على RNA منفرد السلسلة

وفى مجال الألبان تهمنا الفيروسات التى تتبع المجموعه الأولى ،والتى سوف نتحدث عنها بشىء من التفصيل.

الوضع التقسيمى للبكتيريوفاجات التى لها علاقة بمجال الألبان:-

Group I: ds DNA viruses

Order: *Caudovirales*

Family: *Siphoviridae*

تضم هذه العائلة البكتيريوفاجات التى تصيب كل من *Lctococcus lactis* و *Leuconostoc* و *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus* ssp. *bulgaricus* .

جدول(٩): يوضح أهم الفروق بين هذه البكتيريوفاجات.

نوع البكتيريوفاج	شكل الرأس	شكل الذيل
بكتيريوفاج الـ *Lctococcus lactis*	الرأس سداسى الأبعاد ، قطرها ٤٥-٦٥ نانوميتر.	الذيل مرن غير قابل للانقباض و طوله يتراح بين ١٠٠-٢٥٠ نانوميتر.
بكتيريوفاج الـ *Leuconostoc*	الرأس سداسى الأبعاد ، قطرها ٥٥-٨٧ نانوميتر.	الذيل مرن غير قابل للانقباض .
بكتيريوفاج الـ *Streptococcus thermophilus*	الرأس سداسى الأبعاد ، قطرها ٥٠-٧٠ نانوميتر.	الذيل مرن غير قابل للانقباض و طوله يتراح بين ٢٠٠-٣٠٠ نانوميتر.
بكتيريوفاج الـ *Lactobacillus* ssp. *bulgaricus*	الرأس سداسى الأبعاد.	الذيل مرن قابل للانقباض و طوله يتراح بين ١٦٠-٢٦٠ نانوميتر.

الوقاية من الفاج Control of phage

١- لابد أن تكون أماكن حفظ البادىء ذات ضغط مرتفع عن طريق إستخدام هواء معقم ، وأن تكون بعيدة عن العمال المتعاملين مع اللبن الخام والشرش.

٢- لابد من العناية عند إختيار سلالة البادىء فلابد أن تكون مقاومة للبكتيريوفاج.

٣- لابد من إستخدام المنفحة مع البادىء لزيادة حماية البادىء من البكتيريوفاج.

٤- لابد من إجراء معاملة حرارية مناسبة للبن المستخدم فى إنتاج بادىء الصناعة.

٥- لابد من تعقيم حجرة تجهيز البادىء .

٦- لابد من أن يتم تنشيط البادىء فى بيئات مثبطة لنمو البكتيريوفاج (مثال إستخدام بيئة خالية من الكالسيوم عند تنشيط *Lactococcus lactis*، حيث أن البكتيريوفاج الذى يصيب هذه البكتيريا يحتاج إلى الكالسيوم) و فى أوعية و أدوات مطهرة و معقمة و تحت ظروف تعقيم جيدة.

٧- لابد من إستخدام نظام التناوب اليومى لسلالات البادىء المقاومة للبكتيريوفاج.

الامتحان بعدى:-

اختر إجابة واحدة

١-من مواصفات البادىء الجيد

A. إنتاج الحموضة بالكمية و السرعة المطلوبة

B. إنتاج CO_2 بمعدل ثابت

C. A و B معًا

٢- *Enterococcus durans* تستخدم فى الجبن التشيدر

A. لإنتاج النكهه

B. لإنتاج الغاز

C. A و B معًا

٣-تستخدم الـ *Propionibacterium* فى صناعة الجبن السويسرى بهدف

A. إنتاج العيون

B. إنتاج الحموضة

C. A و B معًا

٤-عند تنشيط بادىء الإضافة بطريقة جونز تعقم البيئة على

A. ٨٥ °م لمدة ١٠ ق

B. ٩٥ °م لمدة ١٥ ق

C. ٧٢ °م لمدة ١٥ ث

٥-عند تنشيط بادىء الإضافة يلقح بنسبة

A. تتراوح بين ١ – ٢ %

B. تتراوح بين ٠,٥ – ٢ %

C. تتراوح بين ٢ – ٤ %

٦-من الاختبارات الحسية التى تجرى على بادىء الإضافة إختبار

A. الطعم

B. الرائحة

C. A و B معًا

٧-إن زيادة الحموضة المتكونة بالبادىء ترجع الى

A. زيادة كمية البادىء

B. طول فترة التحضين

C. A و B معًا

٨-الطعم المعدنى ببادىء الإضافة يرجع الى

A. تلوثه بالمعادن

B. تلوثه بـ *Leuconostoc*

C. A و B معًا

٩-البادىء فشل فى تكوين الحموضة إذا انخفضت عن

A. ١%

B. ٠,٧%

C. ٠,٥%

١٠-يرجع عدم تكون مركبات الطعم و الرائحة فى بادىء الإضافة إلى

A. إرتفاع حرارة التحضين

B. إستهلاك مركبات الطعم و الرائحة بواسطة *Leuconostoc*

C. A و B معًا

١١-فيروس يصيب البكتيريا

A. Phage

B. Bacteriophage

C. A و B معًا

١٢-الفاجات الفاعلة تعمل على

A. تحليل البادىء

B. وقف إنتاج الحامض

C. A و B معًا

١٣-من العوامل التى تؤثر على إصابة البكتيريا بالفاج

A. زيادة كمية الأملاح

B. وجود أجسام مضادة للبكتيريا

C. A و B معًا

١٤-يطلق على الفاجات غير الفعالة

A. فاجات معتدلة

B. فاجات ليسوجينية

C. A و B معًا

١٥-يكشف عن البكتيريوفاج

A. بطريقة تثبيط الحموضة

B. بطريقة العد القياسى بالإطباق

C. A و B معًا

١٦-للوقاية من البكتيريوفاج يتم استخدام

A. سلالات مقاومة

B. المنفحة مع البادىء

C. A و B معًا

١٧-عند تنشيط البادىء لابد من إستخدام بيئة

A. محتواها عالى من الكالسيوم

B. خالية من الكالسيوم

C. بها تركيز معين من الكالسيوم

١٨-لابد من حفظ البادىء فى أماكن

A. ذات ضغط مرتفع

B. بعيدة عن العمال

C. A و B معًا

١٩-يتميز بكتيريوفاج الـ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*

A. الذيل غير مرن قابل للإنقباض

B. الذيل مرن قابل للإنقباض

C. الذيل غير مرن غير قابل للإنقباض

٢٠-يتميز بكتيريوفاج الـ *Lactococcus lactis*

A. الذيل غير مرن قابل للانقباض

B. الذيل مرن قابل للانقباض

C. الذيل غير مرن غير قابل للانقباض

الباب السادس

ميكروبات اللبن ومنتجاته

ميكروبات اللبن الخام

يعرف اللبن بالإفراز الطبيعى للغدد الضرعية للثدييات بعد انقضاء فترة السرسوب (تتراوح بين ٣-١٠ أيام من الولادة).

مواصفات اللبن النظيف

١- أن يكون منتجًا من حيوانات سليمة غير مريضة.

٢- خالٍ من القاذورات والشوائب المرئية.

٣- يحتوى على عدد قليل من البكتيريا (فى حدود ١٠٠٠ خلية / مل لبن).

٤- لا يحتوى مواد ضارة أو سامة بالصحة.

٥- ذو طعم ورائحه جيدة .

٦- يمكن حفظه لفتره طويلة نسبيًا دون أى معاملة حرارية.

مصادر تلوث اللبن الخام بالميكروبات

سوف نبدأ بسرد المصادر المؤدية إلى تلوث اللبن ابتداءً من عملية الحلب التى يقوم بها الحلاب فى المزرعة إلى المرحلة الأخيرة وهى نقله إلى مصانع الألبان .

١-الحلاب

نظافة الحلاب الشخصية و صحته الجيدة عامل مؤثر جدًا على مدى تلوث اللبن بالميكروبات ، فنجد أن الجروح بالحلاب تؤدى إلى التلوث بـ *Staphylococcus* ، كما أن يد الحلاب غير النظيفة تعمل على زيادة محتوى اللبن من البكتيريا مثل *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Bacillus*.

يراعى فى الحلاب الأتى :-

١ - أن يكون سليمًا ونظيفًا.

٢- لا يضع الحلاب فى أصابعه دبل أو خواتم.

٣- أن تكون أظافره مقلمة.

٤- أن يطهر يديه بصابونة مطهرة قبل عملية الحلب.

٣- الأدوات و التنكات و الأوعية المستخدمة فى عملية إنتاج اللبن

Equipments, Tanks and Pails

تؤثر الأدوات و الأوعية الصغيرة المستخدمة فى عملية حلب اللبن على تلوثه بالميكروبات خاصة الميكروبات المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة مثل *Bacillus* ، لذلك تعقم المقلبات و الجرادل بإستخدام محلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيزه ٢٠٠ – ٤٠٠ مجم/لتر.

أما بالنسبة إلى آلة الحلب الآلى فيتم إزالة بقايا اللبن من مجموعة الحلب وأكواب الحلمات و الخراطيم فيتم تعقيمها بغمرها فى محلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيزه ٣٠٠ مجم/لتر لمدة دقيقة.

أما بالنسبة لتنكات التخزين و النقل فهى مصدر للتلوث بعفن الماكينات أو قطر اللبن *Geotricum candidum* ، لذلك تعقم بمحلول غسيل قلوى تركيزه ١٧٥٠ مجم/لتر و يحتوى على هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز ٤٠ مجم/لتر على درجة حراره ٥٥ °م لمدة ٦ دقائق.

أما بالنسبة لخط الأنابيب بين تنك تخزين اللبن إلى حجرة الحلب فيتم غسيله بنظام يسمى التنظيف فى المكان(Cleaning in Place (CIP و ، و يتم بإمرار محلول هيدروكسيد الصوديوم (١٧٥٠ مجم/لتر و درجة حرارته ٥٥ °م) و يحتوى على هيبوكلوريت الصوديوم (٤٠ مجم/لتر) لمدة ٦ دقائق ، يلى ذلك إمرار محلول حامض النيتريك (pH ٢,٢٥ و درجة حرارته ٥٥ °م) لمدة ٦ دقائق .

٣- المياه Water Quality

هى مصدر للتلوث بالأجناس الأتية *Bacillus , klebsiella, Aeromonas , Flavobacterium Corynebacterium , Pseudomonas Micrococcus* لذلك يجب أن تتوافر الشروط الأتية فى المياه المستخدمة :-

١- أن يكون عدد البكتيريا المقاومة للبروده أقل من ١٠ خلية / مل.

٢-أن يكون العدد الكلى للبكتيريا أقل من ١٠٠٠ خلية / مل .

٣- أن يكون عدد مجموعة الكوليفورم أقل من خلية واحدة / مل .

٤- الحيوان الحلوب

إذا تم إنتاج لبن تحت ظروف معقمة فإنه يحتوى على ١٠٠٠ خلية / مل لبن ، وتكون أغلبها *Micrococcus, Streptococcus, Corynebacterium* ، أما إذا كانت الظروف غير معقمة فإن هذا يؤدى إلى زيادة محتوى اللبن من الميكروبات ، لذلك يجب الآتى :-

١- قص الشعر حول الأفخاذ و الضرع حيث أن الفضلات العالقة بالحيوان تحتوى على *Escherichia coli, Enterobacter aerogenes* كما أن الأتربة تحتوى على *Clostridium , Bacillus , Arthrobacter , Alcaligenes , Pseudomonas , Micrococcus , Flavobacterium , Corynebacterium , Streptomyces* بالإضافة إلى إحتمال وجود بعض الأعلاف الخضراء و المركزة العالقة (و هى مصدر للـ *Clostridium*) .

٢- غسل الضرع بالماء و الصابون ثم تطهيره بمحلول هيبوكلورايت الصوديوم بتركيز ٢٠٠ مجم/لتر ثم يشطف مرة أخرى بالماء و يجفف جيداً.

٣- يتم التخلص من القطرات الأولى عن طريق تصفية كل حلمة مرتين قبيل عملية الحليب.

٥- الهواء Air Quality

الهواء يعمل على زيادة المحتوى الميكروبى فى اللبن خاصة أجناس *Aspergillus , Fusarium* وزيادة محتوى اللبن من الميكروبات يتوقف على مقدار ما يحمله من الجراثيم و الغبار و بالتالى كلما انخفض محتواه من الغبار و الجرثيم كلما ارتفعت جودته ، لذلك يراعى الآتى عند إجراء عملية الحلب :-

١- إختيار موقع حجرة اللبن وحجرة الحلب فى بداية المزرعة فى اتجاه الريح ، ثم تليها باقى المبانى و بذلك نتجنب تلوث الهواء بالميكروبات.

٢- تقليل محتوى الهواء من الميكروبات بإستخدام مرشحات هوائية على فتحات التهوية.

٣- تعقيم الهواء برش مواد مطهره فى الهواء مثل الكولورين بتركيز ٠,٠٤٨ مجم / لتر لقتل الفاج.

المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن الخام:-

يوجد العديد من الأجهزة المسئولة عن الغذاء فى مصر مثل وزارة الصناعة و وزارة التجارة و وزارة التموين و وازرة الصحة ، و لكن أهم جهه تصدر القوانين و التشريعات هى وزارة الصحة تليها وزارة الصناعة تحت اسم المواصفات القياسية المصرية و هذه تصدر بدورها عن الهيئة المصرية العامة للتوحيد القياسى و جودة الإنتاج.

أما على المستوى الدولى فتوجد اللجنة المشتركة لمنظمتى الأغذية و الزراعة(FAO) Food and Agriculture Organization و منظمة الصحة العالمية (WHO) World Health Organization لبرنامج مواصفات الغذاء Joint FAO/WHO Food Standards Programme و هذه اللجنة تضم خبراء الغذاء و التغذية و تهتم بوضع و بناء هيكل القوانين

الغذائية العالمية لكل مرحلة من مراحل إنتاج الغذاء بداية من قبل الزراعة و أثناء وجوده فى التربة ومرورًا خلال عملية الحصاد و التصنيع والتسويق مع مراعاة النواحى الصحية فى جميع مراحل الإنتاج بالنسبة للمستهلك.

والغرض من وجود تشريعات و قوانين لكل غذاء هو وضع الإشتراطات الأساسية المتعلقة بالغش والبيئة والأمن وصحة وسلامة المستهلك، ومن هذه الإشتراطات وضع الحدود الميكروبيولوجية والميكروبات المرضية والطفيليات وإفرازاتها السامة ، والجدول رقم(١٠) يوضح المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن الخام.

وللتأكد من مدى مطابقة المواصفات القياسية للبن الخام لابد من إجراء العديد من الاختبارات التى سوف يتم مناقشتها فى باب مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن و منتجاته.

ميكروبات اللبن المبستر

اللبن المبستر pasteurized milk

اللبن المبستر هو لبن طبيعى (لبن خام طازج) أو لبن معدل(لبن طبيعى أو مسترجع عدل فيه نسبة الدهن) تم تسخين كل قطرة فيه إلى درجة حرارة أقل من درجة غليانه لوقت معين بغرض القضاء على جميع الميكروبات الممرضه به، ثم يبرد فجائيا إلى درجة حرارة أقل من ١٠ °م.

مصادر تلوث اللبن المبستر بالميكروبات

١- عدم كفاءة عملية بسترة اللبن

هناك العديد من الأسباب التى تؤدى إلى عدم إجراء عملية البسترة بكفاءة وهى:

١. عدم التأكد من وصول درجة الحرارة إلى الدرجة المطلوبة إلى جميع قطرات اللبن خاصة عند إستخدام

أجهزة البسترة البطيئة، وبالتالى لايتم القضاء على كل الميكروبات المريضة.

٢. تكوين الرغاوى نتيجة زيادة عملية التقليب قد تؤدى إلى تقليل كفاءة عملية البسترة حيث إن درجة حرارة الرغاوى أقل بحوالى ٦ °م و لتجنب ذلك يستخدم سخانات هوائية فوق سطح اللبن فى أحواض الحجز لترفع درجة حرارة الهواء عن درجة حرارة اللبن بحوالى ٣°م.

٣. أثناء البسترة السريعة قد يحدث تلوث فى قسم التبادل الحرارى بين اللبن الخام و اللبن المبستر نتيجة حدوث تنفيث بين ألواح المبادل الحرارى، لذلك لابد أن يكون اللبن المبستر تحت ضغط أعلى بمقدار ١ رطل على البوصة المربعة حتى يكون الضغط عاليًا و إذا حدث تنفيث فإنه يؤدى إلى إنتقال اللبن المبستر إلى اللبن الخام و ليس العكس.

٤. أيضا فى البسترة السريعة قد يؤدى عدم التأكد من سلامة صمام التحويل Flow Diversion Valve إلى خروج اللبن دون بسترته بصورة جيدة ، حيث إن هذا الصمام يعمل على إرجاع اللبن أوتوماتيكيا إلى خزان اللبن الخام إذا كانت درجة حرارته أقل من درجة حرارة البسترة ، أما إذا كانت درجة الحرارة هى الدرجة المطلوبة فإنه يحوله إلى قسم التبادل الحرارى حتى يبرد إلى ٦٥ °م ، ثم إلى قسم التبريد ليبرد إلى ١٠°م.

جدول(١٠): المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن الخام

	مصر	الولايات المتحدة الأمريكية	فرنسا	استراليا	الدنمارك
عدد البكتيريا(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	١٠ ٣-١٠ ٢	١٠×١٠ ٤	١٠ ٢	١٠×١٥ ٤	١٠×٢٠ ٤
عدد بكتيريا القولون(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	–	–	–	١٠	–
عدد البكتيريا السل و البروسيلا (وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	خال	خال	خال	خال	خال
المضادات الحيوية(وحدة دولية / مل لبن)	–	لا يحتوى على أى مضاد حيوى	لا يحتوى على أى مضاد حيوى	لا تزيد عن ٠,٠٠٢	لا يحتوى على أى مضاد حيوى
عدد الخلايا الجسمية(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	لا تزيد عن ٧٥ ×١٠ ٤	لا تزيد عن ١٠ ٦	–	–	لا تزيد عن ٥٠×١٠ ٤
عدد جراثيم بكتيريا باسيلس سيريس(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	لا تزيد عن ١	–	–	–	–
عدد جراثيم بكتيريا كلوستريديم بيرفرجينس سيريس(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	لا تزيد عن ١	–	–	–	–
عدد جراثيم بكتيريا استافيلوكوكس اوريس (وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	لا تزيد عن ١٠٠	–	–	–	–

(-) غير موجود

٢- حدوث تلوث بعد عملية البسترة

وجد أن عدم الإهتمام بتنظيف و تطهير و تعقيم أجهزة التعبئة و طلمبات اللبن و المقلبات و تراكم بقايا اللبن بها يؤدى إلى تكاثر الميكروبات عليها مما يسبب مشاكل كبيرة فى تلوث اللبن بالميكروبات.لابد من نقع الزجاجات فى الماء على ٣٠°م لإزالة بقايا اللبن ثم تشطف برذاذ الماء لإزالة المواد المفككة ، بعد ذلك تغمر فى محلول هيدروكسيد الصوديوم على ٦٢°م ثم يشطف برذاذ الماء على ٤٩°م ، وأخيرًا تمرر الزجاجات على سير متحرك خلال ماسح ضوئى كهربى للتأكد من نظافة الزجاجات.

أما الأن يستخدم على نطاق واسع العبوات الورقية Tetra Pack التى يتم تعقيمها أولاً بالغمر فى محلول ٣٥% فوق أكسيد الهيدروجين و درجة حرارته ٧٥ °م ثم يدفع تيار من الهواء الساخن ١٢٥°م لإزالة باقى فوق أكسيد الهيدروجين يلى ذلك تشكيل العبوات و قفلها وفترة الصلاحية فى هذه العبوات الورقية تصل إلى ٧ أيام على ٦ °م ، كما يمكن إستخدام أكياس بلاستيكية وفترة الصلاحية بها تصل إلى ٣-٥ أيام على ٦ °م.

أهم الأجناس المتواجدة باللبن المبستر

وهى التى تقاوم درجة حرارة البسترة

Streptococcus thermophilus, Streptococcus bovis, Enterococcus faecalis, Enterococcus durans .

المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن المبستر:-

يشترط أن تنتج الألبان المبسترة فى المصانع المصرح بها فقط ، و أن يكون خالياً من الشوائب و المواد الملونة و الحافظة و الروائح الغريبة ، كما يجوز تجنيس اللبن ، أما بالنسبة للمواصفات الميكروبيولوجية فيمكن تلخيصها فى جدول(١١).

جدول(١١): المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن المبستر.

	مصر	الولايات المتحدة الأمريكية	فرنسا	سويسرا	الدنمارك
لا يزيد عن عدد البكتيريا(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	٥×١٠ ٤	٢×١٠ ٤	٣×١٠ ٣	٢٥×١٠ ٣	٥٠×١٠ ٣
عدد بكتيريا القولون(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	٥	٠,١٠	أقل من ١٠	-	خال
عدد البكتيريا السل و البروسيلا (وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	خال	خال	خال	خال	خال
عدد جراثيم بكتيريا باسيلس سيريس(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	خال	—	—	—	—
عدد جراثيم بكتيريا كلوستريديم بيرفرجينس سيريس(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	خال	—	—	—	—
عدد جراثيم بكتيريا استافيلوكوكص اوريس (وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن)	خال	—	—	—	—

(-) غير موجود

ميكروبات اللبن المعقم

اللبن المعقم هو اللبن الخالي تماماً من الميكروبات الحية ، ولكن حديثاً أنتجت ألبان تعقم بطريقة أخرى أطلق عليه التعقيم التجارى Commercial Sterilization وفيها يعامل اللبن بالحرارة إلي درجة أعلى من ١٠٠°م ويعبأ في عبوات محكمة القفل وينتج تحت اسم Ultra High Temperature Milk أى اللبن المعامل بدرجة حرارة فائقة الارتفاع و لا يكون هذا اللبن خاليًا تماما من الميكروبات الحية فقد يتواجد جنس الـ *Clostridium* ,

Bacillus ولكن تلك الميكروبات لا تتكاثر به أثناء فترة التخزين وبالتالي لا يفسد خلال فترة الصلاحية وهى ثلاثة شهور .

مصادر تلوث اللبن المعقم بالميكروبات

١- وجود عيب فى عملية التشغيل و المراقبة مما يؤدى إلى تلوث المعدات و بالتالى إلى فساد كميات كبيرة من اللبن.

٢- عدم كفاءة المعاملة الحرارية ، حيث لابد من التأكد من وصول درجة الحرارة إلى الدرجة المطلوبة وأن فترة الحجز تمت بنجاح.

٣- التأكد من سلامة صمام التحويل لمنع دخول لبن غير معقم إلى خزان التخزين.

٤- التأكد من أن عملية نقل اللبن إلى جهاز التعبئة تمت تحت ظروف تعقيمية جيدة.

٥- يجب التأكد من أن أجهزة التعبئة سليمة قبل الاستخدام وأن أجهزة اللحام تحت رقابة حيث وجود عيب فى اللحام سو ف يؤدى إلى تلوث اللبن (جدول رقم ١٢).

جدول (١٢) : أهم الأجناس التى تسبب فساد اللبن المعقم بـ Ultra High Temperature:-

النوع	العيب
Clostridium thermosaccharolyticum	يسبب تخمرات غازية .
Bacillus circulans	يسبب الطعم المؤكسد.
Bacillus lichenifomis	يجبن اللبن.
Bacillus coagulans	يجبن اللبن.
Bacillus cereus	يحلل البروتين.
Bacillus stearothermophilus	يجبن اللبن و يسبب طعماً غير مرغوب.

المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن المعقم:-

المواصفات الميكروبيولوجية تم تلخيصها فى جدول(١٣).

جدول(١٣): المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية و العالمية للبن المعقم.

	مصر	فنلندا	انجلترا	ايطاليا
عدد البكتيريا(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	خالٍ	لا يزيد عن ١٠٠	لا يزيد عن ١٠٠	لا يزيد عن ١١٠
عدد بكتيريا القولون(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	خالٍ	خالٍ	خالٍ	-
عدد البكتيريا السل و البروسيلا (وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	خالٍ	خالٍ	خالٍ	خالٍ
عدد جراثيم بكتيريا باسيلس سيريس(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	**بعد التحضين على ٣٧ °م لمدة ٥ أيام لا تزيد عن ١٠ خلية / مل**	–	–	–

(-) غير موجود

ميكروبات الألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة

أولاً: اللبن المكثف المحلى Sweetened condensed milk

قد يطلق علية اللبن المركز المحلى Sweetened concentrated milk و هو عبارة عن لبن خام أو لبن فرز مضاف إليه ١٨-٢٠% سكر وتم تركيزه إلى ٢,٥ ضعف محتواه الأصلى من المادة الصلبة اللبنية و ذلك بتبخير مائه على درجة حرارة أقل من درجة غليان اللبن ١٠٠,١٧ °م تحت تفريغ.

ثانيا: اللبن المكثف غير المحلى Unsweetened condensed milk

يختلف عن اللبن المكثف المحلى فى عدم إضافة السكر و المعاملة الحرارية العالية و ينقسم إلى قسمين:-

١- اللبن المبخر Evaporated milk أو اللبن المكثف المعقم Sterilized condensed milk

٢-اللبن المركز المعقم Sterilized concentrated milk أو اللبن المكثف السادة Plain condensed milk وهذا يختلف عن اللبن المبخر أو المكثف المعقم فى أنه يباع فى عبوات كبيرة.

المعاملات التى تؤثر على محتوى الألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة من الميكروبات

سوف نبدأ بسرد المعاملات التى تؤثر على محتوى الألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة من الميكروبات بداية من عملية التصنيع فى المصنع و حتى المرحلة الأخيرة وهى نقله إلى أماكن تسويقة و ذلك جدول (١٤).

جدول(١٤): المعاملات التى تؤثر على محتوى الألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة من الميكروبات.

المعاملات التصنيعية المختلفة	اللبن المكثف المحلى	اللبن المكثف غير المحلى
يعدل اللبن بحيث تكون نسبة الدهن إلي نسبة المادة الصلبة اللادهنية .	١ : ٢,٤٤	١ :٢,٢٥
التسخين الإبتدائى	على ٨٠°م	على ٩٥°م
تأثير التسخين الابتدائى على المحتوى الميكروبى	يعمل على القضاء على معظم الميكروبات المرضية والخلايا الخضرية	
إضافة السكر	١٨ -٢٠ %	لا يضاف
تأثير إضافة السكر	يعمل كعامل حفظ.	-
التكثيف أو التبخير	يتم على ٥٢ °م تحت تفريغ حتى نصل إلى كثافة ١,٣ جم/سم^{٣}.	يتم على ٥٢ أو ٧٧°م تحت تفريغ على حسب نوع جهاز التكثيف سواء أحادى المرحلة أو ثنائى المرحلة حتي نصل إلى كثافة ١,١٥ جم/سم^{٣}.
تأثير عملية التكثيف أو التبخير	لا تؤثر على الكائنات الحية الدقيقة التى لم تتأثر بالتسخين الابتدائى.	
التعقيم	لا يتم.	يتم على ١٢٠°م لمدة ١٠ دقائق.
تأثير التعقيم		يقضى على معظم الميكروبات التى قاومت التسخين الإبتدائى.
العيوب التى قد	١- القوام الغليظ مع	١- ظهور طعم مر نتيجة

تظهر نتيجة مقاومة بعض الجراثيم للمعاملات الحرارية أو نتيجة تلوث العلب بعد القفل بسبب عملية التنفيس أو عدم ملء العلب للنهاية أو التخزين على درجة حرارة مرتفعة.	طعم متجبن حامضى و هذا يرجع لنمو الـ *Micrococcus* و بعض أنواع الخمائر الخمائر. ٢- الأزرار الملونة ترجع لنمو الـ *Aspergillus glaucus* ,*Aspergillus repens* , *Cladosporium* , *Penicillium* التى تكون أزرار من الكازين المتجبن و هيفات الفطر. ٣- تكوين الغاز بسبب نمو بكتيريا القولون أو نمو خميرة *Debaromyces globosa* أو *Candida*.	نمو الـ *Bacillus subtilis* , *Bacillus licheniformis* المحللة للبروتين. ٢- تجبن اللبن بسبب نمو الـ *Bacillus coagulans* , *Bacillus cereus*, *Bacillus stearothermophilus*. ٣- انتفاخ العلب بسبب نمو الـ *Clostridium*

(-) لا تجرى

المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية للألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة

تم تلخيصها فى جدول (١٥).

جدول (١٥): المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية للألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة .

	اللبن المكثف المحلى	اللبن المكثف غير المحلى
عدد البكتيريا(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	لا يزيد عن ٥٠٠	خالٍ
عدد بكتيريا القولون(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	خالٍ	خالٍ
عدد البكتيريا السل و البروسيلا (وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	خالٍ	خالٍ
عدد الفطريات و الخمائر(وحدة تكوين المستعمرة / مل لبن).	خالٍ	خالٍ

ميكروبات الألبان المجففة

اللبن المجفف هو ناتج من تجفيف اللبن الخام أو اللبن الفرز أو اللبن المنزوع الدهن جزئياً و ذلك عن طريق إزالة ما به من ماء، و نظراً لإنخفاض الرطوبة فى هذه الألبان فإن ذلك يعيق نمو و تكاثر الكائنات الحية الدقيقة و بذلك يصبح أقل عرضة للتلوث و الفساد الميكروبى.

أهم الأجناس الميكروبية الموجودة بالألبان المجففة:-

Clostridium sporogenes, Streptococcus thermophilus, Enterococcus faecalis, Bacillus megaterium, Bacillus liceniformis .

و جدول (١٦) يوضح أهم المعاملات التكنولوجية المؤثرة على محتوى الألبان المجففة من الكائنات الحية الدقيقة.

جدول(١٦): أهم المعاملات التكنولوجية المؤثرة على محتوى الألبان المجففة من الكائنات الحية الدقيقة.

المعاملات التصنيعية المختلفة	اللبن المجفف بطريقة الإسطوانات	اللبن المجفف بطريقة الرذاذ
١- البسترة	تجرى بهدف قتل معظم أنواع الكائنات الحية الدقيقة الموجودة باللبن الخام ، بالإضافة إلى دنترة جميع الإنزيمات الموجودة باللبن و تتم على ٦٥ ــ ٨٥°م	
٢- تكثيف اللبن	الغرض من تكثيف اللبن رفع نسبة الجوامد الصلبة الكلية (فى حالة اللبن المجفف بطريقة الرذاذ تصل ٤٥ %) و هذه المعاملة لا تؤثر على محتوى اللبن من الكائنات الحية الدقيقة و تتم على ٥٤°م	
٣- تجفيف اللبن	**تتم على ١٠٠°م تحت تفريغ أو على ١٤٨ °م، و هذه المعاملة تقضى على الكائنات الحية الدقيقة بنسبة ٩٩,٩٩%.**	تتم على ٧٠ °م ، و هى لا تقضى على معظم الكائنات الحية الدقيقة.

المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية للألبان المجففة

تم تلخيصها فى جدول (١٧).

جدول(١٧): المواصفات الميكروبيولوجية القياسية المصرية للألبان المجففة.

	اللبن المجفف منزوع الدسم	اللبن المجفف منزوع الدسم و المضاف له دهون نباتية
عدد البكتيريا الكلى (وحدة تكوين المستعمرة / جرام).	لا يزيد عن ١٠٠٠٠	لا يزيد عن ٥٠٠٠٠
عدد بكتيريا القولون(وحدة تكوين المستعمرة / جرام).	لا تزيد عن ١٠	لا تزيد عن ١٠
عدد بكتيريا الليستريا مونوسيتوجينس (وحدة تكوين المستعمرة / جرام).	خال	خال
عدد الفطريات و الخمائر(وحدة تكوين المستعمرة / جرام)	لا تزيد عن ١٠	خال
عدد بكتيريا الإيشريشيا كولاى(وحدة تكوين المستعمرة / جرام).	خال	خال

ميكروبات الألبان المتخمرة

تعريف الألبان المتخمرة Fermented Milks

هى ألبان حدث لها تغيرات كيموحيوية لبعض مكوناتها أو كل مكوناتها عن طريق بعض الميكروبات التى توجد طبيعيًا باللبن أو التى إضيفت إلى اللبن عمدًا فى صورة مزارع ميكروبية نقية.

القيمة الغذائية للألبان المتخمرة:-

١) التغلب على مشكلة نقص إنزيم اللاكتيز-β Lactase or Galactosidase، حيث إن العديد من الأشخاص يعانون من نقص إنزيم اللاكتيز (يحلل سكر اللاكتوز إلى جلوكوز و جلاكتوز) فى أمعائهم وهذا النقص قد يكون وراثياً كما هو منتشر بالنيجر أو تطبعياً فى الدول النامية نتيجة لعدم استهلاك الألبان بصورة دورية ، ونتيجة لعدم توفر هذا الإنزيم بالأمعاء فإن استهلاك اللبن يؤدى إلى مرور سكر اللاكتوز خلال المعدة دون هضم و يصل إلى القولون ليتخمر بمجموعة الكوليفورم مما ينجم عن ذلك حدوث إسهال و ارتباكات معوية، ولكن استهلاك اللبن المتخمر هو أحد الحلول لهذه المشكلة لأن اللبن المتخمر يحتوى على إنزيم اللاكتيز الميكروبى الناتج من بكتيريا البادىء.

٢) تعمل الألبان المتخمرة على زيادة المقدرة الهضمية للبروتين و الدهن و سكر اللاكتوز ، حيث إن الميكروبات التى تنمو بها تفرز العديد من الإنزيمات التى تقوم بتحليلات جزيئية على البروتين و الدهن و سكر اللاكتوز و بالتالى فهى تزيد من المقدرة الهضمية عن مثيلاتها باللبن العادى.

٣) تحسين القيمة الغذائية ، و ذلك عن طريق زيادة امتصاص الكالسيوم و خفض مستوى الأمينات السامة كما فى حالة الـ *Bifidobacterium bifidum*.

٤) خفض مستوى الكوليسترول، حيث أن الميكروبات تقوم بإمتصاصه أو تقوم بترسيب الكوليسترول مع الأحماض الصفراء غير المرتبطة و إفرازه مع البراز خارج الجسم.

٥) تثبيط النموات السرطانية وذلك عن طريق تنشيط الجهازى المناعى فى الجسم بالإضافة إلى التخلص من المواد المشجعة للسرطان مثل:-

١- النيتروزأمين الناتج من تحول النترات و النيتريت الموجودة طبيعيًا فى الغذاء بواسطة الميكروبات فى الأمعاء، ولكن وجود جنس الـ *Lactobacilli* فى الألبان المتخمرة يقوم بتحليله حيويا.

٢- تقليل الإنزيمات التى تعمل على تحويل المواد المشجعة للسرطان إلى مواد مسرطنة مثل β- Glucuronidase و إنزيم Nitroreductase و Azoreductase .

٦) تخليق بعض الفيتامينات وخاصة مجموعة فيتامينات B ، مثل الريبوفلافين و البيرودوكسين و الثيامين و حمض النيكوتنيك و حمض الفوليك .

أمثله للألبان المتخمرة المنتشرة فى بلدان العالم:-

تم تلخيص أهم الألبان المتخمرة فى بلدان العالم و كذلك الميكروبات السائدة بها و طريقة تصنعها كما يلى:

أولاً: اللبن الرايب *Laban Rayeb*

الأسم المتداول : ***Laban Rayeb*** **or** ***Laban Matard*** **or** **Gravity Skimmed Fermented Milk**

البلد الرئيسى: مصر (وجه بحرى Lower Egypt و هو يشمل محافظات الإسماعلية و البحيرة و المنوفية و الغربية و كفر الشيخ و القليوبية و الشرقية و الدقهلية و دمياط).

نوع اللبن المستخدم:الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة: *Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus , Lactobacillus casei, Entercoccus faecalis Lactobacillus delbrueckii lactis, Leuconostoc mesentroides.*

طريقة تصنيعيه: يصنع هذا اللبن المتخمر عن طريق وضع اللبن الخام فى شوالى أو متارد سبق توديكها بحجارة و دهنها باللبن الرايب أو بزيت وتركها فى الشمس ثم وضعها فى الفرن لتعقيمها(تسمى هذه العملية فى الريف المصرى بالسمط) و يترك اللبن الخام فى هذه الشوالى لمدة ١ ــ ٣ أيام على درجة حرارة الغرفة حتى تفصل القشدة بالجاذبية الأرضية و تفصل و المتبقى هو اللبن الرايب.

ثانياً: اللبن الزبادى *Laban Zabady*

الأسم المتداول : *Zabadi, Zabady* or *Laban Zabady*

البلد الرئيسى: منطقة الشرق الأوسط.

نوع اللبن المستخدم: الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة: *Streptococcus thermophilus,* و يمكن أن تتواجد *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* , به بعض الخمائر مثل *Saccharomyces fragilis* ، بالإضافة إلى الـ *Bacillus subtilis.*

طريقة تصنيعيه: جرى تعديل مكونات اللبن بحيث لا تقل نسبة الجوامد اللادهنية عن ٨,٥% و نسبة دهن ٣%، و تضاف إليه المثبتات سواء من أصل نباتى مثل النشا(٢%) أو من أصل حيوانى مثل الجيلاتين(٠,٢-٠,٤%) ، وإذا كان بالفاكهه يضاف إليه السكر بنسبة ٨-١٢% ، ثم يجنس

اللبن ويعامل حراريًا سواء بالبسترة السريعة أو بالبسترة البطيئة ثم يضاف بادىء الزبادى و ذلك بعد التبريد إلى ٤٢ °م، ثم يعبأ فى العبوات المناسبة ، ثم يحضن على ٤٢- ٤٥ °م لمدة ٢-٣ ساعات حتى يتم التجبن، ويحفظ على درجة حرارة الثلاجة.

ثالثا: اللبن الخض(اللبن الحامضى)

***Laban Khad* or Sour Butter Milk**

الأسم المتداول : *Laban Khad* or Sour Butter Milk

البلد الرئيسى: الوجه القبلى Upper Egypt بمصر وهو يشمل محافظات أسوان و قنا و سوهاج و أسيوط و المنيا و الفيوم و بنى سويف و الجيزة.

نوع اللبن المستخدم: الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة : فى الصيف يتواجد به , *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus casei* , *Lactobacillus plantarum*

أما فى فصل الشتاء

Leuconostoc lactis , *Lactococcus* lactis, *Leuconostoc mesentroides* ssp. *dextranicum*

طريقة تصنيعيه: يوضع اللبن الطازج فى قرب من الجلد ويترك ليتخمر بالميكروبات المتواجدة باللبن حتى تصل الـ pH إلى ٦,١-٤,٦ فى الشتاء و إلى ٣,٥ – ٣,٨ فى الصيف ، ثم يخض اللبن داخل القربة المصنع من الجلد لكى ينفصل الدهن و الباقى هو اللبن الخض أو اللبن الحامضى.

رابعاً: لبن الزير ***Laban Zeer***

الأسم المتداول : *Laban Zeer*.

البلد الرئيسى: مصر(الوجه القبلى).

نوع اللبن المستخدم: الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة : نفس الميكروبات الموجودة باللبن الخض.

طريقة تصنيعيه: هو عبارة عن لبن خض أو لبن حامضى يوضع فى زير مصنوع من الفخار لعدة أيام ، حيث إن المسام الموجودة بالزير تؤدى إلى تبخير الماء فيصبح القوام كثيفًا ثم يضاف إلية دفعات من اللبن الحامض الطازج و يخلط بالملح و هو عادة ما يستخدم فى صناعة الكشك.

خامساً: الكشك ***Kishk***

الأسم المتداول : *Kishk*

البلد الرئيسى: مصر(الوجه القبلى).

نوع اللبن المستخدم: الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة : *Leuconostoc lactis* , *Leuconostoc mesentroides* ssp. *dextranicum*

بالإضافة الى الـ*Lactobacillus* و *Bacillus subtilis*.

