تقييم تأثير الأوزون على بعض الخواص الفيزوكيميائية والميكروبية للحليب

حنان قُربي*(1)

(1). قسم علوم الأغذية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حلب، حلب.

(* للمراسلة الباحثة د. حنان قُربي، البريد الالكتروني hanansrn76@gmail.com،
هاتف 0988944300)

تاريخ الاستلام: 2024/10/20 تاريخ القبول: 2025/2/9

الملخص

هدف البحث إلى مقارنة الجودة الميكروبية لحليب الأبقار الخام المعامل بالبسترة والمعامل بالأوزون، وتقييم تأثير جرعات الأوزون المختلفة في بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية لعينات الحليب المنزوع الدسم المعقم والملقح ببعض البكتريا الممرضة، ومقارنة تأثير الأوزون في البكتريا سالبة وموجبة الغرام. ونفُذ البحث في مخبر الميكروبيولوجيا في قسم علوم الأغذية في كلية الهندسة الزراعية بجامعة حلب في الفترة الممتدة من شهر شباط إلى شهر حزيران للعام 2024. أظهرت النتائج انخفاض الحمولة الميكروبية الأولية للحليب بشكل واضح سواءً في عينات الحليب المعامل حرارياً بالبسترة أو المعامل بالأوزون، ووجد أن معاملة الحليب بالأوزون لمدة 5 دقائق بمعدل 400 ملغO3/ساعة لم يكن لها أي تأثير على الجودة الميكروبية، في حين أدت معاملة الحليب الخام بالأوزون لمدة 25 دقيقة بمعدل 400 ملغO3/ساعة إلى إحداث تخفيضات عشرية في فلورا الحليب الطبيعية.مما انعكس إيجاباً على جودة الحليب وزيادة عمره الافتراضي، ولم يلاحظ تغيرات معنوية في الخصائص الفيزيائية والكيميائية المدروسة، وكانت البكتريا سالبة الغرام كانت أكثر تأثراً بالمعاملة بالأوزون من البكتريا موجبة الغرام.

الكلمات المفتاحية: الحليب، الأوزون، البكتريا الممرضة، الجودة الميكروبية.

المقدمة:

يُستهلك الحليب في جميع أنحاء العالم، لكونه مصدراً غذائياً كاملاً ذا قيمة بيولوجية عالية، فهو يحتوي على الماء والبروتين والكربوهيدرات والدهون والمعادن والفيتامينات Marangoni et al (2019). وإن التركيب المثالي للحليب جعله سريع الفساد، بفعل الأنزيمات الموجودة فيه بشكل طبيعي، وبفعل الكائنات الحية الدقيقة التي قد تصل إليه عبر بيئة وأدوات انتاجه، مما دعا إلى البحث عن طرائق تساعد في حفظه لأطول فترة زمنية ممكنة، فالحليب الخام يحتوي على الكثير من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض Stiles (1996).

تهدف المعاملات الحرارية المستخدمة في صناعة الألبان إلى القضاء على الحمولة الميكروبية، ولكنها في ذات الوقت تسبب تغيرات في الجودة الحسية والقيمة التغذوية مما يؤثر سلباً في جودة الحليب ويحد من قبول المستهلك له Deeth (2021).

في حين يمتلك الأوزون العديد من المزايا التي تجعله تقنية هامة في الصناعات الغذائية، لأنه معقم قوي ويتحلل بشكل سريع إلى الأوكسجين دون ترك أي بقايا كيميائية على الطعام أو الأسطح الملامسة له، أي يتحلل تلقائياً إلى منتجات غير سامة Khadre *et al* (2001). اكتشف الأوزون من قبل العالم Sch € onbein في عام 1839 Fusco *et al* (2001)، ويُعرّف الأوزون بأنه

جزيء ثلاثي الذرات (O3)، وهو أوكسجين مبلمر غير مستقر ينتج عن مرور الهواء أو الأوكسجين عبر أقطاب كهربائية عالية الطاقة داخل نظام مولد للأوزون Haifan (2017) وتمت الموافقة على استخدام الأوزون في صناعة الأغذية بشكل قانوني وبدرجات متفاوتة في كل من أمريكا الشمالية وأستراليا ونيوزيلندا واليابان وغيرها من البلدان Tiwari and Rice (2012) وتتميز المعاملة بالأوزون بإمكانية توليده عند الطلب في الموقع المطلوب، ولا يتطلب نقل أو تخزين، كما أن تكاليف تشغيل أنظمته منخفضة لأنها تستهلك كمية محدودة من الكهرباء Pascual *et al* (2007).

