

## دور بعض انواع البكتيريا الهوائية المكونة للابوااغ الالفة للبرودة

### في فساد الحليب الخام

\* معتز عبد الواحد عبد المنعم    \*\* نجم هادي الخزرجي    \*\*\* عمار ابراهيم علي سلطان

\* الشركة العامة لمنتجات الالبان    \*\* كلية الطب البيطري/جامعة بغداد

\*\* كلية الطب البيطري/جامعة بغداد

### الخلاصة

استهدفت الدراسة عزل بعض انواع البكتيريا الالفة للبرودة من الحليب الخام وتشخيصها وتحديد العزلة المحلية السائدة مع دراسة اثر عمليات الخزن عند (7)°م في الاعداد الجرثومية ل(100) عينة من الحليب الخام المجمع من اربعة مصادر (المرشحات، المحطات، الاحواض والحاويات) بعد المعاملة الحرارية (80 °م لمندة 12 دقيقة) وبظروف الخزن بالتبريد (7) °م لمدد متعددة (0، 7، 14، 21) يوماً. حدد العدد الكلي للجراثيم في الحليب الخام باتباع طريقة العد الهوائي بالاطباق ثم قورنت باعداد الجراثيم الالفة للحرارة المتوسطة لمندة (0، 7) ايام من الخزن، كما قورنت باعداد الجراثيم الالفة للبرودة للمدد (0، 7، 14، 21) يوماً من الخزن. تبين انه كلما ازداد العد الهوائي بالاطباق قبل المعاملة الحرارية، ازداد عدد الجراثيم الالفة للحرارة المتوسطة في اليوم (0، 7) من الخزن بعد المعاملة الحرارية واقتصرن بأزيدiad اعداد الجراثيم الالفة للبرودة خلال مدد الخزن (0، 7، 14، 21) يوماً عند (7) °م . تبين ان اعداد الجراثيم الالفة للبرودة كانت اقل من (10) cfu/ml في (59%) من العينات وذلك مباشرة بعد المعاملة الحرارية ولكن بعد مرور (21) يوماً من الخزن عند (7) °م كان العدد اكثراً او يساوي (10<sup>5</sup> cfu/ml) في (79%) من العينات. اكدت النتائج ان جراثيم Bacillus cereus و Bacillus mycoides هي الجراثيم السائدة في الحليب المعامل بالحرارة والمخزن بالتبريد . اتضح ان الجراثيم الالفة للبرودة في الحليب المعامل بالحرارة والمخزن بالتبريد هي المسؤولة عن عيوب فساد النكهة مثل النكهة (المرة والقديمة والمتزخرة والتالفة) والعيوب الفيزيائية اذ تكون التخثر الحلو في (70%) من العينات بعد مرور (21) يوماً من الخزن عند (7) °م. كما ان معظم جراثيم B.cereus الالفة للبرودة لها القابلية على انتاج انزيمات البروتينيز واللابينيز واللسيثينيز فضلاً عن الذيفانات المحللة لكريات الدم الحمراء (Haemolysin) مما يشير الى اهميتها في تلف وفساد الحليب ومنتجاته المخزنة في التبريد والتي تضع منه وخطورتها على الصحة العامة.

## Role of some psychrotrophic aerobic sporeforming bacteria in spoilage of raw milk

### Summary

This study was planned to isolated and identify some psychrotrophic aerobic sporeforming bacteria from raw milk and determine the predomenant isolate.

Microbiological estimations were performed for (100) raw milk samples collected from four sources (filters, stations, bulk tanks and milk containers) and for the same samples after heat treatment at 80°C for (12) minutes and upon subsequent storage at (7)°C for 0,7,14 and 21 days.

The Aerobic plate count (APC) was determined and the total bacterial count were compared with each of the mesophilic sporeformer count (MSFC) at (0) & (7) days of storage & the psychrotrophic sporeformer count (PSFC) upon storage at (7)°C for 0,7,14 and 21 days. Positive relationship existed between the increase in (APC) before heat treatment & the increase in (MSFC) at (0) or (7) days or (PSFC) at 0,7,14 & 21 days of storage at 7°C. Immediately after heat treatment at (80)°C for 12 minutes 59% of the samples had psychrotrophic sporeformer counts of <10 cfu/ml, but after (21) days of storage at (7)°C, 79% of the samples had counts of > 10<sup>5</sup> cfu/ml.

