ميكروبيولوجيا الالبان

يعد الحليب من الأغذية ذات القيمة الجيدة التي تمد الجسم بالعديد من العناصر الغذائية التي يحتاج إليها. ويمتاز باحتوائه على الأقسام الستة الرئيسة للغذاء ، وهي الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والفيتامينات والمعادن والماء •

يمتاز الحليب بأنه • :من أفضل المصادر على الاطلاق لتزويد الجسم بعنصري الكالسيوم والفوسفور المهمين لبناء العظام وسلامتها في الأطفال والبالغين ..وتوجد العناصر الغذائية في الحليب ومنتجاته بصوره يسهل على الجسم الاستفادة منها.

تنقسم الميكروبات الممكن تواجدها في الحليب الخام

. بكتيريا ممرضة pathogenic

Bacillus cereus

Salmonella sp –

Listeria monocytogens

. بكتيريات غير ممرضة

والتى تنقسم الي

أولا - بكتيريا مرغوب فيها لصنع اللبن الرائب

ثانيا بكتيريا غير مرغوب فيها تسبب فساد للحليب

ميكروبات مرغوب فيها : تضاف الى الحليب الصناعة منتجات الحليب مثل أاللبان المتخمرة

Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus –

Streptococcus salivarius subsp. Hermophilus Bifidobacterium

تم تحويل الحليب إلى لبن رايب بواسطة ميكروبات مفيدة يطلق عليها لقب خميرة اللبن أوعصويات اللبن لأنها بكتيريا عصوية الإسم العلمي لها هو بالإضافة إلى نوع آخر من البكتيريا تسمى (حيث تعمل هذه الكائنات الدقيقة على تحويل سكر اللاكتوز في الحليب إلى حمض اللبن مما يعمل على تحويل الحليب إلى حالة شبه صلبة، وتعمل البكتيريا على ذلك بشرط توافر الشروط المناسبة لها من حرارة ورطوبة وغذاء. ولأنه يتم استهلاك سكر اللاكتوز بتحويله إلى حمض اللبن،

فإن مائة غرام من اللبن الرائب تعطي فقط خمسة وعشرين سعرة حرارية، وذلك ملائم جداً للأشخاص الذين يقومون بمحاولة إنقاص وزنهم. كما أفادت الدراسات والتجارب بأن اللبن الرايب يعمل على القضاء على جراثيم التسمم الغذائي؛

لكSalmonella sp والبكتيريا العنقودية، ومنع مرض الزحار الأميبي والإسهالات، فإنه سهل الهضم وغني بالمواد الغذائية المفيدة للجسم.

طريقة تحويل اللبن السائل إلى لبن رايب

1. يسخن اللبن إلى درجة مئوية لقتل البكتريا الضارة غير المرغوب فيها ولتغيير خواص بروتينات الحليب حتى تتجمع معا بدال من تخثرها
2. . يبرد الحليب إلى حوالي 54 درجة مئوية
3. * .تضاف البادئت البكتيرية ويتم المحافظه على هذه الحرارة لمدة 5-7 ساعات حتى يتخمر الحليب

. ومن المعروف أن تخمر الالكتوز) سكر اللبن (ينتج حمض الالكتيك الذي يحلل بروتين اللبن ليعطي الزبادي قوامها ونكهتها القوية.

ويمكن تصنيع الزبادي أيضا من بدائل الحليب مثل حليب الصويا لمن يعانون بمايسمى (حساسية سكر اللاكتوز - الكازين). وقد عرف الانسان الزبادي منذ ما اليقل عن ٥٤٨٨ عام وتمثل اليوم أحدالاغذية الشائعة في العالم بأسره. ويتميز الزبادي بقيمته الغذائية وفوائده الصحية التي الى مثيل لها من حيث غناها بالبروتين والكالسيوم وفيتامين ب ٢ (الريبوف الفين (وفيتامين ب 6 وفيتامين ب ١٢.

