



Industrial Microbiology

مكروبيولوجيا صناعية

المعمل الأول

By: Aljawharah Alabbad

2025

تعريف

- فرع من علم الأحياء الدقيقة يختص بدراسة استخدام الكائنات الحية الدقيقة في التطبيقات الصناعية. يركز على استغلال هذه الكائنات لإنتاج مواد مفيدة مثل المضادات الحيوية، الإنزيمات، الأحماض العضوية، الفيتامينات، واللقاحات، وكذلك تحسين عمليات مثل التخمر وتصنيع الأغذية ومعالجة النفايات.





المعمل الأول: ميكروبيولوجيا الألبان



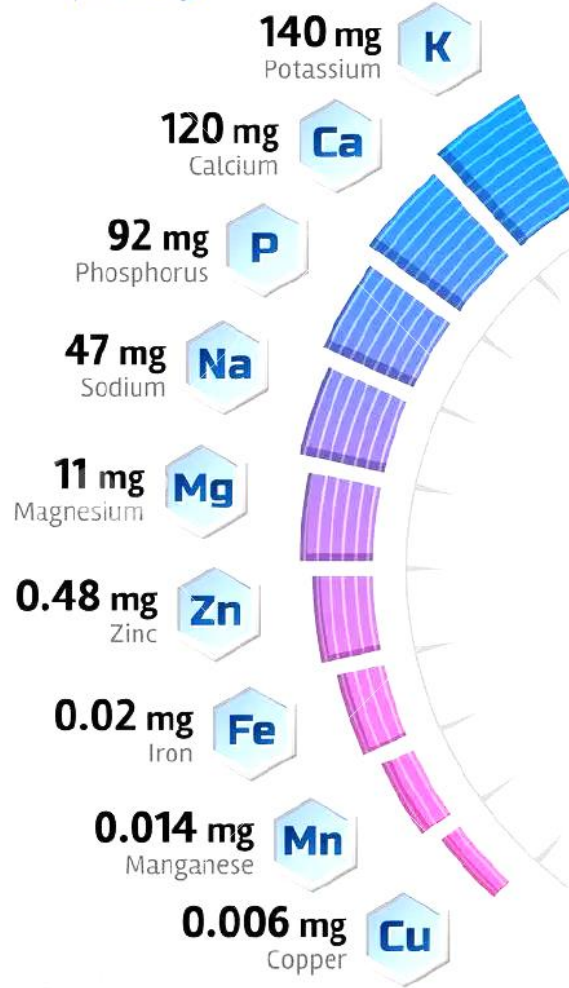
- يعد الحليب من الأغذية ذات القيمة الجيدة التي تمد الجسم بالعديد من العناصر الغذائية التي يحتاج إليها.
- يمتاز باحتوائه على الأقسام الستة الرئيسة للغذاء، وهي:
الكربوهيدرات والبروتينات و الدهون والفيتامينات
والمعادن والماء.



- يوفر كوب واحد (249 جرام) من حليب البقر كامل الدسم مع 2٪ دهون ما يلي من المواد الأساسية، بالإضافة إلى 88٪ ماء.

MINERALS

(per 100g)



ENERGY

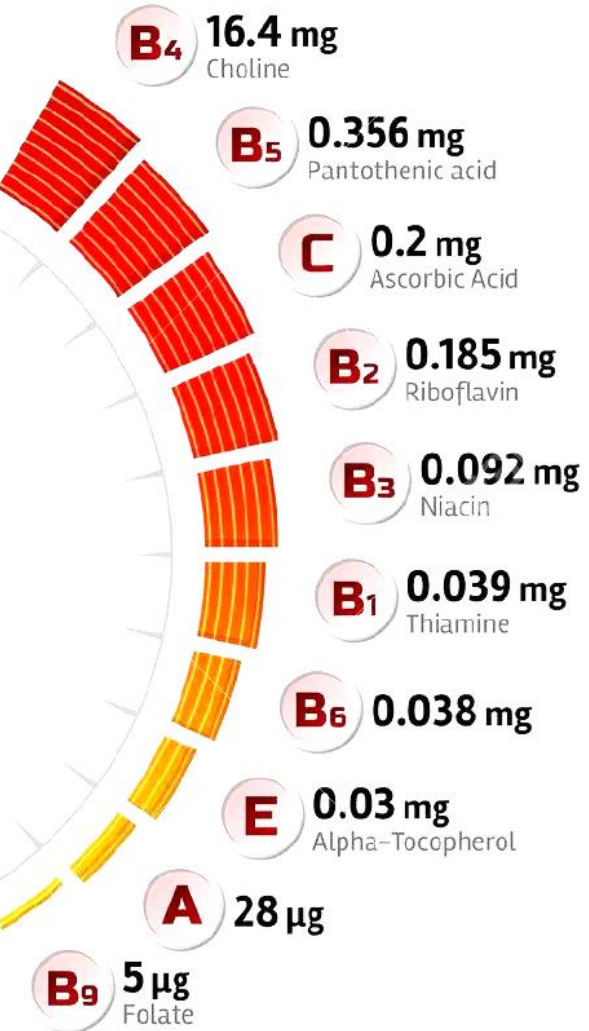
(per 100g)