Bacillus cereus and Bacillus mycoides were identified as the predominant psychrotrophic sporeformers in the heated milk, stored at 7°C.

The results confirmed that growth of heat-resistant psychrotrophic sporeforming organisms co-incide with spoilage of heated milk, and was a higher than of the normal pasteurization temperatures or longer time which enhanced the

germination of these spores. psychrotrophic sporeformers have been shown to be responsible for such off-flavors (bitter, stale, rancid and putrid) of heated milk stored at (7)°C for (21) days, and sweet curdling observed in 70% of the samples in the forms of "buttons" at the bottom of the containers after (21) days of storage at (7)°C.

Most of the isolated psychrotrophic *B. cereus* were able to produce proteinase, lipases and lecithinase enzymes beside the haemolysin.

It was concluded that the number of (PSFC) in raw milk apparently depends upon the sanitary conditions prevailing during production and upon time and temperature of milk storage before processing.

## المقدمة

يعد حليب الأبقار وسطاً غذائياً نموذجياً لنمو وتكاثر الجراثيم التي تسبب تلف الحليب ومنتجاته لاحتوائه على العناصر الغذائية كافة (1). اظهرت البحوث ان (75-80%) من مشاكل الصلاحية للحليب السائل تظهر بسب التلوث بعد عملية البسترة وانه (20-25%) من المشاكل تظهر بسب الاحياء المجهرية التي تقاوم عمليات البسترة (2). ان قسماً من هذه الاحياء المجهرية التي تقاوم عمليات البسترة هي الجراثيم المكونة لابواغ والالفة للبرودة والتي لها القابلية على التكاثر في درجات حرارة الثلاجة في الحليب الخام والمبستر وان ابواغها تقاوم عمليات البسترة ومن هنا تبرز اهمية تعين وجودها وتقدير اعدادها بالسرعة الممكنة لمعرفة فيما اذا كان الحليب ملوثاً بها بشدة ومعرفة سبب التلوث وكيفية الحد منه (3). من المصادر الشائعة للتلوث الحليب هي ادوات الحقل الملوثة والهواء والغبار والماء والحبوب والنشا. تسبب هذه الجراثيم انواعاً مختلفة من فساد النكهة والمشاكل الفيزيائية كما ان العديد منها تفرز انزيمات تقاوم درجة حرارة البسترة مؤدية الى تلف الحليب المخزن والمعد للتصنيع كما ان قسماً منها تكون ممرضة.

## المواد وطرق العمل

جمعت (100) عينة من الحليب الخام من احواض ومرشحات مركز جمع وتبrierd الحليب لقرية الذهب الابيض في مدينة بغداد من حاويات المزارعين ومجهزي الحليب الواردة للمركز ومن حليب محطة الدجيلة (المحطات) الوارد الى سائلات الشركة العامة لمنتجات الابان في بغداد وبواقع (25) عينة لكل موقع من الواقع الاربعة. كان حجم كل عينة (700) ملليلتر وقد جمعت بطريقة معقمة للمدة بين بداية شهر مايس 1999 ولغاية نهاية شهر اب ومن بداية شهر تشرين الثاني لغاية نهاية شهر شباط 2000. بعد وصول العينات الى المختبر، رُجت للمجازنة. وزعت تحت ظروف معقمة بواقع (100) ملليلتر على (7) قناني معقمة محكمة الغطاء ثم جرى تقدير العدد الكلي للمستعمرات في كل (1) ملليلتر من الحليب الخام للفئنة الاولى من كل عينة للتعرف على مدى التلوث الجرثومي لعينات الحليب الخام قبل المعاملة الحرارية وبأتباع طريقة الصب بالاطباق وحسب ما جاء في (4). اما القناني الى (6) المتبقية فقد وضعت في حمام مائي عند (80) ° م لمدة (12) دقيقة للقضاء على الخلايا الخضرية. بردت الى (10) ° م بغيرها مباشرة في حمام مائي حاو على الثلوج وزُرعت القناني الاربعة المتبقية الى (4) مجامي وعلى النحو الاتي اما الاخير فقد تركت للاحتياط.

المجموعة الاولى: اعطيت الرمز (صفر) يوم اذ فحصت مباشرة في اليوم نفسه الذي جلبت فيه باستخدام الفحوصات في ادناء ويزرعها على وسط اكار العد القياسي بالاطباق المضاف له (0.1%) نشا ذاتي لتشجيع انبات (Germination) الايواخ.

