احياء الاغذية /العملي
المرحلة الثالثة

م.م ايناس منير عبد المجيد

فهرس منهج احياء الأغذية العملي

الدرس العملي	الموضوع
الدرس الاول	درس تعريفي
الدرس الثاني	درس اثرائي إدارة الوقت
الدرس الثالث	الفحص الميكروبي للماء
الدرس الرابع	عد بكتريا القولون
الدرس الخامس	فحص IMVIC
الدرس السادس	اعدا تقارير عن التجربة ومناقشة النتائج
الدرس السابع	الفحص الميكروبي للتوابل
الدرس الثامن	الفحص الميكروبي للحبوب ومنتجاتها

فهرس منهج احياء الأغذية العملي

الدرس	الموضوع
الدرس التاسع	الفحص الميكروبي للحوم
الدرس العاشر	الفحص الميكروبي للمواد السكرية
الدرس الحادي عشر	الاحياء المجهرية في الأغذية المعلبة
الدرس الثاني عشر	الفحص الميكروبي للأغذية المجمدة
الدرس الثالث عشر	الفحص الميكروبي للبيض
الدرس الرابع عشر	الفحص الميكروبي للمشروبات الغازية
الدرس الخامس عشر	مراجعة عامة وشاملة

الدرس العملي الأول

التعريف بموضوع المنهج الدراسي والغرض منه مع مراجعة كيفية استعمال الأدوات المختبرية وارشادات السلامة المختبرية

الدرس العملي الثاني

تعريف الطلبة بأهمية إدارة الوقت وترتيب الأولويات واعداد الجدول الأسبوعي الذي يساعدهم على انجاز الواجبات المطلوبة منهم بكفاءة وسهولة

الدرس العملي الثالث

الفحص الميكروبي للماء

يستخدم الماء في مجالات الصناعات الغذائية وفي كثير من الصناعات مثل صناعة العصائر والالبان والمشروبات الغازية وكذلك يستخدم في عمليات الغسل والتعقيم والتبريد حيث ان الماء ضروري للحياة ولا يمكن الاستغناء عنه

يعتبر الماء

1/ وسطا لانتقال الاحياء المجهرية

2/ وسطا لتكاثرها

فحوصات الماء

1- اختبارات كيمياوية للكشف عن اهم المعادن الثقيلة في الماء

2- اختبارات فيزياوية مثل فحص اللون والطعم والرائحة والعكارة

3- اختبارات بايولوجية مثل وجود الطحالب والحشرات والديدان والماء

4- اختبارات بكتريولوجية وهو مايهمنا

يعتمد محتوى الماء من الميكروبات على عدة عوامل منها

1-درجة الحرارة

2- الدالة الحامضية

3-الاوكسجين

ملاحظة : الماء المستخدم في الصناعات الغذائية يجب ان يكون خالي من المكروبات المحبة للبرودة

الغرض من معرفة تلوث الماء هو

1- المكروبات المسببة لفساد الأغذية (العدد الكلي)

2- المكروبات المسببة للأمراض (الكشف عن Coliform bacteria) وتسمى هذه البكتريا بالدليل الميكروبي Microbial Indicator ويقصد به وجود او ظهور نوع من أنواع البكتريا يستدل بها على حدوث التلوث بالبكتريا المرضية فهي دليل التلوث البرازي للماء او التربة او الأغذية

صفات الدليل المكروبي

1- واسع الانتشار وسهل الحصول عليه وسهل التنمية

2- لا يحتاج الى عوامل نمو معقدة على الأوساط الزرعية وان لأ يتواجد بصورة طبيعية في الوسط

3- لايمكن استخدام البكتريا المسببة للتيفوئيد (Salmonella) كدليل مكروبي لانها تحتاج الى ظروف خاصة في التنمية وصعوبة الحصول عليها وتتواجد باعداد قليلة

أنواع المياه المستخدمة في الاختبار

1- ماء الحنفية او الصنبور

2- ماء الترع والبرك والجداول

3- أنواع مختلفة من المياه الغازية

اعداد عينة ماء الاسالة

1- خذ زجاجة نظيفة ومعقمة بالاوتوكليف

2- افتح الصنبور مدة خمس دقائق

3- افتح غطاء الزجاجة بعد تعقيم فوهتها باللهب وتملىء بالماء مع ترك فراغ قليل في اعلى الزجاجة وتغلق الفوهة بعد تعقيمها أيضا وبعدها تجرى عليها الاختبارات اللازمة

اعداد عينة ماء البرك والنهر

1- خذ قنينة زجاجية معقمة ونظيفة

2- افتح غطاء العلبة تحت مستوى الماء تملئ بالماء وتغلق وهي أيضا تحت مستوى الماء

وكذلك الحال بالنسبة لماء النهر

يعتبر مياه الأنهار ذات محتوى مكروبي عالي مقارنة بماء الاسالة

اهم الفحوصات التي تجرى على الماء

1- العدد الكلي للبكتريا Total bacterial count

2- عد بكتريا القولون في الماء Coliform bacteria

فحص العدد الكلي للبكتريا

1/ يتم تحضير بيئة الاجار المغذي ويتم تعقيمه

2/ ترج عينة الماء بحدود 15-20 مرة لتجانسها

3/ تؤخذ انابيب اختبار معقمة كل منها حاوية على 9 مل ماء مقطر ومعقم

4/ نسحب بواسطة ماصة معقمة 1 مل من العينة وتضاف الى الانبوبة وتسد فوهتها وترج نحصل على التخفيف 10^{-1}