طريقة تصنيعيه: أولاً نقوم بغلى القمح حتى يصبح بليلة يلى ذلك غسله بالماء البارد حتى نتخلص من المواد الجيلاتينية ثم تجفف شمسياً على الحصيرة، ثم تزال القشرة الخارجية ثم نقوم بطحن القمح المعامل ثم نقوم بخلطه مع لبن الزير بنسبة جزء من مجروش القمح مع ٢ جزء من لبن الزير وهذه العجينة الناتجة تغطى بقماش سميك و توضع فى مكان دافىء لمدة ٢٤ ساعة حتى تتخمر ، وبعد التخمر تقطع العجينة المنتخفة إلى قطع صغيرة وتفرد فوق الحصيرة وتجفف فى الشمس لمدة لا تقل عن أسبوع

والناتج يكون غير هيجروسكوبى يخزن فى أوانى مفتوحة لمدة سنتين بدون فساد، حيث لا تزيد نسة الرطوبة به عن ٥ %.

سادساً: اللبنة *Labneh*

الأسم المتداول : اليوغورت المركز

البلد الرئيسى: سوريا و لبنان و فلسطين ومصر و المغرب و العراق و دول الشام.

نوع اللبن المستخدم: الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة : نفس الميكروبات الموجودة بالزبادى.

طريقة تصنيعيه: يجرى تعديل مكونات اللبن بحيث لا تقل نسبة الجوامد اللادهنية عن ١١% و نسبة دهن ٦-٩%، ثم يجنس اللبن ويعامل حرارياً على ٨٥ °م لمدة ١٥-٣٠ دقيقة ثم يضاف بادىء اليوغورت و ذلك بعد التبريد إلى ٤٢ °م ثم يحضن على ٤٥ °م لمدة ٢-٣ ساعات و بعد التجبن تعبأ الخثرة فى أكياس من القماش وتوضع أثقال للتخلص من الشرش لمدة ٤-٦ ساعات يلى ذلك مزج الناتج بالملح حتى يصبح الطعم مقبولا ، ثم يعبأ ويحفظ على درجة حرارة الثلاجة.

سابعاً: تيت Taette

الأسم المتداول : تيت Taette.

البلد الرئيسى: فى الدول الإسكندنافيةScandinavian مثل السويد و النرويج و الدول المجاورة.

نوع اللبن المستخدم: اللبن البقرى.

الميكروبات السائدة : *Lactococcus cremoris* ssp. *hollandicus* .

طريقة تصنيعيه: حيث يتم تخمير اللبن الطازج بسلالة من *Lactococcus cremoris* ssp. *hollandicus* و يكون طعمه حامضيًا وقوامه خيطيًا.

ثامناً: سكير Skyr

الأسم المتداول : سكير Skyr

البلد الرئيسى: فى جزيرة أيسلندIceland و الدنمارك

نوع اللبن المستخدم: لبن فرز.

الميكروبات السائدة : *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*.

طريقة تصنيعيه: يصنع بمعاملة اللبن الفرز على ٩٣°م و تلقيحه بنسبة ٣. ٠ % بـ *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* و إضافة ٠,٠٠٥% منفحة و ذلك بعد تبريده إلى ٤٢°م ثم يترك ليتجبن خلال ٣ – ٤ ساعات، ثم يترك لمدة ٢٤ ساعة حتى تصل الحموضة إلى ١,٤ – ١,٦ % يلى ذلك نقل الخثرة إلى أكياس من القماش لتركيز الجوامد الصلبة إلى ١٩% و حموضة تصل إلى ٣%.

تاسعاً: الكوميس Kumiss .

الأسم المتداول : الكوميس Kumiss or Koumiss or Kumys or Coomys من إسم قبيلة Kumanes التى كانت تعيش فى وسط أسيا.

البلد الرئيسى: روسيا

نوع اللبن المستخدم: لبن الأفراس و هو لبن منخفض فى نسبة الرماد و الدهن و البروتين عن اللبن البقرى العادى ،كما أنه يحتوى على كمية من Vit. C خمسة أضعاف الكمية الموجودة فى اللبن البقرى.

الميكروبات السائدة: *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* وخميرة الـ *Torula*.

طريقة تصنيعيه: يتم معاملة اللبن الفرز(٢لتر) على ٧٠°م لمدة ٣٠ دقيقة ثم التبريد إلى ٣٠°م والتلقيح بخميرة الـ *Torula* ، ثم يحضن على ٣٠°م ١٥ دقيقة ، ثم يجهز دورق (لتر) من نفس اللبن و يلقيح بـ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* و يحضن على ٣٧°م لمدة ٧ ساعات ، بعد ذلك يتم مزج الدوراقين ويتم التحضين على ٢٨°م مع إضافة ١٠٠٠ مل من لبن الأفراس، مع ملاحظة عدم ارتفاع الحموضة عن ٠,٧%، و إذا ارتفعت يضاف إليها كميات من لبن الأفراس لتقليل الحموضة ، و أهم ما يميز الكوميس أن الخثرة غير مرئية و أنه سائل ذو لون أبيض إلى رمادى .

عاشراً: الكفير Kifer.

الأسم المتداول : الكفيرKifer or Kefir or Hippe or Khapon.

البلد الرئيسى: جنوب الاتحاد السوفيتى.

نوع اللبن المستخدم: الأغنام و االماعز و الأبقار.

الميكروبات السائدة : أولا : البكتيريا و هى *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus kefir , Lactobacillus paracasei , Lactobacillus helveticus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Lctobacillus plantarum, Streptococcus thermophilus, Lctococcus lactis, Lctococcus lactis ssp. cremoris, Acetobacter aceti* .

أما الفطريات فتشمل,*Geotrichum candidum*

و الخمائر عبارة عن *Toulopsis kefyr, Candida friedrichiiich,Candia holmii , Candida tenuis, Candida kefyr, Saccharomyces cerevisiae, Klyveromyces marxianus* ssp.*fragilis* وقد يوجد به بعض الميكروبات غير المرغوبة مثل *Micrococcus ssp., Escherichia coli, Bacillus* .ssp.

طريقة تصنيعيه: بعد معاملة اللبن حرارياً على ٨٥°م لمدة نصف ساعة يبرد إلى ٢٣°م ويلقح بحبوب الكفير و يحضن على ٢٣ °م لمدة ٨ -١٢ ساعة، يلى ذلك تصفية الناتج خلال شبكة معدنية للاحتفاظ بحبوب الكفير والتى تغسل بماء بارد تجفف على درجة حرارة الغرفة و تحفظ على درجة حرارة الثلاجة لحين الاستخدام، أما الراشح فيبرد لحين الاستهلاك.

حادى عشر: اليوغورتYoghurt .

الأسم المتداول : Yoghurt or Yogurt or Yahourth or Madzoon or Matzoon.

البلد الرئيسى: الولايات المتحدة و معظم دول العالم.

نوع اللبن المستخدم: الأبقار أو الجاموس.

الميكروبات السائدة: *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*.

طريقة تصنيعيه: يجرى تعديل مكونات اللبن بحيث لا تقل نسبة الجوامد اللادهنية عن ٨.٥% و نسبة دهن ٣%، و تضاف إلية المثبتات سواء من أصل نباتى مثل النشا(٢%) أو من أصل حيوانى مثل الجيلاتين(٠,٢-٠,٤%) ، وإذا كان بالفاكهه يضاف إلية السكر بنسبة ٨-١٢% ، ثم يجنس اللبن ويعامل حراريا سواء بالبسترة السريعة أو بالبسترة البطيئة ثم يضاف

بادىء الزبادى و و ذلك بعد التبريد إلى ٤٢ °م، ثم يعبأ فى العبوات المناسبة ، ثم يحضن على ٤٢- ٤٥ °م لمدة ٢-٣ ساعات حتى يتم التجبن، ويحفظ على درجة حرارة الثلاجة.

ثانى عشر: لبن الأسيدوفلسAcidophilus Milk.

الأسم المتداول : Acidophilus Milk.

البلد الرئيسى: الولايات المتحدة.

نوع اللبن المستخدم: الأبقار.

الميكروبات السائدة :*Lactobacillus acidophilus* .

طريقة تصنيعيه: يجرى معاملة اللبن حرارياً على ٩٠°م لمدة ساعة يبرد الى ٣٧°م ويلقح بـ *Lactobacillus acidophilus* و يحضن على ٣٧ °م لمدة ٤ ساعات و يحفظ على درجة حرارة الثلاجة لحين الاستهلاك.

ثالث عشر: لبن الخض البلغارىBulgarian Butter Milk

الأسم المتداول : Bulgarian Butter Milk.

البلد الرئيسى: الولايات المتحدة .

نوع اللبن المستخدم: لبن فرز.

الميكروبات السائدة : *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* و *Lctococcus lactis* ssp. *lactis*

طريقة تصنيعيه: يتم معاملة اللبن حرارياً على ٨٥°م لمدة نصف ساعة يبرد إلى ٢١°م ويلقح بنسبة ٢-٥% بـ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* و *Lctococcus lactis* ssp. *lactis*, و يحضن على ٢١ °م لمدة ٨ -١٦ ساعة حتى تصل الحموضة إلى ١,٤%، و يحفظ على درجة حرارة الثلاجة لحين الاستهلاك.

رابع عشر: لبن الخض المتخمرCultured Butter Milk.

الأسم المتداول : لبن الخض المتخمرCultured Butter Milk.

البلد الرئيسى: الولايات المتحدة .

نوع اللبن المستخدم: لبن فرز.

الميكروبات السائدة: *Leuconostoc mesentroides* ssp. *dextranicum, Lctococcus lactis* ssp. *lactis, Lctococcus lactis* ssp. *cremoris*.

طريقة تصنيعيه: يتم معاملة اللبن حرارياً على ٨٥°م لمدة نصف ساعة يبرد إلى ٢٢°م ويلقح بنسبة ٠,٥-٢% بـ *Leuconostoc mesentroides* ssp. *dextranicum* و *Lctococcus lactis* ssp. *lactis, Lctococcus lactis* ssp. *cremoris,* و يحضن على 22 °م لمدة ٤ ساعات، و تحفظ على درجة حرارة الثلاجة لحين الإستهلاك.

الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية Probiotic Fermented Milks

الدعم الحيوى Probiotic

هو دعم الغذاء بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ذات التأثير الصحى و العلاجى على العائل و التى تعمل على التوازن الميكروبى فى القولون.

Prebiotic

هى مكونات غذائية غير قابلة للهضم و تنشط تلك الكائنات الحية الدقيقة فى القولون .

الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية Probiotic Fermented Milks

عبارة عن لبن متخمر بإستخدام البادىء بالإضافة إلى سلالات أخرى لها تأثير صحى و داعم للحيوية مثل:

Lb. acidophilus & Bifidobacterium bifidum (جدول رقم ١٨)

Synbiotic

عبارة عن Probiotic + Prebiotic ، و أشهر مثال على ذلك استهلاك اليوغورت المضاف إليه عسل النحل.

صفات الكائنات الحية الدقيقة الداعمة للحيوية:-

١- لابد أن تتحمل الحموضة العالية.

٢- لها المقدرة على تحمل العصارات و الإنزيمات الهاضمة و نواتج الهضم.

٣- لها المقدرة على تحمل أملاح الصفراء.

٤- تستطيع أن تتحمل المضادات الحيوية.

٥- لها المقدرة على إنتاج أحماض دهنية طيارة(الخليك و الفورميك) .

٦- لها القدرة على الالتصاق بالغشاء المخاطى للامعاء.

٧- تستطيع أنه تحتفظ بحيويتها فى الغذاء بحيث أن يكون عددها عند الإستهلاك لا يقل عن 10^7 خلية/مل أو جرام.

جدول رقم (١٨) يوضح منتجات الألبان الداعمة للحيوية الرئيسية المستهلكة فى مختلف بلدان العالم.

الجدول (١٨): منتجات الألبان الداعمة للحيوية الرئيسية المستهلكة فى مختلف بلدان العالم:-

اسم المنتج	البلد الرئيسى
acidophilus bifidus yoghurt(Mil-Mile)	اليابان
منتج يشبه السابق (Biobest)	ألمانيا
Bifighurt	الولايات المتحدة
Ofilus ***(Lc. lactis ssp.cremois+L.acidophilus)***	فرنسا
منتج يشبه السابق (Biokys)	تشيكوسلوفكيا

ميكروبات الجبن

تؤثر المعاملات التصنعية على محتوى الجبن من الميكروبات فنجد أن محتوى الجبن من الميكروبات قد يكون مصدره:-

١. البادىء المستخدم فى عملية التصنيع .
٢. تلوث الخثرة أثناء التصنيع بالميكروبات .
٣. تلوث اللبن المعامل حرارياً بالميكروبات.
٤. البكتريا المقاومة للمعاملة الحرارية فى اللبن الخام.

وهذه الميكروبات تؤثر على عملية التجبن و التسوية و كما قد تؤدى إلى التلف الميكروبى للجبن.و يمكن توضيح أشهر الميكروبات المتواجدة فى أنواع الجبن المختلفة كما يلى:-

أهم أنواع الجبن الجاف:-

١-جبن الموزاريلا Mozzarella

هذا الجبن يمثل أحد مجموعة الجبن الإيطالية ذات الخثرة البلاستيكية (مثل الكاشكفالو Cacciocavallo و البروفولون Provolone) و يصنع ببسترة اللبن على ٧٢ °م ، ثم يبرد حتى ٣٦ ° م ، أما إذا كانت حموضة اللبن أكبر من ٠,٢٦% فيضاف ٢% ملح ، و إذا كان اللبن المستخدم مجمدًا فلابد من تدفئته إلى ٤٥°م لمدة ٣ ساعات، و ذلك حتى يستعيد تركيبه الطبيعى و الكيماوى ، وإذا بستر اللبن فلابد من إضافة كلوريد كالسيو م ٠,٠٢% و يضاف البادىء *Streptococcus thermophilus,* بنسبة ٠,٥% و يترك *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* فى اللبن حتى تزيد الحموضة بمقدار ٠,٠٢%،ثم تضاف المنفحة بحيث يتم التجبن فى ٤٥ دقيقة على الأكثر و يحضن على ٣٥° م لمدة ٣٠-٤٥ دقيقة وبعد التجبن تقطع الخثرة بالسكاكين الطولية و العرضية إلى مكعبات 1 سم^{3} ، و

تترك بدون تقليب لمدة ١٠ دقائق لتكوين غشاء شبة منفذ يلى ذلك سمط حتى ٤٠- ٤٣°م لمدة ٦٠ دقيقة مع التقليب حتى وصول الخثرة إلى حجم حبات البسلة ، تترك الخثرة لمدة ١٠ دقائق ، يلى ذلك تجميع الخثرة فى شاشة و تربط و تعلق فى حوض التجبن(مكان دافىء) و تكبس بأثقال (١كجم / كجم خثرة) لمدة ٤٥ دقيقة لتكوين الحموضة المطلوبة(٠,٧%) ، ثم يجرى اختبار الحبل و ذلك عن طريق أخذ جزء من الخثرة و عجنها فى مقصوصة أو مغرفة بمحلول ملحى ٥% وحرارته ٧٥ - ٨٥°م و يعمل منها إسطوانة و فردها بغمرها فى المحلول الساخن ففى حالة اللبن الجاموسى تعطى حبلاً طوله ٣ متر أما فى حالة اللبن البقرى تعطى حبلاً طوله ٥ متر ، و فى حالة اللبن الخليط تعطى حبل طوله ٤ متر، و فى حالة إذا لم يكن طول الحبل هو المطلوب تترك الخثرة لمدة ٢٠ دقيقة أخرى للوصول إلى الحموضة المطلوبة ورش الزبادى الدافىء على الخثرة، ثم تقطع الخثرة إلى شرائح بسمك ٠,٥ سم و طول ٨ سم و عرض ٥ سم و توضع مصفاة و توضع هذه المصفاه فى المحلول الملحى الساخن(٧٥ - ٨٥°م) و بإستخدام عصاتين تجرى عملية عجن الخثرة حتى نحصل على خثرة متماسكة لا يظهر بها الشرائح ثم تشكل فى صورة كرات وتوضع فى محلول ملحى مبرد ٥ - ١٠°م ، ثم التمليح ، و تؤكل طازجة أو تفرم لوضعها على عجينة البيتزا.

أما بالنسبة إلى الميكروبات السائدة فى جبن الموزاريلا ، فنجد أن عملية العجن التى تتم على درجة حرارة ٧٥ - ٨٥°م و محلول ملحى ٥ % تؤدى إلى موت معظم البكتيريا، عدا البكتيريا المقاومة للحرارة مثل *Micrococcus* , *Bacillus* .

٢ـجبن الرأس (الرومى)

جبن مصرى أساسه جبن الكيفالوتيرى اليونانى و أصبح يحتل المركز الثانى بعد الجبن الدمياطى و هو أحد أنواع الجبن الجاف (٣٠ ـ٤٠ % رطوبة) و تصنع باستخدام لبن بقرى :لبن جاموسى بنسبة ٣ : ١ ، وتعدل نسبة الكازين إلى نسبة الدهن الى ٠,٧. يلى ذلك تصفية اللبن فى حوض التجبن مزدوج الجدران، و لابد أن لا تزيد نسبة الحموضة عن ٠,١٨% كحمض لاكتيك ، ثم ترفع درجة حرارة اللبن الى ٣٣ °م ، بعد ذلك يضاف البادىء بنسبة ١% (بادىء الزبادى)، ثم يترك اللبن لمدة ٤٠ دقيقة حتى تصبح الحموضة ٠,١٩ ــ ٠,٢٠% ، ثم تضاف صبغة الأناتو (٥ مل / ١٠٠ كجم) و يقلب اللبن و يترك ١٠ دقائق ، يلى ذلك إضافة المنفحة بمعدل ٣٠ مل لكل ١٠٠ كيلو لبن و ذلك بعد تخفيفها بـ ٦ أمثالها بالماء حتى يتم توزيعها، يترك اللبن لمدة ٤٠ دقيقة حتى يتم التجبن وذلك على ٣٣ °م، بعد ذلك تقطع الخثرة بالسكاكين الطولية و العرضية وتترك ١٠ دقائق بدون تقليب ، يلى ذلك عملية السمط ، حيث ترفع درجة الحرارة إلى ٤٢ °م لمدة ٢٠ دقيقة ، حتى تصبح حبيبات الخثرة تشبة حبات البسلة عند فركها باليد ، حيث أن عملية السمط أدت إلى إرتفاع الحموضة إلى ٠,١٥% ، يلى ذلك تصفية الخثرة من الشرش وتعبئتها فى القوالب المبطنة بالشاش السابق تعقيمه بالماء الساخن، يلى ذلك كبس الخثرة لمدة ٥ ساعات مع زيادة الضغط عليها كل ساعة، ثم يعاد كبسها مقلوبة طوال الليل ، ترفع القوالب من تحت المكابس و تملح ٥٠جم ملح لكل قرص وزنه ٧ كجم لمدة ١٢ يوم و ذلك فى حجرة جيدة التهوية، بعد ذلك تغسل الأقراص بماء دافىء ٥٠ °م ، ثم تجفف ، يلى ذلك عملية التشميع و التسوية على ١٥ °م و رطوبة ٨٥ % لمدة ٤ شهور.

الميكروبات السائدة فى الأيام الأولى من التسوية هى *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp.

bulgaricus و مع مرور الوقت تقل هذه الأنواع من الجبن وفى بعض الحالات يظهر العديد من الفطريات على سطح الجبن مثل *Mucor* و *Pencillium* و *Cladosporium* و *Aspergillus* .

٣-جبن التشيدر Cheddar Cheese

جبن جاف إنجليزى ، و تصنع من لبن معدل تركيبة بحيث تكون نسبة الكازين إلى الدهن ٠,٧ ، ثم يضاف البادىء و هو *Lactococcus lactis* ssp. *lactis, Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* حتى تصبح الحموضة ٠,٢٢ % ثم تضاف صبغة الأناتو والمنفحة على ٣٠ °م ، و بعد التخثر تقطع الخثرة إلى مكعبات حجمها ٠,٥ سم^{٣} و تجرى عملية السمط برفع الحرارة تدريجيا إلى ٣٩ °م ، ثم يصرف الشرش ، يلى ذلك عملية الشدرنة وهى تكديس الخثرة فى طبقات فى جو دافىء (٤ - ١٢ ساعة) لكى تزداد الحموضة(٠,٥٥%) تتحول الخثرة من القوام الخشن المطاط إلى القوام الناعم الطرى وذلك بسبب تحول الكالسيوم المرتبط بالكازين إلى كالسيوم ذائب ، بعد ذلك تفرم الخثرة لسهولة تعبئتها و التخلص من الرطوبة الزائدة ، ثم إضافة الملح ٢% ثم التعبئة فى القوالب المبطنة بالشاش السابق تعقيمة بالماء الساخن و الكبس و التسوية لمدة ١٢ – ٢٤ شهر على ١٥ °م ورطوبة ٧٠ %.

الميكروبات السائدة فى هذا الجبن ، نجد أن الأنواع الحساسة للحرارة وهى *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* تقل : ومع تقدم وقت التسوية فإن *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* أيضا تقل ومع عدم العناية بنظافة غرف التسوية قد يظهر عليها بعض الأعفان مثل *Penicillium* و *Aspergillus*. .

أهم أنواع الجبن نصف الطرى:-

١- جبن الليمبرجر Limburger

جبن أمريكى نصف طرى ، وهو من مجموعة الجبن المسواة سطحياً بالبكتيريا، وخطوات صناعتها كالتالى:-

١-يبستر اللبن على ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية ، ثم يبرد إلى ٣٠°م .

٢-يضاف البادىء و هو عبارة عن *Streptococcus thermphilus* و *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*

3 - يضاف كلوريد الكالسيوم(٠,٠٢%) ويترك نصف ساعة لتمام التأين.

٣-تضاف المنفحة (٢٢ مل لكل ١٠٠ لتر لبن) و ذلك بعد تخفيفها بحوالى ٣ أمثالها بالماء.

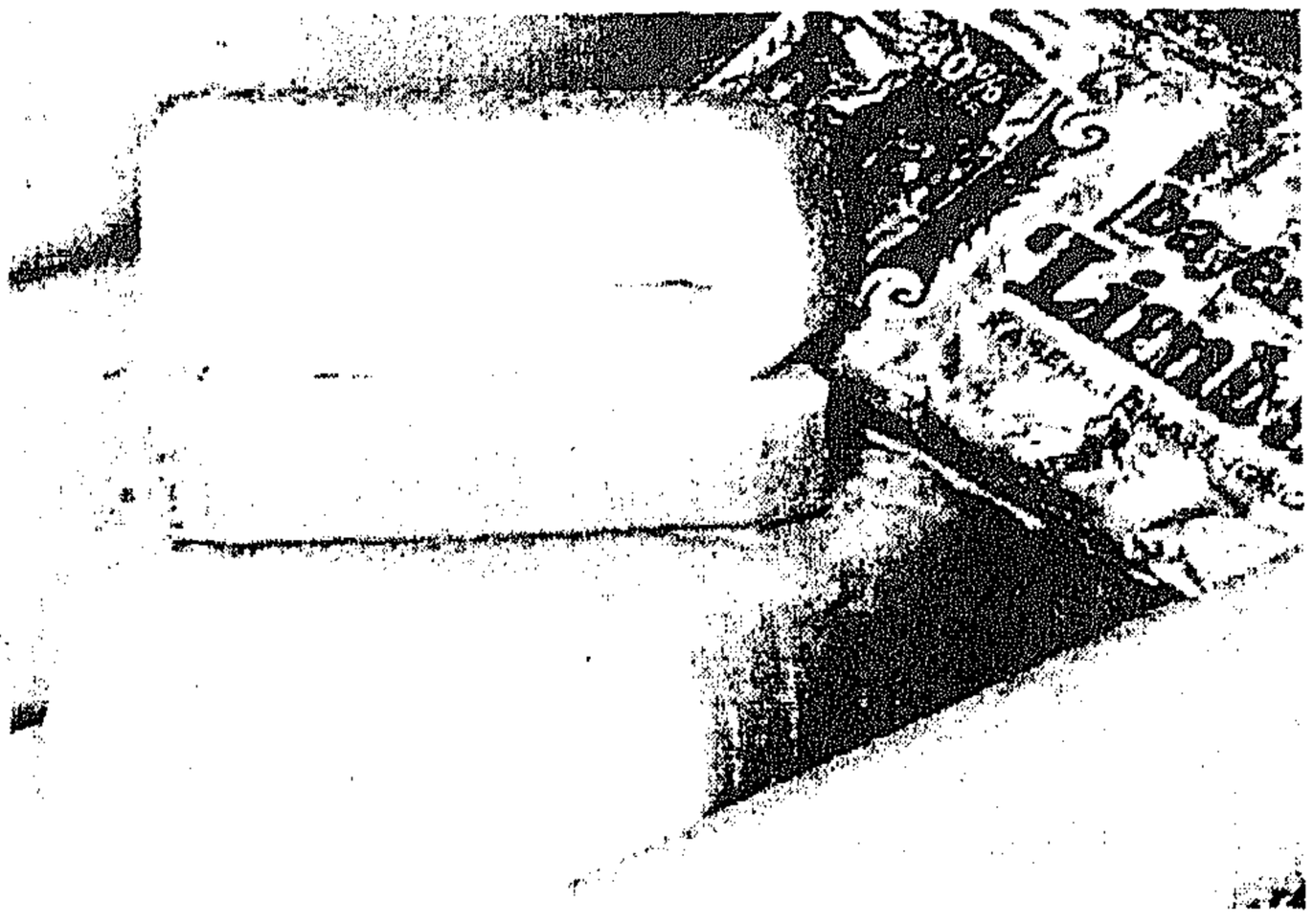
٤-بعد إضافة المنفحة يتم التقليب جيداً، و يحضن اللبن على ٣٠ °م لمدة ٣٥ دقيقة حتى تمام التجبن.

٥-بعد تمام التجبن تقطع الخثرة و تجرى عملية السمط على ٣٥ °م وذلك لتكوين غشاء شبه منفذ يسمح بمرور الشرش و يحجز البروتين و الدهن داخل الخثرة، ثم يتم التخلص من الشرش.

٦-تعبأ الخثرة فى القوالب الخاصة بها و توضع الأثقال لعدة أيام مع التقليب.

٧-يجرى التمليح فى محلول ملحى(٢٣%) على ١٠ °م / ٢٤ ساعة.

٨-تجرى عملية التسوية على ١٦ °م، وذلك عن طريق إستخدام أقراص قديمة كمصدر للميكروبات وتلقح بها الأقراص الجديدة فتقوم الخمائر مع فطر اللبن الأبيض فى النمو وخفض الـ pH فتتوفر الحموضة اللازمة لنمو و نشاط الـ*Brevibacterium linens* و التى تعمل على تحليل البروتين منتجة مركبات الطعم و الرائحة بالإضافة إلى تكوين اللون الأحمر البرتقالى المميز(شكل رقم ٤١).



شكل رقم (٤١) : جبن الليمبرجر Limburger.

والميكروبات التى تسود فى هذا النوع من الجبن ، هى الميكروبات المكونة للبادىء ، بالإضافة إلى بكتيريا الـ *Clostridium* التى تسبب التخمر العصفى أو التخمر المتأخر Late Blowing و قد تظهر بكتيريا *Escherichia* coli التى تسبب التخمر المبكر Early Blowing .

٢ـ جبن الجودا و الإيدام Gouda and Edam Cheese

جبن هولندى نصف طرى ، وخطوات صناعتهما كالتالى:-

١ـ يجرى عمل بسترة للبن على ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية ، ثم يبرد إلى ٣٠°م .

٢ـ يضاف كلوريد الكالسيوم(٠,٠٢%) ويترك نصف ساعة لتمام التأين ، ويضاف أيضا الملون و نترات الصوديوم(١٥جم / ١٠٠لتر لبن) لمنع حدوث التخمر المتأخر.

٣ـإضافة ٠,٥% بادىء حامض اللاكتيك المحب للحرارة المتوسطة.

٤ـتضاف المنفحة(٣٠/١٠٠ لتر لبن) وتحضن على نفس درجة الحرارة لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم تقطع إلى مكعبات قطرها ١ سم و تجرى عملية السمط عن

طريق وضع ٨ -١٠ %من حجم الخثرة و الشرش المتبقى أو ربع كمية اللبن المستخدمة فى التصنيع ماء، درجة حرارته ٥٥°م و ذلك لرفع درجة حرارة الخثرة إلى ٣٧°م لمدة ٣٠ دقيقة ، وفائدة الماء المضاف هى رفع درجة الحرارة و تخفيف سكر اللاكتوز و بالتالى وقف نشاط بكتيريا البادىء.

٥-يتم تعبئة الخثرة فى القوالب الخاصة بها ، حيث إن جبن الإيدام تكون فى شكل كور وزنها ٢ كجم أما الجودا تكون فى شكل كور وزنها ٣,٥-٢٥ كجم.

٦-بعد التعبئة و الكبس على شكل كرة ، و يتم التمليح فى محلول ملحى (٢٤%) لمدة ٤٨ ساعة ، يلى ذلك عمل تجفيف ،حتى تتكون قشرة.

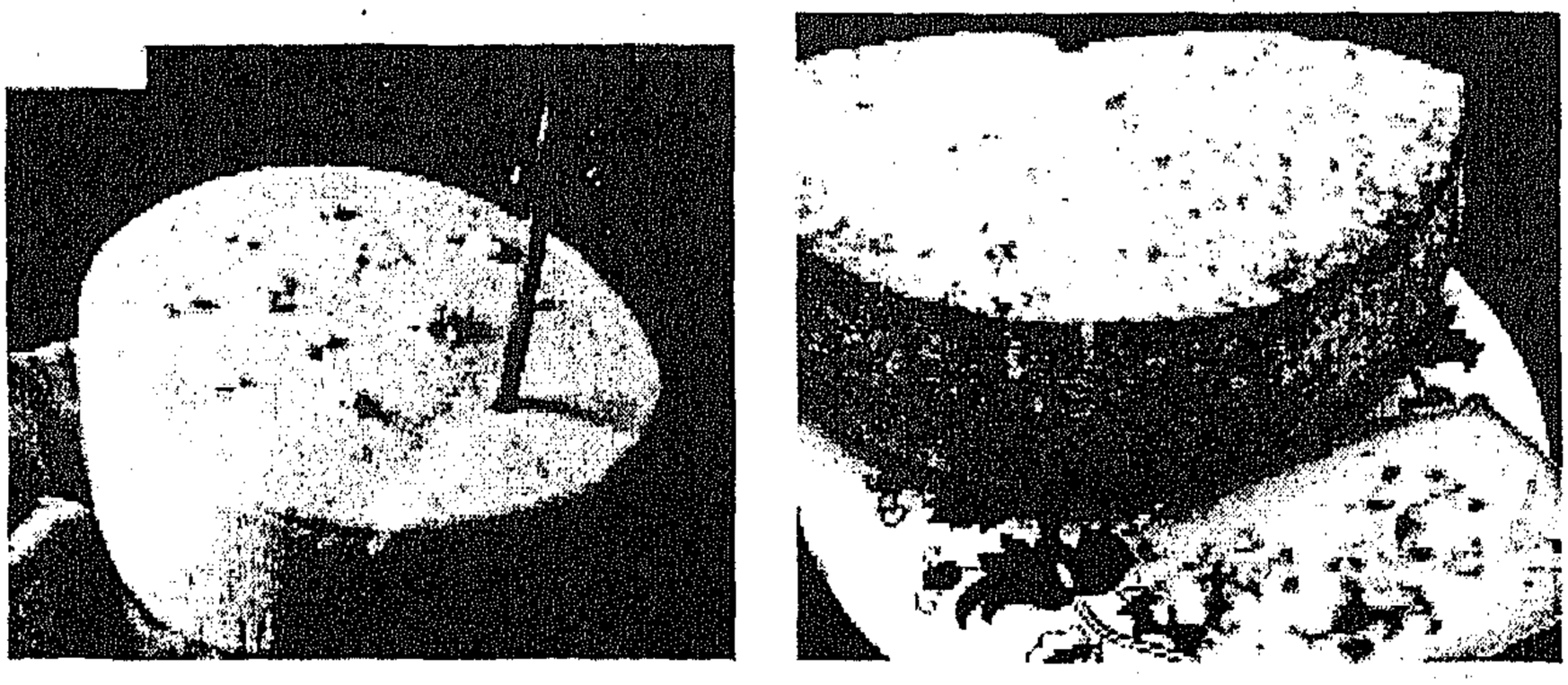
٧-تنقل إلى غرفة التسوية على ١٥°م و رطوبة ٨٥% لمدة ٤٢ يوم و تشمع قبل التسويق.

و الميكروبات السائدة فى بداية التسوية تكون *Lctococcus lactis* ssp. *cremoris* و مع تقدم الوقت و ارتفاع الحموضة فإن الـ *Leuconostoc mesentroides* ssp. *dextranicum* يصبح هو السائد.

٣-جبن الريكفورد Roquefort Cheese

جبن نصف طرى فرنسى معرقة بالفطر ، تصنع من لبن الأغنام، و طريقة تصنيعها بإختصار تتم ببسترة اللبن و تجنيسة و ذلك بغرض الحصول على خثرة ناعمة و الإسراع من عملية تحلل الدهن بواسطة الفطر ، حيث أن التجنيس يعمل على زيادة سطح الدهن، يلى ذلك إضافة البادىء والمنفحة و الـ *Penicillium roqueforti* فى صورة معلق مائى أو مسحوق جراثيم ، ثم تقطع الخثرة و تعبأ وتكبس ، و تنقل إلى غرف التسوية على ١٢° م و رطوبة ٩٦% ، وبعد ١٨ يوم تخرم الخثرة بإبر خاصة (شكل

رقم ٤١) ، بحيث يكون قطرها ٦ مم ، و بعد ٣ شهور من التسوية يظهر نمو الفطر على القرص.



شكل رقم (٤٢) : جبن الريكفورد سواء بعد عملية التسوية أو أثناء عملية التخريم .

و الميكروبات السائدة فى هذا النوع من الجبن تكون بكتيريا الـ *Lactococcus lactis* ssp *lactis* فى بداية التسوية ، و مع مرور الوقت تزداد الحموضة فتنمو بكتيريا الـ*Brevibacterium linens* و تصبح هى السائدة بعد ١٧ يوم من التصنيع ، ومع مرور الوقت فإن فطر الـ *Penicillium roqueforti* يصبح هو السائد فى الجبن وذلك بعد شهر من التصنيع.

أهم أنواع الجبن الطرية:-

١-الجبن القريش

يكتب *Karish, Kariesh* or *Kareish* cheese ، وهو جبن طرى و أحد أنواع الجبن الأبيض والطريقة التقليدية لإنتاج جبن قريش فى المصانع تتلخص فى:-

١-فرز اللبن الكامل بواسطة الفراز.

٢-بسترة اللبن للقضاء على الميكروبات غير المرغوب فيها.

٣-إضافة بادىء من بكتيريا حمض اللاكتيك لإحداث التجبن الحمضى.

٤-يترك اللبن لمدة ١٢-١٨ ساعة.

٥-تعبأ الخثرة فى القوالب أو الشاش على أن يتم نزع الجبن من القوالب أو الشاش و يملح على حسب رغبة المستهلكين(٢ -٤ % من وزن الخثرة) و نسبة التصافى ١٥ -٢٠ %.

و الميكروبات السائدة , *Streptococcus thermophilus*

Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus

بالإضافة إلى بعض الأجناس الأخرى الناتجة عن التلوث مثل *Bacillus , Staphylococcus, Clostridium, Micrococcus*

٢-الجبن الدمياطى Domiati cheese

جبن مصرى ويسمى جبن الخزين لأنه يخزن فى الصفائح و البرطمانات و يسمى فى الخارج بالجبن المخلل نظراً لأنه يخزن فى الشرش و قد يسمى جبن داير بعد شهر – ٣ أشهر من التخزين، أما إذا خزن ٦ أشهر يسمى جبن إستانبولى وهو جبن طرى يمثل أحد أنواع الجبن الأبيض وسعر هذا الجبن أغلى من الجبن الطازج لأن وزن الجبن يقل بنسبة ٢٠-٤٠% خلال فترة التخزين و خطوات تصنعها هى:-

١-يتم إضافة ١٠-١٤%ملح إلى اللبن الخام ، ثم يصفى خلال شاش سميك.

٢-يتم تسخين اللبن فى حمام مائى إلى ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية و يتم قشط الريم الناتج من الملح من على سطح اللبن ثم يبرد إلى ٤٠ °م ويضاف كلوريد الكالسيوم(٠,٠٢%) ويترك نصف ساعة لتمام التأين.

٣-يتم تخفيف المنفحة بحوالى ٣ أمثالها بالماء قبل إضافتها للبن.

٤-بعد إضافة المنفحة يتم التقليب جيداً، ثم يحضن اللبن على ٤٢ °م لمدة ٢-٣ ساعات حتى تمام التجبن.

٥-بعد تمام التجبن تعبأ الخثرة فى البراويز الخشبية المبطنة بالشاش دون وضع أثقال و بعد ساعتين يتم وضع الأثقال (وزن ماء إلى وزنتين لبن).

٦-جمع الشرش و غليه لمدة ٣٠ دقيقة و يبرد لإستخدامه فى تخليل الجبن.

٧-بعد مرور ٢٤ ساعة من الكبس تقطع الجبن إلى مكعبات (٩×١٠×٩سم) و توضع فى الأكياس الموجودة بالصفائح (الصفيحة ١٢ ،١٦، ١٤كيلو جبن مع شرش) ثم يوضع الشرش المعقم ، و تلحم الصفائح.

و الميكروبات السائدة فى بداية التسوية هى الأجناس المحبة للحموضة المنخفضة مثل *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* , *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*

أما بعد ذلك ومع إرتفاع الحموضة تصبح الأنواع السائدة هى *Lactobacillus helveticus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei*.

٣-جبن الثلاجة

هو جبن طرى أبيض ، وقد يسمى جبن الدوبل كريم وهو مرتفع الثمن لأن نصف اللبن الداخل فى تصنعه لابد أن يكون جاموسى ، ولابد أن يكون نظيفاً جدا لأن نسبة الملح المضافة قليلة . وخطوات تصنعها هى كالتالى:-

١-يستخدم لبن بقرى : لبن جاموسى بنسبة ١:١ و يبستر على ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية ، ثم يبرد إلى ٤٠ °م.

٢-يضاف ملح بنسبة ٦ % ، و كلوريد الكالسيوم(٠,٠٢%) ويترك نصف ساعة لتمام التأين.

٣-يتم تخفيف المنفحة بحوالى ٣ أمثالها بالماء قبل إضافتها للبن.

٤-بعد إضافة المنفحة يتم التقليب جيداً، و يحضن اللبن المنفح على ٣٨ °م لمدة ١-٥,١ ساعة حتى تمام التجبن.

٥-بعد تمام التجبن تعبأ الخثرة فى البراويز الخشبية المبطنة بالشاش دون وضع أثقال لمدة ساعتين يلى ذلك وضع الأثقال (وزن ماء إلى وزنتين لبن).

٦-جمع الشرش و يغلى لمدة ٣٠ دقيقة و يبرد لاستخدامه فى تخليل الجبن.

٧-بعد مرور ٢٤ ساعة من الكبس تقطع الجبن الى مكعبات(٩×١٠×٩سم) و توضع فى الأكياس الموجودة بالصفائح(الصفيحة ٢٠ ،٢٢ كيلو جبن بدون شرش) ثم يوضع الشرش المعقم ، و تلحم الصفائح.

و الميكروبات السائدة هى الـ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* , *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* .

