**الاحياء المجهرية في مشتقات الحليب**

**A) الجبن:**

يعرف الجبن عادة بانه المنتوج الصلد ,يتكون نتيجة تجبن الحليب باستخدام الخثرة البكتيرية او الانزيمات او الحامض ثم تجري معاملات لاحقة لتحسين قوام ونكهة الجبن.

**خطوات تصنيع الاجبان:**

1- معاملة الحليب الخام:

يسخن الحليب من اجل خفض عدد الاحياء المجهرية فيه (التي قد تسبب تلف الجبن) وتختلف درجة حرارة التسخين حسب طريقة التصنيع فقد تكون بسترة او غليان.

2- اضافة البادئ البكتيري او المنفحة (Rennete) :

الهدف من اضافة البادئ هو تكوين حموضة لترسيب الكازائين وتجبنه واعطائه نكهة وتستخدم بادئات بكتيرية ذات نوعية جيدة خالية من التلوث لاحداث التغيرات المطلوبة, اما المنفحة فهي مستخلص خام من المعدة الرابعة للعجول اذ يهاجم انزيم الرنين الذي فيها الكازائين ويرسبة.

3- معاملة المادة المتجبنة:

بالتمليح والضغط او التنضيج لاعطاء نكهة وقوام مناسب. ان التحكم بنوع البادئ ودرجة وفترة التحضين وطريقة التنضيج تجعل الاجبان مختلفة القوام والنكهة واللون والطعم.

**انواع الاجبان:**

تقسم الاجبان حسب طراوتها الى :

أ- اجبان طرية Soft cheeses نسبة الرطوبة فيها (40-80%) .

ب- أجبان نصف طرية Semi-soft cheeses رطوبتها (30-40%).

ج- الاجبان الصلبة Hard cheeses رطوبنها اقل من (30%).

كما يمكن تقسيمها حسب تنضيجها الى منضجة (Ripened) وغير منضجة (Unripened).

التنضيج : هي عملية اعطاء الجبن نكهه مميزة وتغيير قوامه اما بأستعمال انزيمات خاصة مثل Protease و Lipase او باضافة بكتيريا او اعفان حسب نوع الجبن المطلوب.

**التلف المايكروبي للاجبان:**

يعتمد التلف المايكروبي للاجبان على : نوع الجبن, نسبة الرطوبة, درجة حرارة التخزين, وفترة التخزين.ومصادر التلوث متعددة تبدأ بالحليب الخام نفسه إذا لم يعامل حراريا بصورة جيدة اضافة الى المعمل وما يحويه من احواض وارضية ومجاري واكياس والعاملين انفسهم وسيارات النقل ومحلات البيع.

تقسم مراحل تلوث الاجبان وتلفها الى :

**1- اثناء التصنيع Through production**: الاحياء المسئولة عن التلف تشمل:

أ) Coli forms : تكون احماض وغازات وكحولات.

ب) *Streptococcus lactis* : حموضة الجبن.

ج) *Bacillus* & *Clostridium* : تحلل البروتين في الجبن

**2- اثناء التنضيج Through ripening :** الاحياء المسئولةهي:

أ) *Micrococcus*: طعم مر.

ب) *Lactobacillus* *planetarium*: لون داكن بسبب انتاج H2S.

3**- بعد الانتاج After production**: الاحياء المسئولة هي :

أ) *Geotrichum*: تلون سطح الجبن وتحلل الجبن وتكوين حامض اللاكتيك.

ب) *Cladosporium*: لون اخضر- زيتوني.

ج) *Proteus* , *Pseudomonas*: لزوجة ورائحة كريهه.

**طريقة العمل:**

1- يؤخذ (5 غم ) من عينة الجبن ويضاف الى (45 مل ) من محلول (2%) سترات الصوديوم (لتفكيك الخثرة وتحرير الاحياء المجهرية) ويمزج بالخلاط.

2- تعداد كلي مباشر بطريقة Breed ( كما ذكر في فحص الحليب).

3- التعداد الحي باستخدام G.T.Y.A بدرجة حرارة 37 م لمدة ثلاثة ايام .

4- تعداد بكتيريا *Lactobacillus* باستخدام وسط Rogosa .

5- تعداد بكتيريا Coli forms باستخدام وسط MacConkey agar.