5/ نسحب بواسطة ماصة معقمة أخرى امل من التخفيف 10^{-1} وتضاف الى الانيوبة التالية ومن ثم ترج الانبوبة للحصول على التخفيف 10^{-2}

6/ نكمل التخافيف لحين الوصول الى التخفيف المطلوب (عدد التخافيف يعتمد على كمية التلوث في العينة او العكارة او نوع المصدر)

7/ نأخذ من التخفيفين الأخيرين 1مل ويوضع طبقين بتري معقمين

9/ تذوب البيئة وتبرد الى قبل درجة حرارة تصلب الاكار (42 ◦ م) ويصب مقدار 10مل من الوسط على الطبقة (مايقارب ثلث الطبق) ونرج الطبق لمزج الوسط والمحلول بتحريك الطبقة بشكل رقم 8

10/ نحضن الاطباق على درجة حرارة 37◦ م لمدة 3 أيام

11/ نلاحظ المستعمرات النامية وتحسب حسب المعادلة التالية

عدد الخلايا البكتيرية في 1 مل من العينة =عدد المستعمرات النامية * مقلوب التخفيف

ملاحظات :يجب ان يكون عدد المستعمرات متراوحا بين (30-300 مستعمرة)

يتراوح عدد الجراثيم في 1 مل من الماء النقي جدا مابين (0-100) في حين يتراوح هذا العدد في الماء الصالح للشرب مابين (100-1000) ويجب ان يكون خالي من المكروبات المرضية

الدرس العملي الرابع

فحص عد بكتريا القولون بالماء   coliform

هي اختبارات تكشف عن تلوث المياه بمياه المجاري اذ تتواجد هذه المجموعة عادة في الحالة الطبيعية في امعاء الانسان والحيوان وهي :

بكتريا عصوية ،قصيرة ،سالبة لصبغة كرام ،غير مكونة للسبورات، تؤثر بالحامض الاميني التربتوفان وتكون حلقة الاندول ، تخمر سكر اللاكتوز ،تكون الحامض والغاز واهم انوعها :

Escherichia coli

Enterobacter arogenes

بالنسبة لبكتريا E.coli توجد في امعاء الانسان وأيضا في التربة ويوجد كلا النوعين في مياه المجاري لذلك يعد الكشف عن وجودهما في ماء الحنفية دليل على التلوث البرازي في الماء يتم التحري عن هذين النوعين بنوعين من الاختبارات وهي

1/ الاختبارات القياسية standard method

2/ العد الأكثر احتمالا most probable number

الاختبارات القياسية

تتم هذه الطريقة بثلاث مراحل

1/الاختبار الاحتمالي presumptive test

2/ الاختبار التأكيدي confirmatory test

3/ الاختبار التكميلي completed test

الاختبار الاحتمالي حيث يتم تلقيح بيئة مرق الماكونكي Macconkey broth بعينة الماء المشكوك به فاذا تكون حامض وغاز في انبوبة درهام بنسبة 10% من الانبوبة هذه خلال 24 ساعة فيكون الاختبار موجب اما اذا لم يتكون غاز خلال هذه المدة خلال هذه المدة نكمل التحضين 24ساعة أخرى (أي فترة التحضين تصبح 48 ساعة) فاذا لم يتكون غاز فهذا يدل على ان الماء صالح للشرب ولاداعي لاجراء اختبارات أخرى وفي حال تكون الغاز والحامض يجب اكمال سلسلة الاختبارات للتاكد من نوع البكتريا المنتجة للغاز والحامض

لأجراء تجربة الاختبار الاحتمالي

الأدوات : عينة ماء ،ماصات معقمة ،انابيب اختبار حاوية على وسط Macconkey broth وانابيب درهام

طريقة العمل :

1/ نلقح كل من الانابيب الحاوية على البيئة ب 1 مل من عينة الماء

2/ تحضن الانابيب على درجة 37◦م لمدة 24 ساعة

3/ نلاحظ تكون الحامض والغاز

4/ نسجل النتائج (تحول لون الوسط من اللون الأحمر الى اللون الأصفر دليل تخمير السكريات وانخفاض الدالة لحامضية للوسط مما جعل لونه يتغير) وجود الفقاعات داخل أنبوب درهام دليل انتاج الغاز

الاختبار التأكيدي

اذا كان الاختبار الاحتمالي مشكوك فيه يجب اجراء الاختبار التأكيدي ويتم فيه استخدام وسطين صلبين

1/ وسط E.M.B.A Eosin Methylene Blue Agar

2/ وسط E.A Endo Agar

الأدوات والمواد :

عينة التجربة السابقة ،وسط E.M.B.A ووسط E.A

طريقة العمل :

1/نلقح الوسط بحملة لوب من الانبوب المشكوك فيها من الاختبار الأول بطريقة التخطيط على الوسط وكذلك نلقح من المزرعة القولونية المشخصة على طبق اخر للمقارنة والتدقيق

2/ نحضن الطبق على37◦م لمدة 24 ساعة

3/ نلاحظ المستعمرات الناتجة فاذا ظهرت مستعمرات على وسط E.M.B.A ذات لون اخضر وذو لمعان معدني مع وجود مركز اسود للمستعمرة فان هذه المستعمرات تعود لبكتريا *E.coli*

اما اذا ظهرت المستعمرات بلون بني خالي من البريق المعدني فنها تعود للجنس *Enterobacter aerogenes* وفي حالة الوسط E.A فان بكتريا E.coli تظهر مستعمراتها بلون احمر قاتم اما بكتريا *En.aerogenes* فتظهر بمستعمرات وردية اللون .