يؤدي استخدام الأوزون كمضاد للميكروبات في الحليب أو منتجات الألبان إلى انخفاض كبير في عدد الكائنات الحية الدقيقة Afonso *et al* (2022).

وحققت التراكيز العالية (1500 ppm) من الأوزون معدلات متماثلة في القضاء على الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية Kowalski *et al* (1998). ويكون الأوزون نشط على سطح الخلايا البكتيرية مما يؤدي إلى تغييرات في نفاذية غشاء الخلايا مما يسبب تحللها(2020) Lenntech ، ويثبط الأوزون الكائنات الحية الدقيقة بسبب قدرته على الأكسدة، وعلى الرغم من خصائصه المؤكسدة تمت الموافقة على استخدامه في الغذاء من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية بهدف خفض الحمولة الميكروبية للأغذية Adachi (2001).

يعطي كود إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (21CFR173.368) الإذن باستخدام الأوزون مباشرة في الأطعمة وذلك في طوره الغازي أو المائي US FDA (2020). حيث يثبط الأوزون عمل نظام التحكم الأنزيمي مما يسمح بدخول كمية كبيرة من الأوزون إلى غشاء الخلية فيؤدي ذلك إلى القضاء عليها Metwally *et al* (2011).

ولوحظ بعد معاملة الحليب بغاز الأوزون انخفاض في التعداد العام للجراثيم إلى أكثر من 50% وانخفاض كبير في تعداد السالمونيلا والقولونيات والمكورات العنقودية الذهبية والخمائر والفطور وهذا يؤكد على الأثر الفعال للأوزون في الحد من نمو ونشاط العديد من الكائنات الحية الدقيقة العلي وآخرون (2024). ويخفض الأوزون من الحمولة الميكروبية الأولية لأنه يتفاعل مع مجموعات السلفاهيدريل لبعض الأنزيمات، وتسبب التحولات في نفاذية الأغشية إلى تحلل الخلايا البكتيرية وبالتالي موتها مما يحسن من جودة الحليب وزيادة عمره الافتراضي El-Loly *et al* (2013). وتشير الدراسات السابقة إلى عدم وجود أي تأثير للأوزون على الخصائص الفيزيائية والكيميائية للحليب Cavalcante *et al* (2013). كما وجد أن الأوزون بعد 15 دقيقة بمعدل توليد0.2 غ/ساعة كان فعّالاً في القضاء على *Listeria. monocytogenes* في الحليب Sheelamary and Muthukumar (2011). كما أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية استخدام الأوزون كمادة مضادة للعديد من الكائنات الحية الدقيقة، بما في ذلك البكتريا موجبة وسالبة الغرام والأبواغ والخلايا النباتية Brodowska *et al* (2018).

كما وجد أن البكتريا سالبة الغرام أكثر حساسية للأوزون من البكتريا إيجابية الغرام، في حين كانت البكتريا أكثر حساسية للأوزون من الخميرة، وأظهرت البكتريا سالبة الغرام *E. coli* انخفاضاً أكبر في التعداد مقارنة بالبكتيريا موجبة الغرام *Staph. aureus*. قد يكون هذا الاختلاف بسبب النسبة المئوية العالية للببتيدوغليكان peptidoglycan الموجود حول جدار البكتريا موجبة الغرام، حيث يمثل الببتيدوغليكان 90% من الوزن الجاف في البكتريا موجبة الغرام و10% فقط في البكتريا سالبة الغرام ;Ginny *et al* (2000) Silva *et al* (2011); Malanovic and Lohner (2016)، فالجدار الخلوي للبكتيريا السالبة لصبغة غرام يتكون من ثلاث طبقات هي طبقة الببتيدوغليكان وطبقة دهنية سكرية وطبقة دهنية بروتينية، أما الجدار الخلوي في البكتيريا الموجبة لصبغة غرام فيتكون من طبقتين هما طبقة الببتيدوغليكان والطبقة الثانية مكونة من حمض التيكوئيك teicoic acid، لذا تحتوي البكتريا الموجبة

لصبغة غرام على أحماض أمينية أقل من السالبة، وتكون المواد الدهنية في البكتيريا السالبة لصبغة غرام أعلى من الموجبة Ishizaki *et al* (1986).

