وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الأنبار – كلية الزراعة
قسم علوم الاغذية

أحياء الألبان / عملي
المرحلة الثالثة

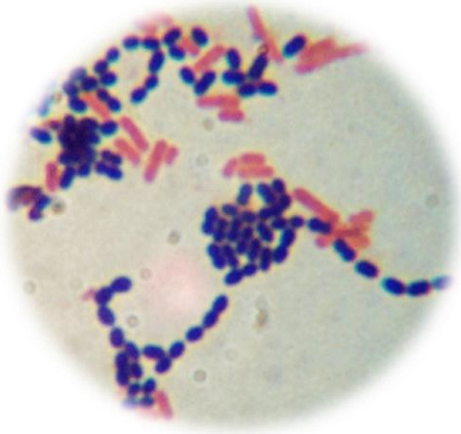
إعداد
م.م. بلال علي خشان
كلية الزراعة-قسم علوم الأغذية

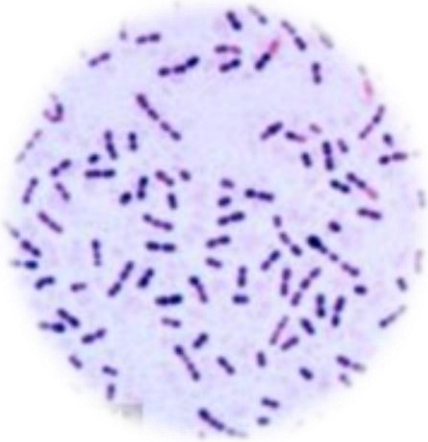
فحوصات بادئ اللبن Dairy Starter Culture Tests

- هناك العديد من الفحوصات التي يمكن إجراءها للبوائ المستخدمة في مجال الألبان :

أولًا – الفحص المجهري (Microscopic Examination)

يُحضر غشاء بكتيري (Smear) للبادئ المراد الكشف عنه ويجري تصبيغه بصبغة كرام للتأكد من نقاوه البادئ المستعمل ، لأن بكتريا البادئ تعد من البكتريا الموجبة لصبغة كرام (G +) ويراعى التأكد من نسبة الباديء المضاف في حالة إستعمال خليط منهما Mixed Culture، أي نسبة الأول إلى الثاني وبالاعتماد على متابعة الخصائص المورفولجية والشكلية ، يمكن التأكد بشكل أولي من الأنواع المستعملة وعدم وجود أنواع غريبة .

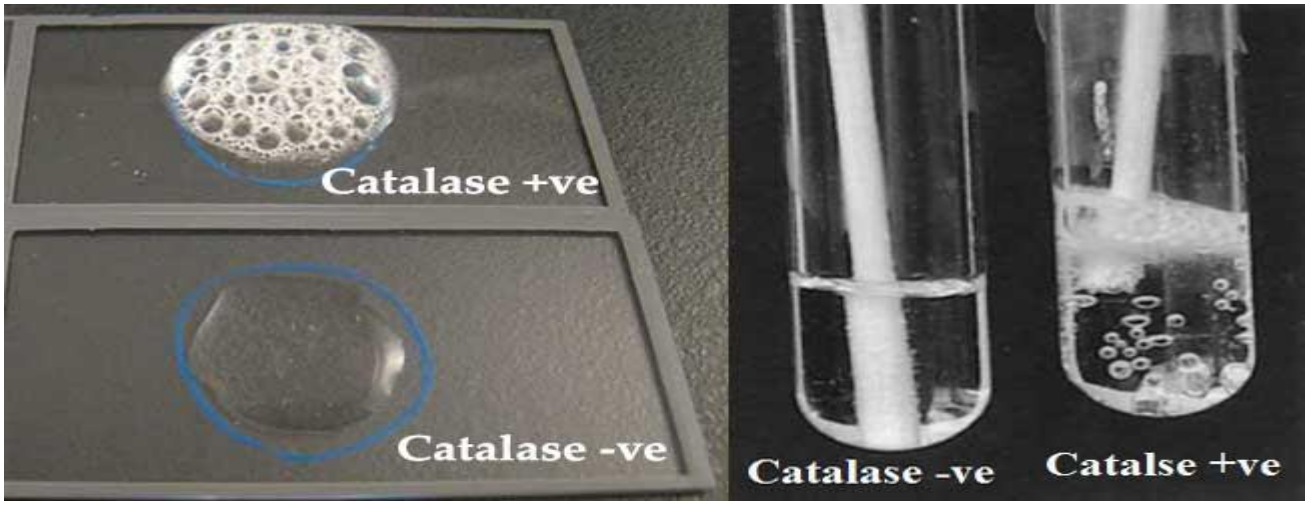




ثانيًا – الفحوصات الكيموحيوية (Biochemical Tests)