الاختبار التكميلي

يجرى هذا الاختبار للتأكد من ان المستعمرات الناتجة في الاختبار التأكيدي تتبع مجموعة الكوليفورم (مخمرة لسكر اللاكتوز) -G تظهر تحت المجهر بشكل عصيات، قصيرة ،سالبة لصبغة كرام ،غير مكونة للسبورات

الأدوات والمواد :

اطباق حاوية على على المستعمرات النامية في الاختبار التاكيدي ،انابيب اختبار حاوية على الاكار المائل slant ،شرائح زجاجية وصبغة كرام

طريقة العمل :

يتم أولا انتخاب مستعمرات منفردة من الأوساط الصلبة ومن ثم تؤخذ حملة لوب وتخطط على الاكار المائل وتحضن بدرجة 37◦م لمدة 24 ساعة ومن ثم بعد ان يحصل النمو ناخذ لمسة من المستعمرات ونضعها على شريحة زجاجية وتصبغ بصبغة كرام وتلاحظ تحت المجهر لمعرفة شكل الخلايا وقدرة الخلايا على تكوين السبورات

اختبارات العد الأكثر احتمالا

تعتمد هذه الطريقة على اجراء تخافيف عشرية على عينة الماء المراد فحصها حيث تتم كالتالي :

1/ يحضر وسط مرق اللاكتوز Lactose broth ويوزع بحجم 9مل على ثلاث مجاميع من انابيب الاختبار كل منها حاوي على ثلاث انابيب اختبار ويوزع عليها انابيب درهام (أي مجموع الانابيب 9)

2/ ثلاث انابيب اختبار كل منها حاوي على ماء معقم تستخدم لأجراء التخافيف

3/ ماصات معقمة

طريقة العمل :

نحصل على عينة ماء الحنفية ونضعها في انبوبة اختبار معقمة ويجرى عليها سلسلة من التخافيف لحد التخفيف 10^{-3}

2/ نلقح كل انبوبة من انابيب المجموعة الأولى ب 1مل من انبوبة التخفيف 10^{-1} وترج الانابيب

3/ نلقح كل انبوبة من انابيب المجموعة الثانية ب امل من انبوبة التخفيف 10^{-2} وترج الانابيب

4 / نلقح كل انبوبة من انابيب المجموعة الثالثة ب 1 مل من انبوبة التخفيف 10^{-3}

وترج الانابيب جيدا

5/ ترج الانابيب وتحضن على درجة 37◦م لمدة 24 ساعة

6/ تسجل النتائج عن تكون الحامض والغاز في الانابيب التسعة على شكل مجاميع مع إعطاء رقم عند الانابيب الموجبة لكل مجموعة وتميزه برقم ثم نقارن النتائج مع جدول خاص بطريقة M.P.N ويسمى جدول مكريدي للحصول على عدد M.P.N ونطبق المعادلة

عدد الخلايا في 1 مل من العينة= عدد M.P.N * مقلوب التخفيف الأوسط

IMVIC TEST   الدرس العملي الخامس

نتيجة للتشابه الكبير بين افراد العائلة المعوية بما في بينها بما في بينها الصفات الظاهرية

لذلك لابد من وجود اختبارات تفريقية وهه الاختبارات تسمى اختبارات IMVC

1- اختبار الاندول Indol test

2- اختبار المثيل الأحمرMethyle red test

3- اختبار فوكس بروس كور Voges-Pros Kauer test

4- اختبار السترات Citrate tes

اختبار الاندول :

يعتمد هذا الاختبار على قدرة بعض الاحياء المجهرية على تحليل الحامض الاميني التربتوفان بفعل انزيم Tryptophanase وإنتاج الاندول حسب المعادلة