50 kcal

VITAMINS

(per 100g)



CARBOHYDRATES
4.80 g

FAT
1.98 g

PROTEIN
3.30 g

- يمتاز الحليب بأنه:

من أفضل المصادر على الإطلاق لتزويد الجسم بعنصري الكالسيوم والفوسفور المهمين لبناء العظام و سلامتها في الأطفال والبالغين

توجد العناصر الغذائية في الحليب ومنتجاته بصورة يسهل على الجسم امتصاصها

تنقسم الميكروبات الممكن تواجدها في الحليب الخام إلى:

٢. ميكروبات غير ممرضة

Saprophytic

١. ميكروبات ممرضة

Pathogenic microorganism

ب. ميكروبات غير مرغوب فيها

(تسبب فساد الحليب)

أ. ميكروبات مرغوب فيها

(تستخدم لصناعة منتجات
الحليب كالألبان المتخمرة)

- *Bacillus cereus*

- *Salmonella sp.*

- *Listeria monocytogens*

١. الميكروبات الممرضة

تقسم حسب تأثيرها على مكونات الحليب إلى:

الميكروبات المحللة للدهون Lypolytic bacteria	الميكروبات المحللة للبروتين Proteolytic organism	أ. ميكروبات تخمر اللاكتوز Lactose-fermenting microbes
تكسر دهن الحليب عن طريق إفراز أنزيم الليبيزوتؤدي إلى تغييرات غير مرغوب فيها (زرنخة وطعم مر)	تهاجم البروتين وتحوله إلى أحماض أمينية كاليوريا و النشادر	تخمر اللاكتوز وتحوله إلى حمض اللاكتيك
مثل: - <i>Achromobacter</i> - <i>Enterobacter</i>	مثل: - <i>Bacillus subtilis</i> - <i>Proteous vulgaris</i> - <i>Actinomycetes</i>	مثل: - الميكروبات السبحية - الميكروبات العقدية - ميكروبات القولون المعوية <i>Clostridium perfringens, E. coli</i>
يزداد نشاط هذه الميكروبات في درجات الحرارة المنخفضة.	وتتميز بمقاومتها لدرجة حرارة البسترة وتحلل البروتين منتجة طعاماً مرّاً في الحليب المبستر.	وتتميز بقدرتها على تخمر اللاكتوز وتحويله إلى حمض اللبن مع غازات.

٢. الميكروبات الغير ممرضة

أ. ميكروبات مرغوب فيها لصنع اللبن الرائب

• تضاف الى الحليب لصناعة منتجات الحليب مثل الألبان المتخمرة، مثل:

- *Lactobacillus delbrueckii subsp.*
- *Bulgaricus sp.*
- *Streptococcus salivarius subsp.*
- *Bifidobacterium thermophilus*

كيفية معالجة الحليب الخام

- يتم تحويل الحليب الى لبن رائب بواسطة ميكروبات مفيدة يطلق عليها لقب خميرة اللبن والبكتيريا العصوية (عصيات اللبن).
- تعمل على تحويل سكر اللاكتوز في الحليب الى حمض اللبن مما يعمل على تحويل الحليب إلى حالة شبه صلبة، وتعمل البكتيريا على ذلك بشرط توافر الشروط المناسبة لها من حرارة ورطوبة و غذاء.