تشمل جملة من الفحوص الحيوية المهمة التي تجرى للكشف عن نقاوه بكتريا حامض اللاكتيك المستعملة في منتجات الألبان ومنها :

١- **Catalase Test** : حيث يضاف (١ مللتر) من محلول H_2O_2 (تركيز ٣ %) إلى ٥ مللتر مزرعة البادئ Starter في إنبوبة إختبار معقمة **تُعد بكتريا حامض اللاكتيك سالبة لهذا الفحص** ، فإذا كان التفاعل الموجب أي ظهور فقاعات غازية داخل الأنبوبة يشير إلى تلوث Contamination في مزرعة البادئ .

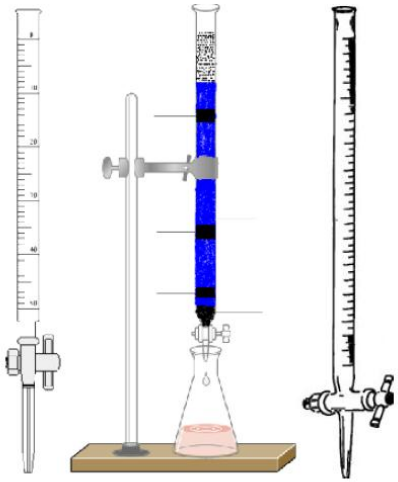


٢- فحص فوكاس - بروسكار Voges - Proskauer (VP) Test :

يُعد هذا الفحص ضمن فحوصات IMViC Test التي ستذكر لاحقاً ، والغاية من هذا الفحص وهو الكشف عن مركبات النكهة Diacetyl التي تنتج بفعل بعض الأحياء المجهرية ويُجري الفحص بالإعتماد على بعض الأوساط الزرعية والكواشف الكيمياوية التي تدل على وجود مركب النكهة من خلال ظهور نتائج لونية خاصة للفحص .

ثالثًا : فحص الفعالية Activity test :

١- يُضاف ١ مللتر من مزرعة البادئ إلى ١٠٠ مللتر من الحليب الفرز المعقم Skim milk، ثم يسخن النموذج في حمام مائي بدرجة حرارة ٣٠ °م أو حرارة الحضن تحدد على أساس درجة الحرارة المثلى النشاط بكتريا البادئ ، لمدة ساعة ونصف.



٢- بعد الحضن في حمام مائي تُقدر الحموضة المتطورة ، بأخذ ٥ مللتر من البادئ (أي من النموذج الذي وضع في الحمام المائي) بعد مرور كل نصف ساعة زمنية ومن ثم يُسحح مع هيدروكسيد الصوديوم NaOH عيارية 0.1 .

$$L.A\% = \frac{ml\ of\ NaoH \times 0.1 \times 0.09}{9} \times 100$$

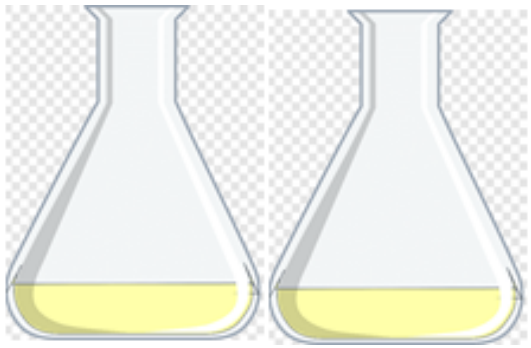
ان تطور الحموضة يُعد مؤشراً على إن البادئ نشطاً وفعالاً ، **أما في حالة عدم تطور اللحموضة فانه يعزي لأحد الأسباب الآتية :**

١- وجود مواد مثبطة في الحليب .