٥-جبن الفتا Feta cheese

هو جبن طرى أبيض مخلل مثل الجبن الدمياطى ، و الأن يتم تصنعه بطريقة Ultra Filtration ، حيث تعمل هذه الطريقة بصفه عامه إلى تجزئة المحلول المعامل إلى جزئين:

أ-المركز Retentate : الجزء من المحلول الأصلى الذى تتركز فيه الجزيئات المحتجزة بواسطة غشاء الترشيح (البروتين و الدهن و الأملاح غير الذائبة الغروية)، ويطلق علي النسبة بين وزن المركز ووزن المحلول الأصلي معامل التركيز.

٢-الراشح Permeate : الجزء من المحلول المار من أغشيه الترشيح بما يحمله من جزيئات لها القدرة على النفاذ من مسام الغشاء (الماء و اللاكتوز والأملاح الذائبة و المواد النيتروجينية غير البروتينية و الفيتامينات).

و تتم صناعتها ببسترة اللبن و تبريده، يلى ذلك ترشيحه بطريقة UF إلى نسبة ٤,٥ : ١ (أى تبلغ الجوامد الصلبة الكلية ٣٥ ـ ٤٠ %) يلى ذلك بسترة و تجنيس اللبن و تبريده، ثم إضافة البادىء و المنفحة ويجرى الخلط والتعبئة و التجبن و التقطيع و التمليح و قفل العبوات.

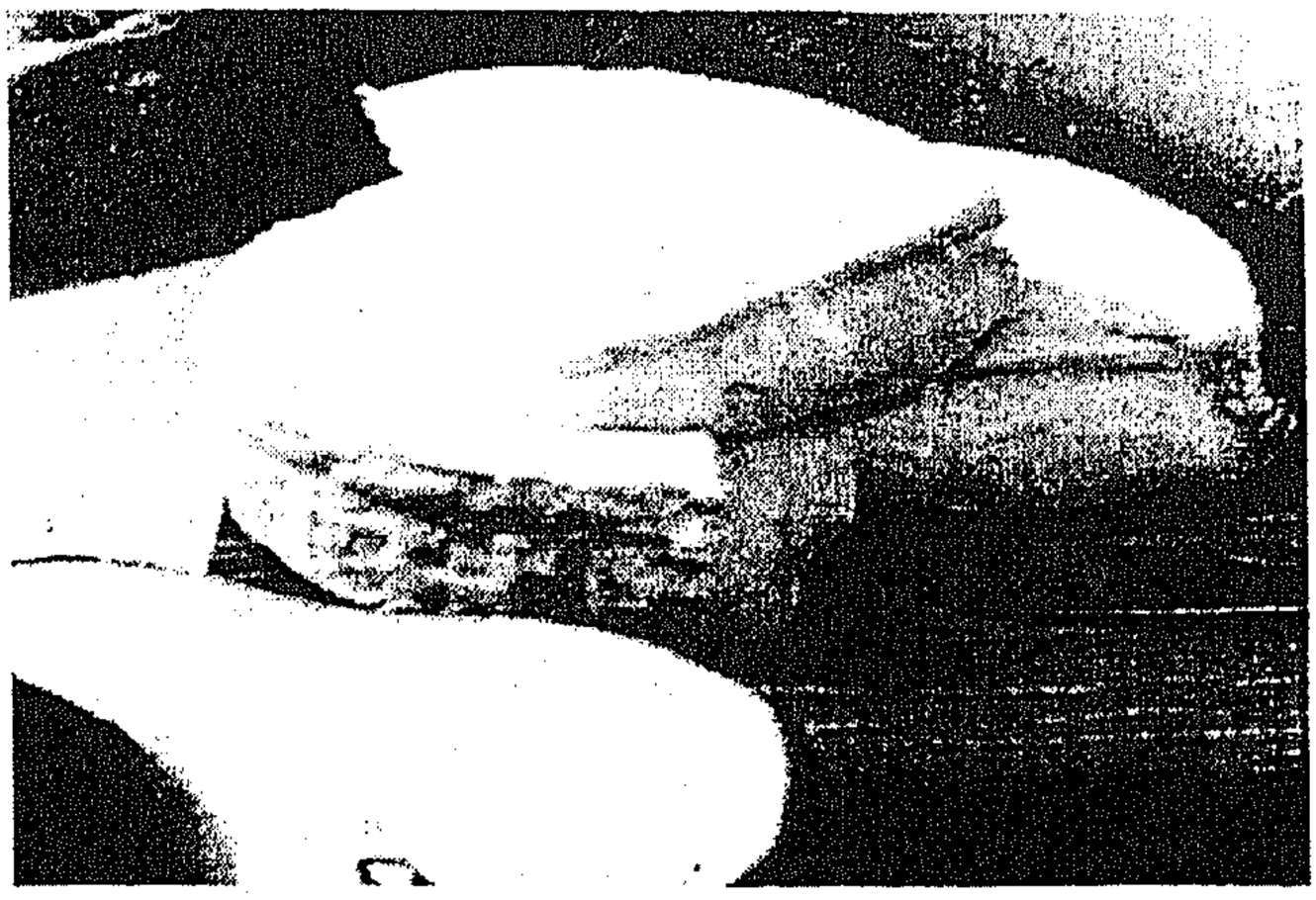
و الميكروبات السائدة هى الـ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* , *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*

ويمكن أن تنمو الـ Coliforms و تكون غازات نتيجة التلوث.

٦- جبن الكاممبرت Camembert cheese

هو جبن طرى ، يسوى سطحياً بالفطر(شكل رقم ٤٣) و يصنع ببسترة اللبن الخام التى لاتزيد الحموضة به عن ٠,١٦% على ٧٢ °م لمدة ١٥ ثانية، ثم يبرد اللبن إلى ٣٣ °م ، و يضاف البادىء بنسبة ٢ % و صبغة الأناتو بمعدل ٧ مل/١٠٠٠ رطل لبن و ٢٠ مل من محلول مشبع من كلوريد الكالسيوم ويحضن الخليط على ٣٢ °م لمدة ساعة ، يلى ذلك إضافة المنفحة بمعدل ١٠٠ مل/ ١٠٠٠ رطل و تحضن على ٣٠ °م لمدة ١,٥ ساعة ثم تقطع الخثرة إلى مكعبات ٣ ـ ٤ سم^{٣} ، ثم يصفى الشرش خلال ٥,٥ ـ ٦ ساعات، و تنقل المكعبات فى أوعية إسطوانية من الإستانليس إستيل و تملح و يتم التلقيح بالجراثيم بنشرها على الخثرة، و يتم التقليب على فترات ٠,٥ و١ و٢ و٥ ساعات لضمان توزيع الجراثيم، و بعد ذلك تنقل إلى غرفة التسوية على ١٥ °م

و رطوبة ٨٥ % لمدة ١٢ يومًا ، ثم تعبأ فى ورق ألومنيوم و تخزن على درجة حرارة لا تزيد عن ٢٥ °م.



شكل رقم (٤٣) : جبن الكاممبرت.

والميكروبات السائدة بها هى الـ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* , *Geotrichum candidum, Penicillium camembertii*.

ميكروبات القشدة و الزبد

القشدة و الزبد هي تلك المنتجات التي يمكن تصنيعها أو تحضيرها من اللبن، وتتصف بأنها تحتوى على نسبة مرتفعة من دهن اللبن، حيث إن القشدة تحتوى على ١٢-٦٠% دهن و الزبد تحتوى على ٨٧-٨٠% دهن.

أولاً: القشدة Cream

يتم تحضير القشدة إما عن طريق :-

طريقة الجاذبية الأرضية (الترقيد) Gravity separation

تعتمد طريقة الترقيد على إختلاف الكثافة بين الدهن (٠,٩١ – ٠,٩٣)، واللبن الفرز (١,٠٣٥ – ١,٠٤٠) ، حيث بعد الحليب مباشرة يكون الدهن موزعاً بانتظام في اللبن ، وإذا ترك هذا اللبن ساكنا في إناء فإن حبيبات الدهن ترتفع إلى أعلى لتكوين طبقة القشدة ، و يشجع ذلك وجود مادة الأجلوتنين التى توجد باللبن البقرى و تقل فى اللبن الأغنام والماعز و لا توجد فى اللبن الجاموسى. كما أن اللبن الجاموسى يتم ترقيده على ١٥ -٢٥ °م ، لأن هذه الدرجة تقلل اللزوجة و تزيد من سرعه صعود حبيبات الدهن إلى أعلى ، أما اللبن الجاموسى فيرقد على ١٠ -١٥ °م ، لأن مادة الأجلوتنين تجمع حبيبات الدهن الصلبة و نصف الصلبة.

طريقة الطرد المركزى Centrifugal separation

عند تعريض اللبن لقوة طرد مركزى فإن سيرم اللبن (الأكبر كثافة) يطرد للخارج أما القشدة (الأقل كثافة) فإنها تتجه نحو المركز، و ذلك بإستخدام الفرازات.

الميكروبات السائدة فى القشدة تتوقف على اللبن المنتجه منه ، حيث أن القشدة بصفة عامة هي عبارة عن الطبقة التي تتكون فوق سطح اللبن وتتركز فيها الدهن وهي تحتوى على جميع المكونات الموجودة في اللبن الكامل الذى تحضر منه ولكن بنسب متفاوتة ، لذلك فإن محتواها من الميكروبات يماثل محتوى اللبن المصنعة منه، أى أن الجرام الواحد يحتوى على ملايين الخلايا .

و من المعاملات التصنعية المؤثرة على محتواها الميكروبى بسترة اللبن التى تصنع منه و بالتالى تقضى على معظم الميكروبات الممرضة و التى قد تنتقل إلى القشدة ، أيضاً قد تحفظ القشدة بعد بسترتها على ٨٧ °م لمدة ١٥ ثانية أو ٦٥ °م لمدة نصف ساعة و بالتالى تقضى على معظم الميكروبات الممرضة

التى إنتقلت إليها من اللبن المصنعه منه، و أشهر الميكروبات الموجودة بها هى *Geotrichum candidum* و *Clostridium bifermentans* و *Clostridium sporogenes*.

ثانياً: الزبد Butter

هو الناتج من تجميع حبيبات الدهن الموجودة باللبن أو القشدة أو الشرش بالطرق اليدوية أو الآلية ، و عملية تصنيعها تعتمد على نظرية الخض وعملية الخض ما هي إلا عملية إنقلاب للوسط فبدلاً من أن يكون وسط الإنتشار في اللبن أو القشدة هو اللبن الفرز والمادة المنتشرة هي كرات الدهن، فإن الوضع ينقلب في الزبد ويصبح وسط الإنتشار هو الدهن والمادة المنتشرة هي قطرات من اللبن الخض والماء ، و جدول (١٩) يوضح أهم المعاملات التصنعية التى تؤثر على محتوى الزبد من الميكروبات.

جدول(١٩): أهم المعاملات التصنيعية المختلفة المؤثرة على محتوى الزبد من الكائنات الحية الدقيقة.

المعاملات التصنيعية المختلفة	تأثيرها
بسترة القشدة المستخدمة فى التصنيع.	تقضى على معظم الميكروبات الممرضة التى من الممكن أن تنتقل إلى الزبد.
عملية تخمير القشدة.	إن إضافة البادىء يعمل زيادة *Pseudomonas pseudomalle* و *Pseudomonas flourescens* و اللذان يعملان على تحليل الدهن و البروتين.
إضافة الملح	التمليح فى محلول ملحى ١٠ % يقلل من محتواها من الميكروبات و يزيد من فترة حفظها و يمنع من نمو الـ *Pseudomonas mucidolans* و *Flavobacterium odoratum* اللذان يسببان الطعم العفن.
عملية الغسيل	الماء غير المعقم يؤدى إلى تلوث الزبد خاصة بـ *Pseudomonas mucidolans* المسببة للطعم العفن.
عدم العناية بتنظيف الأجهزة و الماكينات المستخدمة	يؤدى إلى نمو العديد من الأعفان مثل , *Aspergillus*, *Penicillium* , اللذان يؤديان إلى ظهور اللون الأخضر ونمو العديد من الأعفان مثل *Cladosporium* *Mucor*, *Aspergillus* , و التى تؤدى إلى ظهور اللون الإسود .

<u>الاختبار البعدى:-</u>

اختر إجابة واحدة

١-مصدر ميكروبات الجبن

A. البادىء.

B. البكتيريا المقاومة للحرارة.

C. A و B معًا.

٢-من ميكروبات جبن الموزاريلا

A. *Bacillus*.

B. *Micrococcus*.

C. A و B معًا.

٣-أثناء تسوية جبن التشيدر فإن *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*

A. تقل.

B. تزداد.

C. تظل كما هى.

٤-يرجع نمو الـ *Aspergillus* على جبن التشيدر فى غرفة التسوية إلى

A. إنخفاض درجة الحرارة الى ١٠ °م.

B. عدم النظافة.

C. A و B معًا.

٥-تسبب التخمر المبكر فى جبن الليمبرجر

A. *Escherichia coli*.

B. *Clostridium*.

C. A و B معًا.

٦-يسود فى جبن الركفورد بعد شهر من التسوية ميكروب

A. *Lactococcus*

B. Brevibacterium

C. Penicillium roqueforti

٧-يستخدم كبادىء فى جبن الكاممبرت

A. Penicillium camembertii

B. Penicillium roqueforti

C. Geotrichum candidum

٨-تسبب ثقوب فى جبن الفيتا

A. Coliforms.

B. Lactococcus

C. Bacillus

٩-سائدة أثناء تسوية جبن الجودا و الإيدام

A. *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*

B. Streptococcus thermophilus

C. A و B معًا.

١٠- *Brevibacterium linens* تعمل فى جبن الليمبرجر على

A. تحليل البروتين.

B. تحليل الدهن.

C. تحليل البروتين و الدهن.

١١-من مصادر تلوث اللبن المعقم

A. عملية التشغيل

B. أجهزة التعبئة

C. A و B معًا

١٢- *Bacillus cereus*

A. تحلل البروتين

B. تجبن اللبن

C. تسبب الطعم المؤكسد

١٣-يقلل محتوى اللبن المكثف المحلى من الميكروبات بـ

A. التعقيم

B. إضافة السكر

C. A و B معًا

١٤-نمو الـ *Micrococcus* فى اللبن المكثف المحلى يؤدى إلى تكون

A. طعم جبنى حامضى

B. قوام غليظ

C. A و B معًا

١٥-يرجع تكوين الغاز فى اللبن المكثف المحلى إلى

A. نمو بكتيريا القولون

B. *Debaromyces*

C. A و B معًا

١٦- *Bacillus subtilis* تؤدى إلى

A. ظهور الطعم المر فى اللبن المكثف غير المحلى

B. الطعم الحامضى فى اللبن المكثف غير المحلى

C. A و B معًا

١٧-يقلل محتوى اللبن المجفف بطريقة الإسطوانات من الميكروبات عن طريق

A. تكثيف اللبن

B. تجفيف اللبن

C. A و B معًا

١٨-بسترة اللبن أثناء تصنيع اللبن المجفف تعمل على

A. قتل معظم الكائنات الحية الدقيقة

B. تثبيط إنزيمات اللبن

C. A و B معًا

١٩-من الأجناس الموجودة باللبن المجفف

A. *Bacillus*

B. *Lactococcus*

C. A و B معًا

٢٠-اللبن الناتج من التعقيم التجارى

A. خالٍ من الميكروبات

B. يحتوى على *Clostridium*

C. جميع الإجابات صحيحة

٣١-من فوائد الألبان المتخمرة

A. خفض مستوى الكوليسترول

B. تثبيط النموات السرطانية

C. A و B معًا

٣٢-الألبان المتخمرة

A. تنشط إنزيم Nitroreductase

B. تثبط إنزيم Nitroreductase

C. جميع الإجابات خطأ

٣٣-اللبن الرايب ينتشر فى

A. الريف المصرى

B. الوجه القبلى

C. A و B معًا

٣٤-من ميكروبات اللبن الخض

A. *Lactobacillus casei*

B. *Streptococcus*

C. A و B معًا

٤٥-الكشك لبن متخمر فى

A. صعيد مصر

B. الوجه البحرى

C. A و B معًا

٣٦-يصنع الكوميس من لبن

A. الأفراس

B. الأبقار

C. الجاموس

٣٧-يستخدم فى صناعة لبن الأسيدوفلس

A. *Lactobacillus acidophilus*

B. *Lactobacillus casei*

C. A و B معًا

٣٨- *Streptococcus thermophilus*

A. يستخدم فى تصنيع الزبادى

B. يستخدم فى تصنيع الجبن القريش

C. A و B معًا

٣٩-الـ Prebiotic يمكن أن يكون

A. عسل مع زبادى

B. جذور خرشوف مع جبن قريش

C. A و B معًا

٤٠-من مواصفات الـ Probiotic

A. تحمل الـ pH المنخفض

B. تحمل أملاح الصفراء

C. A و B معًا

٤١-من المعاملات التكنولوجية التى تؤثر على محتوى القشدة من الميكروبات

A. الطرد المركزى

B. البسترة

C. A و B معًا

٤٢-من ميكروبات القشدة

A. *Clostridium sporogenes*

B. *Streptococcus thermophilus*

C. *Escherichia coli*

٤٣-تحلل الدهن و البروتين بالقشدة

A. *Pseudomonas*

B. *Lactococcus*

C. *Lactobacillus*

٤٤-عملية غسيل الزبد

A. تزيد المحتوى الميكروبى

B. تقلل المحتوى الميكروبى

C. لا تؤثر على المحتوى الميكروبى

٤٥-يسبب اللون الأخضر على الزبد

A. *Aspergillus*

B. *Penicillium*

C. A و B معًا

٤٦-البقع السوداء على الزبد ترجع إلى

A. *Mucor*

Pseudomonas .B

C. A و B معًا

٤٧-الطعم العفن فى الزبد يرجع إلى

Pseudomonas mucidolans .A

Flavobacterium odoratum .B

C. A و B معًا

٤٨-تمليح الزبد بـ ١٠% ملح

A. يقلل المحتوى الميكروبى

B. يزيد المحتوى الميكروبى

C. لا يؤثر على المحتوى الميكروبى

٤٩-من العوامل التى تؤثر على محتوى الزبد من الميكروبات

A. الأجهزة

B. عملية الغسيل

C. A و B معًا

٥٠-تخمير القشدة أثناء تصنيع الزبد

A. تزيد من الحمل الميكروبى

B. تقلل من الحمل الميكروبة

C. لا تؤثر على الحمل الميكروبى

٥١-الجروح بيد الحلاب تؤدى إلى تلوث اللبن بـ

Staphylococcus .A

Bacillus .B

C. A و B معًا

٥٢-تعقم الأدوات و المقلبات المستخدمة فى إنتاج اللبن بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيزه

A. يتراوح بين ٢٠٠ – ٤٠٠ ppm

B. يتراوح بين ٣٠٠ – ٦٠٠ ppm

C. يتراوح بين ١٠٠ – ٥٠٠ ppm

٥٣-من المواصفات الميكروبيولوجية للماء المستخدم فى مصانع الألبان

A. عدد البكتيريا الكلى لا يزيد عن ١٠٠٠ خلية / مل

B. عدد البكتيريا المحبة للبرودة لا يزيد عن ١٠ خلية / مل

C. A و B معًا

٥٤-الاعلاف الخضراء و المركزة العالقة بجسم الحيوان هى مصدر التلوث بـ

A. *Clostridium*

B. *Pseudomonas*

C. *Micrococcus*

٥٥-يتوقف محتوى الهواء من الميكروبات على

A. ما يحمله من غبار

B. ما يحمله من جراثيم

C. A و B معًا

٥٦-من مصادر تلوث اللبن المبستر

A. الرغاوى المتكونه أثناء عملية التقليب

B. عدم سلامة صمام التحويل

C. A و B معًا

٥٧-من الأجناس التى تقاوم درجة حرارة البسترة

A. *Enterococcus*

B. *Streptococcus*

C. A و B معًا

٥٨-من الشروط الميكروبيولوجية التى يجب أن تتوفر فى اللبن المبستر

A. أن يكون خاليًا من بكتيريا السل

B. عدد بكتيريا الكوليفورم لا تزيد ١٠ / مل

C. A و B معًا

٥٩-الفضلات العالقة بجسم الحيوان هى مصدر التلوث بـ

A. *Escherichia coli*

B. *Bacillus*

C. A و B معًا

٦٠-الهواء يعمل على

A. زيادة محتوى اللبن من الميكروبات

B. لا يؤثر على محتوى اللبن من الميكروبات

C. يقلل من محتوى اللبن من الميكروبات

الباب السابع

دور اللبن السائل و منتجاته فى نقل الأمراض

دور اللبن و منتجاته فى نقل الأمراض

يعتبر اللبن من الأغذية المثالية لجميع الأفراد ، وذلك بسبب فوائده الغذائية الكبيرة ، فهو مصدر ممتاز للبروتينات و الكربوهيدرات و الدهن ، وكذلك الأملاح المعدنية والفيتامينات ، ومع ذلك فإن اللبن يعتبر سلاحًا ذا حدين ، لأنه يوفر بيئة مناسبة لنمو و نشاط و تكاثر الكائنات الحية الدقيقة الملوثة للبن ، لذلك فإن شرب اللبن بدون معاملة حرارية سواء بالتعقيم أو بالغلى أو بالبسترة يعد وسيلة جيدة لإنتشار الأمراض المعدية مثل حمى التيفود و السل و الإسهال ، والتسمم الغذائى والدفيتريا والحمى المالطية.

و الأمر لا يقتصر على اللبن الملوث فقط ، بل قد يمتد إلى منتجات الألبان بأنواعها المختلفة مثل الجبن بأنواعها و الألبان المتخمرة والآيس كريم وغيرها ، فقد لوحظ عام ١٩٨٧م أن اللبن و منتجاته ساهم بنسبة ١,٥% فى نقل الأمراض فى أمريكا ، و فى أسبانيا كانت النسبة ٤%، أما فى ألمانيا كانت٨ %. أيضا عام ١٩٨٥ م توفى ٨٥ شخص نتيجة تغذيتهم على جبن ملوث بالليستريا فى جنوب كاليفورينا ، أما فى وقتنا الحالى خاصة فى دول العالم الثالث فإن أشهر الميكروبات التى تنتشر عن طريق اللبن و منتجاته هى البكتيريا العنقودية التى تسبب التسمم الغذائى.

لذا يجب العناية عند إنتاج لبن للإستهلاك الطازج أو الذى سيصنع الى منتجات أخرى عديدة .

تقسيم الأمراض التى تنتقل عن طريق اللبن و منتجاته:

أولاً : الأمراض التى تنتقل من الإنسان المصاب الحامل للميكروب إلى الإنسان أو إلى اللبن

تنتج من ميكروبات تنتقل إلى الإنسان نتيجة إصابه إنسان بها وتلوث اللبن الناتج منه بالميكروب ، حيث ان أهم الأمراض التى تسببها هى:-

١-مرض الحمى القرمزية:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، يؤدى إلى إلتهاب الزور و إلتهاب اللوز إلتهاب البلعوم و الطفح الجلدى (بقع حمراء على الجلد كما فى شكل رقم ٤٤) و رعشة و إسهال و قىء و إرتفاع الحرارة ، بالإضافة إلى صداع و آلم فى العضلات.

شكل رقم (٤٤) : أعراض الحمى القرمزية.

المسبب: بكتيريا الـ *Streplococcus pyogenes*

طريقة انتقال المرض:عن طريق الإتصال المباشر بين العمال الحاملين للميكروب فى مزارع إنتاج اللبن و بين الحيوانات الحلوب أو اللبن أو عن عن طريق شرب اللبن الخام و أكل منتجات الألبان الملوثه بالميكروب.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق إجراء معاملة حرارية للبن ، حيث يمكن القضاء على الميكروب باستخدام الحرارة.

٢ـمرض حمى التيفود:

هو مرض بكتيرى ، يؤدى إلى حدوث صداع مستمر و ارتفاع الحرارة إلى ٤٠ـ٤١ °م ،بالإضافة إلى آلم فى المعدة و تورم الطحال و الكبد و إضطربات بالقلب و النزيف البولى.

المسبب: بكتيريا الـ *Salmonella typhi*

طريقة انتقال المرض:إما بطريقة مباشرة عن طريق تلوث اللبن أو الجبن أو الزبد أو أى منتج من منتجات اللبن من الإنسان المريض أو الحامل للمرض أو بطريقة غير مباشرة عن طريق تلوث اللبن أو الجبن أو الزبد أو أى منتج من منتجات اللبن من الأوانى و الأدوات و الزجاجات المستخدمة فى التصنيع و التى يتعامل معها الإنسان المريض أو الحامل للمرض.

طريقة القضاء على الميكروب:لابد من الحد من إستهلاك اللبن الخام أو منتجاته غير المعاملة حرارياً أو المنتجة تحت ظروف غير صحية.

٣ـمرض التسمم الغذائى:

يسمى مرض المكور العنقودى Staphylococcal intoxication ، وهو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، يؤدى إلى إسهال و غثيان وشد عضلى بالأرجل وآلم فى البطن بالإضافة إلى صداع و برد و عرق و قد يؤدى إلى حدوث الوفاة.

المسبب: ينتج هذا التسمم من تناول السم الناتج عن بكتيريا الـ *Staphylococcus aureus*

طريقة انتقال المرض:عند إجراء المعاملة الحرارية للبن بطريقة غير سليمة أو عند تداول اللبن و منتجاته بطريقة غير سليمه تؤدى إلى تلوثه.

طريقة القضاء على الميكروب: يمكن التخلص من الميكروب عن طريق المعاملة الحرارية للبن ، مع ملاحظة أن السم المنتج لا يتلف بسهولة عن

طريق الحرارة ، كما يمكن منع إفراز السم(الإنتيروتوكسين) عن طريق إجراء التبريد.

٤-مرض الدفيتريا:

هو مرض بكتيرى ، و الأعراض الأولية له هى إلتهاب الزور مع حمى معتدلة ولكن فى الحالات المتقدمة يؤدى التوكسين المنتج من البكتيريا المسببة للمرض إلى تكوين أنسجة ميته ملتصقة باللوزيتين و مع الوقت تنتشر هذه الأنسجة فى الحنجرة و القصبة الهوائية مما يعيق من عملية التنفس و إذا وصل هذا التوكسين إلى الدم يؤدى ذلك إلى حدوث الوفاة.

المسبب: بكتيريا الـ *Corynebacterium diphtheriae*

طريقة انتقال المرض:عن طريق الإتصال المباشر بين الحاملين للمرض (لا يظهر عليهم الأعراض) فى مزارع إنتاج اللبن و بين الحيوانات الحلوب أو اللبن.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق المعاملة الحرارية للبن.

٥-مرض الدوسنتاريا:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، و من أعراض المرض آلم شديد بالبطن و رعشة و التسمم الدموى و الإسهال.

المسبب: *Shigella dysenteriae*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق استهلاك لبن ملوث بالبكتيريا ،وهذا اللبن إما حدث له تلوث بالبراز عن طريق الذباب أو عن طريق عدم توفر شروط النظافة.

طريقة القضاء على الميكروب:بسترة اللبن(٦٣°م لمدة نصف ساعة أو ٧٢°م لمدة ربع ساعة) تبيد هذا الميكروب.

٦ـمرض شلل الاطفال:

هو مرض فيروسى يصيب الإنسان .

المسبب: فيروس.

طريقة انتقال المرض:عن طريق إستهلاك لبن ملوث بإفرازات الحلق أو البراز لإنسان مصاب و ذلك عن طريق الذباب .

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق إجراء معاملة حرارية للبن(٦٣°م لمدة نصف ساعة أو ٧٢°م لمدة ربع ساعة).

٧ـمرض الكوليرا:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، و من أعراض المرض إضطرابات بأجهزة جسم الإنسان و إسهال.

المسبب: *Vibrio cholera*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق إستهلاك لبن ملوث بالبكتيريا ،وهذا اللبن حدث له تلوث بالأيدى الملوثة أو إستخدام مياه ملوثة لتنظيف الأدوات عن طريق عدم توفر شروط النظافة.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق معاملة اللبن حرارياً سواء بالغلى أو البسترة أو بالتعقيم كل هذه المعاملات تقضى على الميكروب.

8ـمرض يرسينيوسيز Yersiniosis:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، و أعراضه الإسهال و إلتهاب الأمعاء و كبر حجم الكبد و إرتفاع درجة الحرارة و إلتهاب المفاصل و مغص شديد.

المسبب: *Yersinia enterocolitica*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق إستهلاك لبن ملوث بالبكتيريا ،وقد يحدث التلوث للبن عن طريق الأيدى الملوثة أو إستخدام ماء ملوث لتنظيف الأدوات عن طريق عدم توفر شروط النظافة.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق معاملة اللبن على ٦٠° م / نصف ساعة أما التوكسين التى تنتجه يقاوم ١٠٠° م لمدة ٢٠ دقيقة.

٩-مرض سالمونلوسيز (سالمونيلا) Salmonellosis :

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، و من أعراض المرض إسهال و مغص شديد و إرتفاع درجة الحرارة إلى ٤٠,٥ °م ، و تؤدى إلى الوفاة.

المسبب: *Yersinia enterocolitica*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق استهلاك لبن خام أو لبن مجفف أو أيس كريم ملوث بالبكتيريا ،وهذا المنتجات حدث لها تلوث بالأيدى الملوثة أو استخدام ماء ملوث لتنظيف الأدوات عن طريق عدم توفر شروط النظافة.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق المعاملة الحرارية للبن.

10-مرض إيشريشياكولى :

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان ، و من أعراض المرض رعشة و صداع و مغص شديد و إرتفاع درجة الحرارة وإسهال مائياً و فى بعض الحالات قد تؤدى إلى التسمم الدموى أو الإلتهاب السحائى.

المسبب: *Escherichia coli*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق تلوث اللبن أو منتجاته بالبكتيريا.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق المعاملة الحرارية للبن.

١١-مرض إنتيروكوكص فيكالس:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان على الرغم من أن البكتيريا المسببه له من الفلورا الطبيعية المتواجدة فى القناة الهضمية للإنسان ، لكن زيادة أعدادها عن الحد المسموح به يؤدى إلى الإصابة و من أعراض المرض إسهال و إرتباك فى الجهاز الهضمى و إصابات فى القناه البولية.

المسبب: *Enterococcus faecalis*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق تلوث اللبن أو منتجاته بالبكتيريا بالبراز أو عدم إتباع الشروط الصحية.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق المعاملة الحرارية عالية الكفاءة للبن و ذلك لأن البكتيريا تقاوم المعاملة على ٦٠ ° م لمدة نصف ساعة.

١٢-مرض لستريوسيز Listeriosis:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان بالإلتهاب السحائى للمخ و الحبل الشوكى و إجهاض النساء الحوامل فى النصف الثانى من الحمل و إلتهاب فى القصبة الهوائية و الرئة و تضخم الطحال و تخلف عقلى للأطفال ، بالإضافة إلى ظهور طفح جلدى.

المسبب: *Listeria monocytogenes*.

طريقة انتقال المرض:عن طريق تلوث اللبن بالبراز، أو بالأتربة الموجود بها الميكروب أو عن طريق إستنشاقها .

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق المعاملة الحرارية للبن .

ثانياً: الأمراض التى تنتقل من الحيوان الحلوب إلى الانسان أو إلى اللبن:-

هذه الأمراض تنتج من ميكروبات تنتقل عن طريق تلوث اللبن من مصادر خارجية سواء الحشرات أو المياه المستخدمه فى الغسيل أوالعمال حاملى المرض

١ـمرض إلتهاب الضرع:

عبارة عن إلتهاب الأنسجة الثديية للحيوان (شكل رقم ٤٥) وقد يطلق عليه حمى الضرع ، بالإضافة إلى أنه من أهم الأمراض التى تصيب ضرع الحيوان الحلوب .

شكل رقم (٤٥) : أعراض مرض إلتهاب الضرع.

المسبب: مجموعة من البكتيريا الممرضة يمكن تقسيمها إلى مجموعتين، المجموعة الأولى تسبب ٨٠% من الإصابة

وهى تشمل :

Staphylococcus aureus , Staphylococcus epidermidis, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysagalactiae,Streptococcus pyogenes

أما المجموعة الثانية فهى تسبب ٢٠ % من الاصابة و هى تشمل:

Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Streptococcus uberis, Pseudomonas, Klebsiella

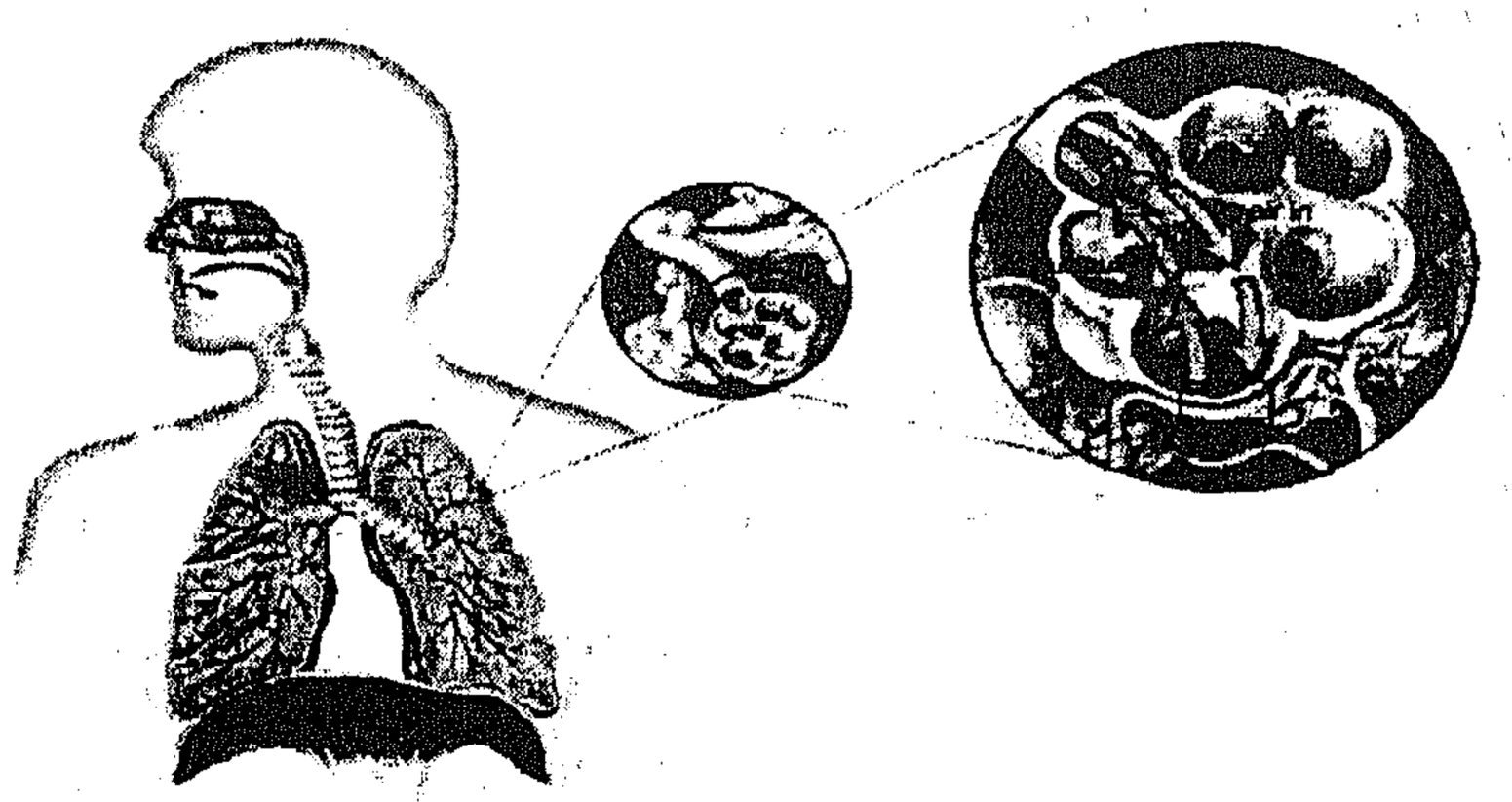
طريقة انتقال المرض: عن طريق الحيونات المصابة.

طريقة القضاء على الميكروب: عن طريق إستخدام المضادات الحيوية مثل البنسيلين و الإستربتوميسين و الترامسين و التترامسين و الكلورومسين.

٢ـمرض السل Tuberculosis:

هو مرض بكتيرى يصيب الإنسان و البقر، و الأعراض الأولية له فى حالة السل أو الدرن الرئوى (شكل رقم ٤٦) هى كحة معها بصاق مدمم و ارتفاع الحرارة و بعد ذلك آلم فى الصدر و فقد فى الوزن ، أما فى حالة سل الجلد يؤدى إلى ظهور تقرحات على الجلد ذات لون بنى أو أصفر ، و فى حالة السل خارج الرئة فيحدث فى الفم و اللوزيتين و تتضخم الغدة الليمفاوية فى الرقبة.

المسبب: بكتيريا الـ *Mycobacterium tuberculosis* ، أما السل فى الأبقار فيسببه *Mycobacterium bovis*



شكل رقم (٤٦) : مرض السل الرئوى.

طريقة انتقال المرض:عن طريق اللبن الخام غير المعامل حرارياً بطريقة سليمة أو تناول الزبد أو القشدة المصنعة من لبن ناتج من حيونات حاملة للميكروب ، أو عن طريق إستنشاق الهواء الملوث بإفرازات الإنسان أو الحيونات المصابة.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق تعقيم اللبن و التأكد من خلو اللبن من الميكروب ، و عزل الأبقار المصابة و تطهير الأدوات و المعدات المستخدمة و تعويد المريض على تغطية أنفه و فمه عند العطس.

٣-مرض حمى الكيو Q fever :

هو مرض ناتج عن الريكتسيا ، و أعراضه هى إرتفاع الحرارة و قيء و غثيان و طفح جلدى محمر و رعشة و عرق و صداع و ظهور بثرات على الجلد و آلم فى العضلات.

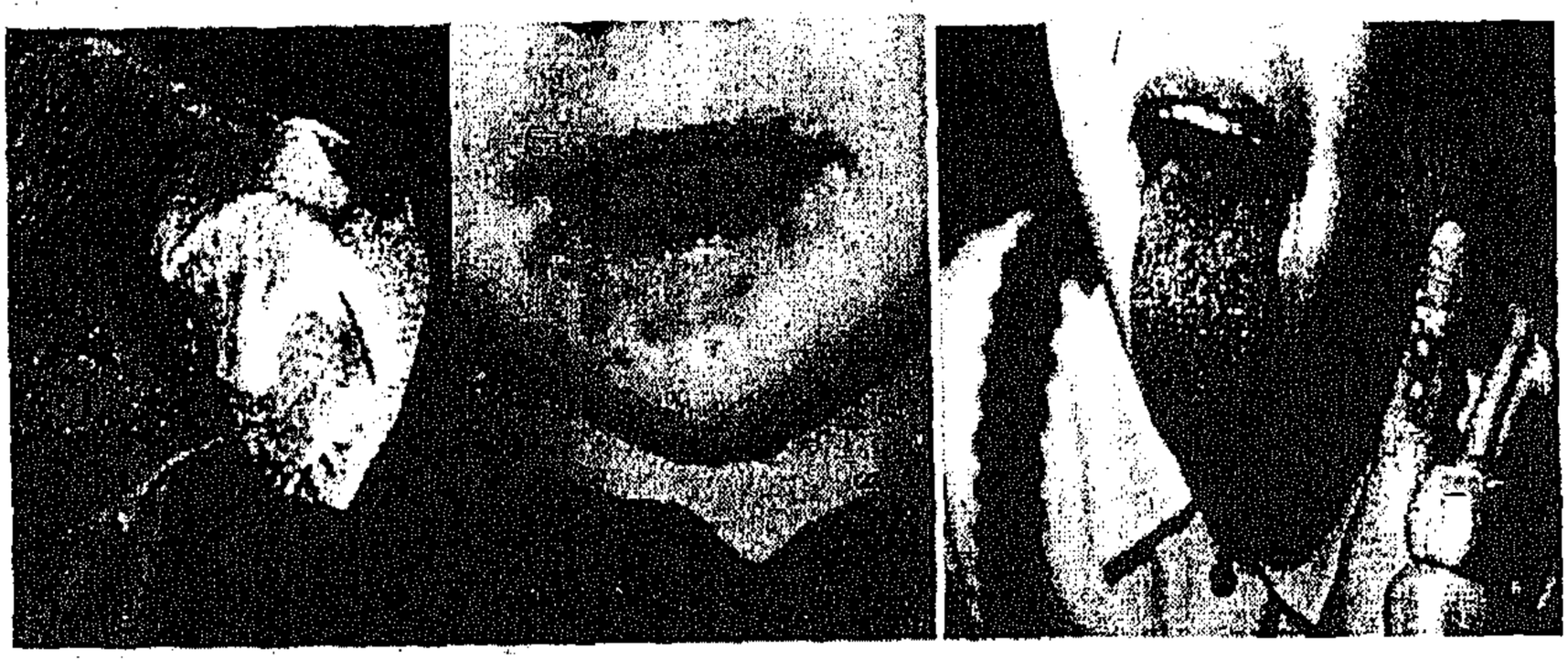
المسبب: بكتيريا الـ *Coxiella burneti*

طريقة انتقال المرض: اللبن و منتجاته الملوثه بالمرض عن طريق بصق الإنسان الحامل للمرض ، أو عن طريق إستنشاق الهواء الملوث بالريكتسيا.