أهمية البحث وأهدافه:

تعد المعاملة الحرارية الإجراء الشائع المطبق للتحكم في حمولة الحليب الميكروبية. ولكنها ذات تكلفة عالية وتؤدي إلى العديد من التغيرات الحسية والخسائر التغذوية لا سيما عندما يكون الحليب رديء الجودة. بينما تعتبر المعاملة بالأوزون من التقنيات المبتكرة سهلة التنفيذ في الصناعات الغذائية وذات تكلفة منخفضة وصديقة للبيئة وقادرة على تلبية مطالب المستهلكين في الحصول على منتجات آمنة. لذا هدف البحث إلى:

1- مقارنة الجودة الميكروبية لحليب الأبقار الخام المعامل بالبسترة السريعة والمعامل بالأوزون.

2- تقييم تأثير جرعات الأوزون المختلفة في بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية لعينات الحليب المنزوع الدسم المعقم والملقح ببعض البكتريا المسببة لأكثر الأمراض المنقولة عن طريق الحليب شيوعاً.

3- مقارنة تأثير الأوزون في البكتريا سالبة وموجبة الغرام.

المواد والطرائق

المواد

-تم الحصول على عينات من حليب الأبقار الطازج من أرياف محافظة حلب، تم نقلها بحافظات مبردة إلى مخابر كلية الهندسة الزراعية -قسم علوم الأغذية في جامعة حلب.

-استخدمت أربعة أنواع من البكتريا والتي تعد من أهم مسببات الأمراض التي تنتقل للإنسان عن طريق الحليب وهي:

- سالبة الغرام: *Escherichia coli* و *Salmonella spp.*
- موجبة الغرام: *Staphylococcus aureus* و *Listeria spp*

تصميم تجربة معاملة الحليب بالأوزون

-قُسّمت كمية 21 كغ من حليب الأبقار الخام إلى 7 أجزاء متساوية (قُسّم كل جزء إلى 3 مكررات بمعدل كغ واحد لكل مكرر).

تم معاملة الجزء الأول بالبسترة السريعة (72 مْ/15 ثا)، ثم التبريد إلى درجة حرارة الغرفة 25مْ.

-تم معاملة الأجزاء الستة الأخرى بالأوزون باستخدام جهاز توليد الأوزون بمعدل (400 ملغO3/ساعة) وهو من انتاج شركة G.G.S طراز L900 وذلك لفترات زمنية تصاعدية هي: 0 (شاهد)-5-10-15-20-25 دقيقة.

-تم تعقيم 12 كغ من الحليب المنزوع الدسم (الفرز) عند درجة حرارة 115 مْ ولمدة 15 دقيقة، ثم تبريدها إلى درجة حرارة الغرفة 25مْ، وتم تقسيم الحليب المعقم إلى أربعة أجزاء متساوية (كل جزء قُسّم إلى 3 مكررات). وتم تلقيح كل جزأين بشكل فردي بـ 0.1% من وسط مزروع حديثاً بسلالة بكتيرية موجبة الغرام من *Staphylococcus aureus* و *Listeria .spp* . ثم لقح الجزئيين الآخرين بـ 0.1٪ من وسط مزروع حديثاً بسلالة بكتيرية سالبة الغرام من *Escherichia coli* و *Salmonella .spp.*.

-تم معاملة العينات الملقحة بالأوزون لمدة 0-5-10-15-20-25 دقيقة بمعدل 400 ملغ O3/ساعة.

وأجريت الاختبارات الميكروبية مباشرة لمعرفة تعداد البكتريا الممرضة المدروسة والتي استطاعت البقاء حية بعد المعاملة بالأوزون.

الاختبارات

أ. **الاختبارات الميكروبية**

– تقدير التعداد الكلي للبكتريا الهوائية باستخدام وسط Nutrient agar والتحضين عند درجة حرارة 37 مْ لمدة 48 ساعة وفقاً لـ Houghtby *et al* (1993)

– تقدير تعداد جراثيم الكوليفورم و*E.coli* باستخدام وسط MacConkey Agar وبيئة أزرق الميثلين (EMB) وتم التحضين عند 37 مْ لمدة 48 ساعة بالنسبة للكوليفورم ووسط Sorbitol MacConkey Agar بالنسبة لـ *E.coli* عند 44.5 مْ لمدة 48 ساعة .Gaya *et al* (1987)

– الكشف عن السالمونيلا وفق المراحل التالية:

1–مرحلة التمهيد للنمو في وسط غير متخصص (Water Peptone Buffer)

2–مرحلة التنمية على وسط سائل مكثّر (Selenite Cystine Broth)

3–مرحلة التنمية على وسط متخصص انتقائي (Salmonella Shigella Agar)

4–مرحلة التأكد من المستعمرات المعزولة (TSIA) Dadi *et al* (2020).

