Microbiological control of Some powdered milk in local market

Dr. Suzan Samra*
Dr. Dima Aldiab**
Yamen Ibrahim***

(Received 4 / 12 / 2022. Accepted 5 / 1 / 2023)

□ ABSTRACT □

Milk is a major part of the human diet, as it is a source of high nutritional value by macronutrients (proteins, fats and sugars) with good amounts of calcium, magnesium, selenium, riboflavin, zinc, vitamin B12 and pantothenic acid. Milk powder products are susceptible to microorganism contamination due to their high content of nutrients and prone to change physicochemical properties when they are exposed to poor storage conditions. This study aims to monitor some microbiological properties of some milk powders in the local market of lattakia governorate, and study the effect of storage conditions on milk powders. Five samples of unpackaged whole milk powder and two samples of packaged whole milk powder were studied. The results showed that Moisture percentage of packaged and unpackaged milk powders were 0.3 ± 3.8 and 3.4 ± 0.4 respectively, therefor conforms to the Syrian National Standards. The results also showed that total bacterial counts of packaged and unpackaged milk powders were 0.12×10^2 ± 0.08 CFU/g and 3.45×10^2 ± 0.38 CFU/g respectively, these products have been free of coliform and salmonella, therefor conforms to the Syrian National Standards.

Key words: Microbiological control, whole milk powder, total Bacterial Counts, Salmonella, Coliform.

*Assistant Professor , Biochemistry and microbiology Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria-Al Andalus University. E-mail:Suzansamra794@hotmail.com.
**Associate Professor, Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria. E-mail: dyabdima@yahoo.com.
***Postgraduate Student, Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria. E-mail: yamenibrahim@tishreen.edy.sy.

المراقبة الميكروبيولوجية لبعض مستحضرات الحليب المجفف الموجودة في السوق المحلية

د. سوزان سمرة*

د. ديمة الدياب **

يامن ابراهيم ***

(تاريخ الإيداع 4 / 12 / 2022. قُبِل للنشر في 5 / 1 / 2023)

□ ملخّص □

يُعد الحليب جزءاً رئيسياً من غذاء الإنسان، فهو مصدر عالي القيمة التغذوية لغِناه بالمُغذيات الكُبرى (بروتينات، دسم وسكريات) مع كميات جيدة من الكالسيوم والمغنزيوم والسيلينيوم والريبوفلافين والزنك وفيتامين B_{12} وحمض البانتوتينيك. تُعتبر مُستحضرات الحليب المُجفف عُرضة للتلوث بالأحياء الدقيقة نظراً لغناها بالعناصر المُغذية كما أنها عُرضة لتغير الخواص الفيزيوكيمائية عند تعرضها لظروف تخزين سيئة. تهدف هذه الدراسة إلى مُراقبة بعض الخواص الميكروبيولوجية لبعض أصناف الحليب المُجفف المُتداول في السوق المحلية في مُحافظة اللاذقية، إضافةً إلى دراسة تأثير ظُروف الحفظ والتخزين على الحليب المُجفف. شملت الدراسة خمس عينات من الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف وعينتين من الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف. أظهرت نتائج الدراسة أن النسبة المئوية للرُطوبة لمُستحضرات الحليب المُجفف المُغلف وغير المُغلف قد بلغ 3.8 ± 0.3 و 3.4 ± 0.4 على التوالي، وهذا مُطابق للمُواصفات القياسية السُورية. أظهرت نتائج الدراسة أيضاً أن التعداد العام لمُستحضرات الحليب المُجفف المُغلف وغير المُغلف قد بلغ $0.12\times10^2 \pm 0.08$ CFU/g و $3.45\times10^2 \pm 0.38$ CFU/g على التوالي ، كما أظهرت خُلو هذه المستحضرات من جراثيم الكوليفورم والسالمونيلا، مما يجعلها مُطابقة للمُواصفات القياسية السُورية.

الكلمات المفتاحية: المراقبة الميكروبيولوجية، الحليب المجفف كامل الدسم، التعداد العام، الكوليفورم، السالمونيلا.

* مدرسة – قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة – كلية الصيدلة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية. Suzansamra794@hotmail.com

** أستاذ مساعد – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية dyabdima@yahoo.com

*** طالب ماجستير – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية yamenibrahim@tishreen.edy.sy

مقدمة:

يُشكل الحليب ومُنتجات الألبان منذ عصور ما قبل التاريخ جزءاً رئيسياً من غذاء الإنسان، ودوراً بارزاً في النظام الغذائي، حيث يستهلك مليارات الأشخاص حول العالم الحليب ومُنتجات الألبان يومياً; على اعتبارها مصدراً حيوياً للتغذية ولصحة الإنسان (Pal, 2014). يحتوي حليب الأبقار تقريباً على كل العناصر الضرورية لاستمرار الحياة، فهو مصدر عالي القيمة التغذوية لغِناه بالمُغذيات الكُبرى (بروتينات، دسم وسكريات) مع كميات جيدة من الكالسيوم والمغنزيوم والسيلينيوم والريبوفلافين والزنك وفيتامين B_{12} وحمض البانتوتينيك (Al Diab and Zayoud,.2018) (Al Diab *et al*. 2021)، لذلك يُشكل جزءاً هاماً من التوصيات الغذائية الرسمية في كثير من بلدان العالم خاصةً تلك الصادرة من مُنظمة الغذاء والزارعة (FAO) (Afrin and Shilpi 2018).

حيث يُوضح الجدول (1) محتوى المواد الغذائية كنسبة مئوية في منتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم.

الجدول (1) نسب المواد الغذائية في الحليب المُجفف كامل الدُسم (Kim, Dong Chen *et al*. 2003)

المكون	النسبة المئوية
اللاكتوز	36.6
البُروتينات	27.9
الدُسم	26.6
الرطوبة	3
الرماد	5.9

أصبح إنتاج الحليب المُجفف ذو أهمية متزايدة في صناعة الألبان، والتي من المُتوقع أن تنمو أكثر بسبب ميزاته من سهولة وجوده، مساحة التخزين الأقل وتكاليف الشحن المنخفضة (Kent *et al*. 2015). يُعتبر تصنيع الحليب المُجفف عملية بسيطة، إذ تتضمن إزالة لطيفة للماء تحت ظروف صحية صارمة مع الحفاظ على الخصائص الطبيعية للحليب بشكل مقبول مثل اللون، النكهة، الذوبانية والقيمة الغذائية(El Khier and Abu El Gasim 2009)، حيث يتمتع مسحوق الحليب بمدة صلاحية أطول بكثير من الحليب السائل ولا يحتاج إلى التبريد; نظراً لانخفاض محتواه من الرطوبة (Kushwah and Agarwal 2017). تهدف المُعالجة الحرارية وتجفيف الحليب إلى تقليل الفعالية المائية وذلك لمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة وتثبيط التفاعلات الأنزيمية، وبالتالي زيادة مدة صلاحية الحليب والتأكد من سلامته للاستعمال البشري وبقائه بجودة مقبولة تُلبي توقعات المُستهلك (El Khier and Abu El Gasim 2009).