(1) **عد الابواغ الالفية للحرارة المتوسطة : Mesophilic Sporeformer Count (MSFC)**  
حضرت الاطباق هوانيا عند ( $1 \pm 32$ ) م لمندة (48) ساعة .

(2) **عد الابواغ الالفية للبرودة : Psychrotrophic Sporeformer Count (PSFC)**  
حضرت الاطباق عند ( $7 \pm 1$ ) م / (10) ايام (4.5). نقل حجم ناقل جرثومي من كل قنينة ذات الرمز (صفر) يوم وزرعت على وسط اكار الدم ثم حضنت عند ( $1 \pm 32$ ) م لمندة (24) ساعة ، سجلت الصفات الشكلية للمستعمرات ونمط تحلل الدم. اجرى الفحص المجهري للمستعمرات بعد صبغها بصبغة كرام للتعرف على اشكال الخلايا وترتيبها. زرعت على وسط الاكار المغذي المائل. حفظت في الثلاجة كونها عزلات الفة للحرارة المتوسطة لحين اجراء الاختبارات التشخيصية.

**المجموعة الثانية:** اعطيت الرمز (7) ايام اذ حفظت النماذج في الثلاجة عند (7)<sup>0</sup> م لمندة (7) ايام . فحص عدد الابواغ الالفة للحرارة المتوسطة والالفة للبرودة بالطريقة السابقة نفسها.

**المجموعة الثالثة:** اعطيت الرمز (14) يوماً اذ حفظت في الثلاجة عند (7)<sup>0</sup> م لمندة (14) يوماً . فحص عدد الابواغ الالفة للبرودة . اجريت الفحوصات الحسية على الحليب المخزن وجرى تذوق العينات من قبل ثلاثة من ذوي الاختصاص.

**المجموعة الرابعة:** اعطيت الرمز (21) يوماً اذ حفظت العينات في الثلاجة عند (7)<sup>0</sup> م لمندة (21) يوماً . فحص عدد الابواغ الالفة للبرودة اجريت فحوصات تقويم النكهة مع ملاحظة العيوب الفيزيائية التي قد تكون موجودة كترسبات من التخثر الحلو في قعر قناني الحليب .

### **عزل الجراثيم المكونة للأبوااغ والالفة للبرودة وتشخيصها:**

ال نقطت المستعمرات المختلفة الاشكال النامية على الاطباق المحضونة عند (1±7) ٠ م لمندة (10) ايام وزرعت على وسط اكار الدم لغرض تقيتها . حفظت عند (21) ٠ م لمندة (48-24) ساعة . فحصت الصفات الشكلية للمستعمرات ونمط تحلل الدم . صبغت بصبغة كرام وفحصت تحت المجهر للتعرف على اشكال الخلايا وتربيتها . زرعت على وسط مائل وحفظت في الثلاجة كونها عزلات اللفة للبرودة بعد تسجيل رقم وتاريخ العينة لحين اجراء الاختبارات التشخيصية . (6، 7).

**الاختبارات التشخيصية:** اجريت حسب ما ورد في كل من (8، 9، 10، 11، 12).

شملت الفحوصات المظهرية والمجهرية والكميobiوـية وفحص اختبار انزيم اللسيثينز باستخدام وسط اكار مح البيض . الكشف عن قابلية الجراثيم الالفة للبرودة على افراز انزيمي البروتينز واللايبيرز

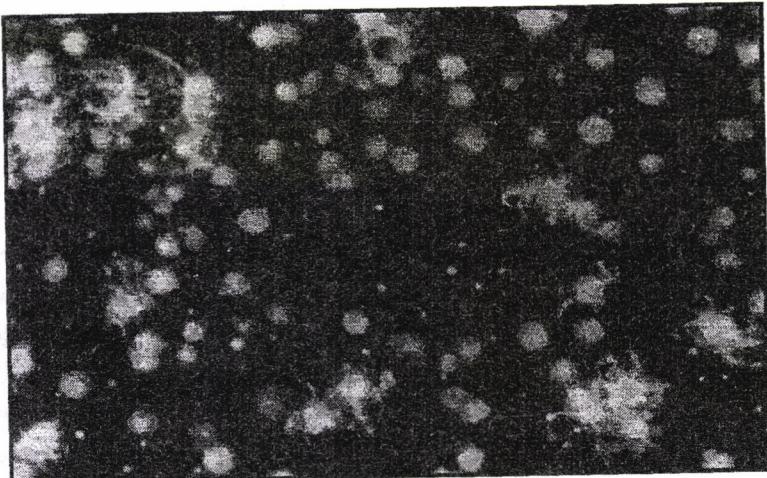
1) انزيم البروتينز : جرى الكشف عن الجراثيم المحللة لبروتين الحليب باستخدام وسط اكار الحليب الفرز وحسب ما جاء في (4) .