*

فوائد تحول الحليب الي لبن رائب

1. . ظروف حامضية تزيد ذوبان الكالسيوم والحديد، مما يؤدي إلى زيادة امتصاصهما في الجسم . وتؤدي زيادة امتصاص الكالسيوم في الدم إلى إرجاع مستواه في هذا السائل الحيوي إلى المستوى الطبيعي، وبالتالي المحافظة على تناسق العضالت ومنع ارتشافه من العظام ودفعه للدم مما يحافظ على سالمة العظام
2. . القضاء على البكتيريا الموجودة في الأمعاء مما يمنع حالات الإسهال والتسمم الغذائي ،تنتج بعض المضادات الحيوية التي تحد من نمو ألحياء الدقيقة الضارة التي تستوطن الأمعاء .
3. . تحويل الأحياء الدقيقة بروتين الحليب إلى وحدات بسيطة يسهل امتصاصها من الجسم دونالحاجة إلى الهضم، مما يخفف أعباء عملية الهضم .. .
4. يحتوي اللبن أيضا على كميات أكبر من الفيتامينات مقارنة بالحليب؛ أن البكتيريا المستخدمة في التصنيع تساهم في تكوين بعض الفيتامينات التي تعد مهمة في الاستفادة من العناصر الغذائية الأخرى - مما يمكن الجسم من أداء وظائفه على الشكل المطلوب

ثانياً : الميكروبات التي تسبب فساد الحليب:

يعد الحليب بيئة غذائية ملائمة لنمو الاحياء المجهرية عند توفر درجات الحرارة الملائمة، فهو غني بالبروتينات والكاربوهيدرات والدهون والمعادن والفيتامينات المهمة بالاضافة الى دالة الحموضة الملائمة (٩,٧) ورطوبته الملائمة للنشاط المايكروبي. لذلك فهو عرضة للتلف

بالبكتيريا واالفطريات والخمائر و بصورة سريعة . ومن جهة اخرى قد يصبح الحليب وسطا ناقلا لكثير من الأمراض للانسان مثل

Q-feverو Malta fever و التسمم الغذائي بالسموم المعوية لبكتيريا Streptococcus pyogers في حال لم يبستر بالصورة الصحيحة من الأجناس الشائعة في الحليب:

.Micrococcus , call forms, Lactobacilus Streptococcus

كما توجد انواع ممرضة مختلفة باختلاف مصدر التلوث وتشمل:

- *الحيوان: Mycobacterium bovis, Staph. aureus, Brucella*

٢ - *الإنسان: Salmonella , Shegella*

. ٣- البيئة:*Clostridium , Bacillus*

ميكانيكية تلف الحليب بالاحياء المجهرية

يحوي الحليب الخام عددا قليلا من البكتيريا الشائعة التواجد والمذكورة أعلاه ، وعادة لا تنمو هذه البكتيريا بصورة ملحوظة اذا تم معالجة الحليب بصورة صحيحة زاما عند ترك الحليب الخام لعدة ساعات في حقل الإنتاج فسرعان ما تبدأ فيه التغيرات التالية: ١- تبدأ الاعداد البكتيرية بالانخفاض

لفترة قصيرة تسمى (Bactericidal phase بسبب إحتواء الحليب على مواد مضادة للبكتيريا مثل :

Lysozyme , Lactenin Leucocytes, Lactoferrines

. ويعد Lactenin أشد هذه المواد تأثيرا على البكتيريا إذا يتكون من ثلاث مواد تعمل سوية ضد البكتيريا هي:

Thiocyanatase, Hydrogen peroxidase Lactoperoxidase,

٢- بعد انتهاء المرحلة الأولى تنشط مسبحيات الحليب Streptococcus lactis في درجات الحرارة الدافئة كون هذه البكتيريا تمتاز بسرعة استهلاكها لسكر الحليب (اللاكتوز) وتكوين

حامض اللاكتيك فتصل نسبة الحموضة الى (1%) وينخفض الى pH الى (4،6) وهذا يسبب

توقف نمو مسبحيات الحليب

. ٣- المرحلة الثالثة هي نشاط عصيات الحليب Lactobacillus الاكثر مقاومة للحموضية اذ ترفع