- ولأنه يتم استهلاك سكر اللاكتوز بتحويله إلى حمض اللبن، فإن ١٠٠ غرام من اللبن الرائب تعطي فقط ٢٥ سعرة حرارية، وذلك ملائم للأشخاص الذين يقومون بمحاولة إنقاص وزنهم.
- أثبت علمياً بأن اللبن الرائب يعمل على القضاء على جراثيم التسمم الغذائي مثل *Staphylococcus sp.* و *Salmonella sp.*، و منع مرض الزحار الأميبي و الاسهال.

طريقة تحويل اللبن السائل إلى لبن رائب

يتم تسخين اللبن إلى 80 درجة مئوية لقتل البكتيريا الضارة وغير المرغوب فيها، ولتغيير خصائص بروتينات الحليب بحيث تتجمع معاً بدلاً من تخثرها

يبرد الحليب إلى حوالي 54 درجة مئوية، وتُضاف البادئات البكتيرية، ثم يتم الحفاظ على هذه الحرارة لمدة 5 إلى 7 ساعات حتى يتخمر الحليب. من المعروف أن تخمر اللاكتوز ينتج حمض اللاكتيك، الذي يحلل بروتين الحليب ليمنح اللبن الرائب (الزبادي) قوامه ونكهته المميزة.

- يمكن أيضاً تصنيع الزبادي من بدائل الحليب، مثل حليب الصويا، للأشخاص الذين يعانون من حساسية سكر اللاكتوز أو الكازين
- يتميز الزبادي بقيمته الغذائية العالية وفوائده الصحية المتعددة، حيث إنه غني بالبروتين، الكالسيوم، وفيتامين B2, B7, B12.

فوائد تحول الحليب إلى لبن رائب

1. الظروف الحامضية الناتجة عن اللبن الرائب تزيد من ذوبان الكالسيوم والحديد، مما يعزز امتصاصهما في الجسم. زيادة امتصاص الكالسيوم في الدم تساعد على إعادة مستواه إلى المعدل الطبيعي، مما يساهم في الحفاظ على تناسق العضلات، منع سحب الكالسيوم من العظام، والحفاظ على صحتها.
2. اللبن الرائب يقضي على البكتيريا الضارة الموجودة في الأمعاء، مما يساهم في منع حالات الإسهال والتسمم الغذائي.

فوائد تحول الحليب إلى لبن رائب

3. تنتج البكتيريا المستخدمة في التصنيع بعض المضادات الحيوية التي تحد من نمو الكائنات الدقيقة الضارة التي تستوطن الأمعاء.
4. تقوم الأحياء الدقيقة بتحويل بروتين الحليب إلى وحدات بسيطة يسهل امتصاصها من الجسم دون الحاجة إلى الهضم، مما يقلل من عبء عملية الهضم.

فوائد تحول الحليب إلى لبن رائب

5. يحتوي اللبن الرائب على كميات أكبر من **الفيتامينات** مقارنة بالحليب؛ حيث تسهم البكتيريا المستخدمة في تصنيعه في إنتاج بعض الفيتامينات المهمة التي تعزز الاستفادة من العناصر الغذائية الأخرى، مما يساعد الجسم على أداء وظائفه بشكل مثالي.

٢. الميكروبات الغير ممرضة

ب. ميكروبات غير مرغوب فيها تسبب فساد الحليب

- يعد الحليب بيئة غذائية مثالية لنمو الكائنات المجهرية عند توفر درجات الحرارة المناسبة، حيث يحتوي على نسبة عالية من البروتينات، الكربوهيدرات، الدهون، المعادن، والفيتامينات المهمة، بالإضافة إلى **درجة حموضة مناسبة (7.6)** ومستوى رطوبة ملائم للنشاط الميكروبي.

• نتيجة لذلك، يكون الحليب عرضة للتلف السريع بسبب البكتيريا، الفطريات، والخمائر.