طريقة القضاء على الميكروب:عن طريق غلى و تعقيم اللبن و التأكد من خلو اللبن من الميكروب ، و عدم لمس اللحوم الملوثة بالمرض.

٤-مرض حمى القلاعية:

هو مرض فيروسى ، و أعراضه ارتفاع الحرارة و وظهور بثرات على القدم و الأيدى (شكل رقم ٤٧) وفى الفم و فقد للشهية و ضعف و جفاف و إلتهاب بالفم و آلم عند البلع و سرعة ضربات القلب.



شكل رقم (٤٧) : أعراض مرض الحمى القلاعية.

المسبب: فيروس الحمى القلاعية و له سبعة أنواع.

طريقة انتقال المرض: اللبن و منتجاته الناتجة من الحيوان الحامل للمرض ، أو عن طريق لمس حيوان مصاب.

طريقة القضاء على الميكروب: عدم تناول اللبن الناتج من حيونات مصابة و غلى و تعقيم اللبن قبل شربه أو تصنيعه.

٥-مرض حمى المالطية:

هو مرض بكتيرى ، و أعراضه تتراوح بين أعراض الإنفلونزا إلى أعراض الحمى المتموجة و هى إرتفاع الحرارة و عرق و ضعف و ألم بالصدر و المفاصل و رعشة و فقد للشهية و فقد فى الوزن و حدوث خلل في الجهاز الليمفاوى والتهاب العظام.

المسبب: *Brucella abortus* و هذ النوع يصيب الماشية أما النوع *Brucella melitensis* فيصيب الماعز و الأغنام.

طريقة انتقال المرض: اللبن الناتج من حيوانات مصابة.

طريقة القضاء على الميكروب: عدم إستهلاك لبن خام ،و تسوية الجبن الطازج المصنع من لبن الماعز المحضر من لبن خام لمدة لا تقل ٦٠ يوما.

٦-مرض الجمرة الخبيثة:

هو مرض بكتيرى ، و أعراضه عبارة عن بثرات على شكل بقعة تتحول إلى حطاطة ثم حويصل (يحوى سائل أصفر) ثم تقرح ويصبح لون التقرح أسود اللون على الجلد (شكل رقم ٤٨) أو فى الرئة ، و إرتفاع الحراة إلتهاب القصبة الهوائية و تضخم الغدة الليمفاوية و آلم فى المعدة و براز مدمم.

شكل رقم (٤٨) : أعراض مرض الجمرة الخبيثة.

المسبب: *Bacillus anthracis* .

طريقة انتقال المرض: تلوث اللبن و المنتجات عن طريق براز الحيوانات أو إستنشاق الأتربة الحاملة للميكروب.

طريقة القضاء على الميكروب: معاملة اللبن معاملة حرارية شديدة لأن الميكروب مقاوم للحرارة.

الأمراض التى تنجم عن سموم الفطريات و البكتيريا:

عند نمو الفطريات و البكتيريا على اللبن ومنتجاته بأعداد معينة يؤدى ذلك إلى تكوين سموم تعمل على إضرار صحة الإنسان و الحيوان وجدول رقم(٢٠) يوضح الفرق بين السموم الفطرية و السموم البكتيرية.

جدول (٢٠): الفرق بين السموم الفطرية و السموم البكتيرية.

وجه المقارنه	السموم الفطرية Mycotoxins	السموم البكتيرية Bacterial Toxins
تعريف	هى نواتج تمثيل ثانوية من نشاط الفطريات على اللبن و منتجاته و لها تأثير ضار على الإنسان و الحيوان.	هى نواتج تمثيل ثانوية من نشاط البكتيريا على اللبن و منتجاته و لها تأثير ضار على الإنسان و الحيوان.
أشهر الانواع	١-السموم الناتجة من العفانان *Fusarium graminearum* أو *Fusarium tricinctum* ، حيث إنهما يفرزان خمسة أنواع من السموم تسمى زيرالينون Zearalenone ، وهذه السموم تؤدى إلى تقليل الخصوبة فى الإناث و الذكور و ورم فى عنق الرحم ، كما أن هذا الجنس يفرز نوع أخر من السموم يسمى ترای كوسيثنيات Trichothecene الذى يعمل على خلل الجهاز العصبى و الجهاز الهضمى و تقليل عدد كرات الدم البيضاء و تؤدى إلى حدوث الوفاة. **٢-السموم الناتجة من العفانان** *Aspergillus flavus* أو *Aspergillus oryzae* ، حيث إنهما ينتجان أربعة أنواع من السموم التى تسمى أفلاتوكسينات Aflatoxins وهذه تؤثر على عملية التمثيل بالجسم. **٣-السموم الناتجة من العفن**	١-السموم الناتجة من بكتيريا *Escherichia coli* ، وجد إنها تفرز سموماً داخلية Enerotoxins ، النوع الأول يسمى Enterohemorrhagic و الذى يسبب صداعاً و إسهالاً مدمماً و إرتفاع الحرارة ، أما النوع الثانى فيسمى Enterotixugenic و الذى يؤدى إلى إسهال غير مدمم ، و أحد هذه السموم يهدم على ٦٠ °م لمدة نصف ساعة أما النوع الثانى فهو مقاوم على ١٠٠ °م لمدة ربع ساعة. **٢-السموم الناتجة من** *Staphylococcus aureus* ، هذه البكتيريا تنتج سموماً داخليةEnerotoxins و التى تسبب إسهالاً و غثياناً و مغصاً و قيئاً والسموم مقاومة على ١٢١ °م لمدة ١٥ دقيقة. **٣-السموم الناتجة من بكتيريا الـ** *Clostridium botulinum* ، وجد أن هذه السموم تسبب التسمم البوتشيولينى Botulism و هى سموم خارجية Exotoxins و

	Aspergillus mellus ، وجد أن هذا العفن له القدرة على إفراز سبعة أنواع من السموم التي تسمى أوكراتوكسينات Ochratoxins ، وهذه تسبب فشلاً كلوياً. **٤-السموم الناتجة من العفن *Aspergillus nidulans*** ، هذا العفن ينتج سمومًا تسمى إستراجماتوسيتين Sterigmatocystin تؤدى إلى ورم فى المعدة و الكبد. **٥-السم الناتج من عفن الـ *Penicillium expansum*** ، وجد أنه يفرز سمًا يعرف باسم بتيولين Patulin و الذى يؤدى إلى تلف الكلى و الكبد و إرتشاح بالمخ و الرئتين. **٥-السم الناتج من عفن الـ*Penicillium citrinum***، ينتج سمًا يعرف باسم Citrinins الذى يؤدى إلى حدوث ورم.	تؤدى إلى شلل فى الجهاز التنفسى ووفاة ، وعملية الغلى لمدة لا تقل عن ربع ساعة تؤدى إلى هدم السموم. **٤-السمان الناتجان من الـ *Bacillus cereus*** ، حيث أن هذه البكتيريا تفرز نوعين من السموم ، الأول يسبب قيئاً و الثانى يسبب إسهالاً و آلماً فى البطن و هو يقاوم ١٠٠ °م لمدة ٤ دقائق.

الامتحان البعدى:-

اختر إجابة واحدة

١- *Streptococcus pyogenes*

A. تسبب الحمى القرمزية

B. تسبب التهاب الزور

C. A و B معًا

٢-أعراض مرض التسمم

A. إسهال

B. شد عضلى بالأرجل

C. A و B معًا

٣-يمكن القضاء على مرض الدفيتريا

A. عن طريق المعاملة الحرارية

B. بتغطية أنف المريض عند العطس

C. A و B معًا

٤-يمكن القضاء على مرض الكوليرا بـ

A. بسترة اللبن

B. غلى اللبن

C. A و B معًا

٥-يقاوم توكسين الـ *Yersinia enterocolitica*

A. ٩٥ ْم لمدة ثلث ساعة

B. ٨٥ ْم لمدة ثلث ساعة

C. ١٠٠ ْم لمدة ثلث ساعة

٦-تؤدى الإصابة بمرض السالمونيلا إلى

A. الوفاة

B. إلتهاب الأمعاء

C. A و B معًا

٧-مرض إلتهاب الضرع ينتج عن

A. *Staphylococcus aureus*

B. *Escherichia coli*

C. A و B معًا

٨-حمى الكيوQ ناتجة عن

A. الريكتسيا

B. البكتيريا

C. الفيروسات

٩-التسمم البوتشيولينى ينتج عن

A. *Bacillus cereus*

B. *Clostridium botulinum*

C. *Aspergillus flavous*

١٠-الـ *Pencillium citrinum* ينتج سماً فطرياً يسمى

A. Sterigmatocystin

B. Citrinins

C. Patulin

الباب الثامن

مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام و منتجاته

مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام و منتجاته

إن عملية تقدير الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام و منتجاته تتطلب إجراء العديد من الاختبارات الميكروبيولوجية مثل العدد الكلى للبكتيريا و عدد مجموعة الكوليفورم و عدد البكتيريا المحبة للبرودة و البكتيريا المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة و عدد الفطريات و الخمائر وغيرها من الاختبارات و مقارنة النتائج المتحصل عليها من هذه الاختبارات مع المواصفات القياسية المصرية، وسوف نتناول هذا بشيء من التفصيل.

قبل إجراء هذه الإختبارات لابد من إدراك وفهم أن الاختبارات الميكروبيولوجية تحتاج إلى دقة و نظافة و تعقيم لأن التهاون و الإهمال يؤدى إلى خطر العدوى بالميكروبات الممرضة ، بالإضافة إلى حدوث أخطاء فى النتيجة ، لذلك لابد من معرفة القواعد الأساسية فى معمل الميكروبيولوجى و معرفة كيفية التعامل مع الأدوات و الأجهزة فى المعمل.

الإحتياطات الواجب مراعاتها فى معمل ميكروبيولوجيا الألبان

١) إرتداء البالطو الأبيض قبل البدء بالعمل تجنباً لتلوث الملابس بالصبغات.
٢) عدم وضع الكتب أو الأدوات أو الملابس على بنش العمل ما عدا دفتر و كراسة المعمل.
٣) عدم فتح صنبور الغاز إلا قبل البدء بالعمل مباشرة .
٤) عدم صب البينات الغذائية أو إلقاء القطن أو غيرها فى حوض الغسيل.
٥) الأفضل عدم فتح الأطباق المعقمة أو رفع السدادة القطنية للأنابيب المعقمة أو المحتوية على البكتيريا قبل بدء العمل.
٦) غسل اليدين بمحلول مطهر قبل مغادرة المعمل.

٧) عند إجراء تلقيح أو صب البيئة الغذائية ، يجب فتح طبق بترى برفع الغطاء قليلاً من ناحية واحدة وهى ناحية اللهب.

٨) يجب وضع إبرة التلقيح فى اليد عند الإستعمال أو على حاملها.

٩) لتلقيح أنبوبة بسلالات ميكروبية لابد من مسك الأنبوبة فى وضع أفقى تقريباً (شكل رقم ٤٩) حتى لا تتعرض للتلوث بالميكروبات الموجودة و المتساقطة من الهواء.

١٠) عند نزع السدادة القطنية من أنبوبة أو زجاجة بيئة غذائية لابد من إدراته حتى لا تلتصق بجدار الأنبوبة ثم سحبه إلى أعلى محتفظاً به بين أصابع اليد الأخرى و أرجاعه إلى مكانه بعد العملية ،و لا يوضع على سطح البنش.

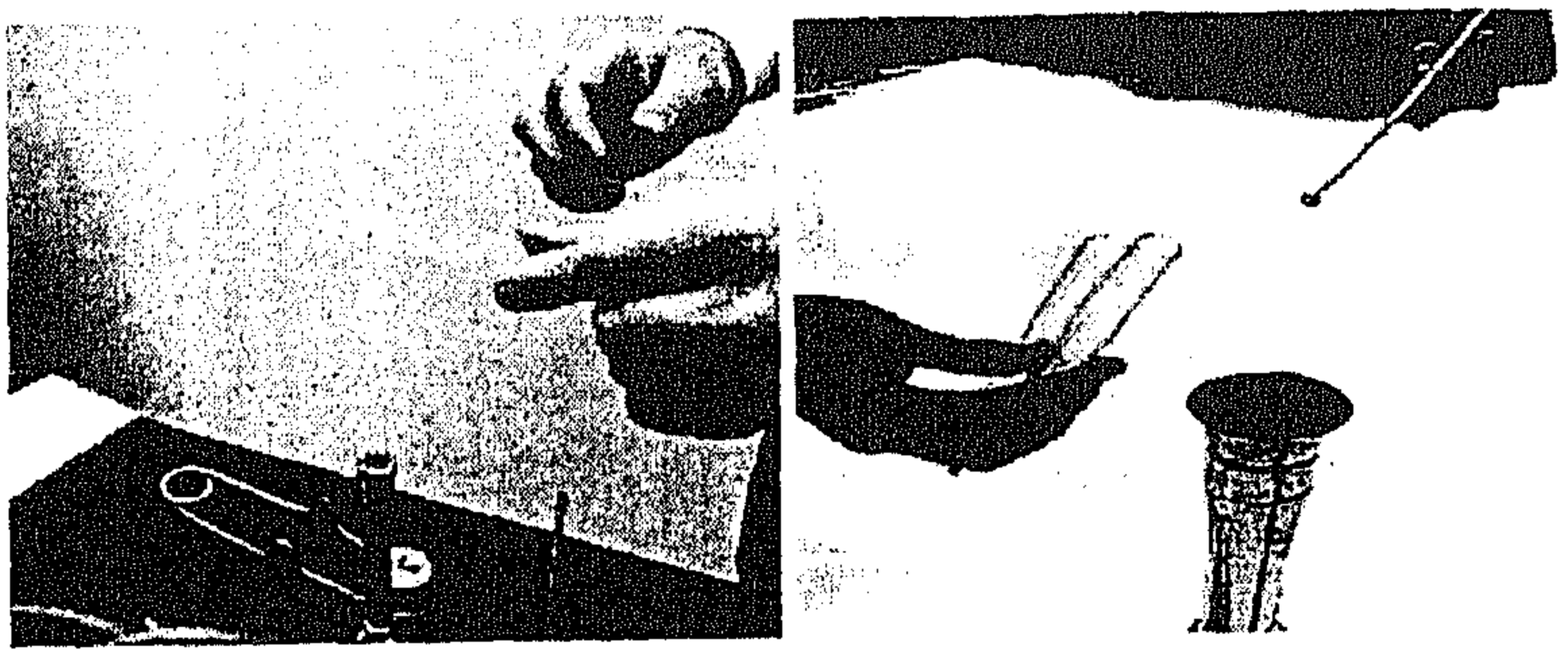
١١) إمرار فوهه الأنبوبة أو الزجاجة المراد تلقيحها فى اللهب بعد نزع غطائها و قبل إعادته.

١٢) عند فتح مزارع العفن لتنشيطها لابد من العناية جيداً وذلك حتى لا تنتشر جراثيم الأعفان فى جو المعمل.

١٣) عند مسك الشريحة الزجاجية (شكل رقم ٤٩) لابد أن تمسك من الحافة و ليس من سطحها العريض و ذلك لأن الأصابع تؤدى إلى ترك مادة دهنية على سطح الشريحة وهذه المادة الدهنية تعيق من عملية فرد قطرة الماء المعقم على سطح الشريحة لعمل غشاء.

١٤) إذا حدث كسر لأنبوبة أو زجاجة بيئة أو جرح أى طالب لابد من إخبار المشرف فى المعمل.

١٥) عدم نقل أى مزارع فطرية أو بكتيرية خارج المعمل.



شكل رقم (٤٩) : طريقة مسك كل من الأنبوبة و الشريحة الزجاجية .

تنظيف الأدوات و الأوانى الزجاجية المستعمله

تتم كما بجدول(٢١).

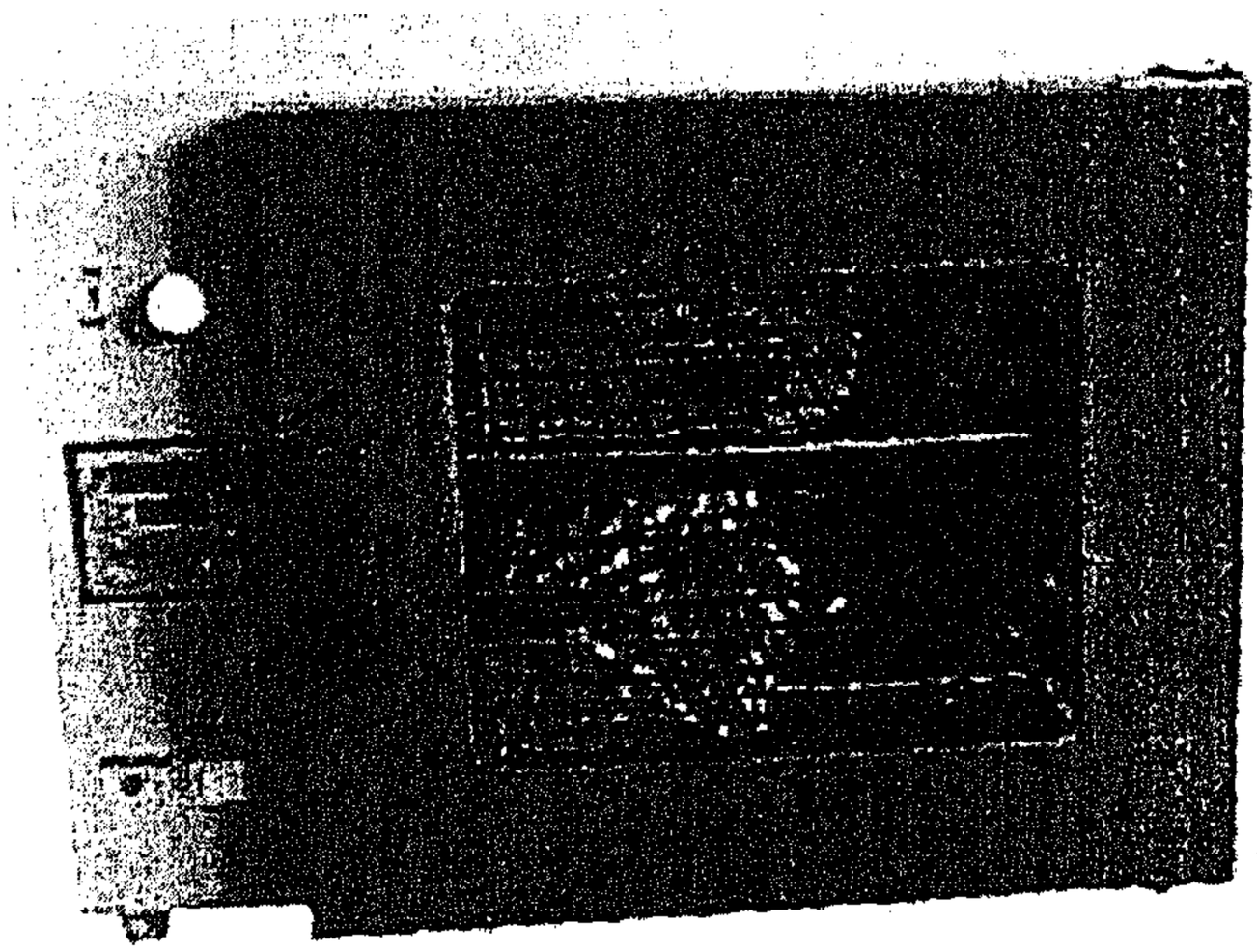
جدول(٢١): تنظيف الأدوات و الأوانى الزجاجية المستعمله،

الأدوات	طريقة التنظيف
أنابيب الاختبار Test tubes	توضع فى الأوتوكلاف و ترفع الحرارة إلى ١٢١ ^{o}م و ضغط ١٥ رطل على البوصة المربعة ، لمدة نصف ساعة ، وبعد انتهاء الفترة الزمنية و نزول الضغط ، يفتح الأوتوكلاف و تغسل بعد ذلك بفرشاه خاصة و صابون ثم تغسل بالماء جيداً و توضع فى السلال السلكية المشبكة و هى مقلوبة.
أطباق بترى Petri dishes	توضع فى الأوتوكلاف و ترفع الحرارة إلى ١٢١ ^{o}م و ضغط ١٥ رطل على البوصة المربعة، لمدة نصف ساعة ، وبعد انتهاء الفترة الزمنية و نزول الضغط ، يفتح الأوتوكلاف، ثم يسكب السائل الموجود بداخلها ثم تغسل بعد ذلك بالماء و الصابون ثم تغسل بالماء جيداً و توضع فى السلال البلاستيكية المشبكة و هى مقلوبة.
الماصات Pipettes	توضع فى مخبار سعه لتر يحتوى على محلول غسيل(محلول الغسيل يحضر بإذابة ٦٣ جم من ثانى كرومات الصوديوم أو البوتاسيوم بالتسخين فى كمية قليلة من الماء المقطر و لتكن ٣٥ مل ثم يكمل الحجم إلى لتر بحمض كبريتيك مركز) طوال الليل ثم تغسل بالماء العادى ثم بالماء و الصابون بعد ذلك بالماء العادى عدة مرات و أخيراً بالماء المقطر ثم توضع فى فرن التجفيف على ١٠٠ – ١١٠ ^{o}م.
الشرائح الزجاجية Slides	توضع فى إناء يحتوى على ماء و صابون و تغسل جيداً ثم تغسل بالماء المقطر و تجفف و تحفظ فى علب خاصة بها.

الأجهزة والأدوات المستخدمة Instruments and Tools Used

١-فرن التعقيم Sterlization oven

يتم فيه تعقيم الأدوات الزجاجية مثل أطباق بترى و الماصات و ذلك بعد وضعها في علب معدنية ، على ١٦٠ - ١٨٠ °م لمدة من ٢-٣ساعات (شكل رقم ٥٠).



شكل رقم (٥٠) : فرن التعقيم.

٢-الأوتوكلاف Autoclave

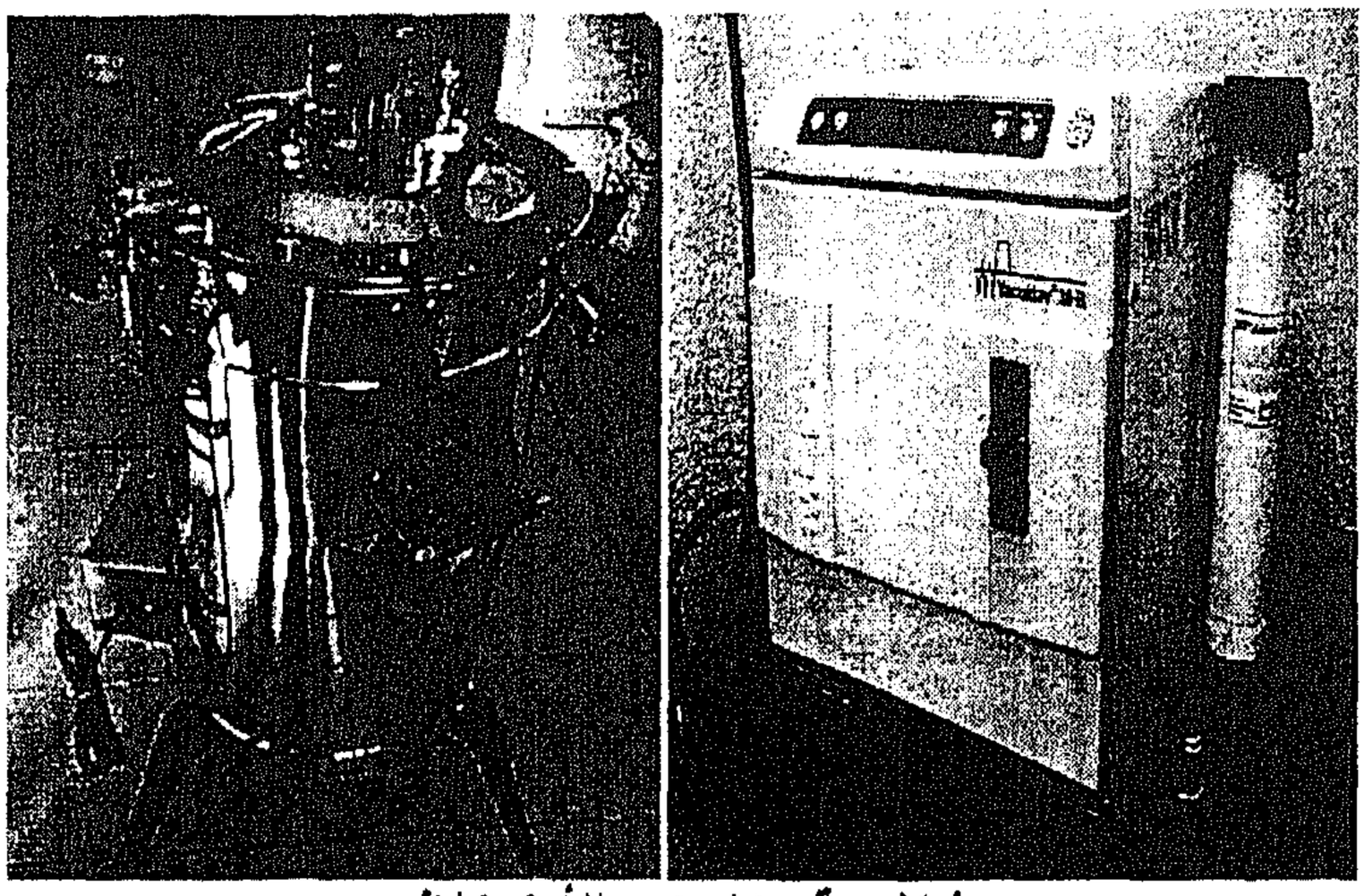
يستخدم فى:-

١) تعقيم البيئات الغذائية على ١٢١ °م لمدة ٢٠ دقيقة وضغط ١٥ رطل / بوصة ^{٢} (شكل رقم ٥١).

٢) تعقيم محاليل السكريات الأحادية و محاليل التخفيف.

٣) إعدام الأطباق المصبوبة المحتوية على مزارع البكتيريا و الأعفان.

٤) صهر البيئة.



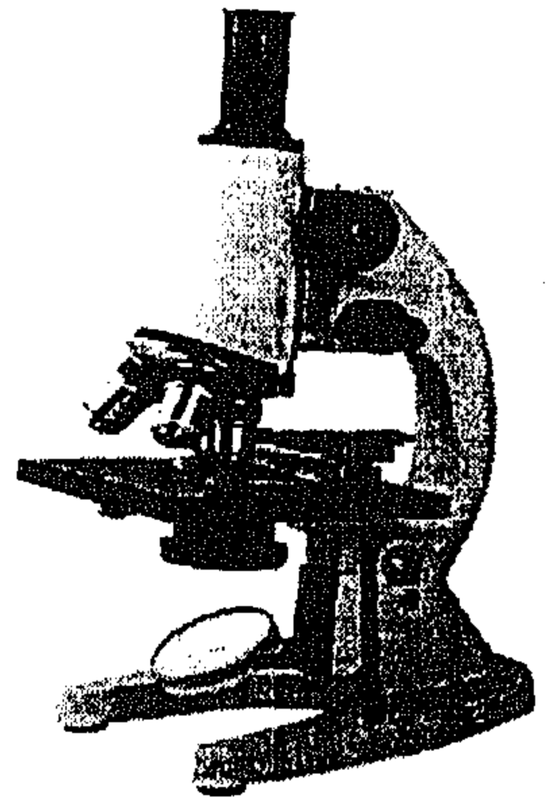
شكل رقم (٥١) : الأوتوكلاف.

٣-الحضانات Incubators :-

تستخدم لتوفير درجة الحرارة المثلى للميكروبات حيث إن كل نوع له درجة حرارة مثلى لنموه حيث درجة حرارتها (٠- ٨٠ °م).

٤-الميكروسكوب Microscope :-

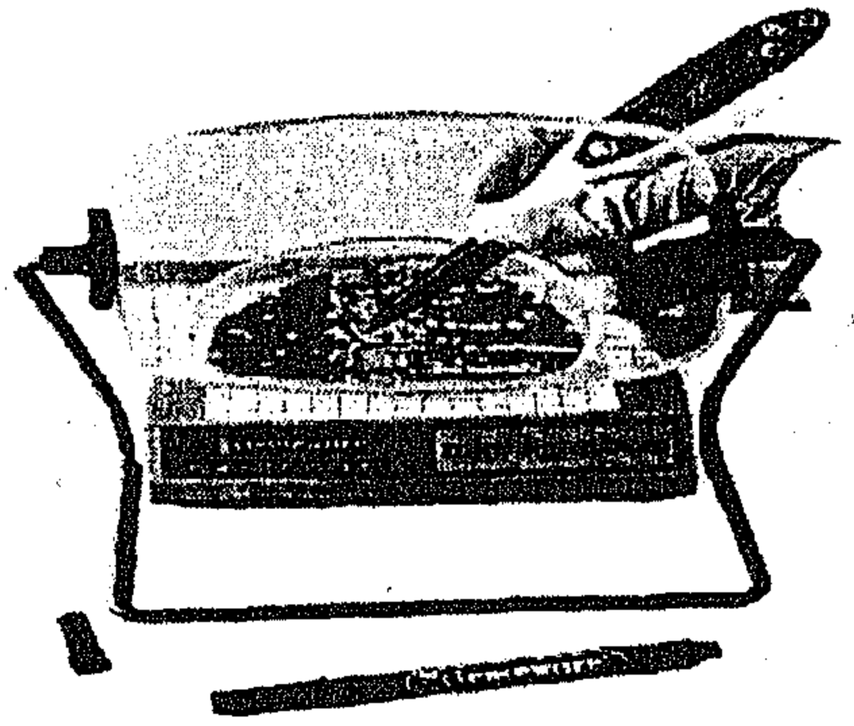
يستخدم في التعرف علي شكل و حجم وحركة البكتيريا و الفطريات.



شكل رقم (٥٢) : الميكروسكوب.

٥-جهاز عد المستعمرات Colony counters :-

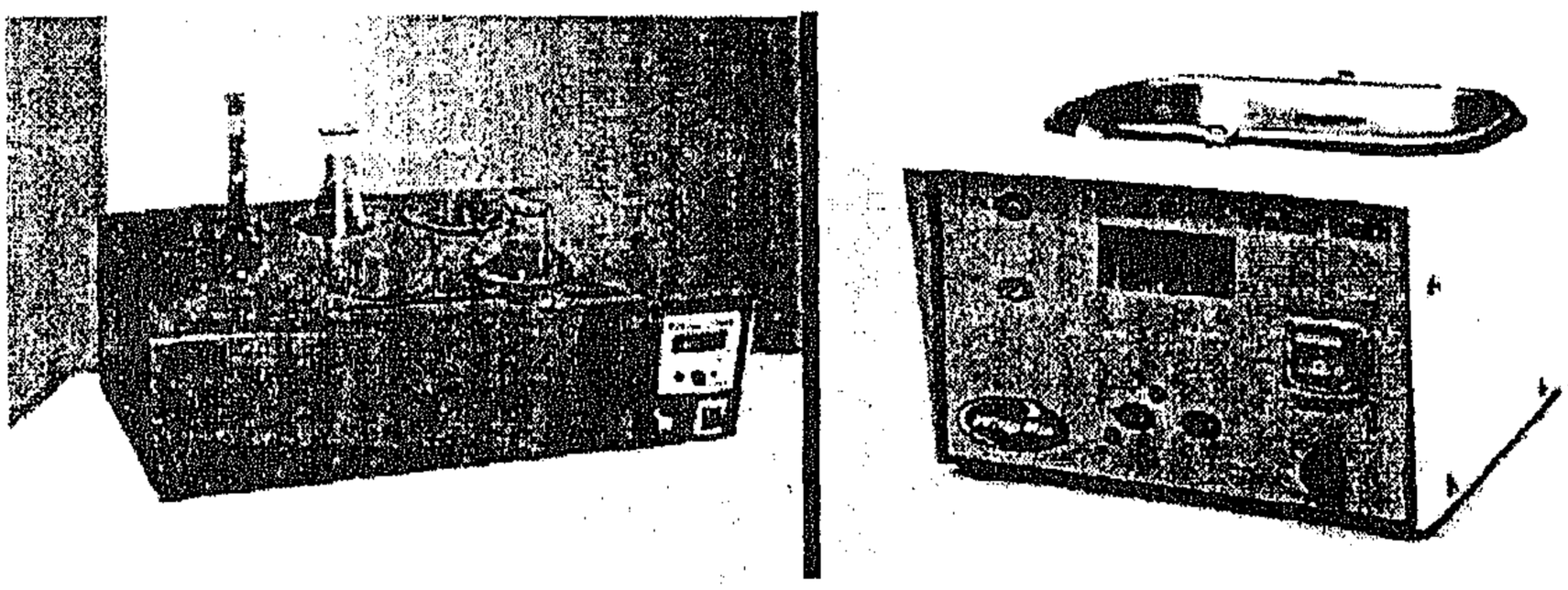
يستخدم في عد المستعمرات الميكروبية (شكل رقم ٥٣).



شكل رقم (٥٣) : جهاز عد المستعمرات.

٦-الحمام المائي Water bath :-

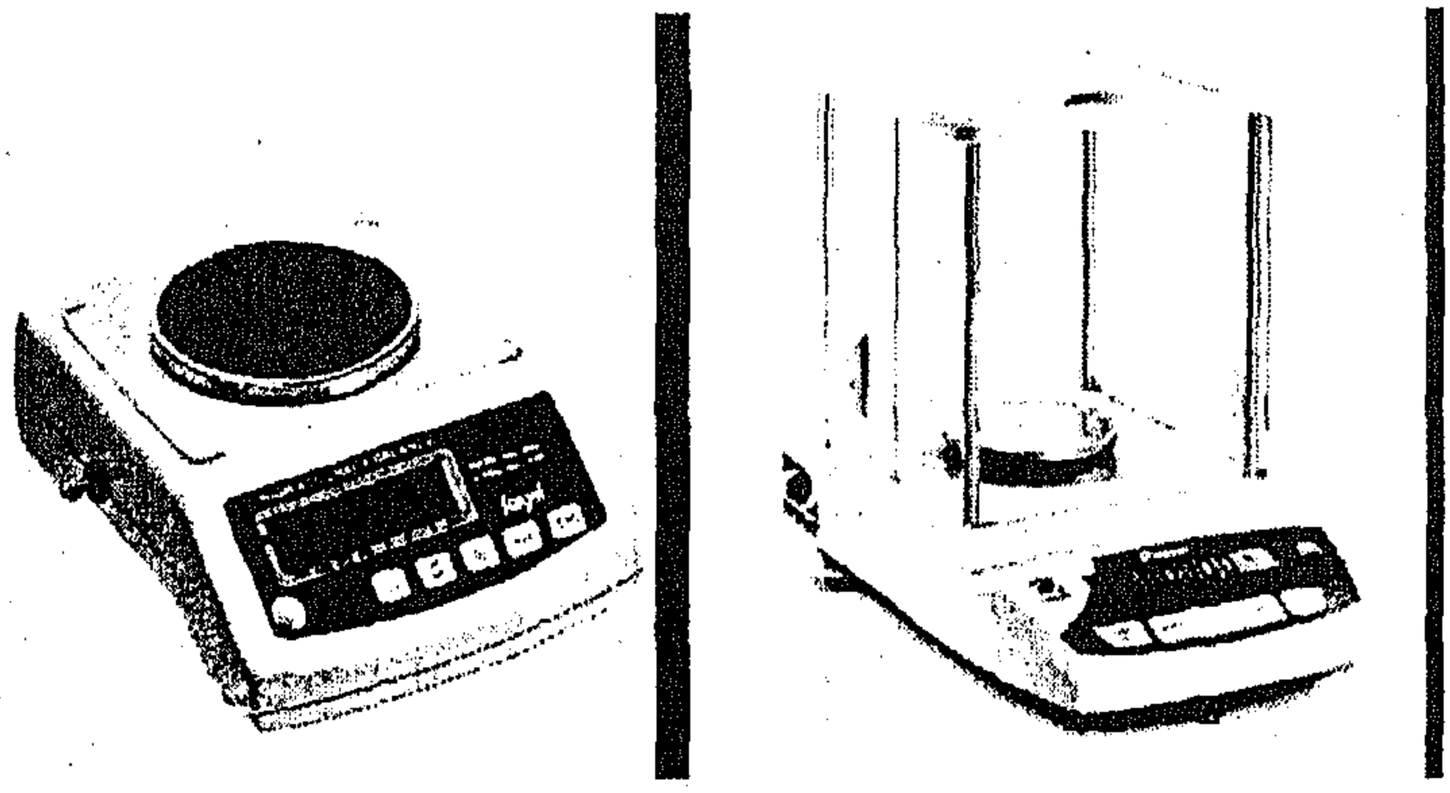
يستخدم في صهر البيئة الغذائية وفي بعض التجارب يستخدم كحضان(شكل رقم ٥٤).



شكل رقم (٥٤) : الحمام المائى.

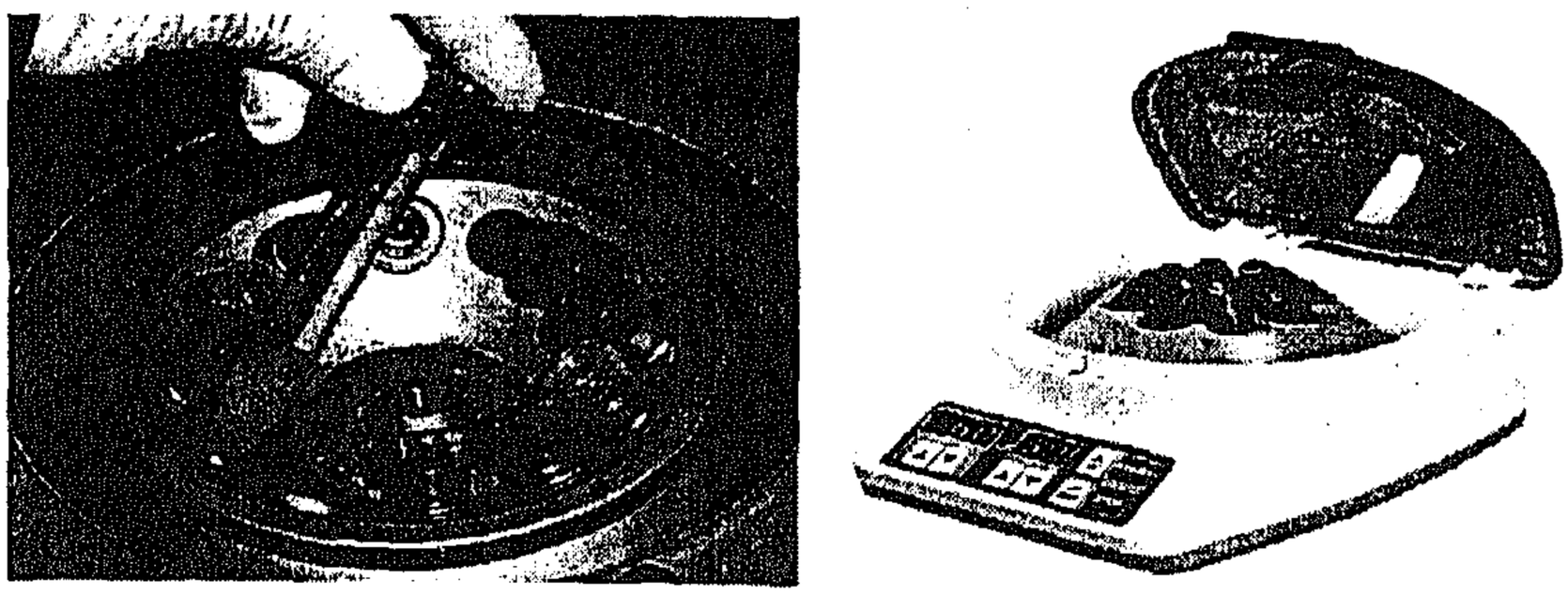
٧-الموازين Analytical balances:-

تستخدم في عملية الوزن(شكل رقم ٥٥).