Tryptophan   Indole +NH3

الأدوات والمواد

1-المزارع المحفوظة على الأوساط المائلة

2-انابيب حاوية على وسط مرق التربتوفان

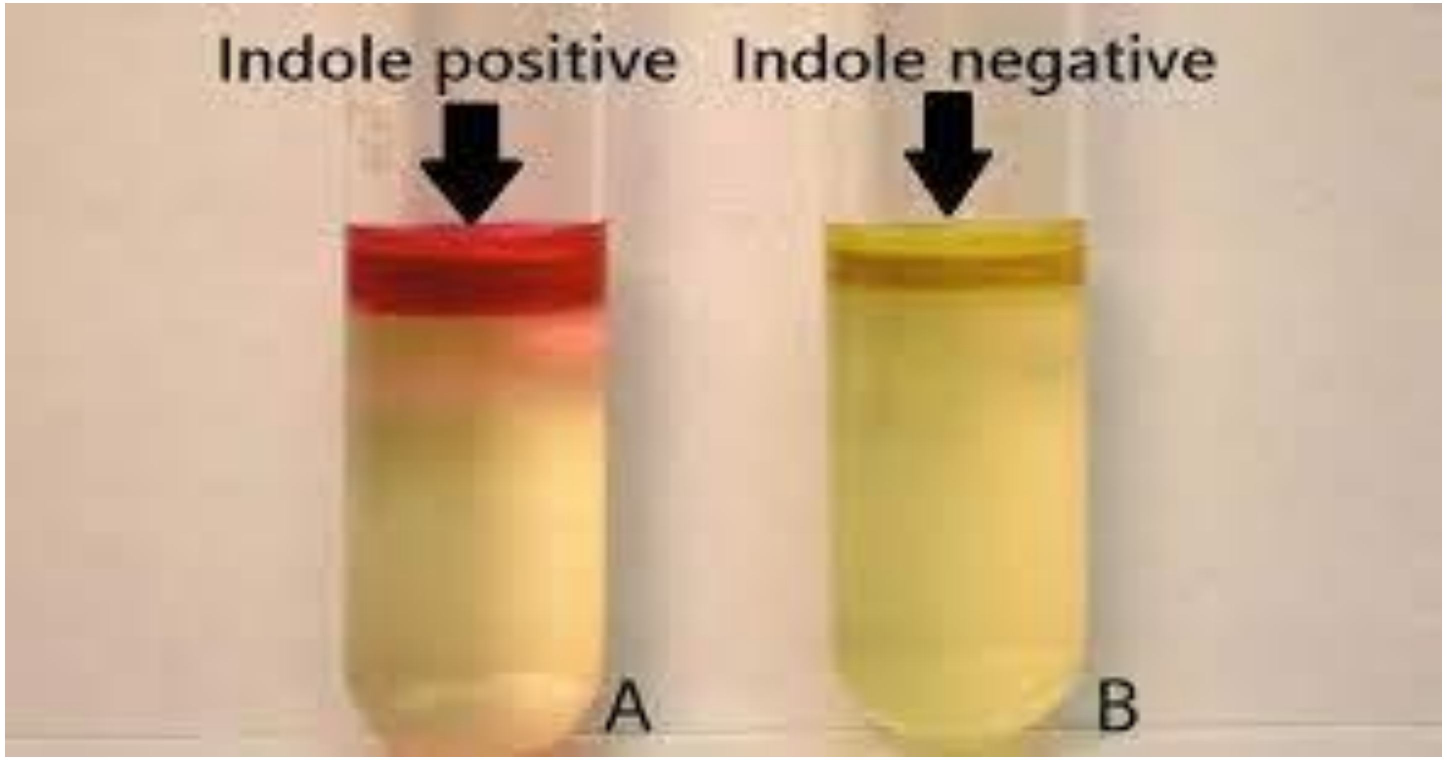
3- كاشف كوفاكس ويتكون من (Amyle or Isoamyle alcohol وحامض الكبريتيك المركز و p-Dimethyle-aminobenzaldehyde

طريقة العمل :

1- لقح انابيب الاختبار الحاوية على الوسط بالبكتريا

2- حضن الانابيب في درجة حرارة $37°c$ لمدة 48 ساعة

3- بعد انتهاء فترة التحضين اضف 0.5 مل من كاشف كوفاكس الى كل انبوبة ورج جيدا ثم اتركها فاذا تكونت حلقة حمراء على سطح الوسط فان ذلك يعني ان نتيجة الاختبار موجبة وان الاندول قد نتج من تحلل الحامض الاميني التربتوفان


Indole positive
Indole negative
A
B

اختبار المثيل الأحمر :

يكشف هذا الاختبار عن قدرة البكتريا على انتاج الحامض نتيجة لتخمر سكر الكلوكوز الموجود في الوسط بطريقة التخمر المتجانس والذي ينتج حامض يؤدي الى خفض الدالة الحامضية للوسط PH الى 6.4 وبالتالي سيؤدي ذلك الى تغيير لون دليل احمر المثيل في الوسط من اللون الأصفر الى الأحمر

المواد والأدوات :