نسبة الحموضة الى (٢٪) وبذلك يتوقف نمو بقية فلورا الحليب

. 4 - عند انتهاء مرحلة تحول سكر اللاكتوز الى

حامض اللاكتيك تبدأ مرحلة اكسدة الحامض من قبل الاعلان والخمائر حيث يتحول الى ماء وCO_2 لاسيما فطر Geotrichumn وتبعا لذلك تنخفض الحموضة 5- تنشط البكتيريا مثل *Bacillus* و *Proteus, Pseudomonas* و Achromobacter والعديد من الفطريات، حيث التي تحل ما تبقى من بروتين ودهون فيتحول الحليب الى سائل عفن متزنخ

عوامل تلف الحليب

A) تلف الحليب الخام

يحوي الحليب الذي حلب للتو ما بين (10^2-10^3) بكتيريا / مل وان العد البكتيري اللازم الأحداث تغيرات غير مرغوبة من لون وطعم يتطلب (10^7) خلية مل. من أهم المشاكل المايكروبايولوجية التي تحدث في الحليب الخام:

طبيعة التغيرات	الكائن المسبب	الاستجابة لصبغة جرام	الشكل تحت المجهر
تجبن حلو (بسبب افراز انزيم Renin وترسب ال Casain وليس بسبب الحموضة)	***Bacillus cereus***	*موجبة لجرام*	*عصوي-متجرثم*
تجبن غازي (تكوين كمية كبيرة من الغازات)	***Clostridium*& Coliforms**	*موجبة لجرام*	*صولجاني الشكل متجرثم*
لزوجة في الحليب (بسبب انتاج الكبسولة)	***Alcaligenes***	*سالبة لجرام*	*عصوي مفرد-اسواط*
طعم غير مرغوب فيه نتيجة تحلل الحوامض الشحمية	***Ps. fluorescence***	*سالبة لجرام*	*عصوي*
تلون الحليب بلون احمر	***Serretia marcescns***	*سالبة لجرام*	*عصوي*

B) تلف الحليب الميستر

عملية البسترة هي تعريض الحليب لدرجة حرارة (٧٢ م) لمدة (15 ثانية) او درجة (63 م) المدة (٣٠ دقيقة) وذلك للسيطرة على البكتيريا الممرضة (مثل السل والسالمونيلا والبروسيلا و اللستيريا) واطالة فترة الخزن. يحدث تلف الحليب المبستر بسبب مقاومة عدد من البكتيريا الخضرية المحبة للحرارة (Themophilic bacteria) مثل Lactobacillus thermophilus او البكتيريا المقاومة الحرارة البسترة (Thermoduric) مثل , , *Bacillus subtilis* ، *Microbacterium* *Micrococcus*

C)الحليب المجفف

يصنع هذا النوع بازالة جزء من الماء من الحليب ثم يعقبه عملية مجانسة ويعامل بالحرارة قبل او بعد التعليب لمنع فساده. عند الفحص المايكروبي للحليب المجفف يلاحظ كون البكتيريا الناتجة متشابهة أي ان المزروع نقي (Pure culture) وهذا يدل على ان التلوث ناتج عن وجود سبورات البكتيريا المقاومة للمعاملة الحرارية ، اما اذا كان المزروع عبارة عن مزيج من الأحياء المجهرية فذلك يدل على عدم كفاءة المعاملة الحرارية او حدوث تلوث اثناء الاستخدام او اثناء الفحص.

