دراسة التلوث الجرثومي لحليب الجاموس بعض خواصه والكيماوية

م.م. طه حسن جاسم
كلية التربية الأساسية / جامعة ميسان

الخلاصة:

استهدفت هذه الدراسة تقييم التلوث الجرثومي لحليب الجاموس في محافظة ميسان حيث تم اخذ تسعة عينات من الحليب من ثلاث مناطق مختلفة من محافظة ميسان وهي قضاء العمارة (الروابة) والكحلاء والمشرح وبعد اجراء الفحوصات في مختبر صحة ميسان اظهرت النتائج بان عينات الحليب الماخوذه من ناحية المشرح قد اعطت ارتفاعا معنويا لحموضة الحليب المسححه Titration acidity **(0.49±0.01)** ،وانخفاض الاس الهيدروجيني pH**(5.08±0.03)** وزيادة في اعداد البكتريا القولون *coliformbacteria* **(2×10^3)** والعد البكتيري العام Total bacterial count **(6×10^3)** , وأيضا لوحظ ارتفاعا معنويا لعينات الحليب التي اخذت من الكحلاء ولكن بشكل اقل مما في عينات الماخوذه من المشرح عن الحدود الطبيعية المسموح بها عالميا في حين اظهرت عينات الحليب الماخوذه من قضاء العمارة (الروابة) نتائج طبيعيه .

المقدمة :

الحليب سائل بيولوجي معقد التركيب ويعد الغذاء الاول الذي يتناوله المولود بعد الولادة مباشرة سواء كان انسان او حيوان (Harding,1995) ويعتبر الحليب من بين مختلف الاغذية اقربها الى الكمال حيث تمد بروتينات الحليب الجسم بجميع الاحماض الامينية والدهنية ومجموعة الفيتامينات الذائبة في الدهن واللازمة لبناء الخلايا ويقوي الجهاز المناعي في الجسم لاحتوائه على اجسام مضادة خصوصا في حديثي الولادة (عبد الرضى واخرون،٢٠٠٣) وللحليب قيمة غذائية عالية للإنسان فهو وسط مثالي جدا لنمو العديد من الأحياء المجهرية (رشيد وبهاء الدين ،١٩٩٠) ان هذه القيمة الغذائية العالية من المكونات الداخلة في تركيبة وطبيعة تكوين الحليب حيث يشكل الماء نسبة عالية منه ووجود سكر اللاكتوز القابل للتخمر وكذلك البروتينات والدهون والاملاح والفيتامينات اضافة الى الحموضة الواطئة (pH 6,6) كلها وتجعل الحليب وسطا ملائما ومثاليا لنمو وتكاثر الاحياء المجهرية ولصعوبة تجنب تلوث الحليب بالاحياء المجهرية فقد اصبح المحتوى الجرثومي ميزة مهمة في تحديد نوعية الحليب (Rogeij,2003) ففي المراحل المختلفة يكون الحليب عرضة للتلوث البكتيري وخصوصا في ظروف التصنيع

المنزلي التي لاتعتمد على بسترة الحليب وتفتقر الى مستلزمات النظافة والتعقيم للأدوات المستخدمة بالإضافة الى عدم نظافة العاملين وعملية الحلب اليدوي غير مشتملة على الاشتراطات الصحية المطلوبة (شاكر محمود واخرون ،٢٠٠٨) يتلوث الحليب بمختلف انواع البكتريا المرضية مثل E. coli , salmonella , listeria إضافة إلى الخمائر والاعفان حيث تحدث المرض وتهدد حياة المستهلكين (FAO,2007) يتبين مما سبق بان الاحياء الدقيقة في الحليب تحدث تغيرات غير مرغوب فيها في التركيب الطبيعي والكيميائي والمظهري (عبد الراضى ثابت وآخرون ،٢٠٠٣) ،وهدف هذه الدراسة هو معرفة التلوث الجرثومي لحليب الجاموس وخصوصا من قبل الاطفال وكون الحليب سريع التلف وبالتالي احتمال نقل بعض الامراض الى الانسان .