6- تعداد الخمائر والاعفان باستخدام وسط Yeast extract agar و Malt extract agar.

7- تعداد بكتيريا *Staphylococcus* باستخدام وسط Staph 110 .

8- تعداد بكتيريا *Listeria* *monocytogenes* .

هذه البكتيريا شائعة الوجود في التربة والمياه والاغذية منها الممرضة ومنها غير الممرضة ,من اهم انواعها *Listeria* *monocytogenes* وهي عصيات موجبة لصبغة كرام , تمتاز بظاهرة تعدد الاشكال Pleomorphism فتظهر بشل عصوي قصير او عصوي كروي او منحنية بشكل V او موازية لبعضها البعض. غير مكونة للسبورات او المحفضة ,حركتها ذات طبيعة بهلوانية مميزة بعد حضنها بدرجة 22 م لمدة 18 ساعة كما يمكنها العيش في درجات حرارة واطئة نسبيا.

تسبب عددا من الحالات الوبائية في الانسان والحيوان ويطلق مصطلح Lesteriosis على مجموعة الامراض التي تسببها هذه البكتيريا مثل:

1- التهاب السحايا الدماغية Meningitis.

2- اجهاض النساء الحوامل (Abortion) وموت الجنين.

3- التهاب الضرع للحيوان.

تعد من مسببات التسمم والتلوث الغذائي الخطر لقدرتها على انتاج انزيم Heamolysis والذيفانات المعوية والتي تسبب التهاب المعدة والامعاء.تنتشر الاوبئة التي تسببها هذه البكتيريا نتيجة تناول الحليب والاجبان واللحوم والخضراوات الملوثة.

من السهل تنمية هذه البكتيريا على اغلب الاوساط الزرعية فهي تظهر بشكل مستعمرات دائرية شفافة ذات مظهر شبيه بقطرات الندى وتظهر بهذا الشكل على اوساط Nutrient agar , Blood agar , Trypton agar. ويكون نموها افضل عند اضافة الكلوكوز الى الوسط , وللمستعمرات رائحة مميزة حامضية او رائحة زبدة الحليب. ولغرض التحري عن تواجدها في الاجبان يستخدم وسط التنشيط الخاص بالليستيريا ( Listeria enrichment broth, L.E.B) ومن ثم تنميتها على وسط (Modified McBride agar ,M.M.A) بطريقة التخطيط وتظهر المستعمرات بلون اخضر مزرق لماع.

**B) الالبان النتخمرة (اللبن Yogurt)**

تستخدم في صناعتة انواع الحليب الطازج او المجفف إذ يسخن الحليب (لازالة غالبية البكتيريا وتثبيط عمل الانزيمات) ثم يبرد ويضاف له البادئ وهو عبارة عن كمية متساوية من بكتيريا *Lactobacillus bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* ويحضن بدرجة (45-48 م) يصبح الناتج اكثر حامضية عند رفع درجة حرارة الحضن او اطالة فترة الحضن نتيجة نمو بعض الاعفان والخمائر فيه.

**طريقة العمل:**

1- التعداد الكلي المباشر(نفس الخطوات المتبعة في الحليب)

2- تعداد بكتيريا *Streptococcus* باستخدام وسط(Neutral Red Lactose Chalk Agar)

ويحضن بدرجة (37 م) لمدة (24-48 ساعة) , فتظهر المستعمرات حمراء داكنة محاطة بطبقة شفافة (بسبب ذوبان الكاربونات بفعل الحامض المنتج).

3- تعداد الخمائر باستخدام وسط Davis Yeast Extract Agar (قد تضاف المضادات الحيوية لمنع نمو البكتيريا) وتحضن بدرجة (25 م) لمدة (5 ايام).

4- تعداد بكتيريا *Lactobacillus* باستخدام وسط Rogosa او Tomato Solid Agar وتحضن بدرجة (30 م) لمدة (5 ايام).