1- انابيب اختبار حاوية على وسط مرق الكلوكوز

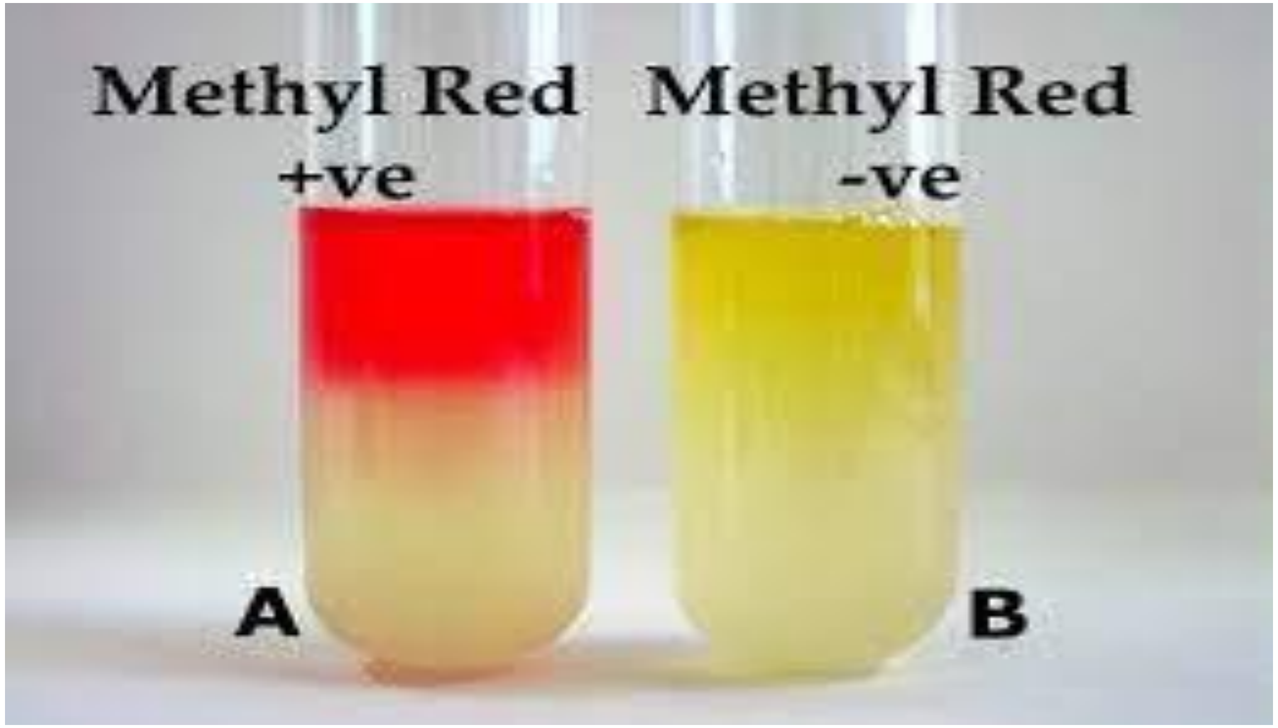
2-دليل احمر المثيل

طريقة العمل

1- لقح الانابيب بالمزارع الموجودة على الاكار المائل

2- حضن الانابيب في درجة حرارة 37◦C لمدة 5-2 أيام

3- بعد انتهاء فترة التحضين اضف 7-5 قطرات الى كل انبوبة اذا ظهر اللون الأحمر فهذا يدل على انتاج الحامض وان الاختبار موجب اما اذا لم يظهر اللون الأحمر فان الاختبار سالب .


Methyl Red
+ve
Methyl Red
-ve
A
B

اختبار فوكس بروس كور:

يعتمد هذا الاختبار على مقدرة البكتريا على تخمير سكر الكلوكوز بالطريقة غير المتجانسة وإنتاج الاسيتون واشباه الاسيتون مثل Acetyle methyle carbinol

المواد والأدوات :

1- انابيب حاوية على وسط مرق الكلوكوز

2- كاشف اوميرا والذي يتكون من جزئين

محلول A يتكون من KOHبتركيز 40%

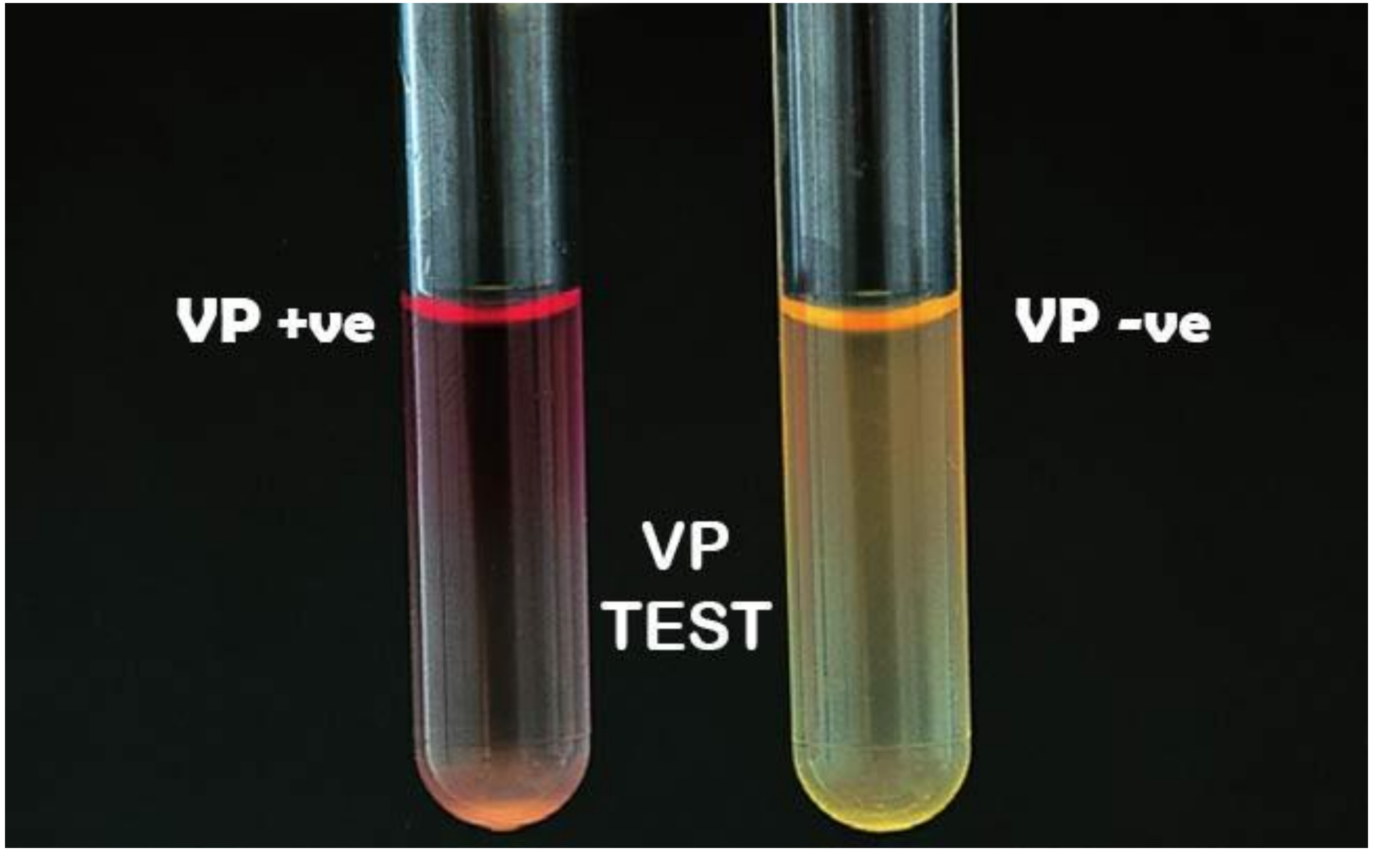
محلول B يتكون من 5% α- naphthole في كحول اثيلي مركز