مواد وطرق العمل

نفذ البحث في مختبرات الصحة العامة لمديرية صحة ميسان في محافظة ميسان في عام ٢٠١٤ حيث تم تحليل ثلاثة عينات من كل منطقة وهي المشرح والكحلاء والروابة التابعة لمحافظة ميسان .

١- تقدير حموضة الحليب

أساس تقدير الحموضة بالمعادلة أنه إذا أضيف محلول قلوي إلى الحليب فانه يستنفذ من هذا المحلول قدرا معينا حتى يصل إلى نقطة التعادل التي تعرف بأحد الأدلة وتدل كمية القلوي المستعملة على حموضة الحليب بالتعادل وهذه يعبر عنها عادة كنسبة مئوية لحامض اللبني .

$$\% \text{ للحموضة} = \frac{0.9 \times \text{NaOH N٠,١ من ml}}{\text{١٠ (كمية الحليب المستخدمة)}}$$

(Najim *etal;* 2012)

٢- **قياس pH الحليب** : تم تعيين الاس الهايدروجيني (pH) للحليب باستخدام جهاز pH meter

٣- العد المباشر للبكتريا في الحليب واختبار الاختزال :

تعتبر أسرع الطرق لمعرفة عدد البكتريا في الحليب وأساس الطريقة صبغ وعد البكتريا الموجودة في عينة الحليب ذات حجم معروف ومفرودة على مساحة معروفة .

المواد والأدوات:-

١- ميكروسكوب . ٢- شريحة ميكرومترية . ٣- شرائح زجاجية مقسمة ١سم^{٢} .

٤- ماصة شعرية ٠،٠١ ملل. ٥- صبغة أزرق الميثيلين . ٦- زيلول . ٧- كحول إيثايل٩٥% .

طريقة العمل :-

١- بعد اخذ ٠،٠١ ملل من النموذج المراد فحصه ووضعه على الشريحة الزجاجية النظيفة بواسطة اللوب وزعت القطرة على مساحة ١سم^{٢} وتركت الشريحة تجف ثم وضعت في الزيلول لمدة دقيقة واحدة لغرض إزالة المادة الدهنية وبعدها غسلت وجففت ووضعت الشريحة الجافة في كحول الإيثيلي ٩٥% لمدة ٣٠ ثانية وبعدها غسلت وجففت .ووضعت الشريحة في صبغة أزرق الميثيلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت وتجففت وفحصت الشريحة تحت العدسة الزيتية الكبرى وتم حساب اعداد البكتريا في ٣٠ حقل ثم حسب متوسط عدد البكتريا في الحقل الواحد ومن ثم اضرب الناتج في العدد المجهري .

تحسب مساحة الحقل باستخدام القانون : مساحة الحقل = ط نق^{٢}

(MF) العدد الميكروسكوبي = ١٠٠× ١٠٠ ÷ مساحة الحقل

(١) ١٠٠ الأولى هي عدد المليمترات المربعة في السنتيمتر المربع الواحد .

(٢) ١٠٠ الثانية هي للحصول على العدد في المليلتر الواحد . (حيث استخدم ٠,٠١ملل)

(Najim *etal;* 2012)

المواد والأدوات :-

١- أطباق بتري معقمة . ٢- ماصات ٣ - بيئة الأجار المغذي(VRB) . ٥- حاضانات .

(Najim *etal;* 2012)

١- **فحص بكتريا القولون في الحليب** : Coliform

يعد هذا الفحص دليلا على إحتمال تلوث الحليب ومنتجاته بالبكتريا المرضية .

الطريقة :

٢- بواسطة ماصة معقمة نقل ١ملل من الحليب إلى طبق بتري معقم .

٣- صب حوالي ١٥ملل من بيئة VRB على نموذج الحليب .

٤- حرك الطبق للأمام والخلف وفي اتجاه وعكس عقارب الساعة لتوزيع الحليب .

٥- ترك الطبق حتى تصلبت البيئة . ٥- سكب قليلا من البيئة السائلة كطبقة ثانية .