–تقدير تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aurous* باستخدام وسط Baird Parker Agar الحاوي على صفار البيض وتيلورايت البوتاسيوم والتحضين عند 37 مْ مدة 48 ساعة Asperger (1994)

–تقدير عدد الخمائر والأعفان باستخدام وسط Malt Extract Agar والتحضين عند درجة حرارة 25-27 درجة مئوية ولمدة 4 أيام Harrigan and McCance (1966)

–تعداد جراثيم الليستيريا باستخدام وسط انتقائي (Listeria enrichment broth, L.E.B) وتزرع على وسط (Modified McBride agar ,M.M.A) وتحضن عند درجة حرارة 37 مْ ولمدة 24-48 ساعة Dongyou Liu (2008)

-قياس رقم الـpH باستخدام مقياس الأس الهيدروجيني الرقمي عند 20 مْ بعد المعايرة باستخدام محاليل معيارية قياسية جديدة Anderson (1992)

–قياس النسبة المئوية للحموضة القابلة للمعايرة على أساس حمض اللبن وفقاً لـ.(1992) Marshall .

ب. الاختبارات الفيزيائية والكيميائية

–تقدير المحتوى من اللاكتوز Lawrence (1968)

–تقدير المحتوى من الدهن Ling (1963)

–تقدير المحتوى من المادة الصلبة الكلية وتقدير البروتين بطريقة كلداهل (kdn-2c –Nanbei) AOAC (2012).

–تقدير الحموضة القابلة للمعايرة Marshall (1992)

–قياس رقم الـ pH باستخدام مقياس الأس الهيدروجيني الرقمي (mi151 – Milwaukee) Anderson (1992).

التحليل الاحصائي

تم إجراء التحليل الإحصائي وفقاً لـ SAS (1990)

النتائج والمناقشة:

1.مقارنة الجودة الميكروبية لحليب الأبقار الخام المعامل بالبسترة والمعامل بالأوزون:

نلاحظ من النتائج الواردة في الجدول رقم (1) انخفاض الحمولة الميكروبية الأولية للحليب من تعداد كلي للأحياء الدقيقة والخمائر والفطور بشكل واضح وكبير سواءً في عينات الحليب المعامل حرارياً بالبسترة أو المعامل بالأوزون وهذا يتوافق مع العلي وآخرون

(2024). وقد يكون سبب هذا الانخفاض في العينات المعاملة حرارياً التغير في طبيعة الأنزيمات الموجودة في البكتيريا نتيجة الحرارة وهذا يتوافق مع نتائج Metwally *et al* (2011). وقد يكون السبب في العينات المعاملة بالأوزون ناتجاً عن الأكسدة وهذا يتوافق مع El-Loly *et al* (2013). فقد أشار العديد من الباحثين إلى الفعل المثبط للأوزون ضد العديد من الكائنات الحية الدقيقة وخصوصاً الممرضة منها، وهذا يعود لكونه عاملاً مؤكسداً قوياً يمزق غلاف الخلايا البكتيرية مما يسبب تغيير في نفاذية الخلايا وتسرب محتوياتها الداخلية إلى الوسط المحيط Nagayoshi *et al* (2004). ووجد أن معاملة الحليب بالأوزون لمدة 5 دقائق بمعدل (400 ملغO3/ساعة) لم يكن لها أي تأثير على الجودة الميكروبية للحليب الخام وهذا يتوافق مع Cavalcante *et al* (2013). واحتوت عينات الحليب المعاملة بالأوزون لمدة 5 و10 دقائق بمعدل (400 ملغO3/ساعة) على بكتيريا وخمائر وفطور بمعدلات أعلى مما هي عليه في العينات المعاملة حرارياً بالبسترة. ونلاحظ بالنسبة لعدد بكتيريا القولون الكلية أن البسترة تسببت بانخفاضها من 2.16 لوغاريتم خلية/مل في الحليب الخام إلى أقل من 1 لوغاريتم خلية/مل في الحليب المبستر. بينما أدت معاملة الحليب بالأوزون لمدة 5 و10 دقائق إلى خفضها من 2.16 إلى 1.90 و1.40 لوغاريتم خلية/مل على التوالي وقد يعزى السبب في ذلك إلى التحولات في نفاذية الأغشية مما يسبب تحلل الخلايا البكتيرية، وبالتالي تحسين جودة الحليب وزيادة عمره الافتراضي وهذا يتوافق مع El-Loly *et al* (2013).

