

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 الإطلاق لتزويد الجسم بعنصري الكالسيوم والفوسفور المهمين لبناء العظام وسلامتها في الاطفال والبالغين • . وتوجد العناصر الغذائية في الحليب ومنتجاته بصورة يسهل على الجسم الاستفادة منها.

تنقسم الميكروبات الممكن تواجدها في الحليب الخام

• بكتيريا ممرضة pathogenic

Bacillus cereus - Salmonella sp - Listeria monocytogens-

• بكتيريات غير ممرضة non-pathogenic

وتنقسم الى : أ- بكتيريات غير مرغوب فيها تسبب فساد للحليب

ب- بكتيريات مرغوب فيها لصنع اللبن الرائب

أولا : الميكروبات التي تسبب فساد الحليب:

يعد الحليب بيئة غذائية ملائمة لنمو الاحياء المجهرية عند توفر درجات الحرارة الملائمة، فهو غني بالبروتينات والكربوهيدرات والدهون والمعادن والفيتامينات المهمة بالاضافة الى دالة الحموضة الملائمة (٦,٧) ورطوبته الملائمة للنشاط المايكروبي. لذلك فهو عرضة للتلف بالبكتيريا والاعفان والخمائر و بصورة سريعة .ومن جهة اخرى قد يصبح الحليب وسطا ناقلا لكثير من الامراض للانسان مثل Q-fever و Malta fever و التسمم الغذائي بالسموم المعوية لبكتيريا *Streptococcus pyogens* في حال لم يبستر بالصورة الصحيحة.

من الاجناس الشائعة في الحليب: *Micrococcus* , *Coli forms*, *Lactobacillus* *Streptococcus*. كما توجد انواع ممرضة مختلفة باختلاف مصدر التلوث وتشمل:

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

٢- الانسان: *Salmonella* , *Shigella*.

٣- البيئة: *Clostridium* , *Bacillus*.

ميكانيكية تلف الحليب بالاحياء المجهرية

يحتوي الحليب الخام عددا قليلا من البكتيريا الشائعة التواجد والمذكورة اعلاه ، وعادة لا تنمو هذه البكتيريا بصورة ملحوظة اذا تم معالجة الحليب بصورة صحيحة زاما عند ترك الحليب الخام لعدة ساعات في حقل الانتاج 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 و Leucocytes, Lactoferrines. ويعد Lactenin اشد هذه المواد تأثيرا على البكتيريا إذ يتكون من ثلاث مواد تعمل سوية ضد البكتيريا هي: Lactoperoxidase, Thiocyanatase, Hydrogen peroxidase .
- ٢- بعد انتهاء المرحلة الاولى تنشط مسببات الحليب *Streptococcus lactis* في درجات الحرارة الدافئة كون هذه البكتيريا تمتاز بسرعة استهلاكها لسكر الحليب (اللاكتوز) وتكوين حامض اللاكتيك فتصل نسبة الحموضة الى (١%) وينخفض ال pH الى (٤,٦) وهذا يسبب توقف نمو مسببات الحليب.
- ٣- المرحلة الثالثة هي نشاط عصيات الحليب *Lactobacillus* الاكثر مقاومة للحموضة اذ ترفع نسبة الحموضة الى (٢%) وبذلك يتوقف نمو بقية فلورا الحليب.
- ٤- عند انتهاء مرحلة تحول سكر اللاكتوز الى حامض اللاكتيك تبدأ مرحلة اكسدة الحامض من قبل الاعفان والخمائر حيث يتحول الى ماء و CO_2 لاسيما عن *Geotrichum* وتبعاً لذلك تنخفض الحموضة.
- ٥- تنشط البكتيريا المعفنة مثل *Bacillus* و *Proteus*, *Pseudomonas* و *Achromobacter* والعديد من الاعفان حيث التي تحلل ما تبقى من بروتين ودهون فيتحول الحليب الى سائل عفن متزنخ.