٦- بعد تصلب الطبقة الثانية حضن على ٣٧ م$^{°}$ لمدة ٢٤ ساعة

ويكون شكل البكتريا حمراء ارجواني محاطة بهالة بنفسجية كبيرة الحجم.(Najim *etal;* 2012)

١- فحص بكتريا المكورات الذهبية : S. aureus

وتتم عملية الفحص نفس الطريقة السابقة مع اختلاف الوسط الذي يكون Manitol salt Agar وعملية الفرش تكون في كل الاتجاهات وتكون البكتريا صفراء عدسية اشبة بحبة العدس (Najim *etal;* 2012)

فحص الخمائر والاعفان : Yeast and moulds:

نقل ١مل من الحليب وننقلة الى طبق بتري معقم بعد صهر البيئة الخاصه بالكشف وهي السابروبد اجار وحضنه لمدة ٣-٥ ايام في درجة حرارة ٢٢-٢٥م.(Najim *etal;* 2012)

الاحصاء :

حللت البيانات إحصائياً باستخدام البرنامج الجاهز SPSS (1998) واختبرت معنوية الفروق بين المعاملات باستخدام اختبار Duncan متعدد الحدود تحت مستوى احتمالية 0.05 & 0.01 .

النتائج والمناقشة :

حموضة الحليب : Titration acidity

اظهرت النتائج في الجدول رقم (١) ارتفاعا معنويا لحموضة الحليب المسحة للعينات المؤخوذة من قضاء المشرح والكحلاء وكانت العينات الماخوذه من قضاء المشرح هي الاعلى من حيث الحموضة وانخفاض الاس الهايدروجيني وتعتبر الحموضة من الامور المهمة التي تحدد مدى صلاحية الحليب وفترة بقائة بدون تلف وعند الحلب يكون الحليب طازج خالي تماما من حامض اللاكتيك ولكن عند تقدير الحموضة تكون ما بين(٠,١٤ – ٠,١٦ %) وترجع هذه الحموضة الى وجود مركبات ذات تأثير حمضي في الحليب مثل

١- ثاني أكسيد الكربون الذائب
٢- بروتينات الشرش
٣- املاح السترات
٤- املاح الفوسفات
٥- الكازين

هذا مايسمى بالحموضة الطبيعية للحليب وهي عبارة عن وجود مكونات ذات تأثير حمضي وهي كما سبق ما عدا حامض اللاكتيك . ولكن عند ترك الحليب فتره تقوم الاحياء المجهرية الموجودة طبيعيا في الحليب بتحويل سكر اللاكتوز ال حامض اللاكتيك وهذه تسمى بالحموضة المتولدة او الحموضة الناشئة او المتطورة. (Najim *etal;* 2012)

والحموضة الناتجة عن المعايرة مع هيدروكسيد الصوديوم الحموضة الكلية للحليب أي هي مجموع الحموضة الطبيعية مع الحموضة المتطورة .وقد لوحظ ان العينات التي لدينا تكون نسبة الحموضة مرتفعة في كل من المشرح والكحلاء ويرجع ذلك الى وجود نشاط للاحياء المجهرية المسببة للحموضة وخصوصا بكتريا القولون وبكتريا المحلله لسكر الحليب حيث ارتفعت عن الحد الطبيعي وتجاوزت ٠،١٨% ويرجع ذلك لعدم توفير الشروط الصحية المناسبة لعملية الحلب اما في عينات الروابة فتكون النسبة طبيعية ولم تتجاوزعن الحد

الطبيعي بسبب وجود عدد قليل من البكتريا المسببة للحموضة وليس لة تاثير معنوي بسبب توفر الضروف المناسبة للحلب

فحص الاس الهايدروجيني pH:

هو عبارة عن اللوغارتم السالب لتركيز ايون هيدروجين في الوسط وان ايونات الهيدروجين تنتج عن تاين المواد الحامضية ، ورقم pH الحليب الطبيعي هو ٦,٦ ويرتفع هذا الرقم الى ان يكون اكثر من التعادل اذا نتج الحليب من حيوانات مصابه بإلتهاب الضرع كما ينخفض رقم pH عن ٦,٦ عند نشاط بكتيريا حامض اللاكتيك وتحويل جزء من سكر اللاكتوز الى حامض اللاكتيك وهذا ما وجد في عينة المشرح والكحلاء حيث لوحظ انخفاض معنوي في pH الحامضي للعينات المأخوذة من قضاء المشرح والكحلاء مقارنة مع عينات الماخوذة من قضاء العمارة التي اظهرة نتائج طبيعية (جدول رقم ١).

