تأثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في بعض أنواع بكتريا حامض اللاكتيك في الحليب الخام

سمية خلف بدوي مها اسماعيل قصير حامد صالح محمد
كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل

الخلاصة

تمت دراسة تأثير إضافة الفورمالين
بتراكيز(0,008%،0,012%،0,016%،0,020%) في بعض أنواع بكتريا حامض اللاكتيك
Lactobacillus acidophilus ،
Streptococcus thermophilus(Streptococcus salivarius subsp.
Bifidobacterium animalis ، *Leuconostoc dextranicum* ، *thermophilus)*
Lactobacillus bulgaricus(Lactobacillus delbrueckii ،*subsp. lactis*
subsp. bulgaricus) في الحليب الخام.

أظهرت النتائج أن أضافه الفورمالين ألى الحليب كان له تأثير واضح على جميع أنواع البكتريا المستخدمة والمذكورة أعلاه حيث كان التأثير أما مثبطاً اوقاتلاً وهذا اعتمد على قوة التركيز المستخدم ونوع البكتريا وفترة التعريض بالإضافة إلى التأثير على إنتاج الحموضة من قبل بكتريا حامض اللاكتيك وقد اتضح إن التركيز 0,008% كان مثبطاً لجميع أنواع البكتريا وأختلف التأثير حسب الفترة الزمنية ونوع البكتريا. كما أظهر التركيز0,012 % تأثيراً مثبطاً على كل من البكتريا *Leuconostoc dextranicum* و*Lact.acidophilus* و *Strept. thermophilus* و *Lact.bulgaricus* على ألتوالي وفي التركيز 0,02% كان التأثير مبيداً وخلال أكثر من يومين على وجود هذه الأنواع. بالنسبة لبكتريا *Bifidobacterium lactis* كانت أكثر أنواع بكتريا حامض اللاكتيك مقاومة لكن تم أبادتها عند تركيز 0,02% وخلال أكثر من يومين. في حين أن التركيز 0,016% كان مبيدا للبكتريا *Bifido. lactis* بعد ثلاثة أيام من ألتعريض.

المقدمة

يعد الحليب وسطاً مناسباً لنمو اغلب أنواع البكتريا لذلك فهو معرض للتلوث بهذه الأنواع من البكتريا ومن مصادر مختلفة كما تستخدم بكتريا حامض اللاكتيك في صناعة منتجات الألبان المختلفة. ان ارتفاع حموضة الحليب هي أحدى أكثر المشاكل التي تواجه كل من المنتج ومصانع الألبان على حد سواء وبغض النظر عن الظروف المناخية للمنطقة وذلك في كافة المناطق حارة كانت أم باردة خصوصاً عند عدم استخدام التبريد بعد عملية الحلب مباشرة. وقد يؤدي ارتفاع الحموضة أحيانا الى ترسيب بروتينات الحليب خصوصاً عند إجراء المعاملة الحرارية له في مصانع الألبان لهذا فان إضافة مواد حافظة جيدة وفعالة قد تساعد في معالجة او ايقاف مثل هذه المشكلة وكثير من أنواع المشاكل الأخرى التي تحدث بفعل أنواع من البكتريا الملوثة بالحليب (Dehlink واخرون ؛(2007)) .

من المعروف عن الفورمالديهايد انه من المواد المثبطة والمبيدة القوية لأنواع عديدة من البكتريا. حيث ان محلول الفورمالين الذي يحتوي على 40% تقريباً من الفورمالديهايد والكحول الذي يباع ويعرف باسم الفورمالين وهو شائع كمادة حافظة وقد جرت دراسات عديدة عليه كمادة حافظة منذ زمن بعيد خصوصاً عندما كانت وسائل تبريد الحليب والمواد الغذائية الأخرى محدودة جداً (Karoly ؛(1944) وSollman ؛(1957) و El-Sadek وآخرون ؛(1979) و Suren وآخرون؛(1981)). إذ كان الفورمالين يضاف عادة الى الحليب المعد لصناعة بعض أنواع الجبن في دول مختلفة خصوصاً في الدول التي ينتج فيها الحليب تحت ظروف غير صحية وملوث بأنواع عديدة من الكائنات الحية الدقيقة. والفورمالين له تأثير على الصحة العامة خصوصاً عند استخدامه بتراكيز عالية لأنها مادة مسرطنة فنجد

ان التراكيز المستخدمة من قبل Sollman ؛(1957) تتراوح بين 1: 20000 الى 1:33000 في حين

تاريخ تسلم البحث 30/ 6/ 2011 وقبوله 29 / 5 / 2012

El-Sadek وآخرون ؛(1979) استخدموا تراكيز من الفورمالين تراوحت بين 0,01% إلى 0,04 % والحد الاعلى المسموح 0,2%.