يوجد العديد من العوامل التي تُساهم في الحفاظ على الحليب المُجفف بجودة عالية مثل: جودة الحليب الخام، التعبئة والتغليف وشروط التخزين، حيث أن هنالك مجالات واسعة لاستخدام الحليب المُجفف كامل الدُسم في البلاد العربية، لذلك يُعتبر استقرار تخزين الحليب المُجفف كامل الدُسم عامل هاماً لاستخدامه العملي في ظروف تلك البيئات التي يجب أن يحتفظ المسحوق المُخزن فيها قدر الإمكان بنكهته الأصلية، طعمه، قابليته للتشكيل والثباتية الحرارية (Patil *et al*.2016).

يلعب الحليب الخام دور هاماً في تحديد جودة الحليب المُجفف، حيث يُؤثر الحِمل الميكروبي فيه بشكل سلبي على الخواص الفيزيائية للحليب المُجفف، لذلك تُنجَز الاختبارات الكيميائية والميكروبيولوجية عليه قبل إدخاله في عملية الإنتاج (Caballero *et al*. 2015).

تتضمن خطوات تصنيع الحليب المُجفف: الاستقبال والتنقية، والتخزين، والمُعايرة، والبسترة، والتركيز، والمُجانسة، والتجفيف والتخزين (Caballero *et al*. 2015). تلعب بسترة الحليب بدرجة حرارة (°C 80 - 60) دوراً في التقليل من لزوجة الحليب قبل التجفيف، وهذا هام بشكل خاص في تقنية التجفيف بالإرذاذ، عندما تتم خطوة إرذاذ الحليب، إضافةً لذلك تُحسن البسترة من الجودة الميكروبيولوجية للمنتج النهائي (Amaladhas and Emerald 2017).

حفظ وتسويق الحليب المُجفف واستخدامه

تتم تعبئة مساحيق الحليب في عبوات مناسبة، حيث يتم استخدام عدّة أغلفة شائعة مثل الورق، الصناديق أو الأكياس متعددة الطبقات مع طبقة داخلية من البولي إيتيلين، إذ يتم تعبئة المنتج المُخصص للتخزين الطويل في جو من غاز خامل (غالباً النيتروجين)، أو تحت التفريغ الجزئي (KPa 5.3 - 4) لتجنب التغيرات المؤكسدة للدسم والمكونات الأخرى (Caballero *et al*. 2015). يُعد تاريخ حفظ واختبار الحليب ومُنتجاته غاية في الأهمية (Martin *et al*. 2016)، ويُعتبر الحاجز ضد الرطوبة والأكسجين من أهم العناصر في التعبئة والتغليف لحماية مُنتجات الحليب المُجفف من تدهور الجودة (Lloyd *et al*. 2009).

تتراوح مدة صلاحية الحليب المُجفف من 6 إلى 24 شهراً اعتماداً على ظروف التعبئة والتغليف ودرجة حرارة التخزين التي تؤثر على أكسدة الحليب المُجفف (Lloyd *et al*. 2009).

المُواصفات الميكروبيولوجية للحليب المُجفف

هناك تحديات كبيرة للحُصول على حليب غير مُلوث في أي مرحلة من مراحل السلسلة الغذائية، حيث تُؤدي النِسب العالية من الحِمل الميكروبي في الحليب ومُنتجاته إلى التلف والخسائر الاقتصادية للمُنتجين، لذلك يتم التأكيد على أن ممارسات التصنيع الجيد مع الاهتمام الدقيق بجودة الحليب الوارد وتدريب مُوردي الحليب وعُمال المصانع على التحكم في درجة الحرارة والظروف الصحية والاهتمام بالمعدات وتجهيز المصانع تساهم في التقليل بشكل كبير من التلوث الميكروبي (Pal *et al*. 2016).

الأحياء الدقيقة المفيدة (البروبيوتيك) Probiotic

تشمل الأحياء الدقيقة المُفيدة (البروبيوتيك) مثل جراثيم حمض اللبن (LAB) وهي عائلة غير متجانسة من الكائنات الحية الدقيقة، لاهوائية، مُوجبة الجرام، مُتحملة للأحماض وغير مُشكلة للأبواغ، حيث تتميز بتشكيل حمض اللاكتيك كمُنتج نهائي لاستقلاب الكربوهيدرات المُتواجدة بالأغذية المخمرة مثل الحليب المخمر. تُوجد أيضاً مستعمرات طبيعية من حمض اللبن في السبيل الهضمي للإنسان (Walter 2008, Gao *et al*. 2021)، حيث تُنتج (LAB) عدداً من الببتيدات المُفيدة أثناء التخمير، والتي تشمل العديد من المنتجات الثانوية المُحللة للبروتين المُعززة للصحة أو الببتيدات الفعالة بيولوجياً أو البكتريوسينات المُصنعة ريبوسومياً التي يُمكن أن تكون بمثابة مغذيات ومواد حافظة حيوياً (Venegas-Ortega *et al*. 2019). تنتمي مُعظم جراثيم البروبيوتيك إلى (LAB) وعلى وجه الخصوص جنس *Lactobacillus* (Gao *et al*. 2021)، ومن الجراثيم المفيدة أيضاً *Bifidobacteria* الضرورية لجهاز الهضم والفلورا المعوية، وتُنتج هذه الجراثيم المفيدة في الأمعاء أحماض قصيرة السلسلة مثل حمض الخل الذي يُقاوم غزو الميكروبات المُسببة للإنتان (Al-Diab *et al*. 2020).

- **الكوليفورم *Coliform***

تُعد جراثيم الكوليفورم (الأمعائيات) مجموعة من الجراثيم سالبة الجرام، غير المُشكلة للأبواغ، تكون على شكل قضيب، لاهوائية اختيارية و تسكن أمعاء جميع الفقاريات تُسمى الكوليفورم التي تنمو عند 44.5 C° باسم الكوليفورم البُرازية (القولونيات البرازية)، بما في ذلك *Escherichia.Coli*، *Enterobacter aerogenes*، *Klebsiella pneumoniae*، *Enterobacter agglomerans* و *Citrobacter freundi* (Martin *et al*. 2016). تم استبدال مصطلح (القولونيات البرازية) في الاتحاد الأوروبي ونيوزيلندا وأستراليا، بوصف يُعتبر أكثر ملاءمة لهذه المجموعة من البكتيريا هو [الكوليفورم المُتحملة للحرارة (THC)]، وبهذا تُعتبر مشعراً أكثر دقة للتلوث البُرازي من المجموع العام للقولونيات (Khamees *et al*. 2021, Hammad *et al*. 2022).