D) الحليب المعقم يعقم

الحليب باستخدام درجة حرارة عالية (١٢١ م) لمدة (٢٠-١٠ دقيقة) ويعبأ بقناني زجاجية او معدنية وبهذه الطريقة يتم القضاء على كافة المايكروبات التي تسبب فساده اثناء خزنه تحت الظروف الاعتيادية. وقد تتواجد اعداد قليلة من البكتيريا المقاومة الحرارة التعقيم والمكونة للسبورات مثل *Clostridium sp -Bacillus sp* .,

-

طريقة العمل: ممكن اجراء اكثر من طريقة للكشف عن تلوث الحليب من عدمه

1 - Direct microscopic count (Breed method)

1. **تمزج العينة جيدا لنشر البكتيريا بشكل متساوي في الوسط وينقل (٠,٠١ مل من الحليب وينشر على مساحة مربع طول ضلعه (اسم) ، يجفف ببطئ حتى لا تتكون فراغات في الغشاء . ب. يوضع الشريحة الزجاجية على حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق لتثبيت غشاء الحليب بالبخار. ج. يغمر الشريحة الزجاجية بالزايلول لمدة دقيقة واحدة لازالة الحبيبات الدهنية ثم بالكحول لازالة الزايلول ثم يغمر الشريحة الزجاجية في الماء المقطر المعقم وليس ماء جاري حتى لايزال الغشاء د. يصبغ بصبغة methylene blue لمدة (15 ثانية) ثم يغطس بالماء لازالة الصبغة ثم تجفف بالهواء.**

.. تفحص عدة حقول ويستخدم القانون التالي لحساب عدد البكتيريا:

$$\text{عدد البكتيريا /مل} = \frac{\text{(مجموع البكتيريا/عدد الحقول)}}{\text{الحجم المستخدم}} \times \text{مقلوب التخفيف} \times x$$

٢- Standard plate count

يمكن عزل بعض الميكروبات من الطيب معمليا كالتالي 1. أحضر عينات من الحليب المراد فحصه

ا ٢- عمل تخافيف عشرية من الحليب المراد فحصه (١٠٠,٠٠٠-١٠,٠٠٠-١٠٠٠-١٠٠-١٠) ٣- انقل أمل من التكاليف السابقة الي اطباق بتري تحتوي على بيئة Nutrient agar

بواسطة ماصة معقمة لكل تخفيف. 4- حضن الأطباق عند ٣٠م لمدة 48 ساعة ثم افحصها وعد المستعمرات. د. اصبغ المستعمرات السابقة بصبغة جرام للتعرف على الأنواع البكتيريا الملوثة للحليب. 6- سجل النتائج

٣- اختزال الصبغة Dye reduction test

. يستخدم هذا الاختبار لمعرفة الفعالية الحيوية للبكتيريا في الحليب اذ يتناسب النشاط طرديا مع العدد وحسب معدل تنفسها تنتهية الضروف اللاهوائية فتختزل الصبغات. يستخدم لهذا الغرض نوعان من الصبغات هما , Methylene blue Resozurine

أ. ينقل (١٠ مل) من الحليب الى انبوبة اختبار معقمة ذات سداد لولبي ويضاف لها (أمل من صبغة Methylene blue وتمزج جيدا بقلب الانبوبة بهدوء ويجب التأكد من عدم وجود فقاعات غازية حتى لا تتأكسد الصبغة

ب. تحضن الانبوبة في حمام مائي وتفحص كل نصف ساعة لمدة 6 ساعات .وكلما زادت سرعة

الاختزال فان ذلك يعني احتواء الحليب على اعداد اكبر من البكتيريا ت. تقيم جودة الحايب كالاتي

.. ممتاز: اذا لم تختزل الصبغة خلال فترة تزيد عن ثمان ساعات

. ٢. جيد: اذا اختزلت الصبغة خلال فترة 6-4 ساعات

. ٣. وسط: اذا اختزلت الصبغة خلال فترة ٩-٢ ساعات

. 4. رديء: اذا اختزلت الصبغة خلال فترة اقل من ساعتين.

الكشف عن هذه الأنواع البكتريه تمتاز الكائنات الحية الدقيقة بقدرتها على استغلال الظروف الملائمة لنموها لذلك يطلق عليها التهازيةopportunistic وتعتبر المنتجات الغذائية بيئات مناسبة للنمو الميكروبي عند توفر ظروف الفساد الغذائي من تصنيع وتخزين واستهلاك مما يحدث للانسان العديد من الأضرار الاقتصادية والمشكلات الصحية