إن الغرض الأساسي من أجراء هذه الدراسة هو تقييم كفاءة التراكيز المختلفة المستخدمة من الفورمالين والتي تتراوح من 0,008% إلى 0,020% على بعض أنواع بكتيريا حامض اللاكتيك المستخدمة كبادئات في منتجات الألبان وكذلك كثيراً ما يلاحظ وجودها في الحليب الخام المورد إلى مصانع الألبان .

مواد وطرائق البحث

تم عزل بعض أنواع بكتريا حامض اللاكتيك المنتجة للحموضة مثل*Lact. acidophilus* و *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus bulgaricus* من الحليب الخام لحقول كلية الزراعة والغابات الذي جرى اختباره في هذه الدراسة ، وشخصت جميع العزلات بإجراء الفحوصات المظهرية والكيميوحيوية حسب Holt واخرون;(1994) بينما بكتريا *Leuconostoc dextranicum* و*Bifidobacterium animalis subsp.lactis* تم استيرادها من شركة Hansan الدانماركية. جرى تنمية الانواع *Lact.acidophilus* و*Lact.bulgaricus* وBifidobacterium على الوسط MRS بينما بكتريا Leuconostoc على الوسط Leuconostoc وبكتريا Streptococcus على الوسط Elliker حسب Difco؛(1969) وقد جرى تحضين جميع الأنواع على 37مْ لمدة 18-24 ساعة عدا بكتريا Leuconostoc على 22مْ.

أضيف لكل 196 مل من الحليب الفرز المعقم 2 مل من المزرعة وأضيف الفورمالين بتراكيز40% إلى هذا الوسط الملقح بالبكتريا ليعطي النسب المقررة في هذه الدراسة والبالغة 0,008 و 0,012 و 0,016 و0,020% وكان مزيج الوسط الملقح قد وضع في قناني جرى مزجها من خلال الرج بشكل جيد قبل اخذ العينات وتم تحضينها عند الدرجة 22مْ بالنسبة لبكتريا *Leuconostoc dextranicum* اما بقية الأنواع فحضنت عند37 مْ وقدرت الإعداد الكلية للبكتريا عند 2 و4 و6 و8 ساعات وبعد 1 و 2 و3 أيام من التعريض للفورمالين وكذلك تم احتساب وقت التخثر للحليب لكل نوع من البكتريا ولكل معاملة.