2) انزيم اللايبيرز : جرى الكشف عن الجراثيم المحللة لدهن الحليب باستخدام وسط اكار تحلل الدهون وحسب ما جاء في (4) .

**التحليل الاحصائي:** اجري حسب ما ورد في (13).

## النتائج

هناك نوعين من المستعمرات تواجدت بكثرة في الأطباق المحضونة عند (7) ° م لمندة (10) أيام وقد سُمِّيت كونها جراثيم B. mycoides و B. cereus. تميزت مستعمرات B.cereus بكونها مسطحة وجافة وأحياناً شفافة إلى كريمية بيضاء اللون مع حافات غير منتظمة، محللة لاكار الدم كما تحلل اللسيتين ولا تخمر المانitol أما مستعمرات B.mycoides فقد تميزت بنموها الجذري (Rhizoid growth) على وسط الأكار المعذى (صورة 1-1).



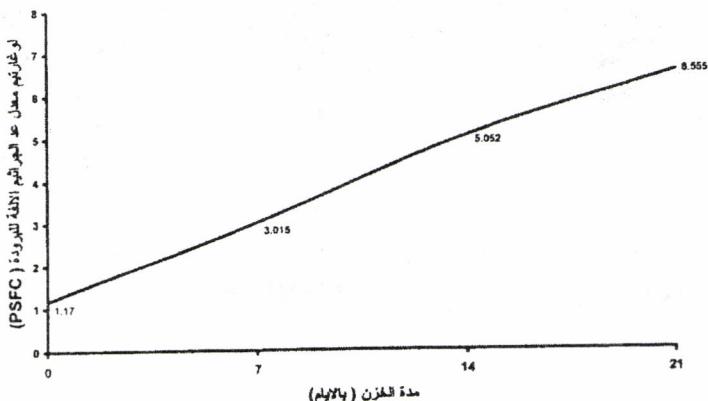
صورة رقم (1) جراثيم Bacillus cereus و Bacillus mycoides الالفة للبرودة على وسط العد القياسي بالأطباق الحاوي على %0.1 نشا ذائب (Modified spc Agar) بعد الحضن عند درجة حرارة (1 ± 7) ° م لمندة (10) يوماً. جرثومة B. mycoides تميز بالنمو الجذري لمستعمراتها. جرثومة B. cereus دائمة، مسطحة، جافة، شفافة إلى كريمية بيضاء اللون مع حافات غير منتظمة.

دللت نتائج العزل والتشخيص أن أهم الاجناس السائدة من الجراثيم الالفة للبرودة في هذه الدراسة هي B.cereus وقد عزلت بنسبة (38%) وتلتها B.mycoides بنسبة (29%) وبالنسبة للجراثيم الالفة للحرارة المتوسطة فإن أهم الجراثيم السائدة كانت B.Licheniformis عزلت بنسبة (56%) و B.subtilis عزلت بنسبة (40%). كما بينت النتائج أن التعداد الابتدائي للجراثيم الالفة للبرودة بعد المعاملة الحرارية قد تراوح بين حد ادنى مقداره أقل من (10) cfu/ml وحد أعلى مقداره (169) cfu/ml وبمعدل لجميع العينات مقداره (29) cfu/ml وهذا ما يؤشر على الظروف الصحية غير الجيدة للإنتاج لهذا

نوصي ان يكون التعداد الابتدائي للجراثيم الالفة للبرودة اقل من ( $10\text{cfu/ml}$ ) بعد المعاملة الحرارية مباشرة (14) كما اوضحت النتائج انه بعد المعاملة الحرارية مباشرة فأن (59%) من العينات كانت اعداد الجراثيم الالفة للبرودة اقل من ( $10\text{ cfu/ml}$ ) ، ولكن بعد مرور (21) يوما من الخزن عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) فان (79%) من العينات كانت اعداد الجراثيم الالفة للبرودة فيها اكثرا او يساوي  $10^5 \text{cfu/ml}$  (جدول 1).