- **السالمونيلا *Salmonella***

تم اكتشاف السالمونيلا لأول مرة وعزلها من أمعاء الخنازير المُصابة بِحُمى الخنازير التقليدية من قِبل العالِم Theobald Smith عام 1855، السالمونيلا جراثيم لاهوائية اختيارية، سلبية الجرام على شكل قضيب والتي تنتمي إلى عائلة الأمعائيات. تُعتبر السالمونيلا من أكثر مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق الأغذية عزلاً، وتتواجد غالباً في الدواجن، البيض ومُنتجات الألبان (Eng *et al*. 2015). تُسبب السالمونيلا العديد من أنواع العدوى المُمرضة عند الإنسان ومنها التسمم الغذائي. تم استخدام مصطلح داء السالمونيلات لنوعين رئيسيين من أمراض الجهاز الهضمي التي تُصيب الإنسان: الحمى المعوية (بما في ذلك الحمى التيفية والحمى نظيرة التيفية) والتهاب المعدة والأمعاء (Hussein 2007).

المُواصفات القياسية السورية للتحري عن الميكروبات في الحليب المُجفف

تطرقت المُواصفات القياسية السورية في التحري الميكروبي للحليب المُجفف إلى التعداد العام للجراثيم وتحري أنواع مُحددة منها من دون أن تذكر المُواصفة المُراقبة الفطرية حيث شملت المُواصفة القياسية السورية ما يأتي:

1. التعداد العام للجراثيم: يجب ألا يتجاوز التعداد العام للجراثيم 10^5 CFU/g.
2. تحري جراثيم الكوليفورم *Coliform*: يجب ألا يتجاوز تعداد جراثيم الكوليفورم 10^2 CFU/g.
3. تحري جراثيم السالمونيلا *Salmonella*: عند فحص 25 g من مسحوق الحليب يجب أن يكون خالياً من جراثيم السالمونيلا (S.N.S : 2179 / 2007).

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث

نظراً لزيادة انتشار مُنتجات الحليب المُجفف كامل الدسم لاسيما غير المُغلف في السوق المحلية والذي يُعد عُرضةً للغش وعُرضةً للتلوث الميكروبيولوجي ، وخاصةً عند عدم مُراعاة شُروط الحفظ السليمة لبعض مُنتجات الحليب المُجفف، وبالتالي فساد الحليب الذي يُؤدي لخسارة اقتصادية وصحية، لذلك من الضروري اجراء مُراقبة ميكروبيولوجية من تعداد عام، تحري الكوليفورم والسالمونيلا للحليب المُجفف كامل الدسم غير المُغلف والذي يُباع بالسوق المحلية بالتجزئة.

أهداف البحث

يهدف البحث إلى مُراقبة بعض الخواص الميكروبيولوجية لبعض أصناف الحليب المُجفف المُتداول في السوق المحلية في الساحل السوري، ودراسة تأثير ظُروف الحفظ والتخزين عليها.

طرائق البحث ومواده:

- **المواد والتجهيزات المُستخدمة:**

أُستخدمت في هذه الدراسة مجموعة من الأجهزة الموجودة في مخابر كلية الصيدلة لجامعة تشرين– اللاذقية سورية والمذكورة في الجدول (2) كما أُستخدمت الأوساط الزرعية المذكورة في الجدول (3).

الجدول (2): الأجهزة المستخدمة في الدِراسة

الجهاز المستخدم	طراز الجهاز
ميزان حساس 0.0001 g	RADWAG, AS 220/C/2
الصاد الموصد Autoclave	NUVE steam Art Model OT 40L
ميكروبيبت (10 - 100 µl) و (1000 µl) Micropipette	Labkit (Chemelex,S.A.Spain)
حاضنة Incubator	JRAD
مصدر لهب أو مصباح بنزن Bunsen Burner	Labofuge 200 Heraeus, REMI
فرن Oven	CARBOLITE
Laminar Flow Cabinet	ESCO
الهاضمة Laboratory Blender	Stomacher 400
الفرن الجاف الكهربائي oven	JRAD

الجدول (3): الأوساط الزرعية والمواد المستخدمة في الدِراسة

الجهاز المستخدم	الشركة
الآغار المغذي Nutrient Agar (NA)	TMMEDIA.India
ماء البيبتون Buffered Peptone Water	TMMEDIA.India
آغار السالمونيلا والشيغلا Salmonella – Shigella Agar (SSA)	SIFIN.Germany
Violet Red Bile Lactose Agar (VRBA)	SIFIN.Germany
Selenite Cystine Broth (SCB)	SIFIN.Germany

- **تحضير الأوساط الزرعية**

الوسط الزرعي الآجار المغذي Nutrient Agar (NA): تم حل 28g من مسحوق **NA** وأُكمل الحجم إلى 1000 ml بالماء المُقطر وسُخن المزيج لتأمين انحلال مسحوق الوسط الزرعي بشكل كامل، ثم عُقم المحلول الناتج

في الصاد الموصد [تحت ضغط 15 psi (pounds per square inch) وحرارة 121 C° لمدة 15 minutes] (BAM 1978). تم استخدام NA كوسط عام لاجراء التعداد العام للجراثيم.

ماء البيبتون الموقى (Buffered Peptone Water): تم حل 20g من مسحوق البيبتون وأُكمل الحجم إلى 1000 ml بالماء المُقطر وسُخن المزيج لتأمين انحلال مسحوق ماء البيبتون بشكل كامل، ثم عُقم المحلول الناتج في الصاد الموصد [تحت ضغط 15 psi (pounds per square inch) وحرارة 121 C° لمدة 15 minutes] (BAM 1978).

Violet Red Bile Lactose Agar (VRBA): تم حل 37.5 g من مسحوق VRBA وأُكمل الحجم إلى 1000 ml بالماء المُقطر المعقّم مع التحريك حتى انحلال مسحوق الوسط الزرعي بشكل كامل. لا يتم تعقيم هذا الوسط الزرعي في الصاد الموصد حسب التعليمات حتى لا يسبب ذلك تلفه (BAM 1978). تم استخدام وسط زرعي **VRBA** لتنمية جراثيم الكوليفورم *Enterobacteriaceae* وهو وسط زرعي انتقائي Selective وتفريقي Differential.