النتائج و المناقشة

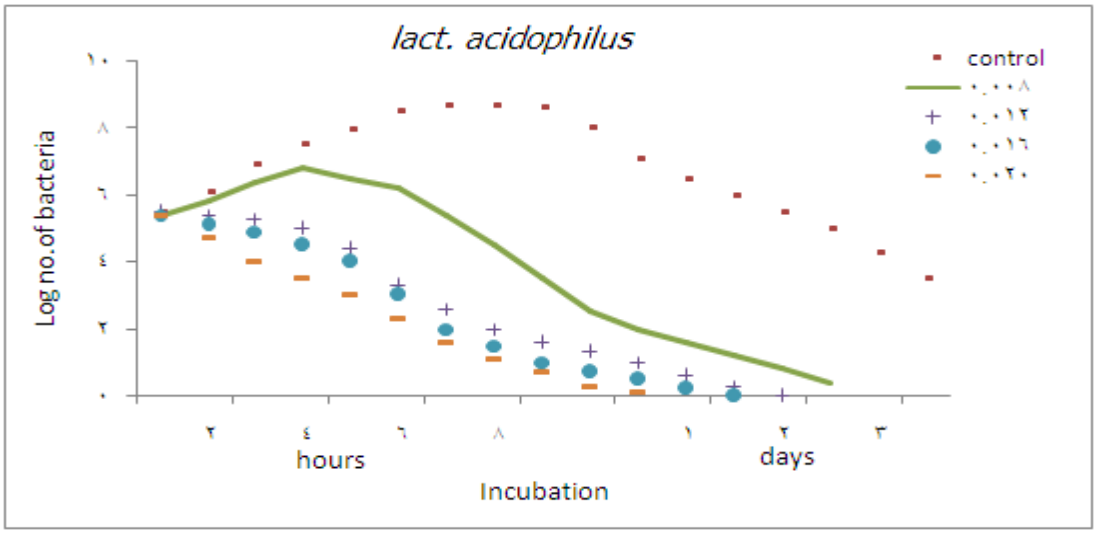
يبين الشكلين (1و2) تأثير التراكيز المختلفة من الفورمالين وفترات التعريض لكل من بكتريا *Lact. acidophilus* وبكتريا *Streptococcus thermophilus*، على التوالي، ويتضح من ذلك إن استخدام الفومالين كان له تأثيراً مثبطاً (Bacteriostatic) اوقاتلاً (Bactericidal) وبناءاً على التراكيز المستخدمة من الفورمالين وعلى نوع الكائن الحي، بينت النتائج انه عند استخدام تركيز 0,008 % فان التأثير المثبط كان مختلفاً حسب فترة التعريض بينما عند التركيز 0,012% فان التأثير المثبط على نفس النوعين السابقين خلال 2 و4 و6 و8 ساعات وبعد فترة أكثر من يوم واحد كان التأثير المثبط أكثر وضوحاً وعند التركيز 0,016% وجد ان التأثير المثبط اقل عند يوم واحد. من الشكل (3) نجد التركيز 0,012% له تأثيراً مبيداً بالنسبة لبكتريا*Leuco. dextranicum* بينما في التركيز 0,016% أدى إلى تثبيط نمو بكتريا *Leuco. dextranicum* في اقل من يوم واحد. من الشكل (4) نلاحظ بان بكتريا *Lact. bulgaricus* كانت أكثر مقاومة من الأنواع السابقة عند تركيز 0,016% وكذلك كانت بكتريا *Bifidobacterium* الأكثر مقاومة مقارنة بالأنواع السابقة عند التركيز 0,016% كما في

الشكل(5). من جميع الإشكال السابقة نلاحظ عند استخدام التركيز 0,012% وهو أعلى المستويات المستخدمة كان له تأثيراً مبيداً لكافة الأنواع المستخدمة في الدراسة وهذه النتائج اتفقت مع ماذكرهMohmoud وآخرون;(1985)بان هذا التركيز له تأثيراً مبيدا" على بكتريا *Lactococcus lactis* و *Strep. thermophilus* و*Escherichia coli*.

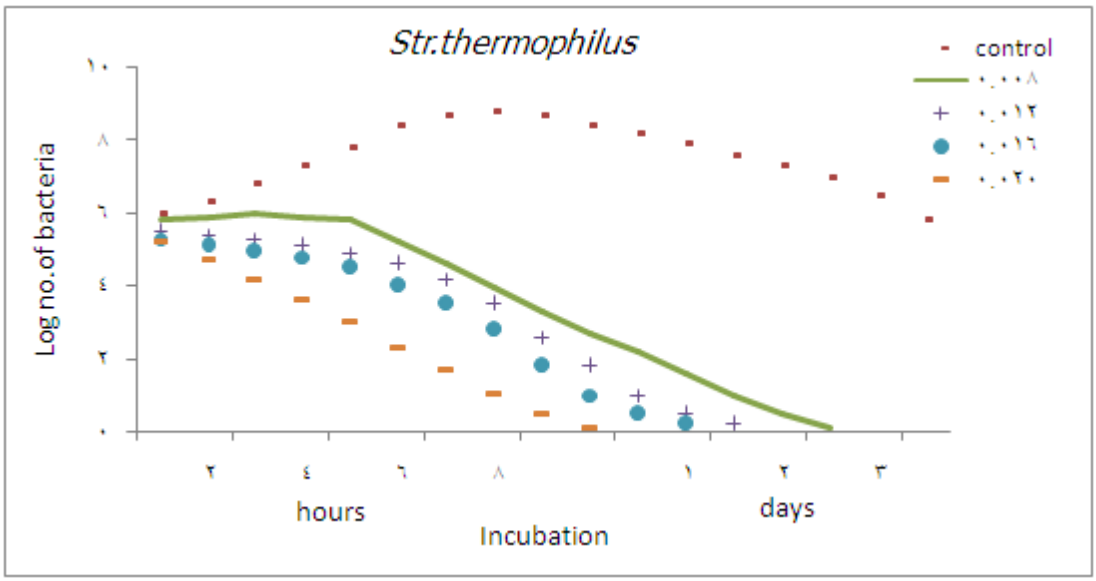
يتضح من هذه النتائج إن زيادة مستوى أو تركيز الفورمالين أدى الى زيادة التأثير وتحوله من تأثير مثبط إلى تأثير قاتل وهذا أيضاً ما وجده Hamilton ;(1971) الذي بين بان الالديهايدات (aldehydes) بشكل عام لها تأثيراً مثبطاً في التراكيز الواطئة ويتحول إلى تأثير قاتل عند التراكيز العالية نسبيا" .