وتماثلت الجودة الميكروبية لعينات الحليب المعامل حرارياً مع عينات الحليب المعامل بالأوزون لمدة 15 دقيقة بمعدل (400 ملغO3/ساعة)، في حين أدت معاملة الحليب الخام بالأوزون لمدة 25 دقيقة بمعدل 400 ملغO3/ساعة إلى إحداث تخفيضات عشرية في فلورا الحليب الطبيعية مما انعكس إيجاباً على الجودة الميكروبية للحليب.

الجدول (1): النتائج الميكروبية (log cfu/ml) للحليب الخام المعامل بالبسترة (72م/15ثا) والمعامل بالأوزون (400 ملغO3/ساعة) لفترات زمنية تصاعدية.

التعداد الميكروبي	حليب خام	المعاملات						L.S.D 5%
		بسترة	مدة المعاملة بالأوزون (دقيقة)					
			5	10	15	20	25	
التعداد الكلي log cfu/ml	7.27^{a}	4.30^{d}	6.11^{b}	5.20^{o}	4.11^{d}	3.42^{e}	2.9^{e}	0.1366
الخمائر والفطور	3.10^{a}	1.03^{d}	2.8^{b}	2.41^{o}	1.10^{d}	1^{d}	0.8^{d}	0.3397
بكتريا القولون الكلية	2.16	<1	1.90	1.40	<1	<1	<1	0.0889

cfu/ml: وحدة تشكيل مستعمرة/مليمتر.

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة في أي موضع ليس بينها فروق معنوية ($P \leq 0.05$)

2. تأثير الأوزون على بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية لحليب الأبقار:

نلاحظ من النتائج الواردة في الجدول رقم (2) أن المحتوى من اللاكتوز أظهر تبايناً تراوح من 4.44 إلى 4.55٪، بينما تراوح مستوى الدهن من 3.10 إلى 3.20٪، وأظهر محتوى البروتين (TNx6.38) تبايناً تراوح من 3.20 إلى 3.50٪، وتراوح محتوى المواد الصلبة الكلية لعينات الحليب بين 12.53٪ و12.69٪. وأظهرت درجة الـ pH تبايناً تراوح من 6.63 إلى6.69. بينما أظهرت نسبة الحموضة المعايرة معبراً عنها كحمض لبن تبايناً تراوح من 0.16 إلى 0.18٪ وتتوافق هذه النتائج مع Cavalcante *et al* (2013) بأن المعاملة بالأوزون حتى 15 دقيقة لم تغير من الخصائص الفيزيائية والكيميائية المدروسة في الحليب الخام. وأظهرت نتائج

التحليل الاحصائي إلى عدم وجود اختلاف معنوي بين الخصائص الفيزيائية والكيميائية المدروسة تبعاً لنوع المعاملة التي يخضع لها الحليب سواء المعاملة الحرارية أو المعاملة بالأوزون.

الجدول (2): بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لحليب الأبقار الخام والمعامل بالبسترة والمعامل بالأوزون بمعدل (400 ملغO3/ساعة) لأزمنة مختلفة.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية	الحليب الخام	المعاملات					L.S.D 5%
		بسترة (72 م /15 ثا)	مدة المعاملة بالأوزن (دقيقة)				
			10	15	20	25	
%اللاكتوز	4.55^{a}	4.53^{a}	4.50^{a}	4.49^{a}	4.44a	4.46^{a}	0.00791
%الدهن	3.20^{a}	3.20^{a}	3.10^{a}	3.10^{a}	3.10^{a}	3.10^{a}	0.4393
%البروتين (TNx6.38)	3.40^{a}	3.50^{a}	3.20^{a}	3.20^{a}	3.20^{a}	3.20^{a}	0.00791
%المادة الصلبة الكلية	12.53^{a}	12.66^{a}	12.64^{a}	12.69^{a}	12.59^{a}	12.62^{a}	0.01135
قيمة pH	6.63^{a}	6.63^{a}	6.64^{a}	6.65^{a}	6.66^{a}	6.69^{a}	0.04352
%الحموضة	0.16^{a}	0.16^{a}	0.17^{a}	0.17^{a}	0.17^{a}	0.18^{a}	0.00858

TN: مجموع النيتروجين

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة في أي موضع ليس بينها فروق معنوية ($P \leq 0.05$)

3. مقارنة تأثير الأوزون في البكتريا سالبة وموجبة الغرام:

نلاحظ من الجدول رقم (3) أن تعداد بكتريا *E. coli* و *Salmonella spp* السالبة لصبغة غرام أقل من 1 لوغاريتم خلية/ مل بعد 20 دقيقة من المعاملة بالأوزون، أي أن البكتريا سالبة الغرام كانت أكثر تأثراً بالمعاملة بالأوزون من تلك البكتريا الموجبة لصبغة غرام وهذا يتوافق مع Ginny *et al* (2000); Silva *et al* (2011); Malanovic and Lohner (2016)

يعزى سبب الاختلاف في التركيب الكيميائي للغشاء الخلوي فتثبيط الكائنات الحية الدقيقة بالأوزون أمر معقد وذلك لأن الأوزون يهاجم عدة مكونات من الخلايا (الدهون غير المشبعة والبروتينات والأحماض النووية في السيتوبلازم Hye-Jung *et al* (2014)، وكانت جميع أعداد البكتيريا الممرضة المدروسة أقل من 1 لوغاريتم خلية/مل بعد 25 دقيقة من المعاملة بالأوزون. إذ يتفاعل الأوزون مع الرابطة المزدوجة للأحماض الدهنية الداخلة في تركيب الجدار في الخلايا السالبة لصبغة غرام فضلاً عن تأثير الغاز في الكربوهيدرات والبروتينات الموجودة في جدار البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام بنسب مختلفة وهذا يتوافق مع Ishizaki *et al* (1986)

الجدول (3): تعداد البكتريا الممرضة (log cfu/ml) في الحليب المعقم والملقح والمعامل بالأوزون بمعدل (400 ملغO3/ساعة) لأزمنة مختلفة

مدة الأوزنة (دقيقة)	تعداد البكتريا الممرضة ((log cfu/ml			
	E.coli	*Salmonella spp.*	*Staph.aureus*	*Listeria .spp*
الشاهد	7.50	7.30	7.40	7.20
5	5.20	6.10	6.50	6.60
10	4.60	4.30	5.20	5.50
15	3.10	3.20	3.30	3.30
20	<1	<1	0.80	2.60
25	<1	<1	<1	<1

cfu/ml: وحدة تشكيل مستعمرة/مل

الاستنتاجات:

1. معاملة الحليب الخام أو الحليب المعقم والملقح بالجراثيم الممرضة والمعامل بالأوزون بمعدل 400 ملغ O3/ساعة لمدة 25 دقيقة حسّنت معنوياً من الجودة الميكروبية لقدرتها على إحداث تخفيضات عشرية في فلورا الحليب الطبيعية.
2. أكدت النتائج على أهمية المعاملة الحرارية لضمان القضاء التام على الجراثيم الممرضة، وعلى امكانية استخدام الأوزون كمعاملة مسبقة للمعاملة الحرارية لخفض الحمولة الميكروبية في الحليب الخام، وتحسين جودته وزيادة عمره الافتراضي.
3. لم يلاحظ تغيرات معنوية بالخصائص الفيزيوكيميائية المدروسة للحليب المعامل بالأوزون حتى 25 دقيقة بمعدل 400 ملغ O3/ساعة.
4. البكتريا سالبة الغرام كانت أكثر تأثراً بالمعاملة بالأوزون من البكتريا الموجبة لصبغة غرام وهذا يعود للاختلاف في التركيب الكيميائي لغشاء الخلايا البكتيرية.

التوصيات:

1. يوصى بتحديد جرعات الأوزون المثلى وأوقات التلامس ومتغيرات المعاملة الأخرى لكل تطبيق من منتجات الألبان، مع إيلاء اهتمام خاص للجدوى الاقتصادية.
2. يوصى بالتوصيف الكامل للتفاعلات الكيميائية والفيزيائية التي تحدث أثناء معاملة منتجات الألبان بالأوزون.
3. يوصى بتقييم الآثار الإيجابية والسلبية للمعاملة بالأوزون على الخصائص الحسية للحليب ومنتجات الألبان.

الشكر:

الشكر الجزيل لرئاسة قسم علوم الأغذية–كلية الهندسة الزراعية–جامعة حلب لتوفير كافة متطلبات البحث من أجهزة ومواد ومختبرات.

المراجع:

أيهم، العلي وحنان قربي ومعن المخلف ولمى عساف (2024). تأثير استخدام الأوزون في إطالة فترة حفظ حليب الأبقار الخام– مجلة بحوث جامعة حلب–سلسلة العلوم الزراعية–العدد 166.