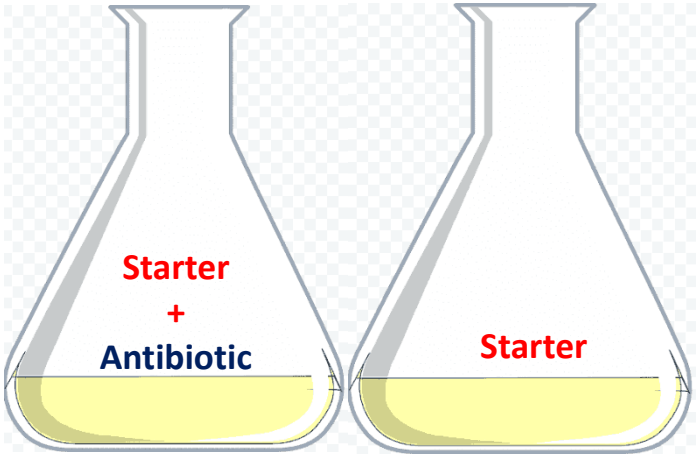
٢-خلايا البادئ ميتة وغير حيوية.

٣-إصابة بكتريا البادئ بالفايروسات (العاثيات البكتيرية Bacteriophages) .

رابعًا : فحص فعالية البادئ أثر وجود المضادات الحياتية Antibiotics ·



١- يؤخذ دورقين ويضع في كل منها ١٠٠ مللتر حليب فرز ثم تعقم بجهاز المؤصدة لتصبح جاهزة للعمل بعد أن تبرد .



٢- تلقح الدوارق بنسبة ٣ % من بكتريا البادئ ، ويضاف ٣ % من مضاد حيوي معين لأحد الدورقين.

٤- وتُحضن حسب درجة حرارة المثلى لنشاط بكتريا البادي ويجري التسحيح كل نصف ساعة ومتابعة تأثير المضاد الحيوي من خلال تطور الحموضة .

خامسًا : الكشف عن العاثيات البكتيرية Detection of bacterial phages:

العاثيات البكتيرية هي نوع من الفايروسات التي تصيب بكتريا البادئ مما تؤثر في حيوية وفعالية البادئ وقد تؤدي إلى تحطيم خلايا البادئ .

١- يؤخذ دورقين ويضع في كل منها ١٠٠ مللتر حليب فرز ثم تعقم بجهاز المؤصدة لتصبح جاهزة للعمل بعد أن تبرد ، ثم يلقح كل دورق بـ ١ مل من البادئ المراد اختباره.

٢- يضاف الى الدورق الأول ١ مل من شرش مخفف بنسبة ١/١٠. (الشرش أحد مصادر العاثيات).

ويضاف الى الدورق الثاني ١ مل من سائل تخفيف الشرش (يعتبر دورق السيطرة)

٤- تحضن بحمام مائي بدرجة حرارة ٣٠م لمدة ساعة ونصف ، وتجرى عملية التسحيح كل نصف ساعة .

٥- النتيجة :

إذا كانت فعالية المزرعة المضاف إليها الشرش أوطأ بأكثر من ١٠% من مزرعة السيطرة فهذا إحتمال أن يكون الشرش حاوي على Phage الذي يؤثر بشكل متخصص على مزرعة البادئ.

خامسًا : الإختبارات المزرعية Cultural Examinations :

أ . تقدير العدد الكلي الحيوي General Viable Count

أي حساب الخلايا التي لها القدرة على الأنقسام والتكاثر وهي نقطة مهمة لأن خلايا البادئ يجب أن تكون خلايا حية ونشطة بهدف الحصول على المنتج اللبني ضمن المواصفات المطلوبة ، ويستعمل لتطبيق هذه الخطوة بوساطة تقنية العد بالأطباق القياسية SPC .

ب . الكشف عن الملوثات Detection of Contaminants

- الكشف عن الأعفان والخمائر : تستعمل الأوساط الملائمة لنموها والتي أشير إليها سابقاً مثل : الوسط الزرعي PDA ويتم الحضن بدرجة حرارة ٢٥°م لمدة ٣ - ٥ يوم .
- الكشف عن أنواع بكتيرية أخرى غير بكتريا البادئ : يستعمل الوسط الزراعي العام Nutrient Agar وتحضن الأطباق هوائيا أو لاهوائيا بدرجة حرارة ٣٢° م لمدة ٣ يوم .
- الكشف عن بكتريا Coliform من خلال الوسط الزرعي MacConkey Agar أو الوسط Violet Red Bile Agar ثم الحضن على درجة ٣٧° م لمدة ٤٨ ساعة .

References

- **الزوبعي،عامر حسين حمدان.(٢٠١٩).** أحياء الألبان المجهرية (العملي).جامعة بغداد.كلية علوم الهندسة الزراعية.قسم علوم الأغذية.

رابط فيديو شرح المحاضرة على اليوتيوب

https://youtu.be/Zq7wUyl9wQA