كما بینت النتائج زيادة معدلات اعداد الجراثيم المكونة للأبوااغ والالفة للبرودة مع زيادة مدة الخزن عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) لعينات حليب (المرشحات، المحيطات، الأحواض والحاويات) بعد اخذ المعدل اللوغاريتمي لـ (100) عينة (شكل 1).

التلف الفيزياوي مع تقويم النكهة: بینت النتائج ان الجراثيم الالفة للبرودة هي المسؤولة عن عيوب فساد النكهة للحليب المُعامل بالحرارة والمخزن بالتبريد، اذ بعد مرور (21) يوما من الخزن عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) سكب الحليب من القاني المخزنة ذات الرمز (21) يوما للاحظة وجود او انعدام ترسبات من التخثر الحلو في قعر القاني. كما جرى تقويم نكهة الحليب اعتمادا على الصفات الحسية عن طريقة التذوق من قبل محكمين مختصين عدد ثلاثة (4). وبالاعتماد على نتائج الفحص الجرثومي وبعد تحويل مواصفات تقويم العيوب الفيزياوية ومواصفات تقويم النكهة الى ارقام دالة تبين انه كلما تزداد معدلات اعداد الجراثيم المكونة للأبوااغ والالفة للبرودة في اليوم (21) من الخزن عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) لحليب المرشحات والمحيطات والاحواض والحاويات يزداد تكون التخثر الحلو في قعر قاني الحليب (جدول 2).



(شكل 1) التغير في اعداد الجراثيم المكونة للأبوااغ والالفة للبرودة مع مدة الخزن عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) المعدل اللوغاريتمي لـ (100) عينة من حليب المرشحات ، المحيطات ، الأحواض والحاويات

جدول (1) جدول (1) من اربعة مصادر قبل وبعد المعاملة

للوغاریتم معدلات الاعداد الجرثومیة مع الخطأ القياسي لعينات الحليب المجمع من اربعة مصادر قبل وبعد المعاملة الحرارية و على طول مدد الحزن (0 و 7 و 14 و 21) يوماً عند درجة حرارة (7) °م.

العنوان	لوغاریتم معدل الاعداد الجرثومیة مع الخطأ القياسي بعد القباسی		لوغاریتم معدل الاعداد الجرثومیة مع الخطأ القياسي بالتطبيق بالخطيب الخام Initial (APC)		العنوان	لوغاریتم معدل اعداد الجراثيم المكونة للبوياغ بعد المعاملة الحرارية للحليب عند (80) °م	
	بعد (21) يوم	بعد (14) يوم	بعد (7) يوم	بعد (0) يوم		بعد (7) يوم	بعد (0) يوم
الارتفاع الحراري (PSFC)	الارتفاع الحراري (PSFC)	الارتفاع الحراري (PSFC)	الارتفاع الحراري (PSFC)	الارتفاع الحراري (MSFC)	الارتفاع الحراري (MSFC)	الارتفاع الحراري (MSFC)	الارتفاع الحراري (MSFC)
6.88± 3.47	5.51± 4.22	3.61± 3.32	5.94± 4.49	1.19± 0.41	5.14± 3.73	7.47± 3.88	25
6.39± 2.69	5.15± 3.66	2.87± 2.41	3.68± 2.30	1.27± 0.64	2.31± 0.59	4.40± 0.64	25
6.90± 3.67	4.71± 3.39	2.57± 2.03	5.11± 3.73	1.14± 0.49	4.52± 3.20	7.37± 3.77	25
6.05± 2.54	4.84± 3.44	3.01± 2.83	5.20± 3.51	1.08± 0.39	4.93± 3.64	6.83± 2.50	25
						100	المجموع

جدول (2) تقويم العيوب الفيزياوية في اليوم (21) من الخزن عند (7) م ومقارنتها مع اعداد الجراثيم المكونة للابواغ والالفة للبرودة لحليب (المرشحات والمحطات والاحاض والحاويات).