طريقة العمل :

1- لقح الانابيب بالمزارع الموجودة على الاكار المائل

2- حضن الانابيب في درجة حرارة 37◦ cلمدة 48 ساعة

3- بعد انتهاء فترة التحضين اضف 1مل من الجزء a ثم اضف 3 مل من من الجزء b من الكاشف اذا تكون لون وردي الى خمري في الانبوبة يعني ان الاختبار موجب أي تكون مركب Acetyle methyle carbinol اما اذا لم يتكون اللون فان الاختبار سالب


VP +ve
VP -ve
VP
TEST

<u>اختبار السترات :</u>

يوضح هذا الاختبار قدرة البكتريا على استهلاك السترات كمصدر لا عضوي للكاربون لانتاج طاقة وهي صفة تمتلكها كل أنواع البكتريا

المواد والأدوات :

1- المزارع

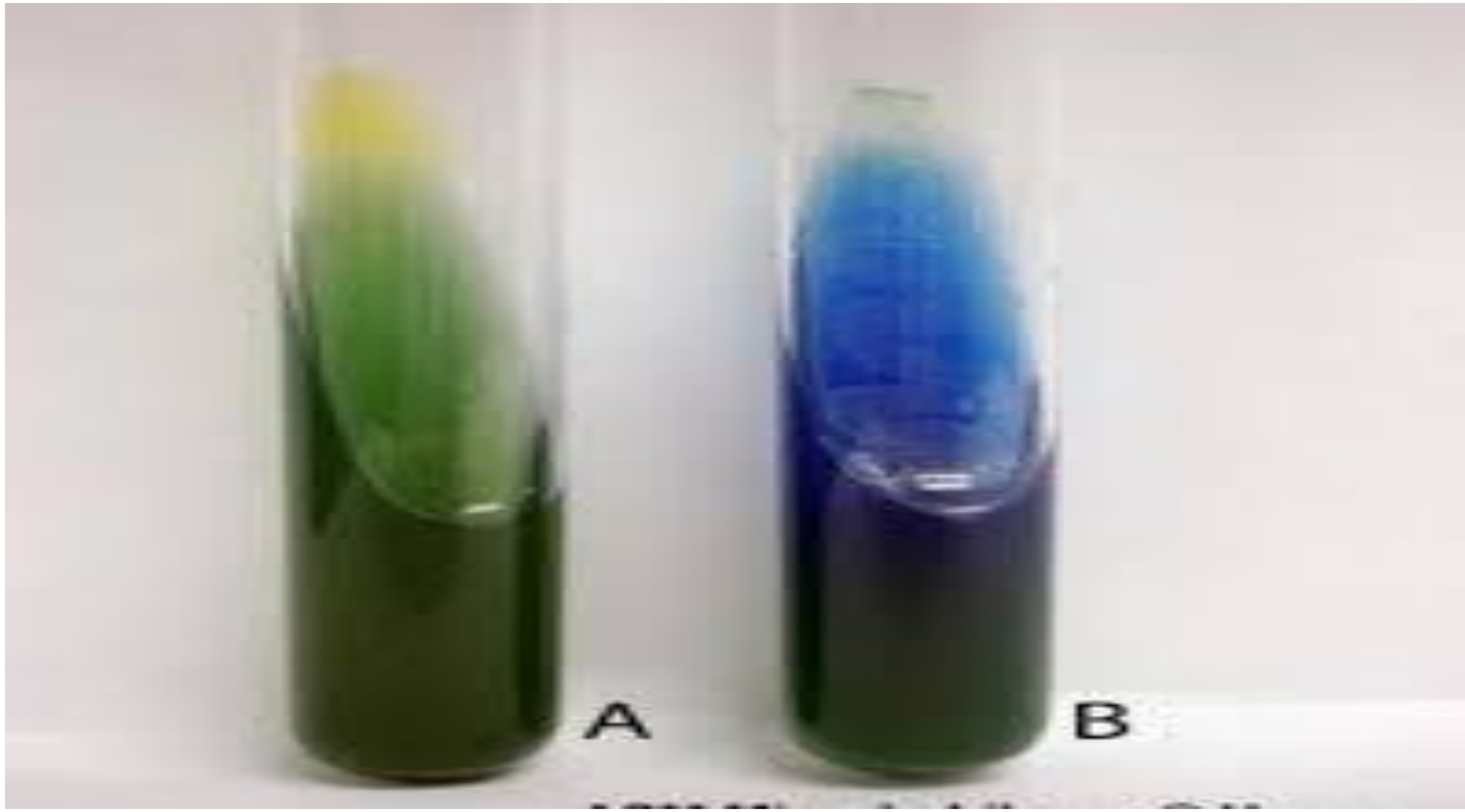
2- وسط اكار السترات

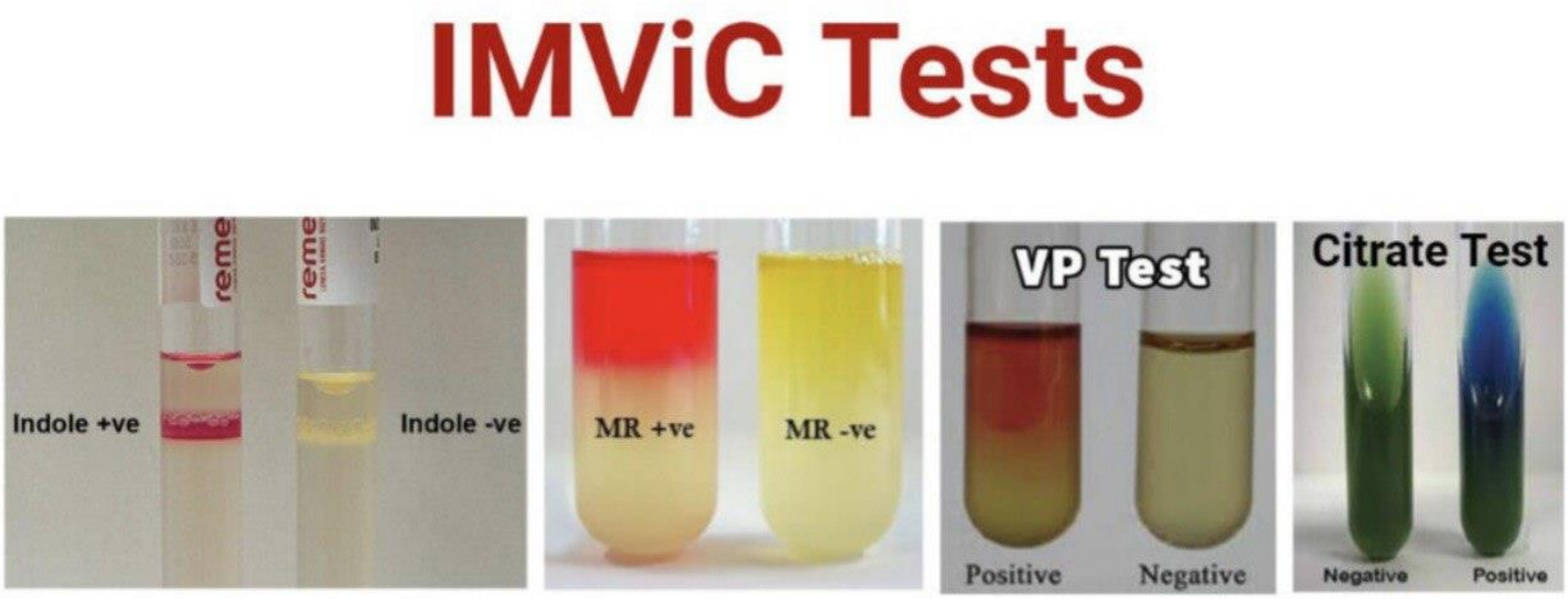
طريقة العمل :

1- لقح الوسط بحملة لوب من المزارع البكتيرية

2- حضن المزارع بدرجة 37◦ cلمدة 48-96 ساعة

3- بعد انتهاء فترة التحضين لاحظ الانابيب اذا ظهر نمو وغير لون الوسط (الحاوي على دليل بروموثايمول الأزرق) من الأخضر الى الأزرق فهذا يدل على ان الاختبار موجب اما اذا لم يتغير لون الوسط فهذا يدل على ان الاختبار سالب


A
B


IMVIC Tests
Indole +ve
Indole -ve
MR +ve
MR -ve
VP Test
Positive
Negative
Citrate Test
Negative
Positive

امثلة على الاختبار

	I	M	V	C
Escherichea coli	+	+	-	-
Enterobacter aerogenes	-	-	+	+
Shigella spp.	-	+	-	-
Klebsiella spp.	-	-	+	+

الدرس العملي السادس

اعداد تقرير عن مادة الدرس السابق ومناقشة نتائج كل مجموعة قامت بالفحص ووضع أسباب لهذه النتائج