• يمكن أن يصبح الحليب وسيلة لنقل العديد من الأمراض إلى الإنسان إذا لم يتم بسترتة بشكل صحيح، مثل:

• الحمى المالطية

• التسمم الغذائي الناتج عن السموم المعوية لبكتيريا *Streptococcus pyogenes*

• من الأجناس الشائعة في الحليب :

Micrococcus, Coliforms, Lactobacillus, Streptococcus

• كما توجد أنواع ممرضة مختلفة باختلاف مصدر التلوث، مثل:

○ **الحيوان:** *Mycobaterium bovis, Brucella, Salmonella*

○ **الانسان:** *Staphylococcus aureus, Shigella*

○ **البيئة:** *Clostridium, Bacillus*

ميكانيكية تلف الحليب بالأحياء المجهرية

- يحتوي الحليب الخام على عدد قليل من البكتيريا الشائعة، والتي عادةً لا تنمو بشكل ملحوظ إذا تمت معالجة الحليب بصورة صحيحة. ومع ذلك، عند ترك الحليب الخام في حقل الإنتاج لعدة ساعات، تبدأ فيه التغيرات التالية:

المرحلة الثالثة	المرحلة الثانية	المرحلة الأولى
<p>تنشط بكتيريا <i>Lactobacillus</i>، التي تمتاز بمقاومتها العالية للحموضة. تعمل على رفع نسبة الحموضة إلى 2٪.</p>	<p>تنشط بكتيريا <i>Streptococcus lactis</i> عند درجات الحرارة الدافئة، حيث تستهلك سكر اللاكتوز بسرعة لتكوين حمض اللاكتيك. نتيجة لذلك:</p> <ul style="list-style-type: none"> • تصل الحموضة إلى 1% • ينخفض الرقم الهيدروجيني pH إلى 6.7 	<p>تنخفض أعداد البكتيريا لفترة قصيرة تُعرف بـ المرحلة القاتلة للبكتيريا (Bactericidal phase)، وذلك بسبب وجود مواد مضادة للبكتيريا في الحليب، مثل:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lysozyme • Lactenin • Leucocytes • Lactoferrins
<p>يؤدي ذلك إلى توقف نمو بقية فلورا الحليب.</p>	<p>يؤدي ذلك إلى توقف نمو <i>Streptococcus lactis</i>.</p>	<p>يعتبر Lactenin أكثر هذه المواد فعالية، و يتكون من ثلاث مواد تعمل معًا ضد البكتيريا:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lactoperoxidase • Thiocyanatase • Hydrogen peroxidase

- **المرحلة الرابعة:** بعد انتهاء عملية تحويل سكر اللاكتوز إلى حمض اللاكتيك، تبدأ الأعفان والخمائر، مثل *Geotrichum*، بأكسدة الحمض إلى ماء وغاز ثاني أكسيد الكربون، و نتيجة لذلك تنخفض نسبة الحموضة تدريجيًا.
- **المرحلة الأخيرة:** تنشط البكتيريا المفسدة، مثل: *Bacillus, Proteus, Pseudomonas* و *Achromobacter*، و تعمل على تحلل البروتينات والدهون المتبقية، مما يؤدي إلى تحويل الحليب إلى سائل عفن ومتزنخ.

أ. تلف الحليب الخام

- يحتوي الحليب الذي تم حلبه للتو على (2-3 $\times 10^3$ بكتيريا/مل)، ولكن التغيرات غير المرغوبة في اللون والطعم تحتاج إلى وصول العد البكتيري إلى (10^7 خلية/مل).

أهم المشاكل الميكروبيولوجية الشائعة في الحليب الخام

طبيعة التغيرات	الكائن المسبب	الشكل وصبغة جرام
تجبن حلو (بسبب إفراز إنزيم Renin وترسب الكازين وليس بسبب الحموضة).	<i>Bacillus cereus</i>	عصوي - متجرثم - موجبة لجرام
تجبن غازي (تكوين كمية كبيرة من الغازات).	<i>Clostridium & Coliforms</i>	صولجانية - متجرثم - موجبة لجرام
لزوجة في الحليب (بسبب انتفاخ الكبسولة).	<i>Alcaligenes</i>	عصوي مفرد - أسواط - سالبة لجرام
طعم غير مرغوب فيه (نتيجة تحلل الأحماض الشحمية).	<i>Pseudomonas fluorescenc</i>	عصوي - سالبة لجرام
تلون الحليب باللون الأحمر.	<i>Serratia marcescens</i>	عصوي - سالبة لجرام

أ. تلف الحليب المبستر

- البسترة هي تعريض الحليب لدرجة حرارة ٧٢ درجة مئوية لمدة ١٥ ثانية، ثم تعريضها لدرجة حرارة ٦٣ درجة مئوية لمدة ٣٠ دقيقة.
- الهدف منها هو للسيطرة على البكتيريا الممرضة مثل المسببة لمرض السل، السالمونيلا، البروسيلا و الليستريا، بالإضافة إلى إطالة مدة التسخين.