مرق السيلينيت سيستين (Selenite Cystine Broth): تم حل 23 g من مسحوق السيلينيت سيستين وأُكمل الحجم إلى 1000 ml بالماء المُقطر المعقّم مع التحريك حتى انحلال مسحوق الوسط الزرعي بشكل كامل. لا يتم تعقيم هذا الوسط الزرعي في الصاد الموصد حسب التعليمات حتى لا يسبب ذلك تلفه (BAM 1978). تم استخدام **SCB** وهو وسط زرعي انتقائي Selective وإغناء Enrichment.

الوسط الزرعي سالمونيلا شيغلا آغار Salmonella-Shigella Agar (SSA): تم حل 56.5 g من مسحوق SSA وأُكمل الحجم إلى 1000 ml بالماء المُقطر المعقّم مع التحريك حتى انحلال مسحوق الوسط الزرعي بشكل كامل. لا يتم تعقيم هذا الوسط الزرعي في الصاد الموصد حسب التعليمات حتى لا يسبب ذلك تلفه (BAM 1978). تم استخدام **SSA** وهو وسط زرعي انتقائي Selective وتفريقي Differential.

- **طرائق البحث**

1- الاعتيان

تضمنت عينات الدِراسة خمس عينات من الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف سعة 25 kg لشركتين مختلفتين (ذات منشأ سنغفوري وإسباني)، إذ تُفتح عادةً الأكياس بشكل مُتكرر ليُباع منها كميات صغيرة في أكياس من البولي إيتيلين الشفافة (تم شراء حوالي 1000g من كل عينة). كذلك تضمنت الدراسة عينتين من الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف بسعة 2500 g لشركتين مختلفتين. تم شراء جميع العينات السابقة من السُوق المحلية في مُحافظة اللاذقية.

وُضعت عينات الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف بعد الشراء بعبوات بلاستيكية عقيمة ذات أغطية، وحُفظَت العُبوات بالثلاجة بدرجة حرارة 20- مدة 24 ساعة حتى إجراء تحديد الرُطوبة والمُراقبة الميكروبيولوجية، التحري، أما عينات الحليب المُجفف الكامل الدُسم المُغلف فقد أُجريت اختبارات تحديد الرُطوبة والمُراقبة الميكروبيولوجية لحظة فتح الأكياس في المخبر.

2- تحديد الرطوبة

حُددت الرطوبة من خلال وزن 1g من العينة وتجفيفها بالفرن الجاف الكهربائي بدرجة حرارة 105 C° لمدة (2 – 3) ساعة، حيث تم تكرار العملية السابقة حتى أصبح الفرق بين وزنتين متتاليتين أقل من 0.001 g.

3- التعقيم بالصاد المُوصد

عُقمت الأوساط الزرعية من الآغار المغذي **NA**، ماء الهُضمون والماء المُقطر، إضافةً للأدوات المستخدمة من أنابيب التمديد الحاوية على 9 ml ماء البيبتون ورؤوس الميكروبيبيت وذلك بحرارة 121 C° تحت ضغط 15 psi مدة ربع ساعة، وتم تحضير باقي الأوساط الزرعية بواسطة الماء المُقطر المُعقم حيث لا يتم تعقيم هذه الأوساط في الصاد المُوصد حسب التعليمات حتى لا يسبب ذلك تلفها (BAM 1978).

4- تحضير العينات لإجراء التعداد العام للجراثيم

(أُجريت جميع هذه الخطوات في حجرة Laminar Flow)

تم مُجانسة عينات مسحوق الحليب بشكل جيد، ثم أُخذت أخيذة وزنها 10 g من مسحوق الحليب غير المُغلف من العبوات البلاستيكية العقيمة وأُضيف لها 90 g من ماء البيبتون المُعقم ثم مُزجت العينة جيداً في بيشر نظيف مُعقم ليصبح التمديد $\frac{1}{10}$ ، وبذلك حصلنا على العينة الأولى المُحضرة، وبنفس الأسلوب تم تحضير 4 عينات أخرى من الحليب المُجفف غير المُغلف.

تم اتباع نفس الأُسلوب لتحضير عينتي الحليب المُجفف المُغلف (بعد فتح الأكياس بشكل مُباشر) ليُصبح التمديد $\frac{1}{10}$، وبذلك حصلنا على العينة الأولى المُحضرة.

حُضر التمديد الثاني بسحب 1 ml من العينة الأولى المُحضرة باستخدام رؤوس الميكروبيبيت المُعقمة وأُضيفت لأنبوب التمديد المعقم الحاوي 9 ml ماء البيبتون المُعقم، ثم مُزجت جيداً بواسطة الميكروبيبيت ليصبح التمديد $\frac{1}{100}$ ، حيث وجُد بالتجربة أن هذا التمديد هو المُناسب لإجراء تعداد عام للجراثيم لعينات الحليب المُجفف غير المُغلف، وبذلك حصلنا على عينات جاهزة للزرع.

أما بالنسبة لِعينات الحليب المُجفف المُغلف تم الإكتفاء بنسبة التمديد $\frac{1}{10}$ لإجراء تعداد عام للجراثيم دون الحاجة لأنابيب التمديد، حيث وُجِد أن هذا التمديد هو الأنسب للزرع لهذه العينات، وبذلك حصلنا على عينات جاهزة للزرع (S.N.S 2007).

5- تحضير العينات للتحري عن جراثيم الكوليفورم

أُخِذَ 10 g من مسحوق الحليب غير المُغلف من العبوات البلاستيكية العقيمة إلى كيس مُفلتر مُعَقم مُخصص لتحضير العينات قبل الزرع الجرثومي (حيث وُضِعت العينة في القسم غير المُفلتر)، وأُضيف له 90 g ماء البيبتون ليصبح التمديد $\frac{1}{10}$ ، ثم تم نقل الكيس إلى الهاضمة ليتم مزج مسحوق الحليب بماء البيبتون، وبنفس الأسلوب تم تحضير 4 عينات أُخرى من الحليب المُجفف غير المُغلف وعينتين من الحليب المُغلف (بعد فتح الأكياس بشكل مُباشر)، وبذلك حصلنا على عينات جاهزة للزرع (S.N.S 2007).

6- تحضير العينات للتحري عن جراثيم السالمونيلا

أُخِذَ 25 g من مسحوق الحليب غير المُغلف من العُبوات البلاستيكية العقيمة إلى زُجاجة مُعقمة ذات غطاء بلاستيكي وأُضيف له 225 ml من مرق سيلينيت سيستين، ثم مُزجت جيداً، وبنفس الأسلوب تم تحضير 4 عينات أخرى من الحليب المُجفف غير المُغلف وعينتين من الحليب المُغلف (بعد فتح الأكياس بشكل مُباشر)، وبذلك حصلنا على عينات جاهزة للزرع (S.N.S 2007).