الدرس العملي السابع

الفحص الميكروبي للتوابل

من الطرق المستخدمة لحفظ المواد الغذائية هي استخدام المواد الكيمياوية او المواد الحافظة مثل حامض البنزويك المستخدم في حفظ العصائر والنترات والنريت والكثير من المركبات الأخرى

ولطن قد يكون لهذه المواد تاثير على صحة الانسان وخاصة النترات والنتريت لانها من المواد المسرطنة خاصة اذا ما استخدم بتراكيز عالية ولهذا استبدلت بمواد نباتية التي تكون متوفرة عادة وبأسعار رخيصة وليس لها تاثير على الانسان ومنها التوابل وفي السابق استخدمت التوابل كمادة مكسبة للنكهة ولكن لها تأثير قاتل للأحياء المجهرية وخاصة البكتريا المرضية منها ولكن في بعض الحالات تعتبر هذه التوابل مصدر من مصادر التلوث بعملية تحضير التوابل وتجفيفها وطحنها فتزيد من المحتوى الميكروبي وخاصة السبورات البكتيرية وسبورات الفطريات

تأثير التوابل على الكائنات الدقيقة تعتمد على عدة عوامل :

1- تركيز المادة الفعالة في التوابل

2- درجة نضج التوابل

3-نوع وعدد الكائنات الحية الدقيقة

4-نسبة الإضافة

امثلة على بعض الأغذية النباتية

الثوم : اهم مادة غذائية نباتية لها تاثير قاتل على الكائنات الدقيقة حيث يضاف الى اللحوم والاجبان اذ انه يحتوي على مركب Allicin الذي يحوي على عنصر الكبريت وهو فعال جدا ضد بكتريا ال Salmonella وبكتريا ال choleraو Shigella والعنقوديات Staphelococcusوال والمسبحيات Streptococcus و Coliformوالاعفان التي تنتج السموم الفطرية mycotoxin وضد الخمائر ويستخدم لعلاج بعض الامراض خاصة المعوية والتهاب القصبات