الارقام الدالة	العيوب الفيزياوية sweet curdling	معدل عدد الجراثيم المكونة للابواغ والالفة للبرودة (PSFC)
1	++	6.955
2	+	5.997
3	-	4.843

++ : Severe sweet curdling

+ : Slightly sweet curdling

- : No sweet curdling

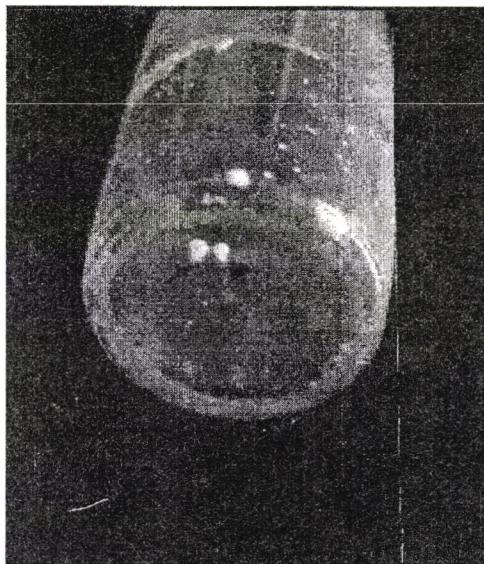
كما لوحظ ان النكهة القديمة والحلوة تمثل بان تكون لها علاقة مع العينات التي تمتلك عد لجراثيم الالفة للبرودة اقل من مليون cfu/ml اما العينات التي تمتلك تعداد يتراوح بين (5-1) مليون cfu/ml فقد تميزت فيها بكونها قديمة مع القليل من المرارة وعند زيادة اعداد الجراثيم عن (5) مليون cfu/ml ظهرت النكهة المرارة والراحة الفاسدة لقسم منها (جدول-3) علما ان الحليب الطبيعي الطازج يتميز بالحلوة القليلة حيث ان سكر اللاكتوز هو اقل انواع السكريات حلاوة واذابة بالماء كما يتميز بالملوحة الخفيفة (15).

جدول (3) تقويم النكهة في اليوم (21) من الخزن مع اعداد الجراثيم المكونة للابواغ والالفة للبرودة عند درجة حرارة (7) م لحليب (المرشحات والمحطات والاحاض والحاويات).

الارقام الدالة	تقويم النكهة Flavor Evaluation	عدد الجراثيم المكونة للابواغ والالفة للبرودة (PSFC)
1	النكهة القديمة والحلوة Stale & Sweet flavor	اقل من $10^6$
2	النكهة القديمة مع قليل من النكهة المرارة Stale & slightly bitter	$10^6 - 10^6$
3	نكهة المرارة Putrid Odour	اكثر من $10^6$

دللت النتائج على تكون التكثير الحلو في قعر قناني الحليب المخزن في (7) م بنسبة (70%) من مجموع عينات الحليب المفحوصة لمصادر عينات الحليب الاربعة وذلك بعد مرور (21) يوما من الخزن المبرد اذ يتكون هذا في الحليب المعامل بالحرارة بسبب انتاج

العصيات الهوائية وبشكل خاص جراثيم *B. cereus* الالفية للبرودة لانزيم مشابه لعمل انزيم الرنين يعمل على ترسي الكايزين وتكون ترببات من التخثر الحلو في قعر قناني الحليب (صورة-2-أب) ومن دون حموضة ظاهرة او مع حموضة قليلة جدا (15).



(أ) صورة رقم (2) أ و ب ترببات التخثر الحلو Sweet-curdling buttons في قعر القناني بعد خزن الحليب المعامل بالحرارة ( $80^{\circ}\text{C}$  لمدة 12 دقيقة) في الثلاجة عند درجة حرارة ( $7^{\circ}\text{C}$  لمدة 21 يوماً.

## المناقشة

ان طريقة العد الهوائي بالاطباق تعتبر طريقة زرع معتمدة وشائعة لفحص الحليب لغرض تحديد العدد الكلي الحي للجراثيم الهوائية. (5، 16). بينت النتائج في الجدول (1) وجود علاقة ارتباط موجبة بين معدلات العد الهوائي بالاطباق (الابتدائي) Initial APC و للمilk قبل المعاملة الحرارية مع معدل عد الجراثيم الالفية للبرودة في اليوم (21) من الخزن عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) م وكذلك وجود علاقة ارتباط موجبة مع معدلات اعداد الجراثيم الالفية للحرارة المتوسطة (MSFC) لليام (0 و 7) من الخزن. كما وجدت علاقة ارتباط موجبة بين معدلات العد الابتدائي للجراثيم الالفية للبرودة (Initial PSFC) في اليوم (صفر) من الخزن بعد المعاملة الحرارية مباشرة مع معدلات اعداد الجراثيم الالفية للبرودة (PSFC) لمدد الخزن (7، 14، 21) يوماً لعينات الحليب المخزن في الثلاجة عند ( $7^{\circ}\text{C}$ ) م. عموماً يمكن القول ان الحليب السائل المعامل بالحرارة ( $80^{\circ}\text{C}$ /12 دقيقة) والمبرد الى ( $7^{\circ}\text{C}$ ) م هو وسط جيد لنمو الجراثيم الالفية للبرودة وتكتاثرها وبشكل خاص جراثيم *B.cereus* (17) لذا نوصي بأسهالاك الحليب المعامل بدرجة حرارة البسترة والمخزن بالثلجة المنزلية عند (7)

