

الدرس العملي الثالث

دراسة العلاقة التعاونية بين ميكروبات
اليوجورت

الأجهزة والأدوات

- شرائح زجاجية
- إبر تلقيح (Inoculating loops).
- ماصات ميكرولتريّة.
- أسنان ماصات (Tips) معقمة.
- كؤوس زجاجية (Beakers) .
- ماصات حجمها ١٠ مللي ومعها صاحب بلاستيك.
- سحاحات مدرجة.
- جفن صيني بيضاء.
- حضانات كهربية (Incubators).
- جهاز pH-meter .
- مجهر ضوئي.

المواد والمزارع الميكروبية

- لبن فرز مسترجع (١٠% مواد صلبة) معقم سبق توزيعه بمعدل ٢٠٠ مللي في دوارق مخروطية (Flasks) وتدفئته إلى ٤٢°م.
- محلول هيدوكسيد الصوديوم (٩/١ عياري).
- محلول دليل الفينولفيثالين.
- محلول صبغة أزرق ميثالين.
- مزرعة من *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* نمائة في بيئة لبن فرز مسترجع معقم لمدة ١٨-٢٤ ساعة.
- مزرعة من ميكروب *S. thermophilus* نمائة في لبن فرز مسترجع معقم لمدة ١٨-٢٤ ساعة.
- كيس بادئ يوجورت مجفد يحتوي علي مزرعة مختلطة من *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* + *S. thermophilus*

دراسة تأثير النمو المتصاحب لميكروبي اليوجورت علي تخمر اللبن

q باستخدام ماصة ميكرولتريية وسن (Tip) معقم قم بسحب ٤ مللي من مزرعة *S. thermophilus* المنمأة في اللبن وقم بتلقيحها في أحد الدوارق المخروطية المحتوية علي ٢٠٠ مللي لبن فرز مسترجع معقم ودافئ (٢٤°م) (س: كم تكون نسبة الإضافة إذن؟)، وكرر نفس الخطوة بتلقيح ٤ مللي من مزرعة *Lb. subsp. bulgaricus* في دورق مخروطي آخر .

q قم بتلقيح ٢٠٠ مللي لبن فرز مسترجع معقم في دورق مخروطي ثالث بحجم ٢ مللي من مزرعة *S. thermophilus* وكذلك بحجم ٢ مللي من مزرعة *Lb. bulgaricus .subsp*

- قم بمزج الدوارق جيداً وذلك بالرج الهين، ثم قم بسحب عينة مقدارها ٢٠ مللي من كل دورق باستخدام الماصة والساحب البلاستيك وضع كل عينة في كأس زجاجي، ثم قم بالتحضين علي ٤٢°م لمدة ثلاثة ساعات (يمكن التحضين لأكثر من ذلك ولكن تذكر أن مدة الدرس العملي هي أربعة ساعات فقط- لعلك تتمني لو كان أقصر من ذلك!!).
- تؤخذ عينة (٢٠ مللي) من كل دورق وذلك كل ساعة أثناء التحضين وتنتقل أيضاً إلي الكؤوس الزجاجية لتقدير النسبة المئوية للحموضة ودرجة pH.
- يتم نقل ١٠ مللي من كل عينة إلي جفنة صيني ويضاف إليها دليل الفينولفثالين ثم يتم تقدير الحموضة كما فعلت في الدروس العملية لمقرر حفظ الأغذية بالصف الثاني وكذلك بمقرر اللبن السائل ومعاملاته بالصف الثالث.
- يتم قياس درجة pH اللبن بغمس الالكتروود المتصل بجهاز pH-meter في ال ١٠ مللي المتبقية من العينة في الكأس الزجاجي ثم أخذ القراءة.

قم بحساب النسبة المئوية للحموضة وسجلها وكذلك
درجة pH المزارع المختلفة في الجدول التالي:

<i>.thermophilus . S</i> <i>Lb. subsp +</i> <i>bulgaricus</i>		<i>.subsp .Lb</i> <i>bulgaricus</i>		<i>S. thermophilus</i>		المزرعة
pH	الحموضة %	pH	الحموضة %	pH	الحموضة %	الوقت
						بعد التلقيح مباشرة بعد ساعة بعد ساعتين بعد ٣ ساعات

تأثير درجة حرارة التحضين علي تطور الحموضة والنسبة بين ميكروبي اليوجورت عند تخمر اللبن.

قم بتلقيح ثلاثة دوارق مخروطة محتوية علي ٢٠٠ مللي لبن فرز مسترجع معقم بكميات متساوية مناسبة من مسحوق بادئ اليوجورت المجفد وذلك تحت ظروف معقمة، مع مراعاة أن يكون قد سبق تدفئة اللبن في أحد الدوارق إلي 38°C وفي الآخر إلي 40°C وفي الثالث إلي 42°C ، ثم إمزج المسحوق جيداً بالرج الهين للدوارق.

قم بسحب ٢٠ مللي كل دورق لبن باستخدام الماصة والساحب البلاستيك وضع كل عينة في كأس زجاجي، ثم قم بالتحضين علي درجات الحرارة السابقة لمدة ثلاثة ساعات مع أخذ عينات (٢٠ مللي) كل ساعة أيضاً لتقدير الحموضة ودرجة pH كما سبق توضيحه عالية.

q عند أخذ العينات تؤخذ أيضاً لمسات من المزارع علي درجات الحرارة المختلفة وذلك لفحص نسبة البكتريا الكروية إلي العسوية وذلك كما يلي :

● يتم فرد اللسة علي سطح الشريحة الزجاجية وتترك لفترة حتى تجف ثم يتم تثبيت الغشاء بإمراره علي اللهب ٢-٣ مرات.

● يصبغ الغشاء بصبغة أزرق الميثيلين لمدة دقيقة ثم يغسل بالماء للتخلص من الصبغة الزائدة، وإذا لوحظ أن الغشاء يكون غامقاً لدرجة قد لا تسمح بتمييز ما عليه من ميكروبات عند فحصه بالمجهر فيمكن أن تغسل الصبغة بحرص بإمرار نقاط قليلة من الكحول الايثيلي (٩٥%) علي الشريحة، ثم تجفف الشريحة وتفحص بالعدسة الزيتية بعد وضع نقطة من زيت السيدر عليها.

تحدد نسبة الخلايا الكروية *S. thermophilus* إلى الخلايا
العصوية *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
في كل حقل يتم فحصه

٤٢°م			٤٠°م			٣٨°م			حرارة التحضين
الكرويات: العصويات	pH	%ح	الكرويات: العصويات	pH	%ح	الكرويات: العصويات	pH	%ح	الوقت
									بعد التلقيح مباشرة بعد ساعة بعد ساعتين بعد ٣ ساعات