حمد مهدي، بركات وحسن حمادي وزاهر سمان طحان (2023). عزل بعض الجراثيم سالبة الغرام من المرضى المراجعين لمشفى حلب الجامعي–مجلة بحوث جامعة حلب–سلسلة العلوم الأساسية–العدد 172.

Adachi, D. (2001). Virus Inactivation by Ozone (Toronto: University of Toronto) Chapter 2 14–25.

Afonso, R. B.; Moreira R. H. R.; and de Almeida P. L. R. (2022). Can ozone be used as antimicrobial in the dairyindustry? A systematic review. American Dairy Science Association®. Published by Elsevier Inc. and Fass Inc. All rights reserved *J. Dairy Sci.* 105.

Anderson, P. (1992). ”Microbiologia Alimentaria“ in “Metodologia analitica para alimentos” Y bebidas Ed. Diaz De Santos, S.A. Juan Bravo, A,28006, Madrid (Espania).

AOAC. (2012). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International, 19th ed., Benjamin Franklin, Washington D.C., USA.

Asperger, H. (1994). *Staphylococcus aureus* In The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. *International Dairy Federation*, Brussels. 1994, 24-42.

Brodowska, A.J.; Nowak A.; and Śmigielski, K. (2018). Ozone in the food industry: Principles of ozone treatment, mechanisms of action, and applications: An overview. *J. Cri. Rev. FoodSci. Nutr*., 58, 2176-2201.

Cavalcante, D.A.; Leite Júnior, B.R.C.; Tribst, A..A.L.; and Cristianini, M. (2013). Improvement of the raw milk microbiological quality by ozone treatment. *Int. J. Food Res*., 20, 2017-2021.

Dadi, S.; Lakew, M.; Seid, M.; Koran, T.; Olani, A.; Yimesgen, L.; Tamiru, M.; and Eshetu, E. (2020). Isolation of Salmonella and E. coli (*E. coli* O157:H7) and its antimicrobial resistance pattern from bulk tank raw milk in Sebetatown, Ethiopia, HSOA *Journal of Animal Research and Veterinary Science*, 4: (21).

Deeth, H. (2021). Heat treatment of milk: Extended shelf life (ESL) and ultra-high-temperature (UHT) treatments. In Encyclopedia of Dairy Sciences, 3rd ed.; McNamara J.; McSweeney P.; Eds. Academic Press: London, UK, 2021; Volume 4, pp. 618–631.

Dongyou, Liu. (2008). Identification subtyping and virulence determination of *listeria monocytogenes*, animportant Foodborne pathogene .*J.Med.Microbiol*., 55:645-659.

El-Loly, M.M.; Mansour, A.I.; and Ahmed, R.O. (2013). Evaluation of raw milk for common commercial additives and heat treatments. *Int. J. Food Safety*, 15, 7-10.

Fusco, V.; Chieffi, D.; Fanelli, F.; Logrieco, A. F.; Cho, G.; Rubin, M. (2001). The history of ozone: the Sch€onbein period, 1839-1868. Bulletin for the History of Chemistry 26 40–56.

Gaya, P.; Medina, M.; and Nunez, M. (1987). Enterobacteriaceae, coliforms, faecal coliforms and salmonellas in raw ewe's milk. *J. Appl. Bacteriol*., 62, 321-326.

Ginny, M.; Chris, G.; and Adrian, P. (2000). Bactericidal Properties of Ozone and Its Potential Application as a Terminal Disinfectant *Journal of Food Protection*, Vol. 63, No. 8, 2000, Pages 1100–1106.

Guzel-Seydim, Z. B.; Greene, A. K.; and Seydim, A. C. (2004). Use of ozone in the food industry. LWT - Food Science and Technology 37453–460.

Haifan, M. (2017). Review kajian aplikasiteknologi ozon untuk penangananbuah, sayuran dan hasil perikanan. *Jurnal IPTEK*, 1(1), 15–21.

Harrigan, W.F.; and McCance, M.E. (1966). Laboratory Methods in Microbiology. Academic Press, New York, USA, pp. 199-228.

Houghtby, G.A.; Maturin, L.J.; and Koenig, E.K. (1993). Microbial count methods. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Marshall R.T. (Ed.), Amer. Public Health Assoc., Washington, USA, pp. 213-246.

Hye-Jung, S.; Kwang-Pyo Kim, W.S.; Ryu, S.; and Kang, D. (2014). Combination effect of ozone and heat treatments for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in apple juice. *Int. J. Food Microbiol*., 171, 147-153.