اتضح من الجدول(1) إن إنتاج الحموضة من قبل بكتريا *Lact. acidophilus* و Bifido. عند التركيز 0,008% كان قليلاً اذ تأخر إنتاج الحامض بالمستوى المطلوب إلى 26 ساعة بدلاً من 16 ساعة وبالنسبة لبكتريا *Str.thermophilus* استغرق30 ساعة لتخثر الحليب في حين*Lact. bulgaricus* استغرق 16 ساعة ولكن عند استخدام التركيزين 0,016 و 0,020% توقف إنتاج الحموضة نهائياً بالنسبة لكل أنواع البكتريا وهذا يتفق مع ما ذكره Suren وآخرون ؛(1981) إن استخدام تركيز 0,015 % من الفورمالين أدى إلى إطالة الفترة اللازمة لإنتاج الحموضة إذ استغرق تخثر الحليب حامضياُ بعد مرور 2 – 3 أيام .

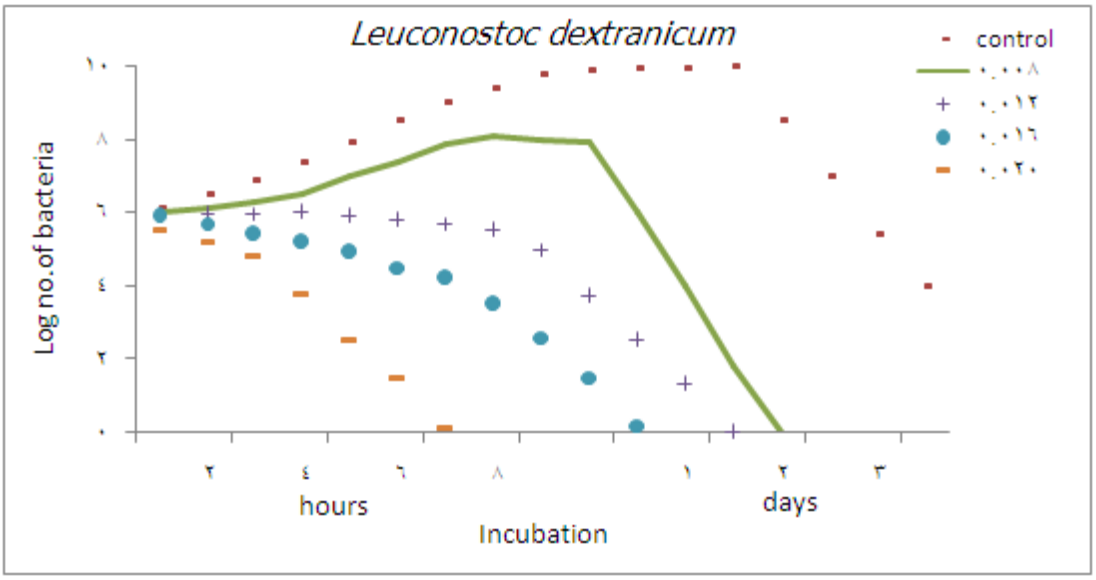
وقد أعزى الباحثون Francois؛(2002) و Dehlink وآخرون؛(2007) التأثير المثبط أو المبيد للفورمالين يعود الى ان ميكانيكية التأثير تمر بمرحلتين الأولى تكون في البداية وهي مثبطة في حين ان المرحلة الثانية تكون مبيدة أو قاتلة إذ إن الفورمالين يؤثر في تكوين الجدار الخلوي و الغشاء السايتوبلازمي والمواد النووية ويؤدي إلى موت الخلايا أو قتلها ولكن لوحظ أيضا" انه في بعض الحالات قد تتمكن بعض الخلايا من إنتاج بعض الأنزيمات التي لها القدرة على تحليل الفورمالين وتحويله إلى غاز ثنائي اوكسيد الكاربون وبالتالي تسترجع الخلية قدرتها على النمو بشكل طبيعي وبهذا يمكن استخدام مثل هذه الانزيمات في تعطيل مفعول الفورمالين أو إبطاله وهذا مفيد في حالة الرغبة في تحليل الفورمالين قبل وصول الحليب أو المنتج اللبني إلى المستهلك أو قبل التصنيع مباشرة (Miroslav ؛(2009)).