- يحدث تلف الحليب المبستر بسبب مقاومة بعض أنواع البكتيريا، مثل:

○ البكتيريا الخضرية المحبة للحرارة *Thermophilic bacteria*، مثل *Lactobacillus*

thermophilus.

○ البكتيريا المقاومة لحرارة البسترة *Thermoduric bacteria*، مثل: *Bacillus subtilis*

Micrococcus، *Microbacterium*

عوامل تلف الحليب

ب. الحليب المجفف



- يصنع هذا النوع بإزالة جزء من الماء من الحليب
ثم يعقبه عملية مجانسة لحبيبات الدهون
ويعامل بالحرارة قبل أو بعد التعليب لمنع
فساده.

- عند الفحص الميكروبي للحليب المجفف، إذا كانت:

1. **البكتيريا متشابهة**، فهذا يشير إلى أن التلوث ناتج عن وجود جراثيم البكتيريا المقاومة للمعاملة الحرارية، وأن المزرعة نقية.
2. **مزيج من الاحياء المجهرية**، فذلك يدل على عدم كفاءة المعاملة الحرارية أو حدوث تلوث اثناء الاستخدام واثناء الفحص.

ت. الحليب المعقم

- يتم تعقيم الحليب باستخدام درجة حرارة عالية 121 درجة مئوية لمدة 15 - 20 دقيقة، ثم يعبأ الحليب في قناني زجاجية أو معدنية.
- بالتالي، يتم القضاء الكامل على كافة الميكروبات التي تسبب فساد الحليب أثناء التخزين تحت الظروف الاعتيادية.

- قد تتواجد أعداد قليلة من البكتيريا المقاومة لحرارة التعقيم والمكونة للجراثيم

مثل: *Bacillus sp.* و *Clostridium sp.*



أ. العد المجهرى المباشر Direct Microscopic Count - Breed Method

- تمزج العينة جيداً لنشر البكتيريا بشكل متساوٍ، ثم ينقل 0.01 مل من الحليب ويوزع على مساحة مربع طول ضلعه 1 سم، و يجفف المربع ببطء لتجنب تكوين فراغات في الغشاء.

- توضع الشريحة على حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق لتثبيت غشاء الحليب بالبخار.

طرق الكشف عن تلوث الحليب

- تغمر الشريحة في الزايلول لمدة دقيقة واحدة لإزالة الحبيبات الدهنية.

- تغمر بعد ذلك بالكحول لإزالة الزايلول، و تشطف بماء مقطر معقم (وليس الماء

الجاري) للحفاظ على الغشاء.

- تصبغ الشريحة بصبغة Methylene Blue لمدة 15 ثانية، ثم تشطف بالماء لإزالة

الصبغة الزائدة، و تجفف بالهواء.

طرق الكشف عن تلوث الحليب

- تفحص عدة حقول تحت المجهر، ويتم استخدام القانون التالي لحساب عدد البكتيريا:

- عدد المستعمرات البكتيرية/مل =

$$\frac{\text{عدد المستعمرات/عدد الحقول}}{\text{الحجم المستخدم}} \times \text{مقلوب التخفيف}$$