الفحوصات الجرثوميه :

اظهرت النتائج في الجدول رقم (٢) زيادة في اعداد البكتريا الكلي العام عن الحدود الطبيعية التي يفترض وجودها في الحليب الصالح للاستهلاك البشري وايضا لوحظ زيادة عددية لبكتريا القولون التي يدل وجودها الى عدم صلاحية الحليب للاستهلاك البشري في حين لم يلاحظ وجود الخمائر والاعفان والمكورات العنقودية الذهبية *staphylococcus earus* في كل عينات الحليب ويرجع ذلك الى عدم توفير البيئة الصحية اثناء عملية الحلب وعدم اتباع السبل الصحيحة في التعامل مع الحليب من حيث غسل اليدين والضرع والأواني المستخدمه في الحلب وتوفير مسكن نظيف لإيواء الحيوانات

جدول رقم (١) معدل قيمة الحموضة المسححه والاس الهايدروجيني والخطا القياسي لعينات الحليب حليب الجاموس

نوع الفحص / منطقة العينة	الحموضة المسححة TA%	الاس الهايدروجيني pH
قضاءالمشرح	0.49±0.01 a	5.08±0.03 a
قضاء الكحلاء	0.42±0.04 b	5.90±0.05 b
قضاء العمارة (الروابة)	0.018±0.01 c	7.06±0.09 c

الحروف الصغيرة تمثل الفروقات المعنوية بين عينات الحليب والنسبة الطبيعية لحموضة الحليب والرقم الهيدروجيني

جدول(٢) الحمولة الجرثومية(cfu/ml) لحليب الجاموس في ثلاثة المناطق من محافظة ميسان

الفحص الجرثومي / منطقة العينة	Total count	*Coliform*	Molt and yest	*Staph earus*
قضاء المشرح	6×10^3	2×10^3	-ve	-ve
قضاء الكحلاء	1×10^3	2×10^2	-ve	-ve
قضاءالعماره (الروابة)	2×10^2	ve–	-ve	-ve

المصادر العربية :

رشيد محجوب ،بهاء الدين حسين.(1990) . الاحياء المجهرية في الاغذية .الجهاز المركزي للاحصاء . المجموعة الاحصائية السنوية ،الجمهورية العراقية ..كلية العلوم ،جامعة بغداد.

شاكر محمود جواد، ستار جاسم ، حتروش جاسم ، وهاب محمد ،وشيماء مهدي كاظم. (٢٠٠٨) . التلوث البكتيري للجبن الطري المنتج منزليا من حليب الابقار والجاموس وطرقة حفظه . مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري، المجلد٧، العدد٢، كلية التربية، جامعة كربلاء.

عبدالراضى ثابت، الفونس فخري(٢٠٠٣) ، المواصفات القياسية في صناعة الالبان ،مجلة اسيوط للدراسات البيئية.

Reference :

Najim,N. H; Zina,S.(2012). Laboratory manual for milk testing, department of veterinary public health collage of veterinary medicine Baghdad university .

FAO (2007). Food and Agricultural organization of the United Nation. Rome. Manuals of Food Quality Control. Microbiol. Anal. 4: 6. 11. 11-Fellows, P.

Harding. F. (1995). Milk Quality. 1st edition published by Blackie Academic and Professional and improvement of Chapman and Hall Wester and cleddens road.

Rogelj, E. (2003). Microorganisms of importance in raw milk. Michigan Dairy Review, 8: 7-9

This study aimed to evaluated bacterial contamination of buffalos milk in Miysan, the samples were collected from three different regions of the province of Miysan assess which Al-amara (Alrwabh) , Al-kahla and Al-mushrah. After conducting tests in the Missan laboratory of health, the results showed that the milk samples were taken from Al-mushrah had significantly highest in Titration acidity (0.49 ± 0.01), and lowe in pH (5.08 ± 0.03) with an increase in the counts of *coliform* bacteria (2×10^3) cfu/ml and Total bacterial count (6×10^3)cfu/ml , compared with the samples of milk taken from Al-khala and the Al-amara (Alrwabh), the milk samples taken from (Alrwabh) showed normal result.