7- الزرع بطريقة الصب

أُخِذَ 1 ml من العينة الجاهزة للزرع باستخدام رأس الميكروبيبيت المُعقم ثم تم صبّها بطبق بتري، بعد ذلك أُضيف 25 ml تقريباً من الوسط الزرعي المُسخن بحرارة 45 C° لجانب العينة (بحيث لا يتم صب الوسط الزرعي مباشرةً فوق العينة لتجنب حدوث الصدمة الحرارية وقتل الجراثيم)، ثم حُرك الطبق على شكل رقم **8** لضمان تجانس العينة مع الوسط، أخيراً تُركت الأطباق حتى تجمّد الآغار، حيث تجدر الإشارة إلى أنه تم زرع كل تمديد محضّر في ثلاث أطباق (BAM 1978).

8- الحضن

العينات المزروعة في وسط NA: تم تحضين الأطباق بعد تصّلب الآغار في الحاضنة الجرثومية بحرارة 37 C° لمدة 48 ساعة.

العينات المزروعة في وسط VRBA: تم تحضين الأطباق بعد تصّلب الآغار في الحاضنة الجرثومية بحرارة 37 C° لمدة 24 ساعة.

العينات المزروعة في وسط SCB: تم تحضين الزُجاجات الحاوية على المرق في الحاضنة الجرثومية بحرارة 35 C° لمدة (48 - 24) ساعة.

العينات المزروعة في وسط SSA: تم إخراج الزُجاجات الحاوية على العينات مع وسط **SCB** من الحاضنة، ثم بواسطة رأس عُروة الزرع المُعقمة Inoculation Loop تم أخذ أخيذة من مرق **SCB** ليتم تخطيطها Simple Streaking على سطح أطباق **SSA** المُحضرة، ثم يتم تحضين الأطباق في الحاضنة الجرثومية بحرارة 37 C° لمدة (24-18) ساعة، حيث تم زرع كل تمديد محضّر في ثلاث أطباق (BAM 1978).

النتائج والمُناقشة:

1- تحديد الرطوبة

تم تحديد الرطوبة مباشرةً بعد فتح أكياس البولي إيتيلين المُعبأة بعينات الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف والمحفوظة بالثلاجة، وأيضاً تم تحديد الرطوبة بشكل مباشر بعد فتح أكياس الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف.

تم تقييم تكرارية الطريقة التي تحدد النسبة المئوية للرطوبة، وذلك من خلال حساب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري لجميع العينات. أظهرت النتائج لجميع المنتجات مُطابقتها للحُدود المسموح بها للمُواصفة القياسية السورية رقم 2008 / 387 والتي تنص بأنه يجب ألا تتجاوز الرطوبة أكثر من 5 %.

يُوضح الجدول (4) النسبة المئوية للرطوبة لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدسم المُغلف وغير المُغلف.

الجدول (4): النسبة المئوية للرطوبة لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف وغير المُغلف

العينة		المادة الجافة %	الرطوبة %	التقييم حسب المُواصفة القياسية السورية
الحليب غير المغلف	1	97 ± 0.6	3 ± 0.6	مُطابقة
	2	96.77 ± 0.6	3.23 ± 0.6	مُطابقة
	3	95.9 ± 0.6	4.1 ± 0.6	مُطابقة
	4	96.2 ± 0.09	3.8 ± 0.09	مُطابقة

	5	96 ± 0.1	4 ± 0.1	مُطابقة
الحليب المغلف	A	96.92 ± 0.24	3.8 ± 0.2	مُطابقة
	B	96.05 ± 0.4	3.95 ± 0.4	مُطابقة

2- نتائج التعداد العام للجراثيم لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف

تم التعبير عن النتائج للتّعداد العام للجراثيم بواحدة **CFU/g** (عدد الوحدات الميكروبية المُشكّلة للمستعمرات (Colony Forming Unit).

$$\textbf{CFU/g} = \frac{\text{متوسط عدد المُستعمرات بالأطباق المزروعة من التخفيف} \times \text{مقلوب هذا التخفيف}}{10}$$

لُوحظ النمو الجرثومي في الوسط الزرعي **NA** على التمديد $\frac{1}{10}$ والتمديد $\frac{1}{100}$ دون ظهور مستعمرات واضحة بالتمديد $\frac{1}{1000}$ لعينات الحليب المُجفف غير المُغلف، علماً أنه يجب أن يكون عدد المُستعمرات الجرثومية بين 300 – 30 مستعمرة بالطبق الواحد (Food 2001, Horwitz and Latimer 2006). بلغ عدد المُستعمرات بالمئات بالتمديد الأول لعينات مسحوق الحليب غير المُغلف لكن بشكل غير واضح نتيجة الغشاوة والضبابية بالأطباق الناتجة عن جودة الحليب، في حين كان عدد المُستعمرات في التمديد الثاني أكبر من 30 مستعمرة بالطبق وأقل من 300 مستعمرة، لذلك وبناءً على هذه النتائج، فقد تم اعتماد التّمديد الثاني فقط عند إجراء التعداد العام للجراثيم لهذه الأطباق.

ظهر نمو جرثومي في جميع أكياس الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف ذات سعة 25 Kg، حيث بلغ التعداد العام للجراثيم $3.45\times10^2\pm0.38$ CFU/g وهذا مُطابق للحدود المسموح بها حسب المُواصفة القياسية السورية، إذ لم يتجاوز التعداد الجرثومي 10^5 CFU/g وهو الحد الأقصى المسموح. يُوضح الجدول (5) متوسط التعداد العام للجراثيم لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف.

الجدول (5): التعداد العام للجراثيم لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف

العينة	1	2	3	4	5	الحد الميكروبي
	متوسط $CFU/g\times10^2$					
التعداد العام	3.2	3.7	3.25	4	3.1	10^5

يُمكن تفسير هذه النتائج وفقاً لعدة عوامل، حيث تلعب العمليات الميكانيكية والحرارية من بسترة وتجفيف دوراً هاماً في التقليل من الميكروبات المتواجدة في الحليب ومنع نموها، إضافةً لذلك تُجرى مُراقبة ميكروبيولوجية على الحليب قبل التعبئة والتي تضمن بقائه ضمن الحدود المسموح بها، وقد تلعب (LAB) دوراً كمادة حافظة، والتي تُنتج العديد من المنتجات الثانوية المحللة للبروتين المعززة للصحة أو الببتيدات الفعالة بيولوجياً أو البكتريوسينات المصنعة ريبوسومياً، مثل النيسين Nicin – هو ببتيد مقاوم للبكتيريا تنتجها جراثيم *Lactococcus lactis* ويستخدم كمادة حافظة للأغذية – (Sadiq *et al*. 2018). من العوامل المؤثرة أيضاً فتح الأكياس وإغلاقها بشكل سريع ومباشر من قبل البائع للمستهلك في مكان مغلق وبعيد عن الضوء، واستهلاكها بشكل سريع نظراً لسعرها المنخفض بالمُقارنة مع منتجات الحليب المُغلف، كما أنه هنالك إمكانية لاستخدام مواد حافظة صنعية من قبل مُصدّري هذه المنتجات، حيث تلعب هذه

المواد دوراً في التقليل من النمو الميكروبي. كما لعب مستوى الرطوبة المُنخفض لهذه العينات والمُطابق للمُواصفات دوراً في التقليل من النُمو الجرثومي وبقاء التعداد العام ضمن الحدود المسموح بها.