(A) تلف الحليب الخام

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

طبيعة التغيرات	الكائن المسبب	الاستجابة	الشكل تحت المجهر
تجبن حلو (بسبب افراز انزيم Renin وترسب ال Casain وليس بسبب الحموضة)	<i>Bacillus cereus</i>	موجبة لجرام	عصوي-متجرثم
تجبن غازي (تكوين كمية كبيرة من الغازات)	<i>Clostridium & Coliforms</i>	موجبة لجرام	صولجاني الشكل متجرثم

عصوي مفرد- اسواط	سالبية لجرام	Alcaligenes	لزوجة في الحليب (بسبب انتاج الكبسولة)
عصوي	سالبية لجرام	Ps. fluorescence	طعم غير مرغوب فيه نتيجة تحلل الحوامض الشحمية
عصوي	سالبية لجرام	Serratia marcescens	تلون الحليب بلون احمر

(B) تلف الحليب المبستر

عملية البسترة هي تعريض الحليب لدرجة حرارة (٧٢ م°) لمدة (١٥ ثانية) او درجة (٦٣ م°) لمدة (٣٠ دقيقة) وذلك للسيطرة على البكتيريا الممرضة (مثل السل والسالمونيلا والبروسيلات و اللستيريا) واطالة فترة الخزن.

يحدث تلف الحليب المبستر بسبب مقاومة عدد من البكتيريا الخضرية المحبة للحرارة (Thermophilic bacteria) مثل *Lactobacillus thermophilus* او البكتيريا المقاومة لحرارة 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 الاحياء 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 (١٥-٢٠ 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 لحرارة التعقيم والمكونة للسبورات مثل *Bacillus sp* - *Clostridium sp* .

طريقة العمل:

يمكن اجراء اكثر من طريقة للكشف عن تلوث الحليب من عدمه

١- Direct microscopic count (Breed method)

- أ. تمزج العينة جيدا لنشر البكتيريا بشكل متساوي في الوسط وينقل (٠,٠١ مل) من الحليب ويُنشر على مساحة مربع طول ضلعه (١سم) ، يجفف ببطء حتى لا تتكون فراغات في الغشاء .
- ب. يوضع الشريحة الزجاجية على حمام مائي يغلي لمدة (٥ دقائق) لتثبيت غشاء الحليب بالبخار.
- ج. يغمر الشريحة الزجاجية بالزايولول لمدة دقيقة واحدة لازالة الحبيبات الدهنية ثم بالكحول لازالة الزايولول ثم يغمر الشريحة الزجاجية في الماء المقطر المعقم وليس ماء جاري حتى لا يزال الغشاء.
- د. يصبغ بصبغة methylene blue لمدة (١٥ ثانية) ثم يغطس بالماء لازالة الصبغة ثم تجفف بالهواء.
- هـ. تفحص عدة حقول ويستخدم القانون التالي لحساب عدد البكتيريا:

(مجموع البكتيريا/عدد الحقول)

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

٢- Standard plate count

يمكن عزل بعض الميكروبات من الحليب معمليا كالتالي

- ١- احضر عينات من الحليب المراد فحصه
- ٢- عمل تخافيف عشرية من الحليب المراد فحصه (١٠-١٠٠-١٠٠٠-١٠,٠٠٠-١٠٠,٠٠٠)
- ٣- انقل امل من التخافيف السابقة الي اطباق بتري تحتوى على بيئة Nutrient agar بواسطة ماصة معقمة لكل تخفيف.
- ٤- حضن الأطباق عند ٣٥م لمدة ٤٨ ساعة ثم افحصها وعد المستعمرات.
- ٥- اصبغ المستعمرات السابقة بصبغة جرام للتعرف على الأنواع البكتيريا الملوثة للحليب.
- ٦- 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 تنهياً الظروف اللا هوائية 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 (١ مل) من صبغة Methylene blue وتمزج جيداً 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 ٦ ساعات. وكلما زادت سرعة الاختزال فإن ذلك يعني احتواء الحليب على اعداد اكبر من البكتيريا
- ت. تقيم جودة الحايب كالاتيك
١. ممتاز: اذا لم تختزل الصبغة خلال فترة تزيد عن ثمان ساعات .
 ٢. جيد: اذا اختزلت الصبغة خلال فترة ٦-٨ ساعات.
 ٣. وسط: اذا اختزلت الصبغة خلال فترة ٢-٦ ساعات.
 ٤. رديء: اذا اختزلت الصبغة خلال فترة اقل من ساعتين.