شكل رقم (٥٥) : الموازين.

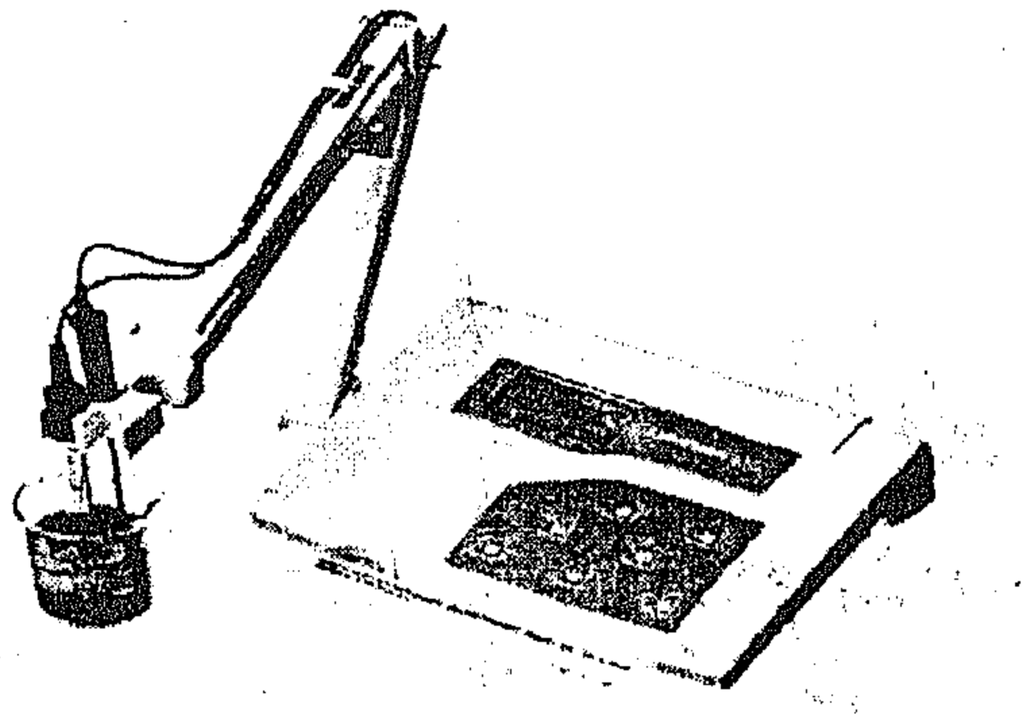
٨- جهاز الطرد المركزى Centrifuges



شكل رقم (٥٦) : جهاز الطرد المركزى.

٩-pH Meter :-

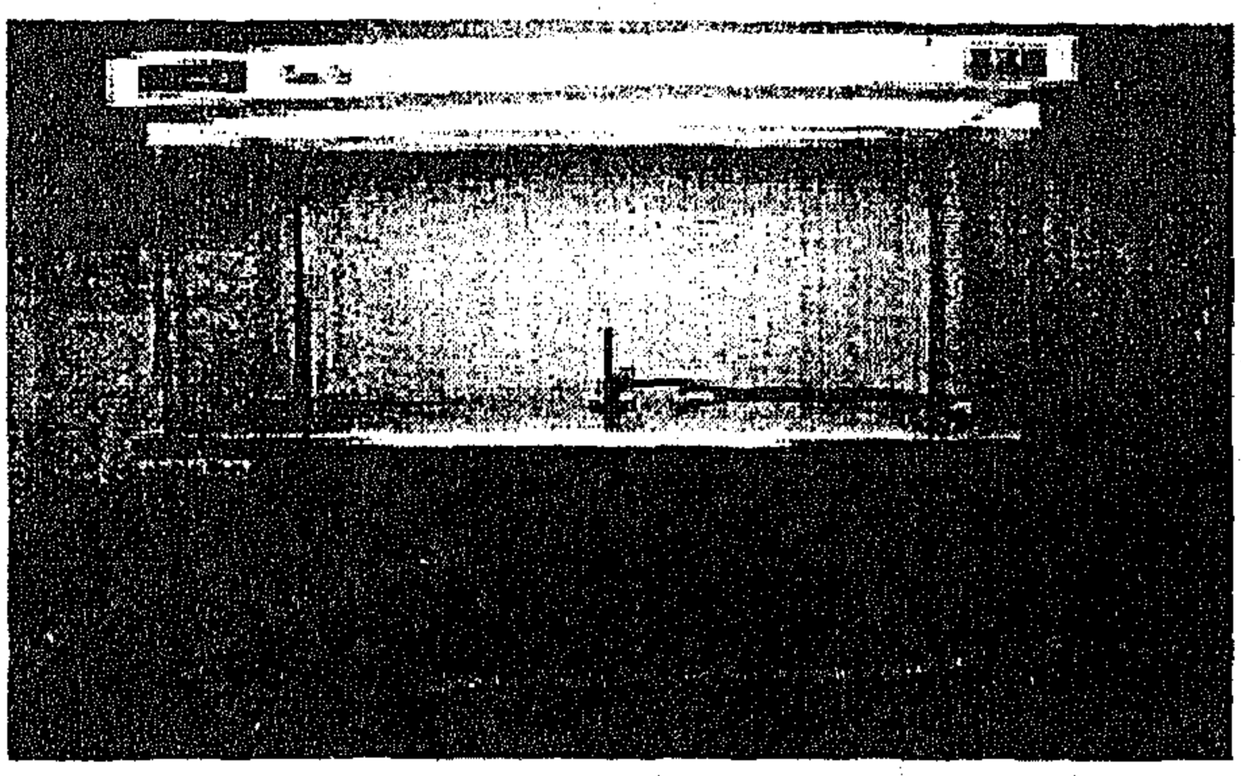
يستخدم لقياس الرقم الهيدروجيني .



شكل رقم (٥٧) : جهاز الـ pH Meter.

١٠- Laminer :-

عبارة عن غرفة لعزل الكائنات الحية الدقيقة (شكل رقم ٥٨).



شكل رقم (٥٨) :الـ Laminer.

بينات الزرع Culture Media

هى عبارة عن مخلوط من المكونات الغذائية التى تنمو عليها الكائنات الحية الدقيقة فى المعمل.

أنوع البيئات الغذائية:-

١- البيئات الانتخابية Selective Media

هى بيئة غذائية يتم إضافة أى مادة طبيعية أو كيميائية تمنع نمو مجموعة معينة من الكائنات الحية الدقيقة و تسمح للمجموعة الأخرى بالنمو كما يتم فى بيئة Violet Red Bile Agar التى تحتوى على الكريستال البنفسجى الذى يمنع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام و يسمح بنمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

٢- البيئات المقواة Enriched Media

عبارة عن بيئة غذائية يتم إضافة أى مادة طبيعية أو كيميائية تعمل على إمداد البكتيريا بإحتياجات غذائية إضافية و بذلك يمكن تنمية بعض البكتيريا الصعبة فى تنميتها مثل إضافة Tween 80 إلى بيئة MRS عند تنمية الـ *Lactobacillus* .

٣- البيئات التفريقية Differential Media

عبارة عن بيئة غذائية يتم إضافة أى مادة كيميائية تعمل على تغير مظهر النمو للبكتيريا كما فى بيئة أجار الدم التى تؤدى إلى تكوين هالة رائقة حول البكتيريا المحللة لكرات الدم ، بينما لا تظهر هذه الهالات الرائقة فى حالة البكتيريا غير المحللة لكرات الدم.

جدول رقم (٢٢) يوضح أهم المكونات الشائع استخدامها فى إعداد البيئات الغذائية.

التعقيم Sterilization

عملية التعقيم تعمل على قتل أو إزالة كل الكائنات الحية الدقيقة من الوسط المراد تعقيمه سواء كان هذا الوسط مكان او بيئة غذائية أو محاليل مختلفة أو مسطحات محددة الأبعاد و الأحجام ، ويمكن تقسيم طرق التعقيم كما بجدول (٢٣).

جدول رقم (٢٢): أهم المكونات الشائع استخدامها فى إعداد البيئات الغذائية.

المكون الغذائى	تركيبة و أهميته
١-الماء Water	يعمل كمادة حاملة للمكونات الغذائية ، بالإضافة إلى أن الكائنات الحية الدقيقة تحتاج إليه فى العمليات الأيضية المختلفة. و يفضل إستخدام الماء المقطر لخلوه نسبياً من الأملاح المعدنية ، حيث إن أيونات الكالسيوم والماغنسيوم الموجودة في ماء الصنبور تتفاعل مع الفوسفات الموجود في البيتون أو مستخلص اللحم مكونه معقد من فوسفات كالسيوم وماغنسيوم غير ذائب تعيق من نمو الكائنات الحية الدقيقة.
٢- البيتون Peptone	هو مصدر النيتروجين العضوى في البيئة الغذائية وهو عبارة عن ناتج التحلل الإنزيمي للبروتينات ويحضر من اللحم الأحمر الخالى من الدهن بمعاملته بإنزيم البيسين بالإضافة إلى إنه يعمل كمادة منظمة للـ pH فى البيئة لإحتوائه على أحماض أمينية لها خاصية أمفوتيرية.
٣- مستخلص اللحم Beef Extract	يتم الحصول علية عن طريق غلى اللحم البقرى الخالى من الدهن في الماء و ذلك للحصول على المرق ثم يجرى تجفيف هذا المرق تحت تفريغ و يصبح مصدراً للأملاح المعدنية و الفيتامينات .
٤-الأملاح	من أشهرها كلوريد الصوديوم الذى يعمل على توفير الضغط الأسموزى لخلايا الكائنات الحية الدقيقة التى تنمو علي البيئات أما الفوسفات والكربونات فهى تعمل مقاومة الـ pH المنخفض نتيجة لنمو الكائنات الحية أى تعادل الحموضة .
٥- مستخلص الخميرة Yeast Extract	مصدر مجموعة فيتامينات B بالإضافة إلى مصدر للنيتروجين، ويتوافر تجارياً في صورة مسحوق بعد تجفيف المستخلص المائى للخميرة.
٦-المواد التصلبية Solidfying Agents	تجعل البيئة صلبة و بالتالى يسهل زرع الكائنات الحية الدقيقة عليها و منها:- ١- الجيلاتين Gelatin يضاف إلى البيئة بنسبة ١٠ ـ ١٢ % و ينصهر على ٣٠ °م أما إذا ارتفعت درجة الحرارة إلى ١٠٠°م فإنه يفقد قدرته التصلبية ، ومن عيوبة أن بعض الكائنات الحية الدقيقة تفرز الجيلاتينيز الذى يحلله مائياً. ٢- الأجار Agar لا يتحلل بيولوجيا و يضاف بنسبة ٢ % إلى البيئة ، و ينصهر على ٩٨ °م ، و يتم تصلبه على ٤٥ °م.

جدول(٢٣): تقسيم طرق التعقيم.

الطريقة	النوع	الأساس العلمى
١-الطرق الفيزيقية Physical Methods	١- الحرارة الجافة: أ-اللهب المباشر و هو يستخدم فى تعقيم إبرة التلقيح بتسخينها لدرجة الإحمرار Incineration Heat لبعض ثوانى و أيضا يستخدم فى تعقيم الهاون الصينى و غيره من الأدوات	عمل تجفيف سريع للخلايا يسبب حدوث أكسدة للمحتويات الخلوية الجافة .
	ب-الهواء الساخن و هو يستخدم فى تعقيم الماصات و أطباق بترى باستخدام أفران التعقيم Sterilization Ovens على ١٦٠ – ١٨٠ °م ، لمدة ٢ – ٣ ساعات.	
	٢- الحرارة الرطبة: أ-البخار ، حيث أن التعقيم بالبخار يتم على ١٠٠ °م لمدة ٢٠ دقيقة و يكرر كل يوم لمدة ٣ أيام لذلك يسمى بالتعقيم المتقطع Intemittent Sterilization و يتم باستخدام جهاز أرنولد.	عمل دنترة للبروتين الخلوى .
	ب-استعمال البخار تحت ضغط، حيث يتم على ١٢١ °م ، لمدة تختلف بإختلاف المادة المراد تعقيمها.	
٢-الطرق الكيميائية Chemical Methods	أ-كحول الإيثايل (٥٠ – ٧٠ %).	يعمل تجفيف و تخثير للبروتين الخلوى.
	ب-حمض الكربوليك أو الفينول(٢ – ٥ %).	
	جـ-كلوريد الزنبقيك(٠,١ %).	يعمل تخثير للبروتين الخلوى عن طريق إرتباط أيونات الزنبق بمجاميع السلفاهيدريل فى البروتين الإنزيمى.
	د-أكسيد الإيثيلين (٠,٥ – ١%) على (٠ – ٤ °م).	سام للكائنات الحية الدقيقة ، حيث إنه متطاير على ١٠,٧ °م.
٣-الطرق الميكانيكية Mechanical Methods	أ-مرشح زايتس Seitz Filter. ب-مرشح زجاجى مسامى Sintered Glass Filter. جـ-المرشحات الغشائية Membrane Filter	يتوقف التعقيم بهذه الطريقة على قطر الثقوب و الشحنة الكهربائية للمرشح و الشحنة الكهربائية للكائنات الحية الدقيقة المراد التخلص منها.

طرق العد الميكرَوبي :-

١) العد القياسي بالأطباق.

٢) الإبرة الحلقية و الطبق.

٣) العد الأكثر احتمالاً.

٤) العد المجهرى المباشر(طريقة بريد) .

٥) العد بإستعمال المرشحات الغشائية.

أولاً:العد القياسى بالأطباق Standard plate count

الأساس العلمى : عمل تخفيفات معروفة من اللبن أو منتجاته ،ثم أخذ كمية من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وإضافة بيئة غذائية له ووضعها تحت ظروف نمو مثلى فكل خلية كائن حى دقيق أو مجموعة من الخلايا تنمو بسرعة مكونة مستعمرة يسهل رؤيتها (شكل رقم ٥٩) ، ومن هذه المستعمرات التي تظهر في كل تخفيف يمكن حساب العد البكتيرى في العينة المراد تحليلها = عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف.

تنقسم إلى :-

طريقة الأطباق المنتشرة :- يتم نشر ١,٠ مل من كل تخفيف علي سطح الطبق.

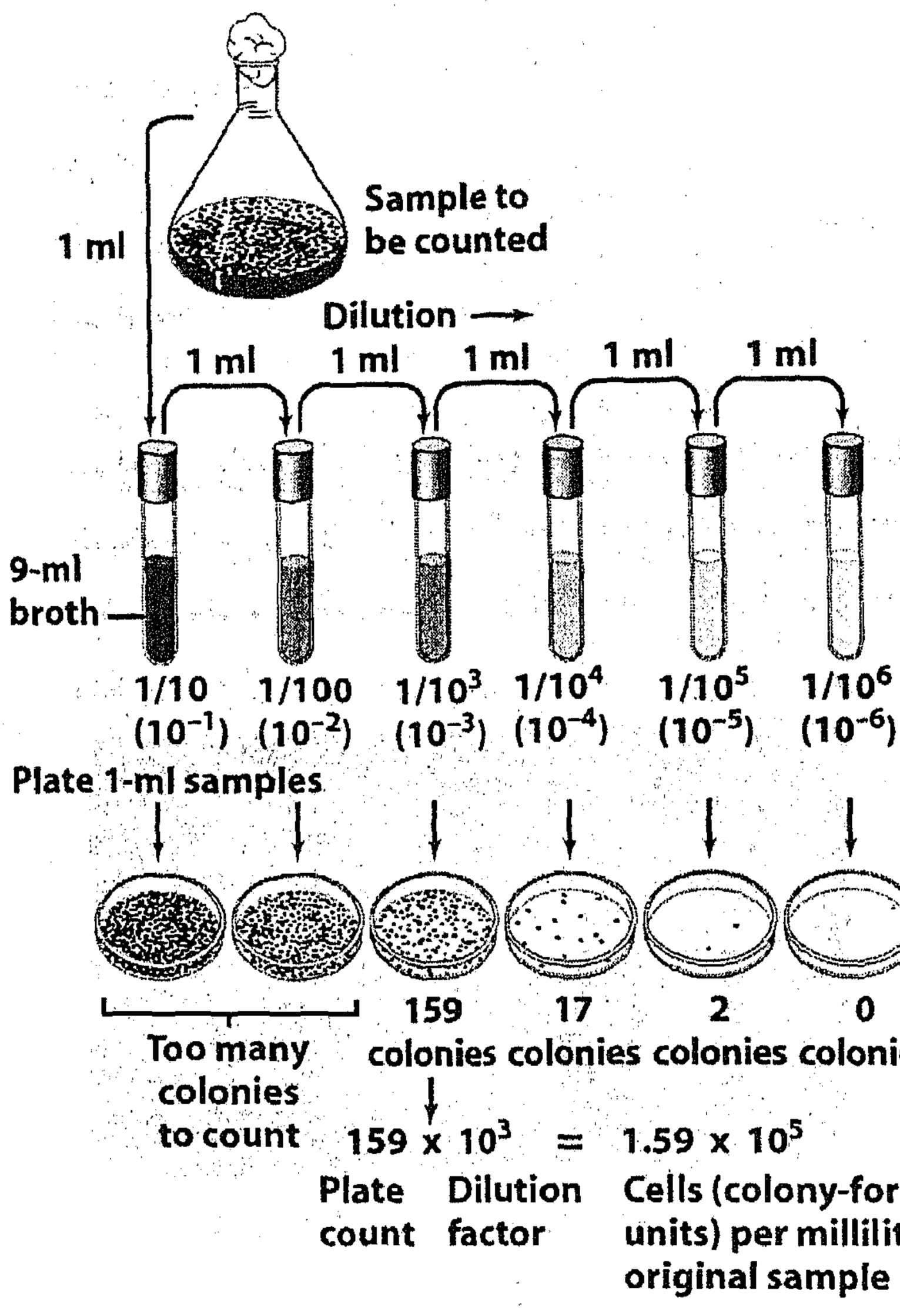
طريقة الأطباق المصبوبة :- يتم أخذ ١ مل من كل تخفيف في طبق ويتم صب البيئة عليها.

أخذ نتائج العد القياسى بالأطباق

١- إذا كان النمو منتشرة Spreaders و يغطى سطح الطبق فإن النتيجة تسجل بـ .Spr.

٢- إذا لم يوجد أى نمو على الطبق تسجل No Colonies (NC) .

٣- إذ كان عدد المستعمرات فى كل التخفيفات أقل من ٣٠ مستعمرة فى الطبق تسجل ٣٠ × أقل تخفيف.

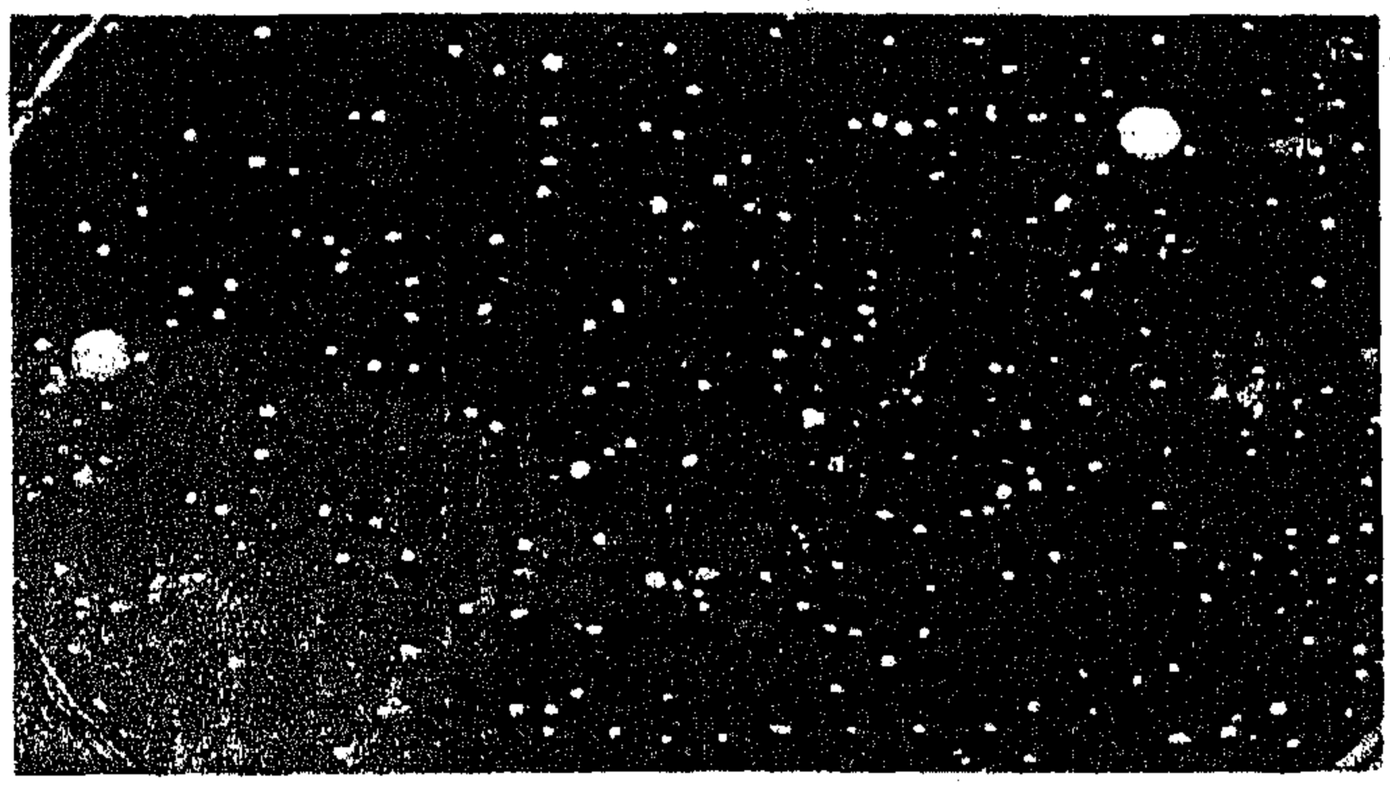


شكل رقم (٥٩) : طريقة العد القياسى بالأطباق.

مثال توضيحى

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}
عدد المستعمرات فى الطبق	١٥	٣
عدد البكتيريا لكل مل أو جم	30×10^{-1} خلية / مل أو جرام	يهمل

يتم إختيار الأطباق الخالية من النموات المنتشرة و التى يتراوح عدد المستعمرات بها من ٣٠ ــ ٣٠٠ مستعمرة فى الطبق الذى مساحته ٦٥ سم^2 ، ثم يؤخذ المتوسط للمكررتين و يضرب فى مقلوب التخفيف (شكل رقم ٦٠) .



شكل رقم (٦٠) : المستعمرات البكتيرية.

مثال توضيحي

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
عدد المستعمرات فى الطبق (مكررة ١)	٣٨٠	٣٨	٣
عدد المستعمرات فى الطبق (مكررة ١)	٣٩٨	٤٠	٨
متوسط نتيجة كل تخفيف	يهمل لأنه أكبر من ٣٠٠ مستعمرة فى الطبق	متوسط عدد المستعمرات= (٣٨ + ٤٠)÷ ٢ =٣٩ مستعمرة	يهمل لأنه أقل من ٣٠ مستعمرة فى الطبق
عدد البكتيريا لكل مل أو جم		= متوسط عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف = ٣٩ × 10^{2} خلية / مل أو جم	-

إذا وجد طبق أقل من ٣٠ مستعمرة و طبق أكبر من ٣٠٠ مستعمرة فى نفس المكررة ، يتم أخذ متوسط العدد داخل التخفيف ثم الضرب فى مقلوب التخفيف و بعد ذلك يتم أخذ متوسط التخفيفين المتتاليين.

مثال توضيحى

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}
عـــــــدد المســـتعمرات فى الطبق (مكررة ١)	٣٢٢	٢٥
عـــــــدد المســـتعمرات فى الطبق (مكررة ١)	٢٨	٣٠٧
متوسط نتيجة كل تخفيف	= (٣٢٢+٢٨)÷٢=١٧٥	=(٢٥ + ٣٠٧)÷ ٢ =١٦٦ مستعمرة
عدد البكتيريا لكل تخفيف	$=10\times175^{1}$ $10\times17,5^{2}$	$=10\times166^{2}$
متوسط عدد البكتيريا فى التخفيفين المتتاليين	$=(10\times17,5^{2}+10\times166^{2})\div2=10\times91,75^{2}$ خلية لكل مل أو جم	

٤- إذا وجد تخفيفان متتاليان و عدد المستعمرات بين ٣٠ و ٣٠٠ ، فلابد فى هذه الحالة أن نحسب نسبة العدد Count Ratio و هى = عدد البكتيريا الكبير ÷ عدد البكتيريا الصغير، فإذا إذا كانت نسبة العدد < ٢ فنأخذ المتوسط الحسابة للعددين ، أما كانت نسبة العدد >٢ نستخدم العدد الصغير فى حساب النتيجة.

مثال توضيحى فى حالة نسبة العدد <٢

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}
عدد المستعمرات فى الطبق (مكررة ١)	٢٣٥	٣٢
عدد المستعمرات فى الطبق (مكررة ١)	٢٦٧	٣١
متوسط نتيجة كل تخفيف	= (٢٣٥+٢٦٧)÷٢=٢٥١	= (٣٢ + ٣١)÷ ٢ =٣٢ مستعمرة
عدد البكتيريا لكل تخفيف	= ٢٥,١ ×10^{2}	=٣١,٥×10^{2}
حساب نسبة العدد	=(٢٥,١ ×10^{2} ÷ ٣١,٥×10^{2}) = ١,٢٥ أقل من ٢	
عدد البكتيريا = المتوسط الحسابى للعددين × مقلوب التخفيف	=(٢٥,١ ×10^{2} + ٣١,٥×10^{2})÷٢ =٢٨ ×10^{2} خلية لكل مل أو جرام	

مثال توضيحى فى حالة نسبة العدد >٢

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}
عدد المستعمرات فى الطبق(مكررة ١)	١٢٨	٣٥
عدد المستعمرات فى الطبق(مكررة ٢)	١٠٩	٣١
متوسط نتيجة كل تخفيف	١١٨,٥	٣٣
عدد البكتيريا لكل تخفيف	= ١١,٨٥ ×10^{2}	=33×10^{2}
حساب نسبة العدد	2.78 و هذه أكبر من ٢ لذلك نستخدم عدد البكتيريا الأصغر فى الحساب	
عدد البكتيريا = عدد البكتيريا الأصغر × مقلوب التخفيف	= ١١,٨٥ ×10^{2} = ١٢ ×10^{2} خلية لكل مل أو جم	

٥- إذا وجدت أطباق تحتوى على أكبر من ٣٠٠ و أقل من ٣٠ مستعمرة فى الطبق فيجب أن نختار العدد القريب من ٣٠٠ .

مثال توضيحى

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}
عدد المستعمرات فى الطبق	١٥	٣٥٥
عدد البكتيريا لكل مل أو جم	يهمل لأنه بعيد عن ٣٠٠	٣٥,٥×10^{2} خلية / مل أو جرام

٦- إذا كانت الأطباق تحتوى على أكثر من ٣٠٠ مستعمرة فيتم عدها كالتالى:

٧-

مثال توضيحى

الحالة	عدد المستعمرات فى المربع (سم ٢)أكبر من ١٠ و أقل من ٣٠	عدد المستعمرات فى المربع (سم ٢) أقل من ١٠	عدد المستعمرات فى المربع (سم ٢) اكبر من ٣٠
طريقة الطبق	نعد المستعمرات فى أربع مربعات ، ثم يؤخذ المتوسط الحسابى لهم و يضرب فى ٦٥ ، حيث أن مساحة الطبق ٦٥ سم٢	نعد المستعمرات الموجودة فى ١٣ و يضرب فى ٥ ، حيث أن مساحة الطبق ٦٥ سم٢	لا تعد و تكتب Too Numerous

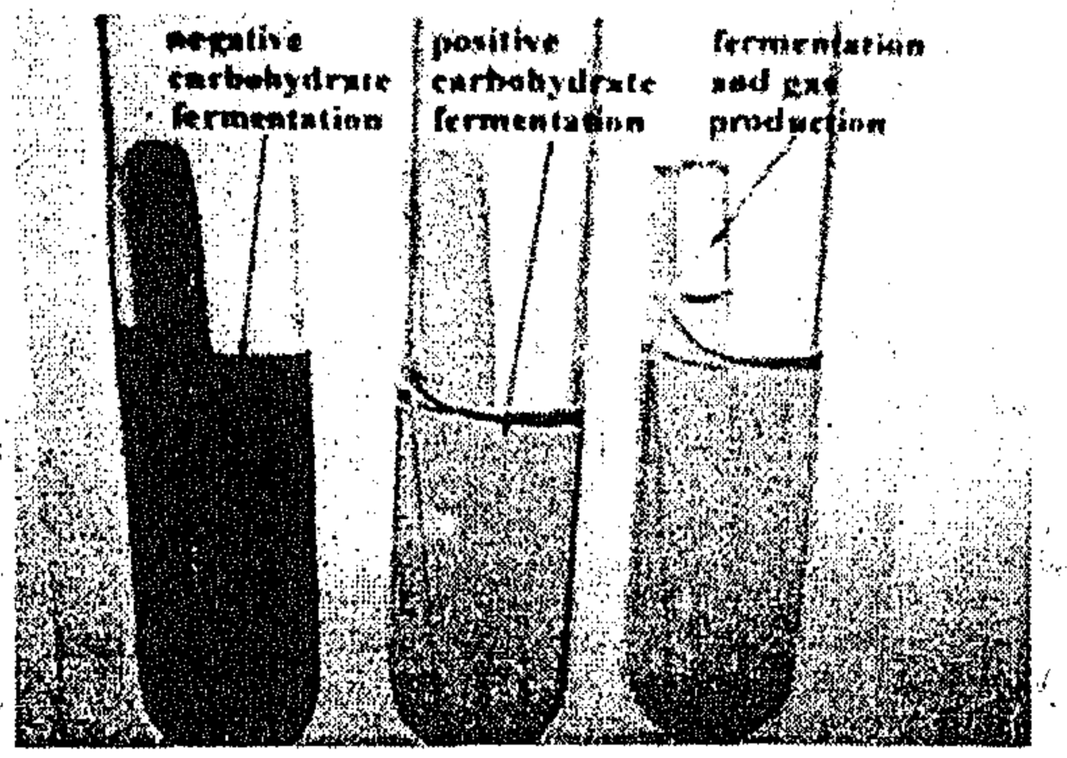
ثانياً: الإبرة الحلقية و الطبق Plate loop count

الأساس العلمى: أن Loop الأبرة الحلقية يأخذ ٠,٠٠١ مل من اللبن و بالتالى فإنه يتم تعقيم الإبرة باللهب و تبريدها ثم غرس الإبرة بسرعة و بزاوية معينة و عمق معين و نقل هذه الكمية إلى طبق بترى معقم نقلاً كمياً بواسطة ١

مل ماء معقم ثم صب البيئة عليه و توفير الظروف المثلى للنمو فكل خلية بكتيرية أو مجموعة من الخلايا تنمو بسرعة مكونة مستعمرة يسهل رؤيتها ومن هذه المستعمرات التي تظهر في كل تخفيف يمكن حساب العد البكتيرى في العينة المراد تحليلها = (عدد المستعمرات) × (مقلوب التخفيف). وهذه لا تصلح إذا زاد العدد عن ٢٠٠٠٠٠ خلية /مل.

ثالثاً:العد الأكثر احتمالاً Most Probable Number (MPN)

الأساس العلمى: من أشهر الطرق المستخدمة لعد بكتيريا القولون فى اللبن و منتجاته ، حيث يتم عمل تخفيفات من اللبن أو منتجاته ، ثم تلقيح كل تخفيف فى بيئة ماكونكى السائلة Mac Conkey' s Agar و تكرر ٣ أو ٥ مرات لكل تخفيف وتحضن لمدة ٤٨ ساعة ثم تفحص لإنتاجها للحامض و الغاز(شكل رقم ٦١) و من خلال جداول إحصائية يمكن معرفة العدد التقريبى فى العينة المختبرة ، وهذه الطريقة أقل دقة من الطريقة السابقة فى تحديد المحتوى الميكروبى بطريقة إحصائية وتفضل فى حالة العينة السائلة .



شكل رقم (٦١) : شكل الغاز والحامض فى بيئة ماكونكى السائلة.

رابعاً: العد المجهرى المباشر(طريقة بريد)

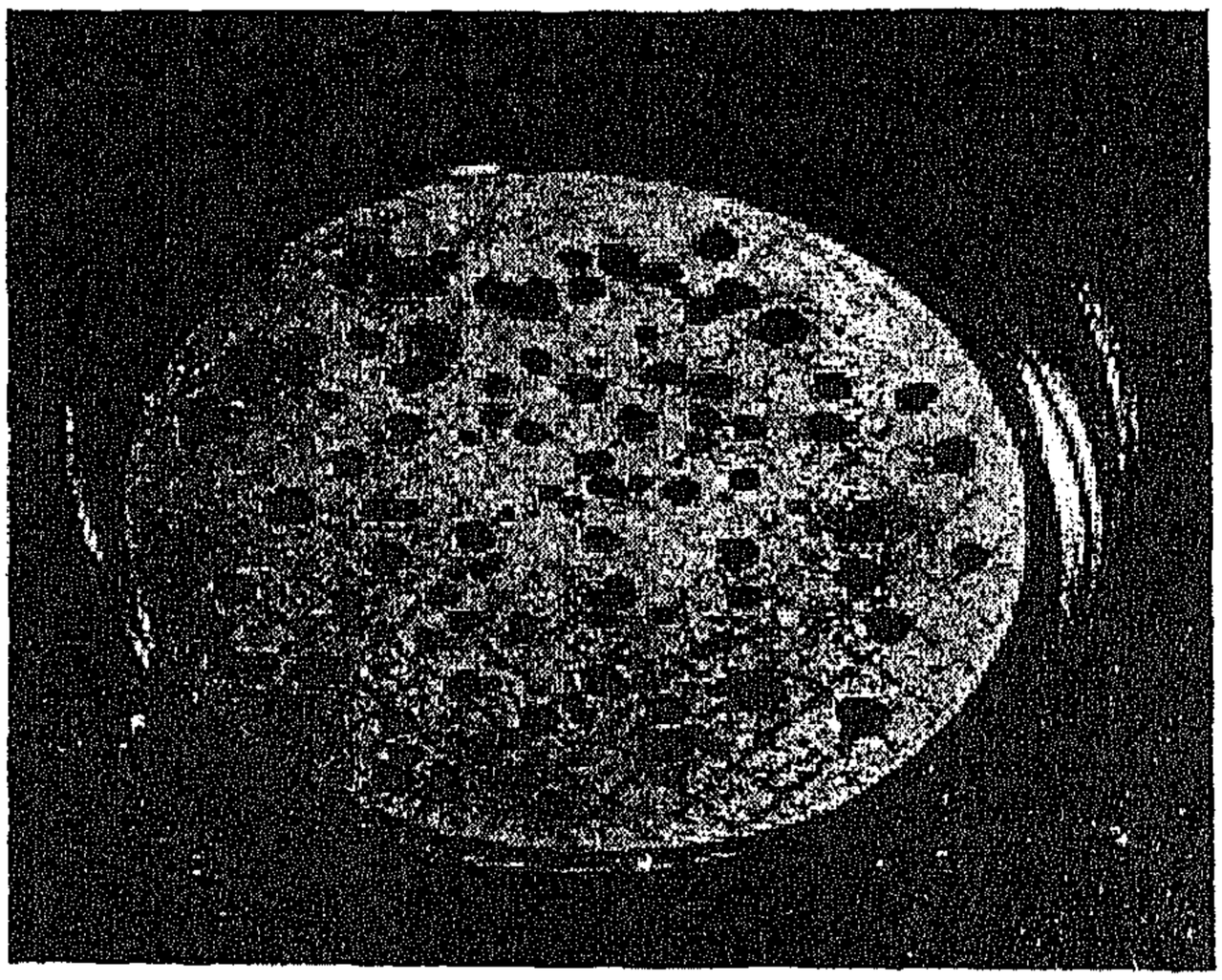
Direct Microscopic Count (Breed Smear count)

يجرى بتحضير فيلم من اللبن أو منتجاته وصبغة بصبغة معينة ثم إجراء عد الخلايا تحت الميكروسكوب وهذه الطريقة تقدر العدد الكلى للخلايا سواء حية أو ميتة .

خامساً:العد باستعمال المرشحات الغشائية

Membrane Filtration Method

عن طريق إمرار العينة خلال المرشح الغشائى الحاجز للبكتيريا فسوف يحجز الخلايا على سطح الغشاء ويتم وضع بيئة مناسبة للنمو فإن الخلايا سوف تنمو على سطح المرشح الغشائى ويستدل على عد المستعمرات النامية على عدد البكتيريا الموجودة فى العينة (شكل رقم ٦٢).



شكل رقم (٦٢) : المستعمرات البكتيرية على المرشحات الغشائية.

أولاً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام

يقسم اللبن إلى 3 درجات حسب جودته:

١- الدرجة (أ) يجب أن يكون العدد الكلى للخلايا البكتيرية أقل من نصف مليون خلية / مل.

٢- الدرجة(ب) يجب أن يكون العدد الكلى للخلايا البكتيرية يتراوح من نصف مليون إلى ٤ مليون خلية / مل.

٣- الدرجة(ج) يجب أن يكون العدد الكلى للخلايا البكتيرية أكثر من 4 مليون خلية / مل.

ولتحديد جودة اللبن الخام الميكروبيولوجية يجرى تقدير:-

١) عدد البكتيريا المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة.

٢) اختبار أزرق الميثيلين.

٣) عدد البكتيريا المحبة للبرودة.

٤) عدد البكتيريا المتجرثمة.

١-تقديرعدد البكتيريا المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة للبن الخام

الأساس العلمي: تنمية البكتيريا في بيئة نمو تصلح لمعظم الكائنات الدقيقة المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة.

طريقة أخذ العينة من اللبن الخام:

١- إذا تم أخذ العينة من التنكات التى تزيد سعتها عن ٤ طن لبن فلابد من تقليبها لمدة ١٠ دقائق ثم يغمر المنطال Dipper الذى سبق تعقيمه فى محلول كلور ١٠٠ PPM لمدة ٥ دقائق و تؤخذ العينة.