طرق الكشف عن تلوث الحليب

ب. Standard Plate Count

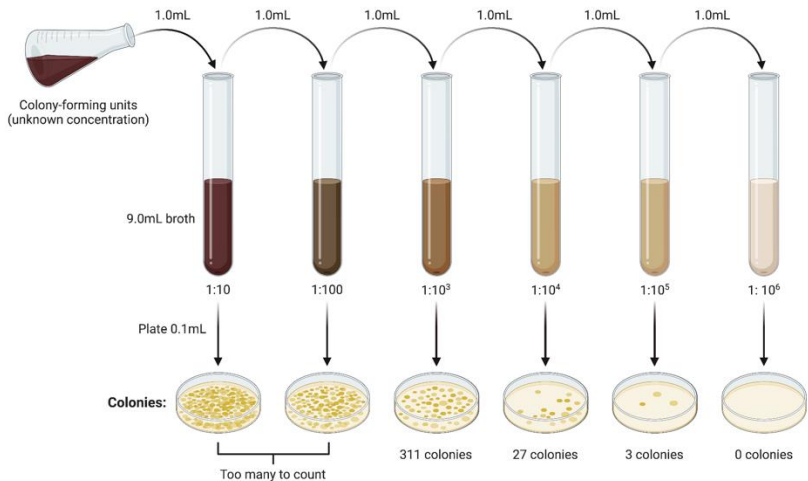
- يمكن عزل بعض الميكروبات من الحليب معملياً عن طريقة تحضير سلسلة تخفيفات من ١ مل من الحليب.
- ينقل ١ مل من كل تخفيف إلى أطباق بتري تحتوي على بيئة Nutrient Agar باستخدام ماصة معقمة لكل تخفيف.

طرق الكشف عن تلوث الحليب

- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة.

- يتم فحص و عد المستعمرات المتكونة بعد الحضانه.

- تصبغ المستعمرات بصبغة جرام للتعرف على أنواع البكتيريا الملوثة للحليب.



ت. اختبار اختزال الصبغة Dye Reduction Test

- يُستخدم لمعرفة الفعالية الحيوية للبكتيريا في الحليب، حيث يرتبط النشاط البكتيري طردياً مع عدد البكتيريا ومعدل تنفسها، مما يؤدي إلى اختزال الصبغات تحت الظروف اللاهوائية.

- الصبغات المستخدمة هي Methylene Blue و Resozurine.

طرق الكشف عن تلوث الحليب

- ينقل 10 مل من الحليب إلى أنبوبة اختبار معقمة ذات سداد لولبي.

- يضاف ١ مل من الصبغة وتمزج جيداً بتقليب الأنبوبة بهدوء، مع التأكد من عدم

وجود فقاعات غازية لتجنب أكسدة الصبغة.

- تحضن الأنبوبة في حمام مائي، و تفحص كل نصف ساعة لمدة 6 ساعات.

- سرعة الاختزال تشير إلى احتواء الحليب على أعداد أكبر من البكتيريا.

طرق الكشف عن تلوث الحليب

- تقييم جودة الحليب بناءً على سرعة اختزال الصبغة:

ممتاز: إذا لم تُختزل الصبغة خلال فترة تزيد عن 8 ساعات.

جيد: إذا اختزلت الصبغة خلال فترة 6 - 8 ساعات.

وسط: إذا اختزلت الصبغة خلال فترة 2 - 6 ساعات.

رديء: إذا اختزلت الصبغة خلال فترة أقل من ساعتين.

طرق الكشف عن تلوث الحليب

- تمتاز الكائنات الحية الدقيقة بقدرتها على استغلال الظروف الملائمة لنموها، لذا تُعرف بصفة الانتهازية Opportunistic.
- تعتبر المنتجات الغذائية بيئات مناسبة للنمو الميكروبي عند توفر ظروف الفساد الغذائي من تصنيع وتخزين واستهلاك مما يحدث للانسان العديد من الأضرار الاقتصادية والمشكلات الصحية.



التجربة الأولى: صناعة الزيادي في المعمل



- حليب مبستر
- زيادي (البادئ)
- مقياس حرارة
- حمام مائي
- فرن
- قارورة زجاجية بغطاء
- ملعقة طعام

١. يسخن الحليب في حمام مائي حتى يصل الى درجة حرارة ٨٠ مئوية، وذلك لقتل البكتيريا الغير مرغوب فيها ولتغيير خواص بروتينات الحليب حتى تتجمع معا بدلاً من تخميرها

٢. يبرد الحليب إلى حوالي ٥٤ درجة مئوية، ثم تضاف ملعقة من الزبادي، ثم يحرك جيداً

٣. يغطى الوعاء ويحفظ في الفرن حتى يتخمر الحليب من يوم إلى يومين.

٤. تسجل النتائج ويتم تصوير النتيجة، ثم تحفظ العينة لفحصها الأسبوع القادم





alalabbad@ksu.edu.sa