3- نتائج التعداد العام للجراثيم لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف

لُوحظ النمو الجرثومي في الوسط الزرعي **NA** لعينات الحليب المُجفف المُغلف على التمديد الأول، فكان عدد المُستعمرات أكبر من 30 مستعمرة بالطبق وأقل من 300 مستعمرة من دون ظهور غشاوة وضبابية بالأطباق لهذا التمديد مقارنةً بعينات الحليب المُجفف غير المُغلف، لذلك وبناءً على هذه النتائج فقد تم اعتماد التّمديد الأول فقط عند إجراء التعداد العام للجراثيم لهذه الأطباق.

ظهر نمو جرثومي في جميع أكياس الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف ذات سعة 2500 g، حيث بلغ التعداد العام للجراثيم $0.12\times10^2\pm0.08$ CFU/g وهذا مُطابق للحدود المسموح بها حسب المُواصفة القياسية السورية رقم 2007 / 2179، إذ لم يتجاوز التعداد الجرثومي 10^5 CFU/g وهو الحد الأقصى المسموح، وقد لُوحِظَ أن التعداد العام للجراثيم لهذه المنتجات أقل مقارنةً بمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم غير المُغلف، حيث يُوضح الجدول (6) متوسط التعداد العام للجراثيم لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف.

الجدول (6): التعداد العام للجراثيم لمنتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف

العينة	A	B	الحد الميكروبي
	متوسط CFU / g $\times10^2$		
التعداد العام	0.06	0.18	10^5

يمكن تفسير هذه النتائج وفقاً لعدة عوامل، حيث تُجرى مُراقبة ميكروبيولوجية على الحليب قبل التعبئة والتي تضمن بقائه ضمن الحدود المسموح بها، إضافةً لذلك تلعب عمليات التغليف والتعبئة الجيدة لهذه الأكياس المتعددة الطبقات بتقنيات شطف للغاز والتعبئة في جو من غاز خامل (النيتروجين) حماية من الأكسجين (Caballero *et al*. 2015)، كما تُوفر هذه الأكياس حاجز علوي أمام الرطوبة والأوكسجين (Van Aardt *et al*. 2007). من جهة أخرى، يُمكن لقيم الرُطوبة المُنخفضة لهذه العينات والمُطابقة للمُواصفات أن تلعب دوراً في التقليل من النمو الجرثومي وبقاء التعداد العام ضمن الحدود المسموح بها. أخيراً تلعب الجراثيم المُفيدة (البروبيوتيك) دوراً كمادة حافظة طبيعية (Sadiq *et al*. 2019).

4- نتائج التحري عن جراثيم الكوليفورم *Coliform* والسالمونيلا *Salmonella* في منتجات الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف وغير المُغلف

أظهرت النتائج عدم نُمو مُستعمرات من جراثيم *Salmonella* و*Coliform* على وسطي الزرع **SSA** و**VRBA** على التمديد الأولي لجميع أطباق الحليب المُجفف المُغلف وغير المُغلف، وبالتالي كانت النتائج مُطابقة للمُواصفة القياسية السورية رقم 2007 / 2179، حيث لم يتجاوز تعداد جراثيم الكوليفورم 10^2 CFU/g وهو الحد الأقصى المسموح، وكانت مُطابقة للمُواصفة القياسية السورية والعالمية بالخُلو من جراثيم السالمونيلا عند تحري 25 g من مسحوق الحليب.

يمكن تفسير نتائج الدراسة الحالية حول الحليب المُجفف كامل الدُسم المُغلف وغير المُغلف وفقاً لعدة عوامل، من المُراقبة الميكروبيولوجية على الحليب قبل التعبئة والتي تضمن بقائه ضمن الحدود المسموح بها، إلى عمليات المُعالجة المُتضمنة البسترة والتجفيف التي تقضي على هذه الجراثيم، إضافةً إلى عمليات التعبئة والتغليف المُحكم في ظروف

صحية مما يُساعد في خُلو هذه المنتجات من التلوث بهذه الجراثيم. تُعتبر جراثيم الأمعائيات ومن ضمنها السالمونيلا جراثيم غير مبوغة وبالتالي لاتنمو في ظروف غير مُناسبة من حرارة ورطوبة، حيث يلعب مستوى الرطوبة المُنخفض لعينات دراستنا والمُطابق للمُواصفات دوراً في الحفاظ على عينات الحليب هذه خالية من السالمونيلا وهذا يُطابق المُواصفة القياسية السورية (Pal *et al*. 2016)، إذ تُعتبر السالمونيلا بشكل خاص من الجراثيم الحساسة للحرارة فتواجدها دليل على تلوث لاحق لعمليات المعالجة بعد البسترة والتجفيف نتيجة ظروف غير صحية (Sadiq *et al*. 2018)، كما يُمكن استخدام مواد حافظة كيميائية من قبل المصدرين لهذه المنتجات مما يُقلل من احتمال التلوث الجرثومي. أخيراً قد يلعب أيضاً بيع مُنتجات الحليب المُجفف غير المُغلف خلال فترة زمنية قصيرة وعدم استخدام أدوات مُلوثة لعدم تلوث حدوث تلوث لاحق من قبل البائع.