<sup>٠</sup> خلال مدة اقل من (7) ايام وعدم خزنها لمدة اطول اذ ان المعاملة الحرارية تساعد على انبات الابواغ ومن ثم نموها الى الخلايا الخضرية عند التخزين لمدة طويلة كما نوصي بأن تكون درجة حرارة الثلاجة اقل من (7)<sup>٠</sup> م عند خزن الحليب ومنتجاته(14). كما تبين ان هنالك علاقة ارتباط بين اعداد الجراثيم الافلة للبرودة في اليوم (21) من الخزن مع تكون التخثر الحلو وكذلك مع نكهة الحليب في اليوم نفسه وهذا يعني انه كلما تزداد اعداد الجراثيم الافلة للبرودة كلما يزداد احتمال تكون التخثر الحلو في قعر قناني الحليب المخزن لغاية (21) يوماً عند درجة حرارة (7)<sup>٠</sup> م كذلك يزداد ظهور النكهة التالفة إذ ان زيادة الاعداد الجرثومية يعني زيادة احتمال ظهور الجراثيم الافلة للبرودة المنتجة للانزيم المشابة للرنين مثل *B.. mycoides*, *B.. cereus*. ومن ثم زيادة تكون التخثر الحلو وظهور النكهة التالفة وبالتالي اخفاض مدة صلاحية الحليب المخزن بالتبريد. يمكن القول ان تكون التخثر الحلو في قعر قناني الحليب المخزن لمدة (21) يوماً عند (7)<sup>٠</sup> م يعتمد بدرجة كبيرة على اعداد الجراثيم الافلة للبرودة بعد المعاملة الحرارية وبشكل خاص على الاعداد في اليوم (21) من الخزن اكثر من اعتماده على عدد الجراثيم في العد الهوائي بالاطباق للحليب الخام قبل المعاملة الحرارية هذا فضلا عن اعتماده على نوع *-Bacillus-*(Bacillus) فيما اذا كانت من النوع المنتج للانزيم المشابة للرنين من عدتها (18). ان الجراثيم الهوائية المكونة لابواغ تشكل نسبة قليلة لا تتجاوز (10-12%) من الفلورا للحليب الخام (1)، ولكن ظروف الخزن بالتبريد عند (7)<sup>٠</sup> م ساهمت في زيادة اعدادها وبشكل خاص الافلة للبرودة منها (17) إذ اوضح الشكل (1) زيادة اعداد الجراثيم مع زيادة مدة الخزن لأن انزيمات الجراثيم تبقى فعالة في درجات الحرارة المنخفضة مما يؤدي الى استمرار نموها وتكرارها مع توفر كل متطلباتها التغذوية فضلا عن الاس الهيدروجيني المناسب للنمو (5). كما انها تكون متكيفة اصلا للنمو في درجات الحرارة المنخفضة ويساعدها في ذلك ارتفاع نسبة الاحماض الدهنية غير المشبعة في اغشية خلاياها اضافة الى ان هذه الدهون لا تتصلب في درجات الحرارة المنخفضة لذا فان انتقال المواد عبر اغشية الخلايا يبقى مستمرا تحت ظروف الخزن المبرد هذه (17) لهذا تزداد الاعداد الجرثومية مع الخزن. اوضحت النتائج ان جميع عزلات *B.cereus* الافلة للبرودة كانت منتجة لانزيمات البروتينز والسيتيز ومحللة لاكار الدم وان معظمها كان منتجا لانزيم اللايبيريز وان مثل هذه العزلات السائدة والمنتجة لهذه الانزيمات يمكن ان يؤدي دوراً مهماً في فساد الحليب ومنتجاته (15) التي تصنع منه وتخزن بالتبريد عن طريق تحلل بروتين الحليب (الكايزين) (بواسطة انزيم البروتينز وتكون البكتيريات والتي تعطي الطعم المر للحليب ومنتجاته وتجعله غير صالح للاستهلاك او للتصنيع وكذلك انزيم اللايبيريز الذي يحلل دهن الحليب مؤديا الى تكون كايسيرول واحماض دهنية ذات سلاسل قصيرة مما يسبب ظهور النكهة المتزنة في الحليب ومنتجاته التي تخزن لمدة طويلة في التبريد (19) وهذا يشير الى اهمية الجراثيم . الافلة للبرودة وبشكل خاص جراثيم *B.. cereus* في تلف وفساد الحليب السائل المخزن بالتبريد ومنتجات الالبان التي تصنع منه وخطورتها على الصحة العامة من خلال انتاجها للذيفان المعاوي ( Enterotoxin) وحصول حالات التسمم الغذائي (20 ، 21).