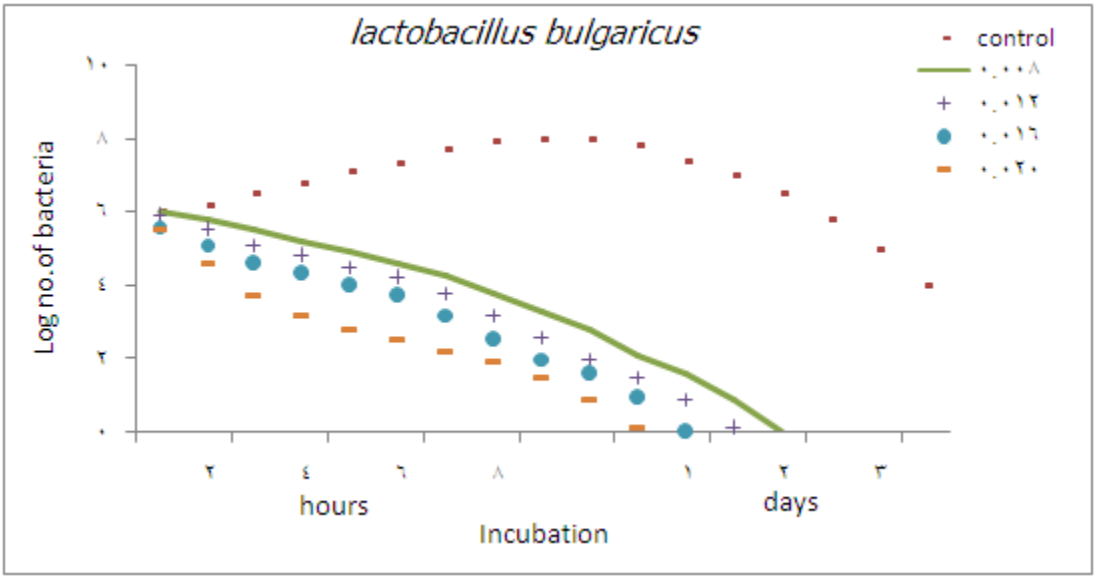
الشكل(1) تأثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في نمو بكتريا *Lact. acidophilus*.



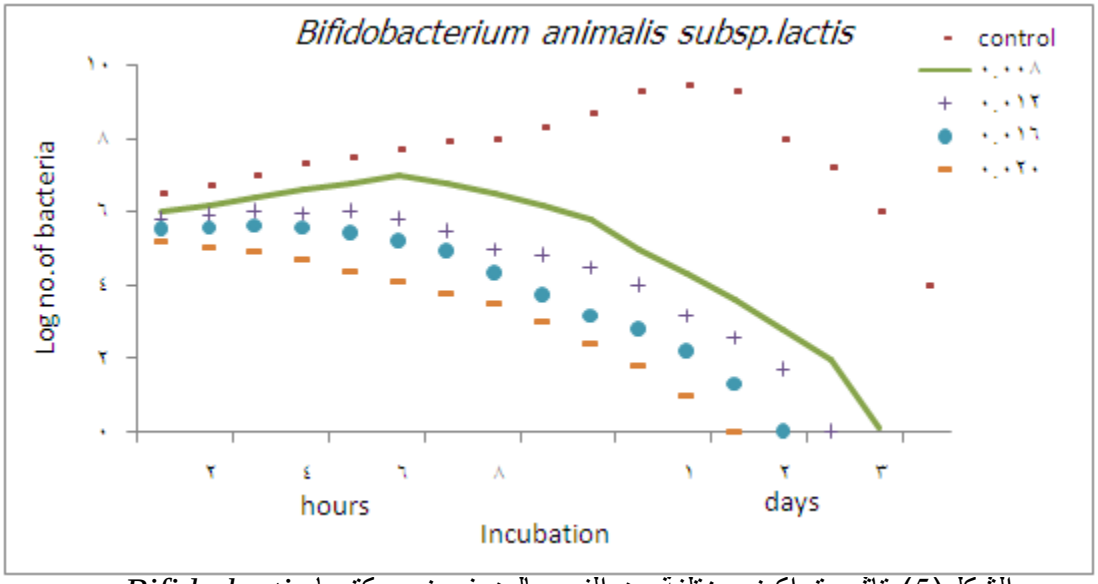
الشكل(2) تأثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في نمو بكتريا *Str.thermophilus*.