٢- أما إذا تم أخذ العينة من التنكات التى تتراوح سعتها من ٠,٥ - ٤ طن لبن فلابد من تقليبها لمدة ٥ دقائق ثم يغمر المنطال Dipper الذى سبق تعقيمه فى محلول كلور ١٠٠ PPM لمدة ٥ دقائق و تؤخذ العينة.

٣- إذا أخذت عينة اللبن من تنك السيارات فيتم تقليب اللبن من خلال فتحه موجودة أعلى التنك لمدة ١٠ دقائق و يتم سحب العينة كما سبق بالمنطال.

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Plate Count Agar (P.C.A) عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية [مكوناتها: Tryptone (٥ جم) و Yeast Extract (٢,٥ جم) و Dextrose (١ جم) و Agar (١٢ جم) و الـ pH ٧].
٢. عمل تخفيفات من اللبن الخام بواسطة أخذ ١مل لبن بعد رج عينة اللبن ٢٥ مرة تقريبا و نقله إلى ٩ مل محلول فسيولوجى (كلوريد صوديوم ٠,٨٥ %) ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (10^{-6} و 10^{-7}).
٣. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.
٤. صب ١٠ مل من بيئة Plate Count Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة فى الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في إتجاه عقارب الساعة ثلاث مرات ثم في عكس إتجاه عقارب الساعة ثلاث مرات ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.
٥. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٣٢°م / ٤٨ ± ٣ ساعة.
٦. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

٢-اختبار أزرق الميثيلين للبن الخام

الأساس العلمي: أن لون صبغة أزرق الميثيلين فى وجود الأكسجين يكون أزرق و لكن وجود البكتيريا بكمية كبيرة يؤدى إلى استهلاك الأكسجين و يصبح الوسط مختزلاً فيصبح لون صبغة أزرق الميثيلين عديم اللون، أى كلما زاد عدد البكتيريا فى اللبن أصبحت الصبغة عديمة اللون ، و المواصفات المصرية القياسية تنص على أن يجتاز اللبن الخام اختبار أزرق الميثيلين فى مدة لا تقل عن ٤.٣٠ ساعة حتى يكون جيداً و بالتالى لا تزيد البكتيريا عن ٢٠٠٠٠٠ خلية ، ولكن معظم اللبن المصرى يزيد عن نصف مليون خلية وهذا راجع إلى عوامل كثيرة سبق ذكرها.

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز لبن فرز مسترجع ١٠% و مضاف إليه صبغة أزرق الميثيلين ٠,١ % و يوزع ١٠ مل فى كل أنبوبة و يعقم فى الأوتوكلاف .
٢. يتم تلقيح كل أنبوبة بواسطة ١ مل لبن.
٣. تحضن الأنابيب على ٣٧ °م .
٤. سجل وقت الاختزال ، ثم أحكم على جودة اللبن من خلال الجدول رقم(٢٤).

جدول(٢٤): العلاقة بين وقت إختزال الصبغة و جودة اللبن.

الوقت اللازم لإختزال الصبغة	جودة اللبن المختبر	عدد البكتيريا
٥,٥ ساعة	ممتاز	٥٠٠٠٠٠
٢,٥ ــ ٥ ساعة	جيد	٢٠٠٠٠٠٠
٢ ــ ٥ ساعة	مقبول	٥٠٠٠٠٠٠
٠,٥ ــ ٢ ساعة	ردىء	٥٠٠٠٠٠٠ ـ ١٠٠٠٠٠٠٠
أقل من ٣٠ دقيقة	ردىء جداً	أكبر من مليون

٣-عدد البكتيريا المحبة للبرودة في اللبن الخام

من البكتيريا المحبة للبرودة و التى تسبب الطعم المتزنخ Ranced و الطعم النتن Putrid و الطعم المر Bitter فى اللبن و منتجاته: *Flavobacterium , Pseudomonas, Alcaligenes, Enterobacter, Klebsiella,Arthrobacter,Streptococcus,Micrococcus,Lactob acillus* .

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Plate Count Agar (P.C.A) أو بيئة الـ Nutrient Agar [تركيبها Lab-Lemco ' Powder (١ جم) و Yeast Extract (٢ جم) و Peptone (٥ جم) و Sodium Chloride (٥جم) و Agar (١٥جم) و الـ pH ٧,٤] عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية.
٢. عمل تخفيفات من اللبن الخام بواسطة أخذ ١مل بعد رج عينة اللبن ٢٥ مرة تقريبا و نقله الى ٩ مل محلول فسيولوجى(كلوريد الصوديوم ٠,٨٥ %) ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (١٠$^{-٦}$ و ١٠$^{-٧}$).
٣. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.
٤. صب ١٠ مل من بيئة Plate Count Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائريا في إتجاه عقارب الساعة ثلاث مرات ثم في عكس إتجاه عقارب الساعة ثلاث مرات ثم رأسيا ثم أفقيا و تركها حتي تتصلب.
٥. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٧°م لمدة ١٠ أيام .

٦. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

٤-عدد البكتيريا المتجرثمة فى اللبن الخام

الأساس العلمى: هو عمل صدمة حرارية للتخفيفات على ٨٠ ° م لمدة ١٥ دقائق ، فتعمل على قتل كل الخلايا الخضرية للبكتيريا و تتبقى الخلايا المتجرثمة، وطبقا للمواصفات القياسية المصرية يجب أن لا يزيد عدد البكتيريا المتجرثمة فى اللبن عن ١٠ خليه لكل مل.

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Plate Count Agar (P.C.A) عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية.
٢. عمل تخفيفات من اللبن الخام بواسطة أخذ ١مل بعد رج عينة اللبن ٢٥ مرة تقريبا و نقله إلى ٩ مل محلول فسيولوجى(كلوريد الصوديوم ٠,٨٥ %) ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (١٠-٦ و ١٠-٧).
٣. معاملة أنابيب التخفيف في الحمام المائي على ٨٠ ° م لمدة ١٥ دقائق ، ثم تبريد الأنابيب سريعاً.
٤. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.
٥. صب ١٠ مل من بيئة Plate Count Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في إتجاه عقارب الساعة ثلاث مرات ثم في عكس إتجاه عقارب الساعة ثلاث مرات ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

٦. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٣٢°م / ٤٨ ± ٣ ساعة.

٧. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

ثانياً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المبستر

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- العدد الكلى للبكتيريا .

٢- إختبار أزرق الميثيلين.

٣- تقدير فترة الصلاحية أو قوة الحفظ للبن المبستر.

٤- عد بكتيريا الكوليفورم.

١- تقدير العدد الكلى للبكتيريا فى اللبن المبستر

يجب ألا يزيد العدد الكلى عن ٥ × ١٠ ^{٤} خلية لكل مل و هذا طبقاً للمواصفات القياسية المصرية.

خطوات العمل:-

الاختلاف بينه و بين اللبن الخام هو طريقة أخذ العينة ، ثم تكمل باقى خطوات التحليل كما فى اللبن الخام.

طريقة أخذ العينة:

١- إذا سحبت العينة من عبوة ذات غطاء حلزونى فلابد أن ننظف سطحها الخارجى ، يلى ذلك تعقيمها بواسطة كحول الإيثايل (٧٠%) ، و بعد ذلك تترك لتجف ، ثم ترج عبوة اللبن ٢٥ مرة تقريباً ، ثم يتم إزالة

الغطاء الحلزونى وسحب الـ ١ مل وعمل التخفيفات كما سبق ذكره فى الخام.

٢- أما إذا سحبت العينة من عبوة كرتونية فيتم تنظيف سطحها الخارجى ، يلى ذلك تعقيمها بواسطة كحول الإيثايل (٧٠%) ، و بعد جففها نقوم برج عبوة اللبن ٢٥ مرة تقريبا خلال ١٢ ثانية ، ثم نقوم بقص أحد الزاويا العلوية عن طريق مقص سبق تعقيمه بالتلهيب الكحولى ، يلى ذلك سحب الـ ١ مل وعمل التخفيفات كما سبق ذكره فى الخام.

٢-إختبار أزرق الميثيلين فى اللبن المبستر

المواصفات المصرية تنص على أن يجتاز اللبن الخام اختبار أزرق الميثيلين فى مدة لا تقل عن ٥.٥ ساعة حتى يكون ممتاز.

٣-تقدير فترة الصلاحية أو قوة الحفظ للبن المبستر

يجرى تقدير فترة الصلاحية Shelif- life أو قوة الحفظ Keeping Quality للبن المبستر بإستخدام طريقة التحضين الإبتدائى Preliminary Incubation(PI) Method .

خطوات العمل:-

١-يتم تحضين علبة اللبن المبستر على ٢١ ° م لمدة ١٨ ساعة.

٢-بعد التحضين الابتدائى لمدة ١٨ ساعة يجرى عد البكتيريا بطريقة العد القياسى بالأطباق مع التحضين على ٢١ ° م لمدة ٢٥ ساعة.

٣-يتم عد الأطباق و الحكم على العينة من خلال جدول رقم (٢٥).

جدول(٢٥): تقدير فترة الصلاحية أو قوة الحفظ للبن المبستر.

عدد البكتيريا لكل مل	أقل من ١٠^{3}	10^{3} - ٢ ×١٠^{5}	أكبر من ٢ ×١٠^{5}
فتـــــرة الصلاحية	أكثر من ١٤ يوم	١٠ – ١٤ يوم	أقل من ١٠ أيام

٤-تقديرعد بكتيريا الكوليفورم فى اللبن المبستر

إن مجموعة الكوليفورم تشمل أربعة أجناس رئيسية ، جميعها عصوية، غير مكونة للجراثيم و لا هوائية اختيارًا ، وسالبة لصبغة جرام و لها القدرة على تخمير اللاكتوز منتجة حامضاً و غازاً، و الأنواع المكونة لمجموعة الكوليفورم هى:

Escherichia coli , Citrobacter freundii, Klebsiella pneumonia , Enterobacter aerogenes , Enterobacter cloacae

ويتم الكشف عنها بإجراء:- ١- الاختبار الإحتمالىPresumptive Test

٢-الاختبار التأكيدى Confirmative Test

٣-الاختبار التكميلى Completed Test

أولاً:الاختبار الاحتمالى Presumptive Test

الأساس العلمى :-

إستخدام بيئات إنتخابية Selective Media مثل Violet Red Bile Agar التى تحتوى على الكريستال البنفسجى الذى يمنع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام و يسمح بنمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام و إستخدام بيئة ماكونكى MacConKey broth للكشف على قدرتها على إنتاج غاز و حامض.

خطوات العمل :-

١-يتم تحضير بيئة MacConKey broth [مكوناتها: Lactose(١٠ جم) و Bile Salts (٥جم) و Peptone (٢٠ جم) و Sodium Chloride (٥جم) و Bromo-Cresol Purple (٠,٠٧ جم) و الـ pH ٧,٤] بداخلها أنابيب درهام مقلوبة وبيئة Violet Red Bile Agar [مكوناتها: Yeast Extract(3 جم) و Bile Salts (١,٥ جم)و Peptone (٧ جم) و Sodium Chloride (٥جم) و Lactose (١٠جم)و Neutral red (٠,٠٣جم) و Crystal Violet (٠,٠٠٢ جم) و الـ pH ٧,٤] عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية .

٢-عمل تخفيفات من العينة كما سبق في إختبار تقدير العد الكلى للبكتيريا .

٣- حقن ١مل من كل تخفيف في ٣ أنابيب من بيئة ماكونكى السائلة (كل أنبوبة تحتوى على ١٠ مل) و هذه الأنابيب تحتوى على أنابيب درهام Durham مقلوبة و حقن ١مل أخر من كل تخفيف في طبق بترى وعمل مكرر أخر له و صب بيئة Violet Red Bile Agar في الأطباق ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

٤-التحضين على درجة حرارة ٣٧ °م / ٢٤-٤٨ ساعة

٥-أخذ النتائج ، حيث إن الأنابيب التي تعطى نتيجة موجبة هي التي قد تكون بها حموضة وغاز ، (حموضة : تحدث تغير في لون البيئة من البنفسجي إلى الأصفر دلالة على وجود حموضة) ،(غـاز : يظهر في أنبوبة درهام المقلوبة دلالة على تكون غاز) و عد أطباق VRBA و التى تظهر بلون أحمر داكن.

٨-يتم عمل تجربة بلانك وذلك بتحضين أنبوبة و أطباق بها البيئة فقط بدون تلقيح أى تخفيفات بها و تسجيل النتائج من جداول خاصة و تسجل بالعدد الأكثر احتمالا لكل مل أو جم .

ثانياً:الاختبار التأكيدى Confirmative Test

هدف هذا الاختبار هو التأكد من أن المستعمرات المشكوك فيها و النامية على بيئة VRBA هى أنواع تابعة لمجموعة الكوليفورم وذلك بإستخدام بيئة الـ Endo Agar و التلقيح فى بيئة الـ Lactose broth.

الأساس العلمى :-

التخطيط على بيئة إنتخابية Selective Medium وهى بيئة Endo Agar من الأطباق أو الأنابيب المشكوك فيها و هى تحتوى على Sodium Sulfite (شق الكبريت) و أيضا وجود صبغة الفوكسين القاعدة فى البيئة و اللذان يعملان على منع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام و يسمح بنمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام والتى تخمر سكر اللاكتوز و تظهر بلون أحمر محاطة بهالة خضراء لامعة بسبب تحول الفوكسين الحر إلى كبريتات الفوكسين ، أما التلقيح فى بيئة الـ Lactose broth للتأكد من قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز و إنتاج الغاز.

خطوات العمل :-

١-يتم تحضير بيئة Endo Agar [مكوناتها: Lactose(١٠ جم) و Potassium Phosphate(٣,٥ جم)و Peptone (١٠ جم) و Sodium Suphite (٢,٥ جم) و Basic Fuchsin(٠.٤ جم) و Agar (١٢ جم) و الـ pH ٧,٥] و صبها فى أطباق بترى عن طريق إتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية .

٢-يتم التخطيط من الأنابيب أو الأطباق المشكوك فيها على بيئة الـ Endo Agar.

٣-التحضين على درجة حرارة ٣٧ °م / ٢٤ساعة .

٤-يتم نقل مستعمرة إلى أنابيب تحتوى على بيئة Lactose broth [مكوناتها: Lab-Lemco Powder (٣ جم) و Lactose (5 جم) و Peptone (٥ جم) و Agar (١٥جم) و الـ pH ٦,٩] والتى بها أنابيب درهام.

٥-التحضين على درجة حرارة ٣٧ °م / ٤٨ ساعة .

٦-الكشف على قدرة البكتيريا على تكوين غاز يدل على إيجابية الإختبار.

ثالثاً:الإختبار التكميلى Completed Test

يجرى بهدف الفحص المجهرى واختبار صبغة جرام و اختبار الكتاليز

خطوات العمل :-

١-يخطط عينة من أنابيب مرق اللاكتوز Lactose broth على أنابيب تحتوى أجار مائل Standard Method Agar Slant .

٢-التحضين على درجة حرارة ٣٧ °م / ٢٤ - ٤٨ ساعة .

٣-إجراء الفحص المجهرى واختبار صبغة جرام و اختبار الكتاليز.

جدول العدد الأكثر احتمالاً (الماء و اللبن) فى ١٠ مل من العينة.

1.0	0.1	0.01	MPN	1.0	0.1	0.01	MPN	1.0	0.1	0.01	MPN
0	0	0	0	2	0	0	4.5	4	0	0	13.0
0	0	1	1.8	2	0	1	6.8	4	0	1	17.0
0	0	2	3.6	2	0	2	9.1	4	0	2	21.0
0	0	3	5.4	2	0	3	12.0	4	0	3	25.0
0	0	4	7.2	2	0	4	14.0	4	0	4	30.0
0	0	5	9.0	2	0	5	16.0	4	0	5	36.0
0	1	0	1.8	2	1	0	6.8	4	1	0	17.0
0	1	1	3.6	2	1	1	9.2	4	1	1	21.0
0	1	2	5.5	2	1	2	12.0	4	1	2	26.0
0	1	3	7.3	2	1	3	14.0	4	1	3	31.0
0	1	4	9.1	2	1	4	17.0	4	1	4	36.0
0	1	5	11.0	2	1	5	19.0	4	1	5	42.0
0	2	0	3.7	2	2	0	9.3	4	2	0	22.0
0	2	1	5.5	2	2	1	12.0	4	2	1	26.0
0	2	2	7.4	2	2	2	14.0	4	2	2	32.0
0	2	3	9.2	2	2	3	17.0	4	2	3	38.0
0	2	4	11.0	2	2	4	19.0	4	2	4	44.0
0	2	5	13.0	2	2	5	22.0	4	2	5	50.0
0	3	0	5.6	2	3	0	12.0	4	3	0	27.0
0	3	1	7.4	2	3	1	14.0	4	3	1	33.0
0	3	2	9.3	2	3	2	17.0	4	3	2	39.0
0	3	3	11.0	2	3	3	20.0	4	3	3	45.0
0	3	4	13.0	2	3	4	22.0	4	3	4	52.0
0	3	5	15.0	2	3	5	25.0	4	3	5	59.0
0	4	0	7.5	2	4	0	15.0	4	4	0	34.0
0	4	1	9.4	2	4	1	17.0	4	4	1	40.0
0	4	2	11.0	2	4	2	20.0	4	4	2	47.0
0	4	3	13.0	2	4	3	23.0	4	4	3	54.0
0	4	4	15.0	2	4	4	25.0	4	4	4	62.0
0	4	5	17.0	2	4	5	28.0	4	4	5	69.0
0	5	0	9.4	2	5	0	17.0	4	5	0	41.0
0	5	1	11.0	2	5	1	20.0	4	5	1	48.0
0	5	2	13.0	2	5	2	23.0	4	5	2	56.0
0	5	3	15.0	2	5	3	26.0	4	5	3	64.0
0	5	4	17.0	2	5	4	29.0	4	5	4	72.0
0	5	5	19.0	2	5	5	32.0	4	5	5	81.0
1	0	0	2.0	3	0	0	7.8	5	0	0	23.0

1	0	1	4.0	3	0	1	11.0	5	0	1	31.0
1	0	2	6.0	3	0	2	13.0	5	0	2	43.0
1	0	3	8.0	3	0	3	16.0	5	0	3	58.0
1	0	4	10.0	3	0	4	20.0	5	0	4	78.0
1	0	5	12.0	3	0	5	23.0	5	0	5	95.0
1	1	0	4.0	3	1	0	11.0	5	1	0	35.0
1	1	1	6.1	3	1	1	14.0	5	1	1	45.0
1	1	2	8.1	3	1	2	17.0	5	1	2	54.0
1	1	3	10.0	3	1	3	20.0	5	1	3	84.0
1	1	4	12.0	3	1	4	23.0	5	1	4	110.0
1	1	5	14.0	3	1	5	27.0	5	1	5	130.0
1	2	0	6.0	3	2	0	14.0	5	2	0	49.0
1	2	1	8.2	3	2	1	17.0	5	2	1	70.0
1	2	2	10.0	3	2	2	20.0	5	2	2	95.0
1	2	3	12.0	3	2	3	24.0	5	2	3	120.0
1	2	4	15.0	3	2	4	27.0	5	2	4	130.0
1	2	5	17.0	3	2	5	31.0	5	2	5	180.0
1	3	0	8.3	3	3	0	17.0	5	3	0	79.0
1	3	1	10.0	3	3	1	21.0	5	3	1	110.0
1	3	2	13.0	3	3	2	24.0	5	3	2	140.0
1	3	3	15.0	3	3	3	28.0	5	3	3	150.0
1	3	4	17.0	3	3	4	31.0	5	3	4	210.0
1	3	5	19.0	3	3	5	35.0	5	3	5	250.0
1	4	0	11.0	3	4	0	21.0	5	4	0	130.0
1	4	1	13.0	3	4	1	24.0	5	4	1	170.0
1	4	2	15.0	3	4	2	28.0	5	4	2	220.0
1	4	3	17.0	3	4	3	32.0	5	4	3	280.0
1	4	4	19.0	3	4	4	36.0	5	4	4	350.0
1	4	5	22.0	3	4	5	40.0	5	4	5	430.0
1	5	0	13.0	3	5	0	25.0	5	5	0	240.0
1	5	1	15.0	3	5	1	29.0	5	5	1	350.0
1	5	2	17.0	3	5	2	32.0	5	5	2	540.0
1	5	3	19.0	3	5	3	37.0	5	5	3	920.0
1	5	4	22.0	3	5	4	41.0	5	5	4	160.0
1	5	5	24.0	3	5	5	45.0	5	5	5	>٢٤٠

قواعد أخذ نتائج الكوليفورم من الجدول الخاص بالعدد الأكثر إحتمالاً:

١-أن العدد الأكثر إحتمالاً فى ١ مل=(القيمة المستخرجة من الجدول × مقلوب التخيف الأوسط) ÷ ١٠ .

٢-لاستخراج القيمة من الجدول السابق ينظر الى الـ ٣ نتائج الإيجابية أى النتيجة قبل الصفر.

مثال توضيحى

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
عدد الأنابيب الموجبة من إجمالى ٣ أنابيب	٣	٢	١	٠

فنأخذ القيمة من الجدول التى أمام ١ ٢ ٣ وهى ١٧ و لا نأخذ القيمة التى أمام ٢ ١ ٠ .

العدد الأكثر إحتمالاً=(١٧ ×١٠ ^{٢})÷١٠=١٧ × ١٠ خلية لكل مل.

٣-إذا تكررت النتيجة بالسالب فى جميع التخفيفات نأخذ النتيجة المقابلة للتخفيفات الأولى.

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
عدد الأنابيب الموجبة من إجمالى ٣ أنابيب	٠	١	٠	٠

نأخذ القيمة ٠ ١ ٠ و التى تقابل التخفيفات 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} وهى ١,٨.

العدد الأكثر إحتمالاً=(١,٨ ×١٠ ^{٢})÷١٠=١٨ خلية لكل مل.

٤-فى حالة تكرار النتيجة بالإيجاب فى جميع التخفيفات نأخذ النتيجة المقابلة للتخفيفات الأخيرة.

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
عدد الأنابيب الموجبة من إجمالى ٣ أنابيب	٥	٥	٥	٥

نأخذ القيمة ٥ ٥ ٥ و التى تقابل التخفيفات 10^{-2}و 10^{-3}و10^{-4} وهى أكبر من ٢٤٠.

العدد الأكثر إحتمالاً أكبر من =(٢٤٠×١٠ ^{٣})÷١٠=٢٤ × ١٠ ^{٣} خلية لكل مل.

٥-فى حالة تكرار النتيجة فى تخفيفان متتاليين بنتيجة ٥ تحذف النتيجة المكررة.

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
عدد الأنابيب الموجبة من إجمالى ٣ أنابيب	٥	٥	٣	٠

نأخذ القيمة التى تقابل ٥ ٣ ٠ و هى ٧٩.

العدد الأكثر إحتمالاً =(٧٩×١٠ ^{٣})÷١٠=٧٩ × ١٠ ^{٣} خلية لكل مل.

٦-فى حالة تكرار النتيجة فى تخفيفان متتاليين بنتيجة أقل من ٥ تحذف النتيجة المكررة.

التخفيف	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
عدد الأنابيب الموجبة من إجمالى ٣ أنابيب	٥	٢	١	١	٠

نأخذ القيمة التى تقابل ١ ٢ ٥ و هى ٧٠.

العدد الأكثر إحتمالاً =(٧٠×١٠ ^{٢})÷١٠=٧ × ١٠ ^{٢} خلية لكل مل.

ثالثاً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المعقم

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- الفحص المرئى لإنتفاخ العبوات.

٢- عدد البكتيريا المتجرثمة.

٣- عد البكتيريا و الخلايا الجسمية.

أولاً:الفحص المرئى لإنتفاخ عبوات اللبن المعقم

إن انتفاخ العبوات يؤكد وجود ميكروبات بها ، لأن الميكروبات لها القدرة على تكوين الغاز ، و لكن عدم انتفاخها لا يعنى ذلك خلو العلب من الميكروبات ، حيث يمكن أن تنمو بالعلب ميكروبات ليس لديه القدرة على إنتاج غاز، لذلك فإن هذا الاختبار لا يمثل أهمية كبيرة.

ثانياً:عدد البكتيريا المتجرثمة فى اللبن المعقم

يتم إجراؤه كما تم فى اللبن المبستر و لكن الفرق هو فترة التحضين الإبتدائية و هى تتم هنا على ٣٠°م لمدة ٥ أيام ، يلى ذلك باقى خطوات العمل و المواصفات القياسية المصرية تنص أن لا يزيد عدد البكتيريا المتجرثمة عن ١٠ خلية لكل مل.

ثالثا:عد البكتيريا و الخلايا الجسمية فى اللبن المعقم

تستخدم طريقة فلتر الفلورسنت المباشر Direct Epifluorescent Filter Technique لعد البكتيريا و الخلايا الجسمية ، ومميزات هذه الطريقة:-

١- يمكن التمييز بين الخلايا البكتيرية الحية و الميتة ، حيث تظهر الخلايا الحية تحت الميكروسكوب الفلورسينى بلون أصفر فلورسينى ، أما الخلايا الميتة فتظهر بلون أخضر فلورسينى.

٢- لا تحتاج إلى وقت طويل ، حيث يمكن إجراءها فى ٢٥ دقيقة.

و وجد أن عدد البكتيريا بهذه الطريقة لو أكبر من $١٠^{٨}$ خلية لكل مل فإن مدة صلاحية اللبن تكون أقل من يوم واحد ، أما إذا كان عدد البكتيريا أقل من $١٠^{٤}$ خلية لكل مل فإن مدة صلاحية اللبن تكون أكثر من ١٠ أيام.

خطوات العمل:-

١- إجراء تحضين إبتدائى للبن المعقم على ٣٠°م لمدة ٥ أيام.

٢- بعد فترة التحضين الابتدائية يتم ترشيح حجم معلوم من اللبن المعقم خلال فلتر غشائى و ذلك بعد معاملة اللبن بإنزيم التربسن Trypsin للتخلص من البروتين و إضافة مادة مستحلبة لإستحلاب الدهن.

٣- إضافة صبغة فلورسينية و هى صبغة أكريدين برتقالى Acridine Orange إلى المرشح لصبغ البكتيريا الحجوزة على الغشاء.

٤- يتم الفحص بالميكروسكوب الفلورسينى و ذلك بعد إضافة Cover على سطح الغشاء.

٥- يتم تقدير العدد لكل مل من العينة.

رابعاً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المكثف المحلى و اللبن المكثف غير المحلى

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- عدد البكتيريا الكلى.

٢- عد بكتيريا القولون .

٣- عد البكتيريا المتجرثمة.

٤- عد الفطريات و الخمائر.

أولاً:عدد البكتيريا الكلى فى اللبن المكثف المحلى و اللبن المكثف غير المحلى

نفس الطريقة المتبعة فى اللبن المبستر عدا طريقة أخذ العينة.

طريقة أخذ العينة:

١- يتم رفع درجة حرارة اللبن المكثف المحلى عن طريق وضع علبة فى حمام مائى درجة حرارته ٤٥°م لمدة ربع ساعة حتى يسهل السحب بالماصة .

٢- يتم إزالة ورقة البيانات من على العلبة و غسلها بالماء و الصابون و تجفيفها.

٣- بعد ذلك يتم تعقيم السطح الخارجى بإستخدام قطن مبلل بفينول (٥%).

٤- يجرى تعقيم سطح العلبة بالتلهيب الكحولى ، ثم الفتح بواسطة فتاحة سبق تعقيمها بالتلهيب الكحولى.

٥- يسحب الـ ١ مل و تجرى التخفيفات كما سبق ذكره.

ثانيا:عد بكتيريا القولون فى اللبن المكثف المحلى و اللبن المكثف غير المحلى

يتم كما سبق ذكره

ثالثا:عد البكتيريا المتجرثمة فى اللبن المكثف المحلى و اللبن المكثف غير المحلى

يتم كما سبق ذكره

رابعاً:عد الفطريات و الخمائر فى اللبن المكثف المحلى

الأساس العلمى :- توفير بيئة غذائية ذات وسط حمض بإستخدام حمض الطرطريك أو حمض اللاكتيك (١٠ %) للخمائر والفطريات و هذه البيئة لا تناسب نمو البكتيريا ، مع ملاحظة أن عملية التحميض تتم بعد تعقيم البيئة وقبل صبها مباشرة فى الأطباق و ذلك لأن الحموضة و الحرارة تعمل على تحليل الأجار مما يؤدى عدم تتصلبه بعد ذلك.

خطوات العمل:-

١- يتم تحضير بيئة Potato Dextrose Agar بنقع ٢٠٠ جم من البطاطس لمدة ١٢ ساعة فى الثلاجة وذلك بعد تقشيرها و تقطيعها فى صورة مكعبات وغسلها .

٢- يجرى غلى البطاطس لمدة ٥ دقائق و يتم الترشيح ويؤخذ الراشح و يضاف إليه ٢٠ جم من الـ Dextrose و ١٥ جم Agar ، ويكمل الحجم إلى لتر ثم التعقيم بالأوتوكلاف لمدة ٢٠ دقيقة.

٣- يلاحظ إنه لابد من رج أو تقليب البيئة بعد خروجها من الأوتوكلاف مباشرة لتجنيس المكونات أو نقوم بإصهار الأجار فى نصف كمية الماء فى الأوتوكلاف ثم تضيف باقى مكونات البيئة ثم التعقيم.

٤- يتم عمل التخفيفات المناسبة من العينة بإستخدام محلول فسيولوجى كلوريد الصوديوم(٨٥,٠ %).

٥- يتم نقل ١ مل من كل تخفيف إلى طبق بترى سبق تعقيمه مع عمل مكررة لكل تخفيف.

٦- يضاف ١ مل من حمض اللاكتيك المعقم (١٠ %) أو ١,٤ مل حمض طرطريك معقم (١٠%) إلى لتر بيئة و خلطه جيدا قبل عملية الصب مباشرة.

٧- صب ١٠ مل من بيئة Potato Dextrose Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في إتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتى تتصلب.

٨- يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٢١٥°م / ٥ أيام.

٩- يجرى عد النموات السطحية كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

رابعا:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المجفف

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- عدد البكتيريا الكلى.

٢- عد بكتيريا القولون .

٣- عد البكتيريا المتجرثمة.

٤- عد الفطريات و الخمائر.

أولاً:عدد البكتيريا الكلى فى اللبن المجفف

نفس الطريقة المتبعة فى اللبن المبستر عدا طريقة أخذ العينة.

طريقة أخذ العينة: يتم وزن ١١ جم من اللبن المجفف و نقلها الى ٩٩ مل من المحلول الفسيولوجى المعقم ، حيث هذا التخفيف يمثل تخفيف ١٠ $^{-١}$ و إذا كانت العينة قليلة الذوبان يتم نقل ١١ جم أخر إلى ٩٩ مل محلول هيدروكسيد ليثيوم معقم تركيزه ١,٠ عيارى و تكمل باقى الخطوات.

ثانياً:عد بكتيريا القولون فى اللبن المجفف

نفس الطريقة المتبعة فى اللبن المبستر.

ثالثاً:عد البكتيريا المتجرثمة فى اللبن المجفف

نفس الطريقة المتبعة فى اللبن المبستر.

رابعاً:عد الفطريات و الخمائر فى اللبن المجفف

نفس الطريقة السابق ذكرها.

خامساً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للألبان المتخمرة

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- فحص مجهرى لأنواع البكتيريا الموجودة به.

٢- عد بكتيريا القولون .

٣- عد الـ *Lactobacillus* .

٤- عد الـ *Streptococcus* .

٥- عد الفطريات و الخمائر.

٦- تقدير الأستيل ميثيل كربينول.

أولاً:فحص مجهرى لأنواع البكتيريا الموجودة فى اللبن المتخمر

إن البكتيريا كائن حي دقيق شفاف عديم اللون و تحتوى على كمية كبيرة من الماء لذلك يتطلب فحصها ميكوسكوبياً أن تصبغ.

أنواع الصبغ:-

١- صبغات بسيطة Simple Stains

أ-صبغات قاعدية Basic Dyes: هذه الأصباغ تتفاعل مع المواد الحمضية فى الخلايا و يرجع لونها إلى الكاتيون مثل صبغة الفوكسين القاعدى و أزرق الميثيلين و الكريستال البنفسجي و السفرانين.

ب-صبغات حامضية Acidic Dyes: هذه الأصباغ تتفاعل مع المواد القاعدية فى الخلايا و يرجع لونها إلى الأنيون مثل الفوكسين الحامضى و النيجروسين Nigrosin .

٢- صبغات فحص تركيب الخلية Structural Stains : وهذه تنقسم إلى:

أ-صبغة فولجين **Fuelgen Stain :** تستخدم لصبغ المادة النووية.

ب-صبغة الجراثيم الداخلية **Endospore Stain**

جـ-صبغة جدار الخلية **Cell- Wall Stain**

د-صبغة الكابسول **Capsule Stain**

هـ-صبغة الأسواط **Flagella Stain**

٣- صبغات مركبة (تفريقية) Differential Stains

تستخدم هذه الصبغات بغرض التفريق بين البكتيريا و بالتالى يمكن تقسيم البكتيريا إلى مجاميع مختلفة و في هذه الصبغات يستخدم أكثر من صبغة واحدة .

أ-الصبغة المقاومة للأحماض Acid Fast Stain : وجد أن بعض الأنواع من اليكتيريا تحتوى على دهون تمنع أو تؤخر من دخول الصبغة مثل حمض الميكوليك Mycolic acid المتواجد فى بكتيريا السل *Mycobacterium tuberculosis* و لكن إذا تم تعريض هذه البكتيريا إلى الحرارة لمدة معينة (٣ -٥ دقائق) فإن ذلك يعمل على دخول الصبغة إلى الخلايا و يصبح من الصعب إزالة هذه الصبغة بالكحول المحمض بـ HCl .

ب-صبغة جرام Gram Stain : أطلق عليها هذا الاسم لأن أول من استخدمها هو Christian Gram و الأساس العلمى فيها أن مجموعة البكتيريا الموجبة لها تحتوى فى جدارها على ملح الماغنيسيوم لحمض الريبونيوكليك Ribonucleic acid الذى يكون معقداً مع صبغة الكريستال البنفسيجى و اليود (معمق اللون) وهذا المعقد يصعب إزالته بالكحول فتظهر البكتيريا باللون البنفسجى ، أما مجموعة البكتيريا السالبة لهذه الصبغة فهى لا تحتوى على المركب فى جدارها و بالتالى فإن الصبغة تزال من الخلايا و عند إضافة السفرانين (الصبغة

العكسية) فإنها تصبغ بها و تظهر باللون الأحمر و تكون سالبة لهذه الصبغة.

خطوات العمل:-

١- يتم تمرير شريحة نظيفة على اللهب للتخلص من الآثار الدهنية و بردها ثم تفرد عليها قطرة ماء بإستخدام الإبرة ذات العقدة .

٢- يلمس اللبن المتخمر بواسطة إبرة التلقيح و تنقل إلى نقطة الماء المفرودة على الشريحة و ينشر المعلق الذى يحتوى على البكتيريا لتكون غشاء رقيق.

٣- يترك الغشاء فى الهواء ليجف و بعد ذلك ثبته بإمراره على اللهب .

٤- بعد تبريد الشريحة ، يتم غمره في محلول صبغة الكريستال البنفسجي لمدة دقيقة ثم يغسل بماء الصنبور.

٥- يتم غمرها في محلول اليود لمدة دقيقة ثم غسيلها بماء الصنبور وتترك لتجف.

٦- يغسل الغشاء بكحول الايثيل(٩٥ %) بإضافة نقطة علي الشريحة وإمالتها لتساقط الكحول بعد إمراره على الغشاء حتي يصبح الكحول المتساقط من الشريحة عديم اللون ثم يغسل بالماء ويترك ليجف.

٧- يصبغ بالصبغة العكسية لمدة ½ دقيقة ثم يغسل بالماء ثم يترك ليجف بواسطة الهواء ثم يفحص بالعدسة الزيتية بعد وضع نقطة من زيت السيدر علي الغشاء وتظهر بلون بنفسجي في حالة البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وبلون أحمر في حالة البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

ثانياً:عد بكتيريا القولون فى اللبن المتخمر

نفس الطريقة السابق ذكرها.

ثالثاً:عد الـ *Lactobacillus* فى اليوغورت

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة MRS [مكوناتها: Lab-Lemco ' Powder (٨ جم) و Yeast Extract (٤ جم) و Dextrose (٢٠ جم) و Tween ٨٠ (1مل) و Dipotassium hydrogen phosphate(٢ جم) و Sodium acetate 3 H_2O (٥ جم) و Triammonium certate (2 جم) و Magnesium Sulfate 7 H_2O (٠,٢ جم) و Manganese Sulfate 4 H_2O(٠,٠٥ جم) و Agar (١٥جم) و الـ pH ٦,٢] عن طريق إتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية.

٢. عمل تخفيفات من اللبن اليوغورت بواسطة أخذ ١مل بعد رج العينة ٢٥ مرة تقريبا و نقله إلى ٩ مل محلول فسيولوجى(٠,٨٥ %) ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالي حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (١٠-٦ و ١٠-٧).

٣. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.

٤. صب ١٠ مل من بيئة MRS في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسيًا ثم أفقياً وتركها حتى تتصلب.

٥. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٤٥°م لمدة ٤٨ ساعة .

٦. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

رابعاً:عد الـ *Streptococcus* في اليوغورت

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة M_{17} [تركيبها) Pancreatic Digest of Casein (٥ جم) و Beef Extract (٥ جم) و Soy Peptone (٥ جم) و Yeast Extract (٢,٥ جم) و Ascorbic acid (٠,٥ جم) و Magnesium Sulfate (٠,٢٥ جم) و β- Disodium glycerophosphate (١٩جم) و Agar (١٥جم) و الـ pH ٦,٩] عن طريق إتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية.

٧. عمل تخفيفات من اللبن اليوغورت بواسطة أخذ ١مل بعد رج العينة ٢٥ مرة تقريبا و نقله الى ٩ مل محلول فسيولوجى(٠,٨٥ %) ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالي حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (10^{-6} و 10^{-7}).

٨. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.

٩. صب ١٠ مل من بيئة M_{17} في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

١٠. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٤٥°م لمدة ٤٨ ساعة .

١١. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

خامساً:عد الفطريات و الخمائر فى اللبن المتخمر

نفس الطريقة السابق ذكرها.

سادساً:تقدير الأستيل ميثيل كربينول فى اللبن المتخمر

خطوات العمل:-

١- يتم أخذ ٠,٥ مل من الزبادى أو أى لبن متخمر و يضاف إلية ٠,٥ مل كرياتين و ٠,٥ مل الفانفثول و ١ مل محلول هيدروكسيد صوديوم(٤%).

٢- يتم قياس اللون الوردى على طول موجة ٥٣٠ نانومتر.

٣- من خلال عمل Standard curve يمكن معرفة تركيز الأستيل ميثيل كربينول فى اللبن المتخمر.

سادساً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للجبن

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- فحص مجهرى لأنواع البكتيريا الموجودة بها.

٢- عد البكتيريا الكلى للبكتيريا .

٣- عد بكتيريا القولون .

٤- عد الفطريات و الخمائر.

اولاً:فحص مجهرى لأنواع البكتيريا الموجودة بالجبن

نفس الطريقة السابق ذكرها.

ثانياً:عد البكتيريا الكلى فى الجبن

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Plate Count Agar (P.C.A) عن طريق إتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية [مكوناتها: Tryptone (٥ جم) و Yeast Extract (٢,٥) و Dextrose (١ جم) و Agar (١٢ جم) و الـ pH ٧].

٢. أخذ ١جم على ورق زبد معقم بواسطة سكين سبق تعقيمه بالتلهيب الكحولى من داخل عينة الجبن و ذلك بعد التخلص من الأجزاء الخارجية للعينة و وضعه فى هاون صينى سبق تعقيمه بالتلهيب الكحولى و تبريده.