للكشف عن هذه الانواع البكتيرية

تمتاز الكائنات الحية الدقيقة بقدرتها على استغلال الظروف الملائمة لنموها لذلك يطلق عليها انتهازية **Opportunistic** 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.

ب- ميكروبات مرغوب فيها : تضاف الى الحليب لصناعة منتجات الحليب مثل اللبن المتخمرة

Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus

- Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus

Bifidobacterium

تم تحويل الحليب إلى لبن رايب بواسطة ميكروبات مفيدة يطلق عليها لقب خميرة اللبن أو عصيات اللبن لأنها بكتيريا عصوية الاسم 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 مئة غرام من اللبن الرائب تعطي فقط خمساً وعشرين سعراً حرارياً، وذلك ملائم جداً للأشخاص الذين يقومون بمحاولة إنقاص وزنهم. كما أفادت الدراسات والتجارب بأن اللبن الرايب يعمل على القضاء على جراثيم التسمم الغذائي؛ كـ *Salmonella sp* والبكتيريا العنقودية، ومنع مرض الزحار الأميبي والإسهالات، فإنه سهل الهضم وغني بالمواد الغذائية المفيدة للجسم.

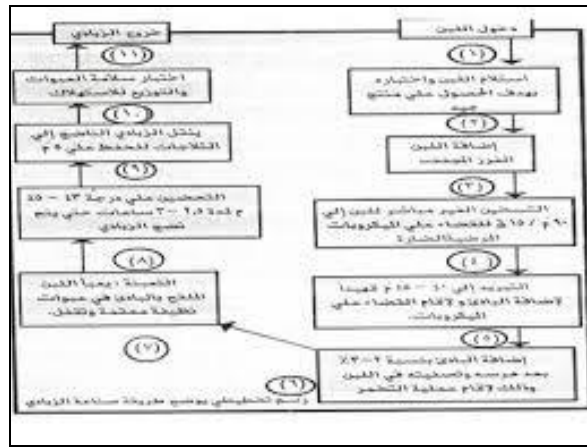
طريقة تحويل اللبن السائل إلى لبن رايب

يسخن اللبن إلى ٨٠ درجة مئوية لقتل البكتيريا الضارة غير المرغوب فيها ولتغيير خواص بروتينات الحليب حتى تتجمع معا بدال من تخثرها

* يبرد الحليب إلى حوالي ٥٤ درجة مئوية * .تضاف البادئات البكتيرية ويتم الحف اظ على هذه الحرارة لمدة ٥-٧ ساعات حتى يتخمر الحليب .ومن المعروف أن تخمر اللاكتوز (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 بما يسمى (حساسية سكر اللاكتوز - الكازين) .وقد عرف الانسان الزبادي منذ ما يقى ل عن ٥٤٨٨ عام وتمثل اليوم أحد الاغذية الشائعة في العالم بأسره.

ويتميز الزبادي بقيمته الغذائية وفوائده الصحية التي ال مثل لها من حيث غناها بالبروتين ،الكالسيوم وفيتامين ب٢ (الريبوف الفين) وفيتامين ب٦ وفيتامين ب١٢ .



فوائد تحول الحليب الي لبن رائب

١. 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 العضلات ومنع ارتشافه من العظام ودفعه للدم مما يحافظ على سلامة العظام
٢. القضاء على البكتيريا الموجودة في الأمعاء مما يمنع حالات الاسهال والتسمم الغذائي
٣. تنتج بعض المضادات الحيوية التي تحد من نمو الأحياء الدقيقة الضارة التي تستوطن الامعاء
٤. تحويل الاحياء الدقيقة بروتين الحليب إلى وحدات بسيطة يسهل امتصاصها من الجسم دون الحاجة إلى الهضم، مما يخفف أعباء عملية الهضم
٥. يحتوي اللبن أيضا على كميات أكبر من الفيتامينات مق ارنه بالحليب؛ ألن 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