الشكل(3) تأثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في نمو بكتريا *Leuco. dextranicum*.



الشكل(4) تأثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في نمو بكتريا *Lact.bulgaricus*.



الشكل(5) تاثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في نمو بكتريا *Bifido.lactis*.

الجدول(1) تأثير تراكيز مختلفة من الفورمالين في قدرة بكتريا حامض اللاكتيك في تخثر الحليب

نوع البكتريا	تراكيز الفورمالين %			
	0,008	0,012	0,016	0,020
	مدة التخثر (ساعة)	مدة التخثر (ساعة)	مدة التخثر (ساعة)	مدة التخثر (ساعة)
Str.thermophilus	30	48	لم يحدث تخثر	-
Lact.bulgaricus	16	30	-	-
Lact. acidophilus	26	40	-	-
Leuco. dextranicum	-	-	-	-

المصادر

1.Dehlink, E.,Douig, K.J. loibichler,C.,(2007). Heat and formalin inactivated probiotic bacteria induce comparable cytokine leucocyte in intestinal epithelial cell leucocyte coculture .J. food prot.70(10),2417-2421.

2.El-Sadek,G.M., Shehata, A.E. and El-Magdoub, N.I.,(1979). Effect of formaldehyde on keeping quality of milk .Public Organization for Scientific Appliances- Ain Shams.

3.Difco Manual of dehydrated culture media and reagents. 9th .Ed. Difco Inc., Detroit, Michigan(1969).

4.Francois , J.G., (2002). Probiotic and formaldehyde treatment of artemia nauplii as food larval Pollack, Polluchius. http:// dx.doi.org // 0.1016 / S004-8486(02)001382.

5.Hamilton ,W.A.,(1971).Membrance active antibacterial compounds. Edited by HGO. Academic press London.

6.Holt, J. C. ,N. R. Krieg, J. T. Stately, and S. T. Williams (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th edition. Williams and Wilkins Baltimore. Maryland, U.S.A.

7.Karoly, V.,(1944).Preservation of milk means chem.. Abstr.38,4706.

8.Mahmoud,S.Z.,M.M. Sabbour and N.Tawfik(1985).Effect of formalin on some desirable and non desirable organisms.Egy.J.Dairy Sci.,13:159-166.

9.Miroslav,T.ken ran Holde and Jordanka Zlalonova,(2009).Influence of physicochemical factors on the oligomerization and Biological activity of bacteriocin .J.of fluorescence.19(1), 53-62 .

10.Sollman , T.,(1957). A manual of pharmacology Saunders Company , London.

11.Suren, G. Heeschen, W. and Tolle, A.,(1981).Preservation of raw milk samples with formalin for the estimation of pyrurate . Deutsche M. Zeitung.

Effect of different formalin concentrations on some species of lactic acid bacteria in raw milk

Badawi,S.K. M.I.Kasir H.S.Mohammad
College of Agric . and Forestry , Mosul Univ., Iraq.

Abstrac

The influence of formalin at 0.008,0.012,0.016 and 0.020% concentrations on the some species of lactic acid bacteria such as *Lactobacillus acidophilus ,Streptococcus thermophilus (Streptococcus salivarius subsp. thermophilus), Leuconostoc dextranicum, Lactobacillus bulgaricus(Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus)* and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* in raw milk.

The results were revealed that the addition of formalin to milk had obvious effect on all kinds of bacteria used and the effect was either bacteriostatic or bactericidal and this mainly depend on formalin concentration , kind of bacteria and period of exposure, in addition, the influence on acid development by lactic acid bacteria , The results indicated that 0.008% concentration was inhibitory for all bacteria used and the effect depend on the exposure time and the kind of bacteria.

Formalin at 0.012% had bacteriostatic effect on Leuconostoc *dextranicum, Lact. bulgaricus ,Strept. thermophilus* and *Lact. acidophilus* , while the bacteria *Bifidobacterium* resisted this concentration for 2 days and 0.016% formalin was bactericidal after 3 days of exposure. The effect of concentration 0.02% was bactericidal for more than two days for type of bacteria.