٣. عمل تخفيفات من الجبن باضافة ٩ مل محلول سترات صوديوم معقم (٢ %) و خلطها جيدًا حتى تصبح مستحلبًا ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (10^{-6} و 10^{-7}).

٤. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.

٥. صب ١٠ مل من بيئة Plate Count Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة فى الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

٦. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٣٧°م / ٤٨ ± ٣ ساعة.

٧. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

ثالثا:عد بكتيريا القولون فى الجبن

نفس الطريقة السابق ذكرها.

رابعاً:عد الفطريات و الخمائر فى الجبن

نفس الطريقة السابق ذكرها.

سابعاً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية القشدة و الزبد

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- عد البكتيريا الكلى للبكتيريا .

٢- عد بكتيريا *Staphylococcus aureus* .

٣- عد بكتيريا القولون .

٤- عد الفطريات و الخمائر.

٥- عد البكتريا المحللة للبروتين.

٦- عد البكتريا المحللة للدهون.

أولاً:عد بكتيريا *Staphylococcus aureus* فى الزبد و القشدة

الأساس العلمى: إستخدام بيئات تحتوى على تركيز عالى من ملح كلوريد الصوديوم(٧,٥%) لأن لها القدرة على تحمل هذا التركيز من الملح بينما هذا التركيز يثبيط نمو البكتيريا الممرضة الأخرى ، كما أن البيئة تحتوى على مانيتول تستطيع البكتيريا أن تخميره إلى حمض الذى يتفاعل مع أحمر الفينول لذلك تظهر المستعمرة بلون أصفر.

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Mannitol Salt Agar [مكوناتها: Beef Extract (1جم) و Proteose Peptone (١٠ جم) Sodium chloride (٧٥ جم) و D -Mannitol (١٠ جم) و Phenol Red (٠,٠٢٥ جم) و Agar (١٥جم) و الـ pH ٧,٤] عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية.

١. يتم نقل ٢٠ جَم من عينة الزبد أو القشدة المراد تحليلها إلى كأس سبق تعقيمه و وضعه فى حمام مائى درجة حرارته ٤٠ °م لمدة ربع ساعة و ذلك لإسالتها .

٢. يتم أخذ ١٠ جم من العينة المسالة إلى دورق به ٩٠ مل من محلول فسيولوجى معقم و يتم عمل تخفيفات من العينه بأخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب ($١٠^{-٦}$ و $١٠^{-٧}$).

٢. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.

٣. صب ١٠ مل من بيئة Mannitol Salt Agar فى الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة في الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

٤. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على درجة حرارة ٣٧°م لمدة ٤٨ ساعة .

٥. يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

اختبار الـ Coagulase

يجرى للتأكد من البكتيريا النامية هى *Staphylococcus aureus* و الأساس العلمى يعتمد على أن هذة البكتيريا لها القدرة على إفراز إنزيم DNase و الذى يحلل بدوره مركب الـ DNA الداخل فى مكونات البيئة مكون منطقة رائقة حول المستعمرات النامية.

خطوات العمل:-

١-ينقل تلقيح من إحدى المستعمرات النامية على بيئة Mannitol Salt Agar إلى ١٠ مل من بيئة Nutrient Broth مع إجراء الرج الجيد.

٢-يتم نقل ١ مل من البيئة السائلة إلى أحد اطباق بترى و يصب ١٠ مل بيئة DNase Agar [مكوناتها: Tryptone (٢٠ جم) و Deoxyribonucleic (٢ جم) و Sodium Chloride(٥ جم) و Agar (١٢ جم) و الـ pH ٧,٣

٣-يجرى الرج الرحوى و بعد تصلب البيئة تحضن على ٣٧°م / ٢٤ ± ٣ ساعة.

٤-تكون مستعمرات محاطة بمنطقة شفافة يعطى إختبار موجب.

ثانياً:عد البكتيريا الكلى للبكتيريا فى الزبد و القشدة

نفس الطريقة السابق ذكرها.

ثالثاً:عد بكتيريا القولون فى الزبد و القشدة

نفس الطريقة السابق ذكرها.

رابعاً:عد الفطريات و الخمائر فى الزبد و القشدة

نفس الطريقة السابق ذكرها.

خامساً:عد البكتريا المحللة للدهن فى الزبد والقشدة

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Spirit Blue Agar عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئـــات الميكروبيولوجيـــة [مكوناتهـــا: caseinn enzyme

hydrolyzed(١٠ جـم) و Yeast Extract (5 جـم) و spiritblue (٠,١٥ جم) و Agar (١٥ جم) و الـ pH ٦,٨] و تعقيمها على ١٢١ لمدة ربع ساعة و بعد تبريدها الى ٥٠ °م يتم إضافة جوهر الليبيز Lipase Reagent بنسبة ٣% و يخلط جيدا.

٢. صب ١٠ مل من البيئة في كل طبق ويترك ليتصلب.
٣. يتم فرد ١,٠ مل من التخفيف المناسب للعينة المراد تحليلها.
٤. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على ٣٢°م / ٤٨ ± ٣ ساعة.
٥. يجرى عد المستعمرات في الأطباق التى حولها هالة رائقة حيث أن الأطباق الكنترول يكون لونها أزرق ، بينما البكتيريا المحللة للدهن يكون حولها هالة رائقة يتم عدها.

سادساً:عد البكتريا المحللة للبروتين فى الزبد والقشدة

خطوات العمل:-

١. يتم تجهيز بيئة Plate Count Agar (P.C.A) عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية [مكوناتها: Tryptone (٥ جم) و Yeast Extract (٢,٥) و Dextrose (١ جم) و Agar (١٢ جم) و الـ pH ٧].
٢. عمل تخفيفات من اللبن الخام بواسطة أخذ ١مل بعد رج عينة اللبن ٢٥ مرة تقريبا و نقله الى ٩ مل محلول فسيولوجى(٠,٨٥ %) ثم يتم أخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب (10^{-6} و 10^{-7}).
٣. يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.

٤. يضاف ١٠٠ مل لبن فرز معقم (١٠ % جوامد كلية) مع لتر من البيئة المعقمة المسالة الساخنة (٥٠ °م) قبل الصب مباشرة، ثم صب ١٠ مل من بيئة Plate Count Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة فى الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

٥. يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على ٣٢°م / ٤٨ ± ٣ ساعة.

٦. بعد يومين من تحضين الأطباق يتم غمرها فى حمض هيدروكلوريك (١%) أو حمض خليك (١٠%) لمدة دقيقة ، و نتخلص من الكمية الزيادة من الحمض ونعد المناطق الرائقة الناتجة عن تحلل البروتين بواسطة البكتيريا المحللة للبروتين.

ثامناً:مراقبة الجودة الميكروبيولوجية المثلوجات اللبنية

لتحديد جودته الميكروبيولوجية لابد من تقدير:

١- عد البكتيريا الكلى للبكتيريا .

٢- عد بكتيريا *Staphylococcus aureus* .

٣- عد بكتيريا القولون .

٤- عد الفطريات و الخمائر.

أولاً:عد بكتيريا *Staphylococcus aureus* فى المثلوجات اللبنية

نفس الطريقة السابق ذكرها.

ثانياً:عد البكتيريا الكلى للبكتيريا فى المثلوجات اللبنية

خطوات العمل:-

١- يتم تجهيز بيئة Plate Count Agar (P.C.A) عن طريق اتباع تعليمات تحضير البيئات الميكروبيولوجية [مكوناتها: Tryptone (٥ جم) و Yeast Extract (٢.٥) و Dextrose (١ جم) و Agar (١٢ جم) و الـ pH ٧].

٢- يتم نقل ٢٠ جم من العينة المراد تحليلها إلى كأس سبق تعقيمة و وضعه فى حمام مائى درجة حرارته ٤٠ °م لمدة ربع ساعة و ذلك لإسالتها.

٣- يتم أخذ ١٠ جم من العينة المسالة الى دورق به ٩٠ مل من محلول فسيولوجى معقم و يتم عمل تخفيفات من العينه بأخذ ١مل من التخفيف السابق إلى التخفيف التالى حتى الوصول إلى تخفيف مناسب ($١٠^{-٦}$ و $١٠^{-٧}$).

٤- يتم نقل ١مل من كل تخفيف إلى طبق بترى معقم وعمل مكرر آخر له.

٥- صب ١٠ مل من بيئة Plate Count Agar في الأطباق بعد تبريدها ، ثم يتم توزيع البيئة فى الطبق عن طريق تحريك الأطباق دائرياً في اتجاه عقارب الساعة ثم في عكس اتجاه عقارب الساعة ثم رأسياً ثم أفقياً و تركها حتي تتصلب.

٦- يجرى تحضين الأطباق مقلوبة في الحضان على ٣٧°م / ٤٨ ± ٣ ساعة.

٧- يجرى عد المستعمرات في الأطباق كما تم شرحه فى طريقة العد القياسى بالأطباق ثم يضرب الناتج في مقلوب التخفيف المستخدم.

ثالثاً:عد بكتيريا القولون فى المثلوجات اللبنية

نفس الطريقة السابق ذكرها.

رابعاً:عد الفطريات و الخمائر فى المثلوجات اللبنية

نفس الطريقة السابق ذكرها.

الامتحان البعدى:-

اختر إجابة واحدة

١-تعقم محاليل السكريات الأحادية فى

A. فرن التعقيم

B. الأوتوكلاف

C. A و B معًا

٢-بيئة الـ MRS

A. بيئة انتخابية

B. بيئة مقواة

C. بيئة تفريقية

٣-من أشهر البيئات الانتخابية

A. بيئة VRBA

B. بيئة M_{17}

C. بيئة PCA

٤-يعمل كمصدر للأملاح المعدنية و الفيتامينات

A. مستخلص الخميرة

B. مستخلص اللحم

C. الببتون

٥-يتم تعقيم الماصات على ١٦٠ °م لمدة

A. ٣ ساعات

B. ساعتين

C. ٤ ساعات

٦-تصلح طريقة العد باستعمال المرشحات الغذائية

A. الأغذية الصلبة

B. الأغذية السائلة

C. A و B معًا

٧-اللبن الخام لابد أن يجتاز إختبار أزرق الميثيلين فى زمن قدره

A. أقل من ٢.٥ ساعة

B. أقل من ٤.٣٠ ساعة

C. أقل من ٥.٥ ساعة

٨-لعد البكتيريا المتجرثمة لابد من معاملة محلول التخفيف على

A. ٩٥ °م لمدة ٥ دقائق

B. ٨٠ °م لمدة ١٥ دقائق

C. ٧٥ °م لمدة ٥ دقائق

٩-لعد البكتيريا المحبة للبرودة يجرى التحضين على

A. ٧ °م لمدة ٥ أيام

B. ٧ °م لمدة ١٠ أيام

C. ١٥ °م لمدة ٥ أيام

١٠-من مميزات طريقة العد المجهرى المباشر

A. السرعه

B. تقدير عدد الخلايا الحيه فقط

C. A و B معًا

Selected Refrences مراجع مختارة

أ-المراجع الأجنبية

Abou-Donia, S.A;(2004). Recent developments in Zabady and Egyptian Labneh research: a review. Egyptian Journal of Dairy Science,32:1-15.

Abou-Donia S A (2008) Origin, history and manufacturing process of Egyptian dairy products: an overview. Alexandria Journal of Food Science and Technology 5 51–62.

Abou-Donia S. A. (2009). Research on lactic acid bacteria in Egypt. Egyptian Journal of Dairy Science, 37:1-14.

Abou-Donia, S. A.; Sirry, I.; Abd-El-Rahaman, S. M.(1975). Chemical and microbiological studies on kareish cheese. Alexandria Journal of Agricultural Research,23 (2) : 243 – 247.

Ahmadova A, Todorov S. D; Hadji-Sfaxi I; Choiset y; Rabesona H; Messaoudi S; Kuliyev A; Gombossy de Melo Franco B.D; Chobert J. M. and Haertlé T.(2013). Antimicrobial and antifungal activities of Lactobacillus curvatus strain isolated from homemade Azerbaijani cheese. Molecular Biology, Genetics and Biotechnology(IN PRESS).

American Public Health Association (APHA).(1978).Standards Methods for the Examination of Dairy Products . 14th ed. Mart. E.H.(ed). American Public Health Association.Washington , D.C.

Applepaum, R.S., Brackelt, R.E., Wiseman, DW. And Marth, E.H. (1982). Aflatoxin: Toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk products. A review. J. Food Prot. 45 : 752 – 777.

Axelsson, L., (1998). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen, S., von Wright, A. (Eds.), Lactic Acid

Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. Marcel Dekker, New York,pp. 1–72.

Barnett, J.A., Payne, R.W. and Yarrow, D. (1990) *Yeasts: Characteristics and Identification*. 2nd edn. Cambridge, Cambridge University Press.

Beena, A. K. (2000).Health benefits of fermented milks. In: ICAR. Winter School on Recent Developments in Fermentation of Milk;2000 Nov 6-29; Kerela, India. Thrissur. Kerela Agricultural University.pp.88-95.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984). Holt J. G. and N. R. Krieg. Vol. 1.Published by Wlliams & Wilkins, Baltimore, MD 21202, U.S.A.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1986). Holt J. G.Sneath P. H. A; Mair N. A. and Sharpe M. Elisabth. Vol. 2.Published by Wlliams & Wilkins, Baltimore, MD 21202, U.S.A.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2001). Garrity G M; Boone D. R. and Castenholz R. W. Vol. 1. "The Archaea and Deeply Branching and Phototrophic Bacteria" 2 nd ed; Published by Wlliams & Wilkins, Baltimore, MD 21202, U.S.A.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005). Garrity G M; Boone D. R. and Brenner D. J; Krieg N. R. and Staley J. T. Vol. 2. "The Proteobacteria" 2 nd ed; Published by Wlliams & Wilkins, Baltimore, MD 21202, U.S.A.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2009).Vos P; Garrity G M; Jones D; Krieg N. R; Ludwig W; Rainey F. A; Schleifer K. K. and Whitman W.B. Vol. 3. "The Firmicutes" 2 nd ed; Published by Wlliams & Wilkins, Baltimore, MD 21202, U.S.A.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2010). Krieg N. R ; Ludwig W; Whitman W.B; Hedlund B. P; Paster B. J. Staley J. T; Ward N; Brown D; Parte A. Vol. 4. "The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes(Mollicutes),Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes" 2 nd ed; Published by Wlliams & Wilkins, Baltimore, MD 21202, U.S.A.

Borriello, S.P., Hammes, W.P., Holzapfel, W., Marteau, P., Schrezenmeir, J., Vaara, M. & Valtonen, V. (2003). Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. Clin. Infect Dis. 36:775-780.

Cumming, J., Macfarlane, G. & Englyst, H.(2001).Prebiotic digestion and fermentation. Am. J. Clin Nutr., 73, 415S-420S.

De Buyser, M. L., Dilasser, F., Hummel, R., & Bergdoll, M. S. (1987).Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production by staphylococci isolated fromgoats' milk. International Journal of Food Microbiology, 5, 301–309.

De Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. Journal of Applied Bacteriology, 23, 130–135.

De Vuyst, L., & Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, purification, and food applications. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 13, 194–199.

Difco's Manual. (1984). Manual of Dehydrated Culture and Reagents for Microbiology. Detroit, Michigan, USA.

El-Gendy, Sh. M., (2001). Some traditional fermented dairy products in Egypt. Proceedings of the Eighth Egyptian conference for Dairy Science and Technology, Cairo, Egypt, November 3–5, Egypt.J. Dairy Sci. 465–479.

Forde, A., Fitzgerald, G.F., (1999). Bacteriophage defence systems in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 76, 89–113.

Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E., (1999). Enterococci at the crossroads of food safety. A Review. Int. J. Food Microbiol.47, 1–24.

Frazier, W.C. and Westhhoff, D.C. (1995). Food Microbiology. McGraw-Hill Book Company.

Gardinar G. E; Bouchier P; O'Sullivan E; Kelly J; Collins J. K; Fitzgerald, G; Ross R. P. and Stanton C(2002). A spray dried culture for probiotic chedder cheese manufacture.Int.Dairy J.12:749-756.

Gasser, F. (1994). Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. Bull Inst Pasteur 92: 45-67.

Harrigan WF. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. p. 89-91. Academic Press, San Diego, CA.

Haasum, I. and Nilesen, P.V., (1998). Physiological characterization of common fungi associated with cheese. J. Food Science, Vol.63(1), pp.157-161.

Heidebach, T., Först, P. and Kulozik, U. (2009) Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 23, 1670-1677.

Jakobsen M, Narvhus J. (1996). Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. International Dairy Journal 6: 755-768.

Kailasapathy, K.(2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt.LWT-Food Science and Technology, 39(10):1221-1227.

Kailasapathy, K. and J. Chin, (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Immunol. Cell Biol., 78: 80-88

Kailasapathy, K., & Rybka, S. (1997). Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp. – their therapeutic potential and survival in yogurt. Australian Journal of Dairy Technology, 52, 28–35.

Kaminarides E, Laskos NS. (1992). Yeasts in factory brine of feta cheese. Aust J Dairy Technol 47:68–71.

Khalafalla, S.M.; Fayed, E.O.; Ali, A.A. and El – Samragy, Y.A. (1988). Composition and microbiological properties of *Laban Rayeb* produced in lower Egypt. Ecology of Food Nutrition, 2:297.

Kim, E. R. Lee, K.W. Park, Y.H. and Kwah, H. S.(1993). The survival of lactic acid bacteria in yogurt during delivery and storage. Korean Journal of Dairy Science, 14 : 260.

Kramer, A. and Twigg, B.A. (1962). Fundamentals of Quality Control for the Food Industry .Pp.512. The AVI publishing. Co, Inc, West port, Cnnecticut, USA.

Krieg, N.R; and Holt, J. G.(1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. VOL 1. Baltimore, Md; Wlliams & Wilkins, Co. London.

Kurmann JA, Rasic JL, Kroger M. (1992). Encyclopaedia of fermented fresh milk products, an international inventory of fermented milk, cream, buttermilk, whey, and related products. New York: Van Nostrand Reinhold.

Limsowtin, G.K.Y., Powell, I.B., Parente, E., (1996). Types of starters. In: Cogan, T.M., Accolas, J.-P. (Eds.), Dairy Starter Cultures.VCH Publishers, Inc., New York, pp. 101–129.

Marshal R T (1992) Standard Methods for the Examination of Dairy Product, 16th edn. Washington, DC: American Public Health Association.

Mayo, B., Hardisson, C., Brana, A., (1990). Characterization of wild strains of Lactococcus lactis subsp. lactis isolated from Cabrales cheese. J. Dairy Res. 57, 125–134.

Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D. and Roussis, V.(2009). Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. J. Ethnopharmacol. 123 : 143.

Parente, E., & Mazzatura, A. (1991). Growth and heat resistance of Staphylococcus aureus in goat milk. Italian Journal of Food Science,1, 27–37.

Prescoll, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., (1996). Capsules and slime layers—The study of Microbioal structure: Microscopy and specimen preparation. In: Microbiology. wmc Brown Publishers, Inc., United States of America, pp. 58–59.

Rybka, S., and Kailasapathy, K. (1996). Media for enumeration of yoghurt bacteria. Int. Dairy J, 6: 839.

Saad, N.M. and Hemaida, S.K., (1995). Isolation and identification of molds present as contaminants in roquefort cheese. Assiut Vet. Med. J., Vol.33(65), pp.116-122.

Salwa A Aly, Morgan SD, Moawad AA, Metwally B (2008). Effect of moisture, salt content and pH on the microbiological quality of traditional Egyptian Domiati cheese._ Assiut Vet. Med. J., (2007) 53(115): 68-81.

Seifu, E., Buys, E. M., & Donkin, E. F. (2003). Effect of the lactoperoxidase systemon the activity of mesophilic cheese starter cultures in goat milk.

Selim, M.I., Popendorf, W., Ibrahim, M.S., El-Sharkawy, S., El-Kashory, E.S., (1996). Aflatoxin B1 in common Egyptian foods. J. AOAC Int. 79,1124–1129.

Shimada, T. and Ichinoe, M., (1998). Fungal species from imported and domestic moldripened cheese. J. Food Hygienic Society of Japan; Vol.39(6), pp.350-356.

Theunissen J, Britz TJ, Torriani S, Witthuhn RC. (2005). Identification of probiotic microorganisms in South African Products using PCR-based DGGE analysis. *International Journal of Food Microbiology* 98: 11-21.

Varman, A.H. and Evan, M.G., (1991). In Food Borne Pathogenes (an illustrated text) Wolfe publishing LTD, England.

Verazza, C.L. Rabiu, B.A. & Gibson, G.R.(2006). Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: Introduction to prebiotic. In G.R.Gibson& R..A. Rastall(Eds.) *Prebiotic: Development & application*(pp.1-12). England: John Wiley& Sons Ltd.

Weisburger, J. H. (2002). Lifestyle, health and disease prevention the underlying mechanisms. European–J. of Cancer–prevention. 11(supplement 2) S1 -7

Wild, C.P., Turner, P.C., (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. Mutagenesis 17, 471–481.

Wood, J.B. (1992). The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. London: Elsevier Applied Science. International Dairy Journal, 13, 953–959.

Yeung, P. S. M., Sanders, M. E., Kitts, C. L., Cano, R., & Tong, P. S. (2002). Species-specific identification of commercial probiotic strains.Journal of Dairy Science, 85, 1039–1051.

ب-المراجع العربية

إبراهيم سعد المهيزع، حمزة محمد أبو طربوش، حمد عبد الرحمن الكنهل، إبراهيم حسين أبو لحية، محمد مجدى البحيرى.١٩٩٧.ميكروبيولوجيا الحليب و منتجاته.الجزء الثانى.ميكروبيولوجيا منتجات الحليب.جامعة الملك سعود.الرياض.المملكة العربية السعودية.

إبراهيم عبد الله زيدان.٢٠٠٤ . المواصفات القياسية لمنتجات الألبان الغذائية بين الواقع و المأمول. مكتبة بستان المعرفة. الاسكندرية.

أعضاء هيئة تدريس قسم علوم و تكنولوجيا الألبان .الدورة التخصصية فى مجال تكنولوجيا و تحليل الاغذية بالتعاون مع منظمة الصحة العالمية للامم المتحدة WHO(الجزء الثانى) ١٩٩٢ . كلية الزراعة. جامعة الاسكندرية. الاسكندرية.

أعضاء هيئة تدريس قسم علوم و تكنولوجيا الألبان .٢٠٠٠ م. أساسيات تكنولوجيا الألبان. كلية الزراعة. جامعة الاسكندرية.

جمال الدين عبد الوهاب ، جودت سامى الشيخلى.١٩٨١ .الإختبارات الروتينية للألبان.عمادة شؤون المكتبات.جامعة الرياض.المملكة العربية السعودية.

سعد الدين الراكشى. ١٩٦٧. ميكروبات اللبن و منتجاته. الأساسيات. كلية الزراعة. جامعة الاسكندرية.الاسكندرية.

طارق مراد النمر ، سامح على عوض. ٢٠٠٥ . منتجات الألبان الداعمة للحيوية. مكتبة بستان المعرفة.الاسكندرية.

عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك.
١٩٩٦.الميكروبيولوجيا التطبيقية. المكتبة الاكاديمية. القاهرة.
عبدة السيد شحاتة. ١٩٩٧. تكنولوجيا الجبن. الأسس العلمية. المكتبة الأكاديمية. القاهرة.
عبدة السيد شحاتة ، محمد نبيل المجدوب. ٢٠٠٥. ميكروبيولوجيا الجبن و الألبان المتخمرة. المكتبة الاكاديمية. القاهرة.
عبدة السيد شحاتة ، محمد نبيل المجدوب. ٢٠٠٥. مراقبة الجودة الميكروبيولوجية فى مزارع و مصانع الألبان.مكتبة النهضة المصرية.مطبعة الإسراء. القاهرة.
عبدة السيد شحاتة ، محمد نبيل المجدوب. ٢٠١٢. ميكروبيولوجيا اللبن و منتجاته.كلية الزراعة.جامعة عين شمس.القاهرة.
عادل محمود حماد .٢٠٠٧. الفيروسات البكتيرية.منشأة المعارف.الأسكندرية. محطة الرمل.الأسكندرية.
محمد الحسينى عبد السلام. ٢٠٠٥. الألبان المتخمرة.الهيئة المصرية العامة للكتاب. القاهرة.
عماد الدين جمال جمعة. ٢٠٠٧ .الطرق المعملية الميكروبيولوجية للكشف عن الميكروبات فى الأغذية " السالمونيلا و الشيجيلا" و المواصفات المصرية و العالمية الميكروبيولوجية. دار الوفاء لدنيا الطباعة و النشر. الاسكندرية.
عمرو عبد الرحمن البنا. الأحياء الدقيقة و فساد الأغذية.2000 . مكتبة المعارف الحديثة. الاسكندرية.
محمد محمد محمد هاشم.٢٠٠٠ .الأمراض التى تنتقل من الحيوان و منتجاته إلى الإنسان و طرق الوقاية منها.دار المعارف.القاهرة.جمهورية مصر العربية.
مصطفى عاشور.٢٠٠٥.البكتيريا الملوثة للألبان و علاقتها بصحة الإنسان.منشأة المعارف.محطة الرمل.الأسكندرية.
مصطفى كمال أبو الدهب ، محمد عبد القادر الجعرانى ، عبد الحميد محمد طرابية ، حسين محمد الكشير ، عالية عبد الباقى شعيب ، سيد أحمد ابراهيم القزاز. ١٩٩٩. محاضرات فى علم البكتيرات. كلية الزراعة. جامعة الاسكندرية.الاسكندرية.
وجدى مشهور، عبد القادر حازم، محمد الحداد ، راوية جمال ، عبد الوهاب عبد الحافظ.٢٠٠٠ . أساسيات الميكروبيولوجى .كلية الزراعة.جامعة عين شمس.القاهرة.

جـ-المواقع الإلكترونية

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=RLJ_wDr5TTdNvM:&imgrefurl=http://water.me.vccs.edu/courses/env108/lesson5b.htm&docid=_AiaYGpE5KLpjM&imgurl=http://water.me.vccs.edu/courses/env108/changes/growthcurve.gif&w=400&h=400&ei=JxNZUrbQGo6T0QXEjYCoDA&zoom=1&iact=rc&page=2&tbnh=141&tbnw=145&start=9&ndsp=8&ved=1t:429,r:11,s:0,i:112&tx=404&ty=129

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=S9tpESVUky1M:&imgrefurl=http://uqu.edu.sa/page/ar/40024&docid=7fYTEmM9DEOQmM&imgurl=http://uqu.edu.sa/files2/tiny_mce/plugins/filemanager/files/4281680/shape/bacteria1.jpg&w=487&h=515&ei=c9BbUrqoAa_I0AWC44CACg&zoom=1&iact=hc&vpx=442&vpy=9&dur=39391&hovh=231&hovw=218&tx=142&ty=217&page=1&tbnh=153&tbnw=149&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:0,s:0,i:80

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=wdid29aGE3CY9M:&imgrefurl=https://picasaweb.google.com/lh/photo/sB8tcHY94t6YFOdML_lUw&docid=UJaL9mz9bjvYpM&imgurl=https://lh5.googleusercontent.com/I92g6PmB28U/TDvP3KmVvOI/AAAAAAAAAaY/NA2D7jQOjQ4/enterotube1.jpg&w=480&h=480&ei=BRVZUpLvCMa90QXYuYDwBw&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=97&tbnw=87&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:4,s:0,i:91&tx=26&ty=73

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=1J7RXgaqKwEpaM:&imgrefurl=http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/EnterotubeII.htm&docid=HhXpolseKKeFDM&imgurl=http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/imag/procedimiento/Inocular.jpg&w=320&h=239&ei=BRVZUpLvCMa90QXYuYDwBw&zoom=1&iact=rc&page=2&tbnh=162&tbnw=215&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:14,s:0,i:121&tx=291&ty=136

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=32RTl1r1SsHcM:&imgrefurl=http://chsweb.lr.k12.nj.us/psidelsky/enterotube_demonstration.htm&docid=dJcOAfuDDAqMHM&imgurl=http://chsweb.lr.k12.nj.us/psidelsky/ENTREACTCONT.gif&w=597&h=384&ei=BRVZUpLvCMa90QXYuYDwBw&zoom=1&iact=rc&page=2&tbnh=123&tbnw=191&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:10,s:0,i:109&tx=354&ty=85

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=5ymyNB_RYZ4qUM:&imgrefurl=http://www.vitanatural.pl/paciorkowiecropnyanginapaciorkowcowap%25C5%2582onicaszkarlatyna&docid=VF281bxjqyTzM&imgurl=http://www.vitanatural.pl/files/upload/images/foto/thumb/950fb8bfd9ef455198a2d61c04565f85.jpeg%253F1&w=203&h=172&ei=s2RaUqaaFqHC0QWxwoCYDw&zoom=1&iact=hc&vpx=299&vpy=2&dur=78&hovh=137&hovw=162&tx=39&ty=70&page=2&tbnh=137&tbnw=162&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:9,s:0,i:111

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=0jENf6MeCGZ1NM:&imgrefurl=http://www.jlindquist.net/generalmicro/102bactid2.html&docid=aikAPsG5GaazCM&imgurl=http://www.jlindquist.net/generalmicro/GBimages/API2.jpg&w=500&h=363&ei=gBZZUpzXOKmc0AXh3oCABA&zoom=1&iact=hc&vpx=308&vpy=33&dur=1094&hovh=191&hovw=264&tx=109&ty=166&page=1&tbnh=138&tbnw=191&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:1,s:0,i:82

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://vaccinenewsdaily.com/wpcontent/uploads/201[illegible]i/Clostridiumdifficile.jpg&imgrefurl=http://vaccinenewsdaily.com/medical_countermeasures/327712[illegible]/transplantpillmaystoprecurrentcdifficileinfection/&usg=__yOwhwLCnL0urXkFvJkB3X6d1E0=&h=412&w=630&sz=94&hl=ar&start=7&zoom=1&tbnid=PX57wGmMqWHUM:&tbnh=90&tbnw=137&ei=8D5aUv3wE9TJ0AWFIGQAQ&itbs=1&sa=X&ved=0CDcQrQMwBg

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://labscience9seeingintolife.wikispaces.com/file/view/lactobacillus_casei.jpg/30643852/lactobacillus_casei.jpg&imgrefurl=http://labscience9seeingintolife.wikispaces.com/Ami&usg=__6PLslEe6vz5cb5LMgItN8tE2tU=&h=216&w=288&sz=24&hl=ar&start=18&zoom=1&tbnid=dsT9hM7UeY-0M:&tbnh=86&tbnw=115&ei=LT9aUqkOqPO0QXZioHICg&itbs=1&sa=X&ved=0CE0QrQMwEQ

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://www.bacteriainphotos.com/electron%2520microscopy/Enterococcus%2520faecalis%2520electron%2520microscopy.jpg&imgrefurl=http://www.bacteriainphotos.com/Enterococcus%2520faecalis%2520electron%2520microscopy.html&usg=__KNKR72YU4whiCR0

8asp__CJ2CQ=&h=640&w=800&sz=304&hl=ar&start=23&zoom=1&tbnid=nBAHgNskO7l6DM:&tbnh=114&tbnw=143&ei=lT9aUqKoBei90QW1iYDQBg&itbs=1&sa=X&ved=0CC8QrQMwAjgU

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://cooknkohlmesenteroides.pbworks.com/f/1197574592/Leuconostocmesenteroides.jpg&imgrefurl=http://cooknkohlmesenteroides.pbworks.com/w/page/16454572/Function&usg=__IhgTa0jqSGspY9j9EwT907UjSbw=&h206&w=206&sz=15&hl=ar&start=3&zoom=1&tbnid=wtlhj5aiwsXcM:&tbnh=105&tbnw=105&ei=6T9aUrDDIG30QX8x4GABA&itbs=1&sa=X&ved=0CC8QrQMwAg

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://pictures.life.ku.dk/atlas/microatlas/food/bacteria/Lactococcus_lactis/lactococcusmik.jpg&imgrefurl=http://pictures.life.ku.dk/atlas/microatlas/food/bacteria/Lactococcus_lactis/phasecon.html&usg=__9QDKtoXsJ31vbbkuQEe2kDzj9U=&h=350&w=350&sz=12&hl=ar&start=30&zoom=1&tbnid=Q4ZRlEHQ9qykbM:&tbnh=120&tbnw=120&ei=XEJaUrn6C4rDQXsx4H4Ag&itbs=1&sa=X&ved=0CD0QrQMwCTgU

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/b9/Bacillus_subtilis_Gram.jpg/220pxBacillus_subtilis_Gram.jpg&imgrefurl=http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus&usg=__C20f0wafIvgxpJHUP1OvXJM5Vgk=&h=165&w=220&sz=14&hl=ar&start=12&zoom=1&tbnid=YX2p2_BWP8kGOM:&tbnh=80&tbnw=107&ei=QUJaUqmEH-mg0QXCg4CwBg&itbs=1&sa=X&ved=0CEEQrQMwCw

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://www.schmidtandclark.com/wpcontent/uploads/listeria.jpg&imgrefurl=http://www.schmidtandclark.com/listeria&usg=__twaSeKTlZnkzjxnnVbqstb_09fQ=&h=449&w=485&sz=103&hl=ar&start=3&zoom=1&tbnid=IvzdcEmYQbr2rM:&tbnh=119&tbnw=129&ei=AkRaUujQHdCh7Aa16ID4Dw&itbs=1&sa=X&ved=0CC8QrQMwAg

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=DxWUv4EfqsKxdM:&imgrefurl=http://caliskan-ogrenciler.blogcu.com/biyoloji-laboratuvari-raporlarilab6thediversityoflife/7315893&docid=cNpG1P0mu2ZxTM&imgurl=http://img03.blogcu.com/images/c/a/l/caliskan-ogrenciler/ef3795d23d323fa496a107d1dddfeec8_1269735264.jpg&w=972&h=606&ei=E0haUvW5CcqN7QbK2YAw&zoom=1&iact=hc&vpx=376&vpy=46&dur=1797&hovh=177&hovw=284&tx=99&ty=137&page=4&tbnh=139&tbnw=242&start=28&ndsp=12&ved=1t:429,r:32,s:0,i:186

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=atjXE8sUE_RkKM:&imgrefurl=http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bifidobacterium&docid=fF_vSDpffve8M&imgurl=http://microbewiki.kenyon.edu/images/0/06/Bifidobacterium.jpg&w=378&h=245&ei=KkdaUpD4FpSshQf7yYHABg&zoom=1&iact=rc&dur=1109&page=1&tbnh=137&tbnw=229&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:0,s:0,i:79&tx=76&ty=90

http://www.google.com/imgres?hl=arEG&tbm=isch&tbnid=_fpGxSJNmxYDZM:&imgrefurl=http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html&docid=8QBv3_eOaEYAFM&imgurl=http://textbookofbacteriology.net/nfBifidobacterium.jpeg&w=191&h=227&ei=KkdaUpD4FpSshQf7yYHABg&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=137&tbnw=115&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:3,s:0,i:88&tx=859&ty=88

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=sn8nFjg0bfHIM:&imgrefurl=http://www.rci.rutgers.edu/~microlab/CLASSINFO/IMAGESCI/NegandPos2.htm&docid=KfpfC0N7Cr0NM&imgurl=http://www.rci.rutgers.edu/~microlab/CLASSINFO/IMAGESCI/microccussized.jpg&w=400&h=367&ei=hEdaUrbtL400QWe6oGoDg&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=141&tbnw=154&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:6,s:0,i:99&tx=131&ty=52&dur=1797

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=K75ewz815mutIM:&imgrefurl=http://www.lg1.ch/Textinhalte/analysen/konsilien/konsilium.lasso%3Fkeyvalue%3D2169&docid=wbbjTXzyYro9sM&imgurl=http://www.lg1.ch/lasso_images/konsilien/konsilium_425.jpg&w=257&h=180&ei=4klaUpW1DoLP0QXh1QE&zoom=1&iact=rc&dur=32&page=2&tbnh=132&tbnw=188&start=8&ndsp=9&ved=1t:429,r:12,s:0,i:113&tx=663&ty=82

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=h4ezdYh665NWGM:&imgrefurl=http://en.wikipedia.org/wiki/Propionibacterium_acnes&docid=dtcw0s486ydiHM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0f/Propionibacterium_acnes.jpg&w=2940&h=1981&ei=N0paUpvKG46R0QWU9YDYCg&zoom=1&iact=rc&dur=172&page=1&tbnh=136&tbnw=198&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:0,s:0,i:77&tx=94&ty=105

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=nZ9kkW-2S2Hc2M:&imgrefurl=http://thescienceofacne.com/what-is-propionobacterium-acnes/&docid=hCR_SdSY-5PVZM&imgurl=http://c683966.r66.cf2.rackcdn.com/wp-content/uploads/Free-Living-PropionibacteriumacnesbacteriaHolmbergetale1312691743672.jpg%253F75e96d&w=599&h=449&ei=N0paUpvKG46R0QWU9YDYCg&zoom=1&iact=rcpage=2&tbnh=136&tbnw=177&start9&ndsp=13&ved=1t:429,r:15,s:0,i:122&tx=289&ty=120

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=isWEeBNcw8XfJM:&imgrefurl=http://www.uic.edu/classes/dh/dh110/Corynebacterium%2520%26%2520Mycobacterium_files/slide0050.htm&docid=dAm2hDZtHnvrmM&imgurl=http://www.uic.edu/classes/dh/dh110/Corynebacterium%252520%2526%252520Mycobacterium_files/slide0050_image010.jpg&w=498&h=333&ei=UktaUu6TJoin0AXv5IDYDg&zoom=1&iact=rc&page=2&tbnh=145&tbnw=218&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:18,s:0,i:137&tx=44&ty=89

http://www.google.com.eg/imgres?um=1&sa=N&hl=ar&biw=707&bih=374&tbm=isch&tbnid=cJNxxga91MzSJM:&imgrefurl=http://en.wikipedia.org/wiki/Ziehl%25E2%2580%2593Neelsen_stain&docid=U341tXjt4v8zM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/71/Mycobacterium_tuberculosis_ZiehlNeelsen_stain_02.jpg&w=2073&h=1336&ei=NUxaUujAGMmv0QXmtICQDg&zoom=1&iact=rc&dur=172&page=1&tbnh=135&tbnw=210&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:0,s:0,i:77&tx=61&ty=62

http://www.google.com.eg/imgres?um=1&sa=N&hl=ar&biw=707&bih=374&tbm=isch&tbnid=hCgk3Ymsg9OriM:&imgrefurl=http://textbookofbacteriology.net/tuberculosis.html&docid=EAeqOUMzCbrxtM&imgurl=http://textbookofbacteriology.net/MTBCDC.jpg&w=700&h=475&ei=NUxaUujAGMmv0QXmtICQDg&zoom=1&iact=hc&page=1&tbnh=135&tbnw=200&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:1,s:0,i:80&tx=166&ty=177&vpx=201&vpy=56&dur=234&hovh=185&hovw=273

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=3Pl0qddQGwOYM:&imgrefurl=http://indokombucha.wordpress.com/2009/12/29/scoby/&docid=tXhbNOjxczt0hM&imgurl=http://indokombucha.files.wordpress.com/2009/12/acetobacter1.jpg&w=374&h=295&ei=lE1aUvOBA6KR0AWX14CgAw&zoom=1&iact=hc&vpx=239&vpy=24&dur=4734&hovh=199&hovw=253&tx=193&ty=187&page=2&tbnh=140&tbnw=182&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:9,s:0,i:104

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=l_zEq4WtREJUM:&imgrefurl=http://en.wikipedia.org/wiki/Brucellosis&docid=UhLOX2_p2JQqMM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commos/f/fa/Brucella_spp.JPG&w=600&h=447&ei=l09aUoCQDrV0QWN84GgDg&zoom=1&iact=rc&dur=16&page=1&tbnh=151&tbnw=202&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:0,s:0,i:82&tx=110&ty=79