**C) منتجات الحليب الدهنية:**

**1- الزبدة Butter:**

يصنع عادة من الحليب المبستر ويلقح ببادئ بكتيري يتكون من *Streptococcus lactis* و *Streptococcus cremoris.* هذهالبكتيريامسئولة عن خفض ال pH وانتاج حامض اللاكتيك اما الخثرة المسئولة عن النكهة فهي مكونة من *Strep. citrovorus* و *Strept. paracitrovorus .* ثمتحضن لمدة (24 ساعة) بدرجة (22م) ثم تمخض في مخاضات (Churning) الى ان تطفو حبيبات الزبدة التي تجمع وتغسل وقد تملح احيانا.اما الزبدة النباتية (Margarine) فهي زيوت نباتية او حيوانية تلقح ببادئ الزبدة لتكتسب رائحة الزبدة.

**تلف الزبد:**

الزبد من المواد المقاومة للتلف المايكروبي ولكن كلما زادت نسبة البروتين والرطوبة في الزبد كلما كان التلف اسرع واكثر.يتلف الزبد عادة نتيجة لنشاط الاحياء المجهرية المحبة للبرودة (وذلك لكون الزبد يحفظ عادة في الثلاجات والمجمدات), مثل عفن *Geotrichum* وبكتيريا *pseudomonas* *fragi* و *Pseudomonas* *fluorescence* و *Achromobacter*, إذ تفرز انزيمات Lipase المحللة للدهون مسببة تكوين احماض دهنية ذات سلاسل قصيرة وهذه بالتالي تسبب النكهة الزنخة للزبد.

وقد يحدث تلف كيميائي للزبد نتيجة تكون حوامض دهنية ذات سلاسل قصيرة (مثل حامض Butyric) اثناء صناعة الزبد او نتيجة الاكسدة والتحلل الذاتي لدهون الزبد بعد صناعته.

**طريقة العمل:**

تذوب العينة بدرجة (50م) ثم تمزج جيدا لاجراء الاختبارات التالية:

1- تعداد كلي مباشر بطريقة Breed ( كما ذكر في فحص الحليب).

2- التعداد الحي العام للبكتيريا باستخدام وسط G.T.Y.A.

3- تعداد بكتيريا القولون باستخدام وسط MacConkey agar.

4- تعداد الاحياء المجهرية المحللة للكازائين:

يستخدم وسط Milk agar (حليب 30% + Nutrient agar) يلقح الوسط ثم يحضن بدرجة (30م) لمدة (5 ايام) .النتيجة الموجبة تظهر بشكل منطقة شفافة حول المستعمرات النامية.

5- تعداد البكتيريا المحللة للدهون:

يستخدم وسط Oil agar (زيت زيتون 5% + Nutrient agar) يلقح الوسط ثم يحضن بدرجة (30م) لمدة (3 ايام). وتظهر النتيجة الموجبة بعد اضافة قطرات من محلول مشبع من كبريتات النحاس على المستعمرات النامية ويترك لحوالي (10 دقائق) ثم تغسل بالماء لازالة المحلول الزائد ويظهر تحلل الدهن بشكل منطقة خضراء مزرقة نتيجة تكون املاح النحاس غير الذائبة للاحماض الدهنية المتكونة من تحلل الدهن. يمكن كذلك استخدام وسط Tween 80.

6- تعداد البكتيريا المحبة للملوحة باستخدام وسط (NaCl 15%+ Nutrient agar) ,تحضن الاطباق بدرجة حرارة (30م) لمدة (3-5 ايام).

**2- القيمر:**

عند تسخين الحليب وتركه ليبرد نلاحظ تكون طبقة دهنية على سطحه ,سمك هذه الطبقة يعتمد على كمية الدهن الموجودة في الحليب فقد تكون هذه الطبقة سميكة عند استخدام حليب الجاموس مثلا, وقد تحوي هذه الطبقة بالاضافة للدهن كمية من البروتين والاملاح المعدنية وسكر الحليب. القيمر المعقم المعبأ في العلب قد يحوي عددا اقل من الاحياء المجهرية وقد يحدث التلف المايكروبي من قبل نفس الاحياء المجهرية الموجودة في الحليب.

**طريقة العمل:**

1- تذاب العينة بدرجة 45 م في حمام مائي.

2- تعداد كلي مباشر بطريقة Breed .

3- التعداد الحي العام باستخدام وسط G.T.Y.A.

4- تعداد بكتيريا القولون باستخدام وسط MacConkey agar.

5- تعداد البكتيريا المحللة للدهون باستخدام وسط Oil agar او Tween 80.

6- عزل بكتيريا *Staphylococcus*.