## Reference

1. الرجب، وفاء جاسم والقزاز، حسن محمد علي (1982)، اسasيات علم الاحياء لمجهرية الغذائي، مترجم، مطبعة جامعة الموصل.
2. Bodyfelt, F. W. (1980). Heat resistant psychrotrophs affect quality of fluid milk. *J. Dairy Record.* 81(3): 96-98.
3. Mikolajcik, E. M. & Simon, N.T. (1978). Heat resistance psychrotrophic bacteria in raw milk and their growth at 7oC. *J. Food Protect.* 41: 93-95.
4. Marth, E. H. (1978), Standard Methods for the examination of Dairy products. 14th., Ed., American public Health Association: 416.
5. Kraft., A. A. (1992). Psychrotrophic Bacteria in Foods: Disease and Spoilage. CRC press, INC. U.S.A.
6. Norris, J. R.; Ribbons D.W. (1969). Methods In Microbiology. Vol. 3B. Academic press INC. London. LTD., :163.
7. Buchanan, R.E. & Gibbons, (1984). Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9th. Ed. The Williams & Wilkins Comp. Baltimore.
8. Mac Faddin, Jean, F. (1976). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. Md. U.S.A.
9. Cowan, S. T. and steel, K. J. (1979). Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd. Ed. Combridge University press. London.
10. Parry, J. A.; Turnbull, P.C.B. & Gibson, J. R. (1983). A colour Atlas of *Bacillus* species, Wolfe Medical publications, Ltd. England.
11. Claus, D. and Berkeley, R.C.W. (1986). Genus *Bacillus* Chohn. 1972. In "Bergey's Manual of systematic Bacteriology". (sneath, N. S. Mair; sharp, M. E. & Holt, J.G. Eds.).(vol.2).Williams and Wilkins, Baltimore. pp.1105-1139.
12. ISO/7932. (1993). Microbiology-General guidance for the enumeration of *Bacillus cereus* Colony-count technique at 30°C.
13. المحمد، نعيم ثانوي والراوي، خاشع محمود ويونس، مؤيد احمد والمراتي، وليد خضرير (1986). مبادئ الاحصاء مطابع دار الكتب للطباعة والتوزيع - جامعة الموصل.
14. Te Giffel , M.C.; Beumer ,R.R, ; Granum, P. E.& Rombouts ,F.M.(1997). Isolation & Characterization of *Bacillus cereus* from pasteurized milk in household refrigerators in the Netherlands . *Int . J. Food Microbiol .* 34 : 307 – 318 . 17
15. Yadav, J.S.; Grover, S. & Batish, V. K. (1993). *Dairy Microbiology*. National Dairy Research Institute Kernal (Haryana), India. 1st., Ed. Metropolitan. New Delhi. India.

- 16.Banwart, G. J. (1979). Basic Food Microbiology. The Avi publishing Company, INC. Westport, Connecticut, U.S.A.
- 17.Jay, J. M. (1978). Modern Food Microbiology. 2nd. Ed., D. Van Nostrand Co. New York.
- 18.Fennema, Owen, R. (1976). Principles of Food Science. Part 1, Marcel Dekker, INC. New York. U.S.A.
- 19.Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. (1988). Food Microbiology. 4th. Ed. McGraw-Hill Book Co. New York.
- 20.Yadav, J.S.; Grover, S. & Batish, V. K. (1993). Dairy Microbiology. National Dairy Research Institute Karnal (Haryana), India. 1st., Ed. Metropolitan. New Delhi. India.
- 21.Van Netten , P.; Van denoosdijk , A.; Van Hoensel , P.; Mossel , D.A.A. & Perales , I. (1990) . Psychrotrophic strain of *Bacillus cereus* producing enterotoxin . J. Appl. Bact. 69 (1) : 73 – 79 .