Ishizaki, K.; N. Shinriki.; and Matsuyama, H. (1986). Inactivation of Bacillus spores by gaseous ozone. *J. Appl. Bacteriol*. 60:67–72-24.

Kabisch, J.; Böhnlein, C.; and Franz, C. (2020). Microbial quality andsafety of milk and milk products in the 21st century. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 19:2013–2049.

Khadre, M.A.; Yousef, A.E.; and Kim, J.G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. *J. Food Sci*., 66, 1242-1251.

Kowalski, W. J.; Bahnfleth, W. P.; and Whittam, T. S. (1998). Bactericidal effects of high airborne ozone concentrations on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Ozone Sci. Eng. 20:205–221.

Lawrence, A.J. (1968). The determination of lactose in milk products. Aust. *J. Dairy Technol*., 23, 103-106.

Lenntech, B. V. (2020). Ozone Des infection Mechanism. www.lenntech.com

Ling, E.R. (1963). A Text Book Dairy Chemistry Vol. 2. Practical third. Chapman. Ltd London, UK, pp. 76-98.

Malanovic, N.; and Lohner, K. (2016). Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides. Biochim. Biophys. Acta Biomembr. 1858:936–946.

Marangoni, F.; Pellegrino, L.; Verduci ,E.; Ghiselli, A.; Bernabei, R.; and Poli, A. (2019). Cow's milk consumption and health: A health professional's guide. *J. Am*. Coll. Nutr.38:197–208.

Marshall, R. T. (1992). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16 th ed. Am. Publ. Health Assoc., Inc., Washington. DC.

Metwally, A.M.M.; Dabiza, N.M.A.; El-Kholy, W.I.; and Sadek, Z.I. (2011). The effect of boiling on milk microbial contents and quality. *J. Amer. Sci*., 7, 110-114.

Nagayoshi, M.; Fukuizumi, T.; Kitamura, C.; Yano, J.; Terashita, M.; & Nishihara T. (2004). "Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms", Oral microbiology and immunology, vol. 19, no. 4, pp. 240-246.

Pascual, A.; Llorca, I.; and Canut, A. (2007). Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. Trends in Food Science and Technology 18 S29–S35.

SAS 1990- Statistical Analysis System. SAS user's guide. Statistics. SAS Inst. Inc. 4th ed., Cary, NC, USA.

Sheelamary, M.; and Muthukumar, M. (2011). Effectiveness of ozone in inactivating *Listeria monocytogenes* from milk samples. *World Journal of Young Researchers* 1 40–44.

Silva, S. B.; Luvielmo, M.; Geyer, M.C.; PRÁ, I. (2011). Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32 ,n. 2, p. 659-682, 2011.

Stiles, M. (1996). Antonie van Leeuwenhoek, 70,331-345.

Tiwari, B. K.; and Rice, R. G. (2012). Regulatory and legislative issues In Ozone in "Food Processing". Oxford, Wiley Blackwell, pp. 7-17.

US Food and Drug Administration. (2020b). Code of Federal Regulations Title 21: Food and Drugs, 21CFR173.368.

Evaluating the effect of ozone on some physicochemical and microbiological properties of milk

Hanan Kurabi *(1)

(1). Food Science Department, Faculty of Agriculture, University of Aleppo, Syria. (*Corresponding author: Dr Hanan Kurabi. E-Mail: hanansrn76@gmail.com , Tel:0988944300)

Received:20\10\2024 Accepted: 9\2\2025

Abstract

The research aimed to compare the microbial quality of raw cow's milk treated with pasteurization and treated with ozone, and to evaluate the effect of different ozone doses on some physical and chemical properties of sterilized skimmed milk samples inoculated with some pathogenic bacteria, in addition to compare the effect of ozone on Gram-negative and Gram-positive bacteria. The research was carried out in the microbiology laboratory in the Department of Food Sciences at the Faculty of Agricultural Engineering at the University of Aleppo during the period from February to June 2024.The results showed a clear decrease in the initial microbial load of milk, whether in milk samples thermally treated with pasteurization or treated with ozone, it was found that treating milk with ozone for 5 minutes at a rate of 400 mg O3/hour had no effect on the microbial quality, while treating raw milk with ozone for 25 minutes at a rate of 400 mg/O3 hour led to ten-tenth reductions in the natural milk flora. All of this had a positive effect on milk quality and increased shelf life. No significant changes were observed in the physical and chemical properties. Gram-negative bacteria was more affected by ozone treatment than gram-positive bacteria.

Keywords: milk, ozone, pathogenic bacteria, microbial quality.