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=_tkcR3DN3flOqM:&imgrefurl=http://lib.jiangnan.edu.cn/asm/119introduce.htm&docid=rk5HcpHKalETpM&imgurl=http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/1192.jpg&w=538&h=382&ei=QFJaUrLH4iL0AWomoHgDA&zoom=1&iact=rc&dur=79&page=1&tbnh=131&tbnw=197&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:8,s:0,i:101&tx=572&ty=91

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=amL1Evl4fBwbFM:&imgrefurl=http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html&docid=WlxPJCKJhuT8M&imgurl=http://textbookofbacteriology.net/P.aeruginosa.jpeg&w=313&h=240&ei=bVNaUu3OCqWV0AWN0oCgDQ&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=134&tbnw=174&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:2,s:0,i:90&tx=51&ty=61

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=hh0aQg5_0NODM:&imgrefurl=http://microbiologia2a.blogspot.com/2013/04/klebsiellapneumoniae.html&docid=qK9xFiJj3dInCM&imgurl=http://3.bp.blogspot.com/seEz1K8xI8Y/UW4UEvhyauI/AAAAAAAAANU/xUFzqs_YtEw/s1600/3%252B(1).jpg&w=286&h=250&ei=tlRaUtiYL5Ly0gXn_HQBw&zoom=1&iact=hc&vpx=432&vpy=22&dur=5406&hovh=200&hovw=228&tx=56&ty=108&page=2&tbnh=147&tbnw=151&start=8&ndsp=10&ved=1t:429,r:8,s:0,i:108

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=bhIiQOdZiCciLM:&imgrefurl=http://www.sickopportunity.com/%3Fp%3D53&docid=DcVqIeG7ZTXiaM&imgurl=http://www.sickopportunity.com/wp-content/uploads/2011/03/klebsiella-photo-from-flickr.jpg&w=460&h=460&ei=HFZaUsW3J8m0wW19ICABQ&zoom=1&iact=rc&dur=125&page=1&tbnh=142&tbnw=158&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:4,s:0,i:96&tx=76&ty=124

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=dc2r58tiZUFxCM:&imgrefurl=http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC259/G2581.expansion.html&docid=oTdBdo3nRNoofM&imgurl=http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC259/G2581.large.jpg&w=1280&h=1023&ei=UlVaUtzLDumw0QXRpIGoCg&zoom=1&iact=hc&vpx=409&vpy=21&dur=2906&hovh=201&hovw=251&tx=195&ty=155&page=2&tbnh=139&tbnw=174&start=10&ndsp=12&ved=1t:429,r:10,s:0,i:114

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=vMM1VzlQAbSwcM:&imgrefurl=http://notinmyfood.org/posts/3792-in-astepbackforfoodsafetyfdaweakensrulesonsalmonellainanimalfeed&docid=kvuyd39CVxQJ2M&imgurl=http://notinmyfood.org/wordpress/wpcontent/uploads/2013/07/salmonella.jpg&w=30&h=297&ei=V1ZaUvaKqe60QXny4D4Bw&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=141&tbnw=155&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:1,s:0,i:87&tx=70&ty=107

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=1vsPZ6yWpfHRM:&imgrefurl=http://www.napavalley.edu/people/srose/Pages/Biol220.aspx&docid=lFy6yN61BcX05M&imgurl=http://www.napavalley.edu/people/srose/PublishingImages/Enterobacter%252520aerogenesGram%252520Stain.jpg&w=1616&h=1216&ei=5lZaUtGOBZCY0QWS34HwCQ&zoom=1&iact=rc&dur=234&page=1&tbnh=140tbnw=175&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:2,s:0,i:87&tx=51&ty=123

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=kAOv17PtZonrsM:&imgrefurl=http://www.nbbcfood.info/foodmatters/foodsafetyatoz/foodsafetydetails.asp%3FintFoodSafetyID%3D18&docid=BtmIIxRMipgRLM&imgurl=http://www.nbbcfood.info/foodmatters/foodsafetyatoz/images/18fsmenterobac.jpg&w=250&h=250&ei=5lZaUtGOBZCY0QWS34HwCQ&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=134&tbnw=121&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:7,s:0,i:102&tx=145&ty=116

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=PpJ_gNL9OMiqJM:&imgrefurl=http://aspergillusblog.blogspot.com/2010/04/evaluationofcaspofungintreatmentof.html&docid=JLmEdiwTOsS3GM&imgurl=http://1.bp.blogspot.com/_Z38HR0PTcRc/S7slBKvzicI/AAAAAAAAA9A/PPAIs47lbg/s1600/Aspergillus.jpg&w=1600&h=1536&ei=k1haUozVN_On0wWR74DYBQ&zoom=1&iact=hc&vpx=33&vpy=4&dur=2422&hovh=220&hovw=229&tx=145&ty=170&page=1&tbnh=136&tbnw=155&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:2,s:0,i:90

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=0vEODeCnc3NOKM:&imgrefurl=http://www.emlab.com/s/sampling/env-report092006.html&docid=JRi5yUS65HE9GM&imgurl=http://www.emlab.com/m/media/Aspergillus.jpg&w=500&h=400&ei=k1haUozVNOn0wWR74DYBQ&zoom=1&iact=rc&dur=157&page=1&tbnh=132&tbnw=165&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:7,s:0,i:105&tx=43&ty=94

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=JEqPlbjXbEpQM:&imgrefurl=http://website.nbmmnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Geotrichum.html&docid=UbRm3ayPcpvofM&imgurl=http://website.nbmmnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Illustrations/Geotrichum_drawing.jpg&w=223&h=250&ei=PllaUsCCNeGc0AXN4YGACA&zoom=1&iact=rc&dur=93&page=2&tbnh=145&tbnw=122&start=8&ndsp=10&ved=1t:429,r:10,s:0,i:107&tx=82&ty=112

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=hr5nbGCaKVupEM:&imgrefurl=http://www.pf.chibau.ac.jp/gallery/fungi/g/Geotrichum_candidum_colony1.htm&docid=jzoz2gz6nLstoM&imgurl=http://www.pf.chibau.ac.jp/gallery/img/fungi/g/Geotrichum_candidum_colony.jpg&w=482&h=472&ei=PllaUsCCNeGc0AXN4YGACA&zoom=1&iact=c&dur=156&page=2&tbnh=138&tbnw=124&start=8&ndsp=15&ved=1t:429,r:13,s:0,i:116&tx=53&ty=82

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=AJELsXZoEdv9M:&imgrefurl=http://enfo.agt.bme.hu/drupal/en/node/9585&docid=0MdONae4lpmu0M&imgurl=http://enfo.agt.bme.hu/drpal/sites/default/files/penicillium.gif&w=215&h=215&ei=sllaUvKvOYWb0AXbt4GQDg&zoom=1&iact=rc&dur=16&page=7&tbnh=133&tbnw=133&start=70&ndsp=14&ved=1t:429,r:72,s:0,i:306&tx=241&ty=89

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=H_DIZu0ocenrM:&imgrefurl=http://thunderhouse4yuri.blogspot.com/2012/12/penicilliumspecies.html&docid=BpVe5iFBMXFJQM&imgurl=http://1.bp.blogspot.com/eYmnuVCREQ0/ULoVz4wBmTI/AAAAAAAAAIM/ROzAqN_Kj8/s1600/00%252BPenicillium%252Bsp%252BSAB.jpg&w=425&=426&ei=sllaUvKvOYWb0AXbt4GQDg&zoom=1&iact=rc&page=5&tbnh=147&tbnw=128&start=43&ndsp=14&ved=1t:429,r:50,s:0,i:240&tx=260&ty=84

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=KR5tsIjkGHTVPM:&imgrefurl=http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/alternar.htm&docid=if_wSOz8kawF5M&imgurl=http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/altern3.jpg&w=633&h=442&ei=8lpaUv2VGu6p0AXKzIGQAg&zoom=1&iact=rc&dur=797&page=1&tbnh=144&tbnw=206&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:1,s:0,i:87&tx=155&ty=103

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=EexdiNRdlI4NtM:&imgrefurl=http://www.moldlibrary.ca/portfolio/alternaria/&docid=n1vt3BU5lfjzRM&imgurl=http://www.moldlibrary.ca/wp-content/uploads/2013/08/alternaria.gif&w=425&h=399&ei=8lpaUv2VGu6p0AXKzIGQAg&zoom=1&iact=hc&vpx=259&vpy=4&dur=844&hovh=218&hovw=232&tx=118&ty=201&page=2&tbnh=145&tbnw=155&start=8&ndsp=8&ved=1t:429,r:9,s:0,i:111

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=HEeyWAg8JnyBXM:&imgrefurl=http://www.moldinsp.net/Glossimages/mucor.htm&docid=zDAMDgCxbgLBM&imgurl=http://www.moldinsp.net/images/mucor.11.jpg&w=280&h=210&ei=KltaUobVIM7v0gX9oHQAw&zoom=1&iact=rc&dur=234&page=1&tbnh=143&tbnw=204&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:6,s:0,i:102&tx=139&ty=104

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=nJr9h9yeKaOVIM:&imgrefurl=http://www.dehs.umn.edu/iaq_fib_fg_gioss_mucorsp_photo1.htm&docid=oWo_Isoh8bGk2M&imgurl=http://www.dehs.umn.edu/images/mucor1.jpg&w=350&h=350&ei=KltaUobVIM7v0gX9oHQAw&zoom=1&iact=rc&page=2&tbnh=146&tbnw=146&start=8&ndsp=14&ved=1t:429,r:11,s:0,i:117&tx=864&ty=105

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=EVWE9oc4fuxtdM:&imgrefurl=http://www.mold.ph/rhizopus.htm&docid=_vCjL22Dm5CqzM&imgurl=http://www.mold.ph/rhizop7.jpg&w=600&h=405&ei=qFtaUqmELXP0QWFs4CQBg&zoom=1&iact=rc&dur=16&page=1&tbnh=142&tbnw=210&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:4,s:0,i:96&tx=507&ty=120

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=lIMQVsvCAiJMNM:&imgrefurl=http://www.aregy.com/forums/archaeology6637/&docid=IoW5EQJSqffuM&imgurl=http://www.aregy.com/forums/archCash/5003archaeology.jpg&w=390&h=524&ei=qFtaUqmELXP0QWFs4CQB&zoom=1&iact=hc&vpx=310&vpy=35&dur=3312&hovh=260&hovw=194&tx=177&ty=279&page=1&tbnh=142&tbnw=105&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:6,s:0,i:102

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=oU8nokktMb3_fM:&imgrefurl=http://www.deanza.edu/faculty/mccauley6alabsfungi01.htm&docid=Kj2abEr58CkLgM&imgurl=http://www.deanza.edu/faculty/mccauley/6a_site_images/fungiimages/saccharomyces400.jpg&w=400&h=282&ei=ultaUqHRFMKW0AXsmYCwBA&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=136&tbnw=193&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:1,s:0,i:87&tx=119&ty=50

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=4IZwLvQ9oP3FaM:&imgrefurl=http://enologyaccess.org/EA2/index.php/winemicrobes/918yeastid/189debaromyceshansenii.html&docid=xpHu7ciqp4pGXM&imgurl=http://enologyaccess.org/EA2/images/stories/Microbes/2768d40x%252520cs5.jp&w=1388&h=1040&ei=J1xaUtfcMeGK0AXIuoEQ&zoom=1&iact=hc&vpx=95&vpy=31&dur=3656&hovh=194&hovw=259&tx=172&ty=162&page=1&tbnh=145&tbnw=178&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:6,s:0,i:95

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=p1B44A4lhIRUEM:&imgrefurl=http://bulldog2.redlands.edu/fac/Silveira/Silveira.html&docid=mfTzQqW_wIQQjM&imgurl=http://bulldog2.redlands.edu/fac/Silveira/RCY339phase72dpi.jpg&w=288&h=194&ei=_1xaUv7VIdGS0QXo1YCwCA&zoom=1&iact=hc&vpx=291&vpy=68&dur=2563&hovh=155&hovw=230&tx=162&ty=147&page=1&tbnh=138&tbnw=205&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:6,s:0,i:95

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=hcTPvdnhKym5sM:&imgrefurl=http://www.diark.org/diark/species_list/Kluyveromyces_marxianus_CBS712&docid=pxrLOdqzudIOQM&imgurl=http://www.diark.org/img/species_pict/Kluyveromyces_marxianus_CBS712&w=150&h=102&ei=_1xaUv7VIdGS0QXo1YCwCA&zoom=1&iact=rc&page=2&tbnh=81&tbnw=114&start=10&ndsp=14&ved=1t:429,r:23,s:0,i:152&tx=439&ty=69

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=wuLIOQuhXldeLM:&imgrefurl=http://en.wikipedia.org/wiki/Kluyveromyces&docid=dGOjOPQKEQ4zXM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a1/Kluyveromyces_marxianus_colonies.jpg&w=3072&h=2304&ei=_1xaUv7VIdGS

0QXo1YCwCA&zoom=1&iact=rc&dur=47&page=1&tbnh=144&tbnw=182&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:0,s:0,i:77&tx=99&ty=79

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=hHmYFT6ptJWXQM:&imgrefurl=http://pathmicro.med.sc.edu/mycology/mycology3.htm&docid=cb_1rzaC_b1OLM&imgurl=http://pathmicro.med.sc.edu/mycology/candida200.jpg&w=472&h=315&ei=nl1aUpNr0NjRBYr1gPgN&zoom=1&iact=hc&vpx=385&vpy=49&dur=2187&hovh=183&hovw=275&tx=184&ty=140&page=2&tbnh=135&tbnw=197&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:8,s:0,i:108

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=9HsZ6f3mJyQ2UM:&imgrefurl=http://www.sequence.stanford.edu/group/candida/search.html&docid=u_ddye9d9aH9wM&imgurl=http://wwwsequence.stanford.edu/group/candia/images/candida.jpg&w=440&h=291&ei=nl1aUpNr0NjRBYr1gPgN&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=128&tbnw=194&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:1,s:0,i:87&tx=596&ty=98

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=9S6GVUt5jVq0WM:&imgrefurl=http://nih.techriver.net/view.php%3FpatientId%3D314&docid=TkkoyHrdtxqQM&imgurl=http://nih.techriver.net/patientImages%25255C2689.jpg&w=400&h=320&ei=rl1aUuStDIiH0AX95YDICA&zoom=1&iact=hc&vpx=210&vpy=22&dur=1172&hovh=201&hovw=251&tx=103&ty=215&page=1&tbnh=138&tbnw=172&start=0&ndsp=8ved=1t:429,r:1,s:0,i:80

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=JAXnmCMyuMrQM:&imgrefurl=http://www.studyblue.com/notes/note/n/yeasts/deck/6531351&docid=dIbjcO3uZlwdRM&imgurl=http://classconnection.s3-amazonaws.com/805/flashcards/151805/jpg/torulopsis_glabrata1332714165464.jpg&w=479&h=731&ei=rl1aUuStDIiH0X95YDICA&zoom=1&iact=hc&vpx=478&vpy=36&dur=125&hovh=277&hovw=182&tx=182&ty=236&page=2&tbnh=153&tbnw=89&start=8&ndsp=9&ved=1t:429,r:8,s:0,i:101

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=CCklcx3dqu2hM:&imgrefurl=http://www.altka3.eb2a.com/vb/thread1340&docid=ZvO7fdoa1frTbM&itg=1&imgurl=http://www.alkherat.com/vb/imgcache-new/611.imgcache&w=500&h=500&ei=uV5aUou-HOnJ0QWS64HYAg&zoom=1&iact=rc&page=7&tbnh=139&tbnw=139&start=71&ndsp=10&ved=1t:429,r:74,s:0,i:305&tx=550&ty=102

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=9VYfOf7BVFpB9M:&imgrefurl=http://forum.te3p.com/3592582.html&docid=T1NFxsaBkHIxdaM&imgurl=http://forum.te3p.com/images/images_thumbs/559faaab9398e58b189486f71bb50afd.jpg&w=740&h=547&ei=uV5aUouHOnJ0QWS64HYAg&zoom=1&iact=hc&vpx=399&vpy=30&dur=219&hovh=193&hovw=261&tx=268&ty=169&page=3&tbnh=128&tbnw=151&start=20&ndsp=14&ved=1t:429,r:29,s:0,i:170

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=CS4yNJxbpL0C_M:&imgrefurl=http://www.alkherat.com/vb/showthreadphp%3F3279%25E3%25E6%25D3%25E6%25DA%25C9%25C7%25E4%25E6%25C7%25DA%25C7%25E1%25CC%25C8%25E4%25C8%25C7%25E1%25D5%25E6%25D1%25E6%25C%25E1%25D4%25D1%25CD%26p%3D20144%26viewfull%3D1&docid=XqDdEvJ9bMccCM&itg=1&imgurl=http://www.alkherat.com/vb/imgcache-new/610.imgcache&w=500&h=500&ei=uV5aUou-HOnJ0QWS64HYAg&zoom=1&iact=hc&vpx=292&vpy=2&dur=12750&hovh=225&hovw=225&tx=184&ty=216&page=3&tbnh=155&tbnw=158&start=20&ndsp=14&ved=1t:429,r:21,s:0,i:146

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=KSP0LIvEzcOaCM:&imgrefurl=http://www.alraimedia.com/Alrai/Article.aspx%3Fid%3D237833&docid=tph3rDt7o6tY5M&imgurl=http://www.alraimedia.com/Resources/ArticlesPictures/2010/11/12/9c3a1f4ee28647fd810c65c50e1f9c1f.jpg&w=382&h=192&ei=zGBaUuP_JoiR0QXh5ICICQ&zoom=1&iact=hc&vpx=251&vpy=28&dur=594&hovh=153&hovw=305&tx=165&ty=121&page=1&tbnh=138&tbnw=275&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:6,s:0,i:95

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=rpBBjMBL3uzwuM:&imgrefurl=http://ar.wikipedia.org/wiki/%25D8%25AD%25D9%2585%25D9%2589_%25D9%2582%25D8%25B1%25D9%2585%25D8%25B2%25D9%258A%25D8%25A9&docid=D0bQGoJ5TO4QyM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/02/Scharlach.JPG/250pxScharlach.JPG&w=250&h=306&ei=zGBaUuP_JoiR0QXh5ICICQ&zoom=1&iact=hc&vpx=96&vpy=22&dur=110&hovh=244&hovw=200&tx=106&ty=163&page=1&tbnh=138&tbnw=117&start=0&ndsp=9&ved=1t:429,r:7,s:0,i:98

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=6EshBDYDie53oM:&imgrefurl=http://www.tbeeb.net/a1158.htm&docid=H0o1nJW4T7xgM&imgurl=http://www.tbeeb.com/pic/uploads/86bc23988e

jpg&w=300&h=200&ei=M2FaUpyFDYP20gWR3YGgBA&zoom=1&iact=rc&dur=16&page=1&tbnh=127&tbnw=200&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:7,s:0,i:98&tx=552&ty=121

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=_NIkz1R6srN_3M:&imgrefurl=http://aradina.kenanaonline.com/posts/7511&docid=bd_MWAEvEUyw5M&imgurl=http://kenanaonline.com/photos/1173779/1173779945/large_1173779945.jpg&w=400&h=266&ei=UmFaUvzuII200QXy6oCADA&zoom=1&iact=rc&dur=203&page=1&tbnh=139&tbnw=211&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:1,s:0,i:80&tx=37&ty=127

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=2RFME4fHntuNHM:&imgrefurl=http://women.bo7.net/girls50976&docid=NglG9owm9SdJM&imgurl=http://www.ucm.es/info/otri/complutecno/imagenes/tec_rfuente1_2.jpg&w=350&h=243&ei=UmFaUvzuII200QXy6oCADA&zoom=1&iact=rc&dur=187&page=1&tbnh=132&tbnw=189&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:4,s:0,i:89&tx=82&ty=122

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=Td6UHLiJjVGSM:&imgrefurl=http://www.iqaldawaya.net/page.php%3F344&docid=XMm4OHEkXDrI7M&imgurl=http://www.iqaldawaya.net/images/custom/1126.jpg&w=2305&h=1434&ei=52FaUunmJcea0AXluYHwBA&zoom=1&iact=rc&dur=234&page=2&tbnh=132&tbnw=221&start=5&ndsp=13&ved=1t:429,r:11,s:0,i:117&tx=97&ty=104

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=DJEgtVqveTPaM:&imgrefurl=http://www.almashhad.com/Articles/64563.aspx&docid=eTjC9RUZwwBs1M&imgurl=http://almashhad.com/Media/News/2012/3/12/201263467166759567831756 7.jpg&w=510&h=285&ei=82FaUq3CMsWa0AW3YCQCQ&zoom=1&iact=rc&dur=422&page=1&tbnh=152&tbnw=273&start=0&ndsp=8&ved=1t:429,r:0,s:0,i:77&tx=248&ty=93

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=mAPOWXjeKQIGhM:&imgrefurl=http://www.egypthunter.com/vb/showthread.php%3Ft%3D2434&docid=mBUXenAORndM&imgurl=http://www.m5zn.com/uploads/2010/7/7/photo/070710230708j4ebse7g0a8yhz2j.jpg&w=462&h=293&ei=82FaUq3CMsWa0AW3YCQCQ&zoom=1&iact=hc&vpx=222&vpy=43&dur=1031&hovh=179&hovw=282&tx=46&ty=183&page=2&tbnh=134&tbnw=178&start=8&ndsp=12&ved=1t:429,r:13,s:0,i:116

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=FIcoASlQHVIJhM:&imgrefurl=http://www.arabs48.com/%3Fmod%3Dprint%26ID%3D21828&docid=AUKEIlHRW7SOBM&imgurl=http://212.179.113.235/articleimages/b041026101157.jpg&w=250&h=239&ei=GWNaUv3UN5CV0QXV7oHQBw&zoom=1&iact=rc&dur=15&page=3&tbnh=158&tbnw=165&start=17&ndsp=11&ved=1t:429,r:22,s:0,i:149&tx=318&ty=102

http://www.wikihow.com/Make-Blue-Cheese

http://projects.mans.edu.eg/heepf/daac/022.html

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=sohEVY5_P4NGIM:&imgrefurl=http://arabic.alibaba.com/product-gs/dry-heatsterilizationoven574152276.html&docid=Uws9o0I0qfyhM&imgurl=http://img.alibaba.com/photo/574152276/dry_heat_sterilization_oven.jpg&w=300&h=229&ei=KGlaUpe7EObt0gXDYHgCw&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=152&tbnw=188&start=0&ndsp=10&ved=1t:429,r:1,s:0,i:80&tx=26&ty=81

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=Os3uYvupbnVAcM:&imgrefurl=http://es.wikipedia.org/wiki/Autoclave&docid=hdhRS5vF0ostM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f6/Melag_Autoclave_01.JPG&w=2272&h=1704&ei=aGpaUpPEKcGq0QXGtIHADA&zoom=1&iact=hc&vpx=2&vpy=28&dur=94&hovh=194&hovw=259&tx=33&ty=175&page=5&tbnh=139&tbnw=185&start=46&ndsp=15&ved=1t:429,r:54,s:0,i:252

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=lhrpptbOOxaTZM:&imgrefurl=http://ar.wikipedia.org/wiki/%25D9%2585%25D9%2588%25D8%25B5%25D8%25AF%25D8%25A9&docid=akN_5Mr_5vc4rM&imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c2/Simple_autoclave.jpg&w=452&h=620&ei=aGpaUpPEKcGq0QXGtIHADA&zoom=1&iact=rc&dur=281&page=4&tbnh=160&tbnw=111&start=35&ndsp=11&ved=1t:429,r:42,s:0,i:216&tx=42&ty=139

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=VWBC3spHwYn_M:&imgrefurl=http://forum.stop55.com/384801.html&docid=gHqUCMmRhCa3M&imgurl=http://www.djblabcare.co.uk/djb/data/image/14/0/hettich_eba20_portable_centrifuge.jpeg&w=502&h=645&ei=htdaUqKOII6S0AWMi4GACg

&zoom=1&iact=rc&page=1&tbnh=145&tbnw=109&start=0&ndsp=6&ved=1t:429,r:1,s:0,i:83&tx=62&ty=80

http://www.google.com.eg/imgres?hl=ar&tbm=isch&tbnid=nNEq3E5SkYRo2M:&imgrefurl=http://uqu.edu.sa/page/ar/20060&docid=TJnZdoYAlMuGJM&imgurl=http://uqu.edu.sa/files2/tiny_mce/plugins/imagemanager/files/4180164/plate_count_high.jpg&w=1400&h=933&ei=4NZaUsnbGuWq0AXBhYGwCQ&zoom=1&iact=rc&dur=109&page=5&tbnh=117&tbnw=171&start=52&ndsp=11&ved=1t:429,r:53,s:0,i:242&tx=115&ty=38

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://www.laddresearch.com/media/catalog/product/p/i/pioneeranalytical.jpg&imgrefurl=http://www.laddresearch.com/generallaboratorysupplies/smallequipmentinstruments/ohauslaboratorybalances/analyticalbalances/pioneeranalyticalbalances&usg=__g2cchmsmVkMJkA4_MzUw4MgqQoo=h=670&w=600&sz=79&hl=ar&start=4&zoom=1&tbnid=iXRwLCMsYCy7WM:&tbnh=138&tbnw=124&ei=kBaUrvLKOK4ASCt4DwAQ&um=1&itbs=1&sa=X&ved=0CDEQrQMwAw

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://images01.olx.in/ui/15/95/62/1316933772_256619362_4-Weighing-Scales-Weighing-MachinesAnalyticalBalancesWeighBridgesForSale.jpg&imgrefurl=http://bhopal.olx.in/weighingscalesweighingmachinesanalyticalbalancesweighbridgesiid256619362&usg=__9LxaPAKSODiv1I54_jj6BKrf8=&h=488&w=600&sz=29&hl=ar&sart=17&zoom=1&tbnid=gAf0DwPch_zxKM:&tbnh=110&tbnw=135&ei=kBaUrvLKOK4ASCt4DwAQ&um=1&itbs=1&sa=X&ved=0CEsQrQMwEA

http://www.google.com.eg/imgres?um=1&hl=ar&biw=1366&bih=576&tbm=isch&tbnid=OkhzaxY_TkZ0M:&imgrefurl=http://sciencelane.com/%3Fp%3D689&docid=sy6NQa_7tdclQM&imgurl=http://sciencelane.com/wpcontent/uploads/2012/01/serialdilution.jpg&w=743&h=1008&ei=RNaUvieLam54ATS64GgCg&zoom=1&ved=1t:3588,r:6,s:0,i:96&iact=rc&page=1&tbnh=191&tbnw=141&start=0&ndsp=11&tx=76&ty=65

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://1.bp.blogspot.com/-xv6gHBYdr9w/Uatu4OWZKCI/AAAAAAAAAMo/fTqyjwuY-X0/s1600/50x1000xEducationMicroscopeBMXSP03.jpg&imgrefurl=http://anatomyandphysiologycourseswork.blogspot.com/2013/06/basicmicroscopeanatomyandphysiology.html&usg=__EV4W0ACU3n6qogFwoTOx65rpgo=&h=1555&w=1000&sz=223&hl=ar&start=18&zoom=1&tbnid=eSepmzXmF9bzjM:&tbnh=15&tbnw=96&ei=vuNaUpPHNaaJ4ASZ0oGoCg&um=1&itbs=1&sa=X&ved=0CE0QrQMwEQ

http://www.google.com.eg/imgres?um=1&hl=ar&biw=1366&bih=576&tbm=isch&tbnid=TXC1eSczp7YpM:&imgrefurl=http://sankarabiotech.blogspot.com/2010/12/colonycounterk.html&docid=YeQXvRm7VY07bM&imgurl=http://4.bp.blogspot.com/_TcpyUkbf4c0/TQCJN_zu5vI/AAAAAAAAAA4/s7sXAjIDlI/s1600/Colony%25252BCounter.JPG&w=1600&h=1345&ei=TORaUprWIsfY4QTjtYBI&zoom=1&ved=1t:3588,r:39,s:0,i:203&iact=rc&page=2&tbnh=182&tbnw=216&start=21&ndsp=21&tx=163&ty=153

http://www.google.com.eg/imgres?um=1&hl=ar&biw=1366&bih=576&tbm=isch&tbnid=UV6PmNGL0UvfBM:&imgrefurl=http://www.prweb.com/releases/2012/9/prweb9866353.htm&docid=ctiLBPW1HdcQvM&imgurl=http://ww1.prweb.com/prfiles/2012/09/04/9866353/378631000_Action.jpg&w=1500&h=1500&ei=TORaUprWIsfY4QTjtYBI&zoom=1&ved=1t:3588,r:70,s:0,i:296&iact=rc&page=4&tbnh=187&tbnw=191&start=62&ndsp=22&tx=108&ty=115

http://www.google.com.eg/imgres?sa=X&biw=1366&bih=576&tbm=isch&tbnid=68uWDHpwqFGu5M:&imgrefurl=http://www.labsource.co.uk/shop/stuartscientificdigitalwaterbathswb1d6lp1820.html&docid=y3kYOXgsAjqoVM&imgurl=http://www.labsource.co.uk/shop/images/SWB2D(1).jpg&w=340&h=340&ei=OuVUuy7MqPX0QWngIGwCg&zoom=1&ved=1t:3588,r:13,s:0,i:125&iact=rc&page=2&tbnh=191&tbnw=175&start=12&ndsp=19&tx=102&ty=82

http://www.google.com.eg/imgres?sa=X&biw=1366&bih=576&tbm=isch&tbnid=cRsOI5fwqtVDHM:&imgrefurl=http://whipmix.com/product/digitalwaterbath/&docid=EDhKzh9m4EoCM&imgurl=http://whipmix.com/wpcontent/uploads/viaproductcatalog/product_images/Digital%252520Water%252520Bath_HR.jpg&w=1024&h=700&ei=OuVaUuy7MqPX0QWngIGwCg&zoom=1&ved=1t:3588,r:5,s:0,i:101&iact=rc&page=1&tbnh=171&tbnw=251&start=0&ndsp=12&tx=74&ty=102

http://www.google.com.eg/imgres?sa=X&biw=1366&bih=576&tbm=isch&tbnid=MCKGxl6IqJL19M:&imgrefurl=http://www.hally.in/products16.html&docid=U68B8lCuZ6xkXM&imgurl=http://www.hally.in/WATER%252520BATH.jpg&w=1684&h=1187&ei=OuVaUuy7MqPX0QWngIGwCg&zoom=1&ved=1t:3588,r:0,s:0,i:86

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://www.eutechinst.com/images/CyberScanpH510.jpg&imgrefurl=http://www.eutechinst.com/pdttypecyberscanstandardph510.html&usg=__0sLrfAAaJSC7DH3lxfmOnuACow=&h=440&w=400&sz=20&hl=ar&start=7&zoom=1&tbnid=_-62VhvpN9tkiM:&tbnh=127&tbnw=115&ei=gOZaUpGgKaic0QW0oIDQCA&itbs=1&sa=X&ved=0CDcQrQMwBg

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://www.gctsindia.in/lab-equipments/laminer-airflow-cabinet.jpg&imgrefurl=http://www.gctsindia.in/lab-equipments.asp&usg=__yMVhK-9E3c6Nk3yvfPt64-uid3o=&h=113&w=150&sz=6&hl=ar&start=7&zoom=1&tbnid=jz9nUEC8HAG10M:&tbnh=72&tbnw=96&ei=zOZaUr6ZBeiw0QWMoYGQDA&itbs=1&sa=X&ved=0CDkQrQMwBg

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://classconnection.s3.amazonaws.com/613/flashcards/1523613/jpg/cardimage_2885563_01336153278634.jpg&imgrefurl=http://www.studyblue.com/notes/note/n/microbiology-lab-final/deck/6511889&usg=__ck3_dX_pOANtvmMi3LqJ2j2LUyM=&h=688&w=1000&sz=67&hl=ar&start=29&zoom=1&tbnid=OSv97F9cqnkw4M:&tbnh=103&tbnw=149&ei=c-haUtC6AtHK0AWK9oDwCg&itbs=1&sa=X&ved=0CDsQrQMwCDgU

http://www.google.com.eg/imgres?biw=1366&bih=576&hl=ar&tbm=isch&tbnid=DGe31X9J8E01tM:&imgrefurl=http://www.sccwrp.org/researchareas/BeachWaterQuality/BeachWaterQualityMonitoring/ComparisonAmongIDEXXMembraneFiltration.aspx&docid=fsRSyDpkhSuSQM&imgurl=http://www.sccwrp.org/images/ResearchAreas/BeachWaterQuality/BeachWaterQualityMonitoring/MembraneFiltrationvsIDEXX/MembraneFiltrationvsIDEXX_right.jpg&w=200&h=180&ei=5OhaUvyBJ_OY0AXxpoC4Ag&zoom=1&ved=1t:3588,r:19,s:0,i:137&iact=rc&page=2&tbnh=144&tbnw=160&start=13&ndsp=16&tx=81&ty=85

http://www.google.com.eg/imgres?biw=1366&bih=576&hl=ar&tbm=isch&tbnid=q_kG7V23v0hO6M:&imgrefurl=http://www.pall.com/main/laboratory/mftechniquecertifiedforbacterialana52328.page&docid=eQ9P0DO_3ELYIM&imgurl=http://www.pall.com/images/Laboratory/092882_Microbiology_MF_technique.jpg&w=367&h=180&ei=5OhaUvyBJ_OY0AXxpoC4Ag&zoom=1&ved=1t:3588,r:47,s:0,i:230&iact=rc&page=4&tbnh=144&tbnw=293&start=46&ndsp=16&tx=231&ty=99

http://www.google.com.eg/imgres?imgurl=http://www.carolina.com/images/product/detail/154726_lp.jpg&imgrefurl=http://www.carolina.com/bacteria/bacterial-examination-of-milk-kit-with-perishables/154726P.pr&usg=__w0VlsfAzgqCB456zyVa-Ee0liKo=&h=220&w=220&sz=59&hl=ar&start=10&zoom=1&tbnid=lV26Fa0CP81M:&tbnh=107&tbnw=107&ei=pelaUpbcGrKp7AazyoCQDg&itbs=1&sa=X&ved=0CD0QrQMwCQ

الفهرس

الموضوع	الصفحة
مقدمة.....	7
الباب الأول : تقسيم الكائنات الحية الدقيقة	11
تطور علم ميكروبيولوجيا اللبن ومنتجاته.....	13
تقسيم الكائنات الحية الدقيقة.....	17
تقسيم البكتيريا	18
التقسيم الحديث للبكتيريا.....	20
تقسيم الفطريات.....	22
الامتحان البعدى.....	23
الباب الثانى: نمو الميكروبات باللبن وكيفية إبادتها	25
علاقة الميكروبات باللبن.....	27
التغيرات المرغوبة التى تحدثها ميكروبات اللبن.....	28
التغيرات غير المرغوبة التى تحدثها ميكروبات اللبن	30
الترابط بين ميكروبات اللبن.....	30
نمو الكائنات الحية الدقيقة باللبن.....	33
العوامل المؤثرة على نمو الكائنات الحية الدقيقة باللبن ومنتجاته.....	38
الطرق المختلفة لإبادة الكائنات الحية الدقيقة باللبن.....	47
الضغط.....	48
الحرارة.....	48
الامتحان البعدى.....	59
الباب الثالث: تقسيم بكتيريا اللبن و منتجاته	63
تركيب البكتيريا.....	65
طرق التعرف على البكتيريا.....	68
مصطلحات هامة فى طرق التعرف على البكتيريا.....	70
تقسيم طرق التعرف على البكتيريا.....	70
تقسيم بكتيريا اللبن	80
قبيلة الـ *Firmicutes*	80
قبيلة الـ *Actinobacteria*.....	119
قبيلة الـ *Proteobacteria*.....	132
الامتحان البعدى.....	152
. الباب الرابع: تقسيم فطريات اللبن و منتجاته	165
فطريات اللبن.....	167
تقسيم فطريات اللبن.....	167
أعفان اللبن.....	167

تحت قسم *Deuteromycetes*..... 168
جنس الـ *Aspergillus* 168
جنس الـ *Geotrichum* 169
جنس الـ*Penicillium*..... 171
جنس الـ *Alternaria* 172
تحت قسم *Zygomycotina*..... 173
جنس الـ*Mucor* 173
جنس الـ*Rhizopus* 173
خمائر اللبن..... 175
تحت قسم *Ascomycotina* 176
جنس الـ *Saccharomyces* 178
جنس الـ *Debaryomyces*..... 178
جنس الـ *Kluyveromyces* 179
تحت قسم *Deuteromycotina* 180
جنس الـ *Candida* 180
جنس الـ*Torulopsis* 182
الامتحان البعدى..... 184
الباب الخامس:ميكروبيولوجى البادنات 189
البادنات... 191
وظائف البادنات..... 191
أنواع البادنات المستخدمة فى المنتجات اللبنية..... 191
طرق تنشيط بادىء الإضافة فى مصانع الألبان..... 195
اختبارات جودة بادىء الإضافة..... 198
مشاكل البادنات فى المصانع..... 198
الفاج..... 200
تقسيم الفاج أو البكتيريوفاج أو الفيروسات البكتيرية..... 200
علاقة الفاج أو البكتيريوفاج (الفيروسات البكتيرية) بالبكتيريا..... 202
مقاومة البكتيريا للإصابة بالبكتيريوفاج أو الفاج..... 203
كشف وعد جزئيات البكتيريوفاج..... 203
الوضع التقسيمى للفيروسات..... 204
الوقاية من الفاج 206
الامتحان البعدى..... 207
الباب السادس: ميكروبات اللبن و منتجاته 211

ميكروبات اللبن الخام..... 213
ميكروبات اللبن المبستر..... 217
ميكروبات اللبن المعقم..... 221
ميكروبات الألبان المكثفة المحلاة وغير المحلاة..... 224
ميكروبات الألبان المجففة..... 227
ميكروبات الألبان المتخمرة..... 229
ميكروبات الجبن 242
أهم أنواع الجبن الجاف..... 242
أهم أنواع الجبن نصف الطرى..... 246
أهم أنواع الجبن الطرية..... 249
ميكروبات القشدة والزبد..... 254
القشدة 254
الزبد 256
الامتحان البعدى..... /258
الباب السابع: دور اللبن السائل و منتجاته فى نقل الأمراض 267
دور اللبن و منتجاته فى نقل الأمراض..... 269
الأمراض التى تنتقل من الإنسان المصاب الحامل للميكروب إلى الإنسان أو إلى اللبن 270
الأمراض التى تنجم عن سموم الفطريات والبكتيريا..... 276
الامتحان البعدى..... 284
الباب الثامن: مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام و منتجاته 287
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام و منتجاته..... 289
الإحتياطات الواجب مراعاتها فى معمل ميكروبيولوجيا الألبان..... 289
تنظيف الأدوات والأوانى الزجاجية المستعملة..... 291
الأجهزة والأدوات المستخدمة..... 292
بينات الزرع..... 296
التعقيم..... 297
طرق العد الميكروبي..... 300
العد القياسى بالأطباق..... 300

أخذ نتائج العد القياسى بالأطباق..... 300
الإبرة الحلقية و الطبق 307
العد الأكثر إحتمالاً 308
العد المجهرى المباشر..... 309
العد باستعمال المرشحات الغشائية..... 309
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن الخام..... 310
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المبستر..... 315
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المعقم..... 325
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المكثف المحلى و اللبن المكثف غير المحلى.. 327
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للبن المجفف 329
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للألبان المتخمرة..... 330
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للجبن..... 335
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية القشدة والزبد..... 337
مراقبة الجودة الميكروبيولوجية المثلوجات اللبنية 341

المراجع
المراجع الاجنبية..... 347
المراجع العربية..... 354
المواقع الإلكترونية..... ٣٥٦

مكتبة بستان المعرفة
للطباعة والنشر والتوزيع الالكتروني

1240356
Bibliotheca Alexandrina