أظهرت نتائج دراستنا موافقتها لأغلب الدراسات المحلية المُطابقة للمُواصفات القياسية المحلية والعالمية ومُخالفتها لبعض الدراسات:

أُجريت دِراسة في مِصر عام 2022 على 90 عينة عشوائية من منتجات الحليب المستوردة إلى السوق المحلية، حيث أظهر التعداد العام CFU/g $10^7 \times 23.4 \pm 10^7 \times 28.15$ تجاوزه الحدود المسموح بها للمُواصفات القياسية المِصرية (1648/2005)، كما أظهرت الدِراسة أن 66.67% من عينات الحليب المُجفف تلوثها بالكوليفورم بمتوسط MPN/g $10^8 \times 10.557 \pm 10^8 \times 28.74$، وبالتالي عدم مُطابقة النتائج للحُدود المسموح بها للمُواصفات القياسية المِصرية (1648/2005)، والتي تنص أن التعداد العام للجراثيم يجب أن يكون أقل من CFU/g 10^4، وتعداد الكوليفورم يجب أن يكون أقل من 10 CFU/g، وبالتالي أظهرت هذه الدِراسة نتائج غير مُطابقة لنتائج دراستنا المُطابقة للمُواصفات القياسية السورية والعالمية، وفُسر ذلك نتيجة المُمارسات الصحية السيئة خلال التصنيع، والتعبئة والتخزين، لكن أظهرت هذه الدِراسة نتائج مُوافقة لدراستنا بما يتعلق بالتحري عن السالمونيلا حيث خلت هذه العينات من جراثيم السالمونيلا وبالتالي مُطابقتها للمُواصفات القياسية المِصرية (Halim *et al*. 2022).

أُجريت أيضاً دِراسة في مِصر عام 2021 على 50 عينة حليب مجفف كامل الدُسم و30 عينة حليب مُجفف خالي الدُسم، جُمعت من المحلات التجارية في محافظتي القاهرة والجيزة، حيث كان متوسط التعداد العام لعينات الحليب المُجفف كامل الدُسم CFU/ g $10^2 \times 1.21 \pm 10^2 \times 4.97$ ، وكان متوسط التعداد العام لعينات الحليب المُجفف خالي الدُسم CFU/ g $10^2 \times 0.40 \pm 10^2 \times 2.25$ ، وأظهرت الدِراسة تعداد كوليفورم أقل من 3 MPN/g لجميع عينات الحليب المُجفف، وخُلو جميع عينات الحليب المُجفف من جراثيم السالمونيلا، وبالتالي كانت نتائج الدِراسة مُطابقة للحُدود المسموح بها للمُواصفات القياسية المِصرية (1780/2014) ، والتي تنص أن التعداد العام للجراثيم يجب أن يكون أقل من CFU/g 10^4، وتعداد الكوليفورم يجب أن يكون أقل من 10 CFU/g، ووجوب الخُلو من جراثيم السالمونيلا (Ibrahim *et al*. 2021). حيث أظهرت هذه الدِراسة نتائج مُطابقة لنتائج دراستنا والتي هي بدورها مُطابقة للمُواصفات القياسية السورية والعالمية.

تم إجراء دِراسة في بنغلادش عام 2018 على 8 عينات حليب مجفف متواجدة بالسوق المحلية، حيث تراوح التعداد العام لهذه العينات بين CFU/g 9.9×10^3 إلى 32.7×10^4 ، إذ تجاوزت جميع عينات الحليب المُجفف الحدود المقبولة ماعدا واحدة، لكن لم يتجاوز أيّاً منهم الحد غير المقبول وفقاً للحُدود المِعيارية التي وضعتها اللجنة الدولية للمُواصفات الميكروبيولوجية للأغذية (ICMSF)، والتي تنص أن التعداد العام للجراثيم يجب أن يكون أقل من CFU/g 10^4 ليُعتبر ذو جودة مقبولة، أما التعداد العام الذي يتراوح بين 10^4 إلى 10^5 يُعتبر ذو جودة مسموح بها،

أما التعداد العام الذي يتجاوز 10^5 يُعتبر غير مقبول (Afrin and Shilpi 2018)، حيث أظهرت هذه الدِراسة نتائج مُطابقة لنتائج دراستنا المُطابقة للمُواصفات القياسية السورية والعالمية.

كما أُجريت دِراسة في الهند عام 2014 على 18 عينة من الحليب ومُنتجات الحليب، حيث تم التحري عن السالمونيلا في 3 عينات من الحليب المُجفف، أظهرت النتائج خُلو هذه المنتجات من جراثيم السالمونيلا، وبالتالي مُطابقتها للمُواصفات القياسية الهندية، والتي تنص على وجوب خُلو الحليب المُجفف من جراثيم السالمونيلا (Patil *et al*. 2014)، حيث أظهرت هذه الدِراسة نتائج مُطابقة لدراستنا المُطابقة للمُواصفات القياسية السورية والعالمية.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

– أظهرت النسبة المئوية للرطوبة لجميع منتجات الحليب المجفف المُغلف وغير المُغلف المُسوقة محلياً مُطابقتها للحُدود المسموح بها للمُواصفة القياسية السورية رقم 2008 / 387.

– أظهرت نتائج الاختبارات الميكروبية خُلو جميع عينات الحليب المُجفف كامل الدسم المُغلف وغير المُغلف من جراثيم الكوليفورم والسالمونيلا وهذا مُطابق للمواصفات القياسية السورية رقم 2007 / 2179.

– أظهرت نتائج التعداد العام للجراثيم في عينات الحليب المُجفف كامل الدسم المُغلف وغير المُغلف مُطابقتها للحُدود المسموح بها للمُواصفات القياسية السورية رقم 2007 / 2179.

التوصيات

– ضرورة الدراسة الفيزيوكيميائية على منتجات الحليب المُجفف المُغلف وغير المُغلف المُتوافرة في السُوق المحلية.

– مُتابعة الدراسة للكشف عن تواجد الفطور لهذه المُنتجات.

– مُتابعة الدراسة على مُنتجات الحليب المجفف الأخرى المُتوفرة محلياً.

References

1. Afrin N, Shilpi RY. Bacteriological quality of dry powder milk available in local markets of Bangladesh. Asian J Med Biol Res [Internet]. 2018;4(3):267–73. Available from: http://dx.doi.org/10.3329/ajmbr.v4i3.38465.
2. Jarkas B. Hydroxymeithelforforal control of Honey in Local Market. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2016;37(2).
3. Zayoud F. Detection Uria Adultration of Some Milk Product. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2018;40(5).
4. Al-Diab D, Sulaeman S, Deeb DN. Studying The Effect of Storage Conditions on The Fungal Growth in Infant Cereal Products at Local Market. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2020;42(1).
5. Amaladhas PH, Magdaline Eljeeva Emerald F. Physicochemical and sensory properties of dried dairy products. In: Handbook of Drying for Dairy Products. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2017. p. 203–28.
6. Barakat H, Diab D, Atieh R. Comparative Study On The Effects of Boiling As Conventional Cooking Method And Microwaving On Bovine Milk Protein. Tishreen University Journal -Biological Sciences Series. 2021;43(3).
7. Caballero B, Finglas P, Toldrá F. Encyclopedia of food and health. Academic Press; 2015.

8. Khalid M, El Khier S, Abu El Gas AY. Quality assessment of milk powders packed in Sudan. Pak J Nutr [Internet]. 2009;8(4):388–91. Available from: http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2009.388.391.
9. Eng S-K, Pusparajah P, Ab Mutalib N-S, Ser H-L, Chan K-G, Lee L-H. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Front Life Sci [Internet]. 2015;8(3):284–93. Available from: http://dx.doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243.
10. Food U. Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition Bacteriological Analytical Manual online. 2001.
11. Gao J, Li X, Zhang G, Sadiq FA, Simal-Gandara J, Xiao J, et al. Probiotics in the dairy industry-Advances and opportunities. Compr Rev Food Sci Food Saf [Internet]. 2021;20(4):3937–82. Available from: http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12755.
12. Halim E, El-Essawy H, Awad A, El-Kutry M, Ahmed L. Estimating the microbial safety and sensory characteristics of some imported dairy products retailed in the Egyptian markets. Adv Anim Vet Sci. 2022;10(3):488–99.
13. Hammad AM, Eltahan A, Hassan HA, Abbas NH, Hussien H, Shimamoto T. Loads of coliforms and fecal coliforms and characterization of thermotolerant Escherichia coli in fresh raw milk cheese. Foods [Internet]. 2022;11(3):332. Available from: http://dx.doi.org/10.3390/foods11030332.
14. Horwitz W, Latimer G. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg (MD; 2006.
15. Hussein R. Bacterial contamination of powder milk. 2007.
16. Ibrahim AS, Saad MF, Hafiz NM. Safety and quality aspects of whole and skimmed milk powders. Acta Sci Pol Technol Aliment [Internet]. 2021;20(2):165–77. Available from: http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.0874.
17. Kamizake NKK, Gonçalves MM, Zaia CTBV, Zaia DAM. Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. J Food Compost Anal [Internet]. 2003;16(4):507–16. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/s0889-1575(03)00004-8.
18. Kent RM, Fitzgerald GF, Hill C, Stanton C, Ross RP. Novel approaches to improve the intrinsic microbiological safety of powdered infant milk formula. Nutrients [Internet]. 2015;7(2):1217–44. Available from: http://dx.doi.org/10.3390/nu7021217.
19. Khamees A, Yassin M, Rockaya M. A Statistical Analysis of the Nitrogenous Composition and its Relationship with the Microbiological Safety of the Hassan Spring Water in Al-Qadmous City. Tishreen University Journal -Medical Sciences Series. 2021;42(6).
20. Kim EH-J, Dong Chen X, Pearce D. On the mechanisms of surface formation and the surface compositions of industrial milk powders. Dry Technol [Internet]. 2003;21(2):265–78. Available from: http://dx.doi.org/10.1081/drt-120017747.
21. Kushwah A, Agarwal Y. Study Of Quality Testing Of Milk Powder In Sterling Agro Industries Limited-Nova. Acta Chemica Malaysia (ACMY). 2017;1(2):8–10.
22. Lloyd MA, Hess SJ, Drake MA. Effect of nitrogen flushing and storage temperature on flavor and shelf-life of whole milk powder. J Dairy Sci [Internet]. 2009;92(6):2409–22. Available from: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1714.
23. Martin CR, Ling P-R, Blackburn GL. Review of infant feeding: Key features of breast milk and infant formula. Nutrients [Internet]. 2016;8(5):279. Available from: http://dx.doi.org/10.3390/nu8050279.
24. Martin NH, Trmčić A, Hsieh T-H, Boor KJ, Wiedmann M. The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. Front Microbiol [Internet]. 2016;7:1549. Available from: http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549.

25. McHugh AJ, Feehily C, Hill C, Cotter PD. Detection and enumeration of spore-forming bacteria in powdered dairy products. Front Microbiol [Internet]. 2017;8:109. Available from: http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.00109.
26. Microbiology DAD. Bacteriological analytical manual, Association of Official Analytical Chemists. 1978.
27. Pal M. Spoilage of dairy products due to fungi. Beverage and food world. 2014;41(7):37–40.
28. Pal M, Alemu J, Mulu S, Karanfil O, Parmar B, Nayak J. Microbial and hygienic aspects of dry milk powder. Beverage & Food World. 2016;43(7):28–31.
29. Patil M, Khedkar C, Chavan S, Patil P. Studies on physico-chemical properties of whole milk powder manufactured or sold in Maharashtra, India. Asian Journal of Dairy & Food Research. 2016;35(3).
30. Patil S, Zagare M, Ghorade I, Deshmukh A. Isolation of pathogens from dairy products and effect of temperature on pathogens. Paripex-Indian Journal of Research. 2014;3(1):76–9.
31. Sadiq FA, Flint S, He G. Microbiota of milk powders and the heat resistance and spoilage potential of aerobic spore-forming bacteria. Int Dairy J [Internet]. 2018;85:159–68. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.003.
32. Sadiq FA, Yan B, Tian F, Zhao J, Zhang H, Chen W. Lactic acid bacteria as antifungal and anti-mycotoxigenic agents: A comprehensive review: LAB as antifungal agents…. Compr Rev Food Sci Food Saf [Internet]. 2019;18(5):1403–36. Available from: http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12481.
33. Syrian National Standard Specification for Microorganisms to be Achived of Powder Milk (2179 / 2007) (2007).
34. Syrian National Standard Specification for Moisture to be Achived of Powder Milk (387 / 2008) (2008).
35. Van Aardt M, Duncan SE, Marcy JE, Long TE, O'keefe SF, Sims SR. Release of antioxidants from poly (lactide-co-glycolide) films into dry milk products and food simulating liquids. International journal of food science & technology. 2007;42(11):1327–37.
36. Venegas-Ortega MG, Flores-Gallegos AC, Martínez-Hernández JL, Aguilar CN, Nevárez-Moorillón GV. Production of bioactive peptides from lactic acid bacteria: A sustainable approach for healthier foods. Compr Rev Food Sci Food Saf [Internet]. 2019;18(4):1039–51. Available from: http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12455.
37. Walter J. Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2008;74(16):4985–96. Available from: http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00753-08.
38. Wu H, Wang Y, Hao X, Meng L, Li H, Cheng M, et al. Effect of TBC of raw milk and thermal treatment intensity on endotoxin contents of milk products. Food Res Int [Internet]. 2022;152(110816):110816. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110816.
39. Yang J, Huang M, Peng J, Shi J. Rapid determination of the moisture content of milk powder by microwave sensor. Measurement (Lond) [Internet]. 2016;87:83–6. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.measurement.2016.03.012.