البصل :يحتوي على المركبات الكبريتية الفعالة مثل N-poly cysteine و N-methyle sulfoxideوsulfoxide ويكون تاثير البصل اقل من تاثير الثوم في القضاء على الاحياء المجهرية

3- الخردل :مادة نباتية فعالة ضد الخمائر وخاصة خميرة الخبز Saccharomyces

4- القرنفل :مادة نباتية تحتوي على مركب Enganol و Cinamic aldhyde فعاليتها وتمتاز بفعاليتها ضد البكتريا أيضا هناك مواد أخرى فعالة ضد البكتريا مقل مستخلصات اللهانة والفجل والرشاد

الاختبارات التي تجرى على التوابل

1- اختبارات العد الكلي للبكتريا

تعامل التوابل كمعاملة الطحين والسكر ويجرى عليها اختبار العد الكلي ويحسب عدد الاحياء المجهرية في 1 غم من العينة = عدد المستعمرات النامية * مقلوب التخفيف

2- اختبار العد الكلي للفطريات:

كما في المحاضرة السابقة والوسط المستخدم هو PDA

3- عدد السبورات :

1-ناخذ التخفيف 2 - 10ويوضع في حمام مائي 80 م◦ مدة 15 دقيقة

2- ننقل امل منه الى طبق بتري معقم ويضاف له الوسط N.A

3- يترك ليتصلب ويحضن 30م◦ لمدة 3 أيام

4- تقدر السبورات النامية

4- الكشف عن الColiform

1-ناخذ من التخفيف 1- 10 1 مل ويضاف الى انبوبة اختبار بها مرق الماكونكي وحاوية على انبوبة درهام

2-يحضن على درجة 30م◦ لمدة 48 ساعة بعدها ندون النتائج (تحول لون الوسط الى الأصفر دلالة على انتاج الحامض ويتجمع الغاز في انبوبة درهام

3- عمل سلايد من المستعمرات وتصبغ بصبغة كرام

الدرس العملي الثامن

الفحص الميكروبي للحبوب ومنتجاتها

عادة الحبوب تكون نسبة رطوبتها قليلة مقارنة بالطحين حيث تبلغ 13% وهي كافية لحفظ الحبوب لفترة من الزمن وذلك لان الاعفان تتحمل او تنمو بنسبة رطوبة 15% والخمائر بنسبة 17% والبكتريا تنمو عند توفر نسبة رطوبة 18%

يكون مصدر تلوث الحبوب بالأحياء المجهرية بدءا بالحقل حيث الظروف البيئية والمناخية التي تحيط بالنبات الأصل وكذلك التربة وانتهاءا بعملية الحصد والنقل والخزن جميع هذه العوامل تكون مصدرا لتلوث الحبوب بالاحياء المجهرية

يكون الطحين اقل محتوى مكروبي من الحبوب وذلك لعدة أسباب:

1- استخدام بعض المواد المؤكسدة التي تعمل على قتل البكتريا مثل الكلورين واوكسيد النتروجين والمواد القاصرة

2- اجراء عملية النخل للتخلص من النخالة التي تحتوي على اعداد كبيرة من الاحياء المجهرية والديدان والحشرات التي تذهب جميعها مع القشور او النخالة اثناء عملية النخل

3- عملية الغسل والتصفية ومع ذلك ستبقى الاحياء المجهرية ولهذا نلجأ للخزن الجيد حيث الرطوبة لاتزيد عن 13% لغرض منع نمو الاعفان والخمائر والبكتريا

اهم الاحياء المجهرية الموجودة في الحبوب :

1- بكتريا مكونة للسبورات مثل Clostridium و Bacillus

2- بكتريا غير مكونة للسبورات مثل مجموعة Coliform و Lactobacillus و Achromobacter

3- فطريات وخمائر Aspergillus, Penicillium, Mucar

اهم منتجات الحبوب

1- الطحين

ونحصل عليه من طحن حبوب الحنطة بعد ان يتم تعريضها الى عمليات القصر والاكسدة والغسل والنخل وهذا يقلل من تلوثها وعند تعرض الطحين الى الرطوبة يؤدي هذا الى نمو الاعفان وهذه الاعفان تفرز سموم (توكسينات خطيرة)مثل سموم Ochratoxinو Aflatoxin

الخبز

تكون عملية التخمير التي تحدث للعجين لتحضير الخبز بواسطة الكائنات الحية مرغوب بها بل ضرورية لصناعة الخبز وتكون التخمرات ناشئة عن مجموعة بكتريا حامض اللاكتيك ولكن اذا طالت فترة التخمير تجعل الطعم حامضي وغير مرغوب فيه وتزداد هنا نسبة البكتريا المحللة للبروتين فيفقد العجين خاصيته المطاطية ويتحول الى عجين لزج Stichy وذلك لزيادة تحلل وتكسير الكلوتين وتنتج عنه روائح كريهة

اشكال الفساد المكروبي للخبز

1- الخبز العفن (التعفن) Moldiness

ويعتبر من اهم أنواع الفساد الشائع في الخبز ويكون الخبز بعد عملية الخبز او بعد خروجه من الفرن مباشرة خالي تقريبا من الاحياء المجهرية حيث الحرارة المستخدمة في الفرن كافية للقضاء على الاحياء الموجودة وكذلك سبوراتها لكن قد يحصل تلوث للخبز بالفطريات نتيجة لتلوث سطح الرغيف الخارجي بالفطريات التي تستطيع النفاذ الى داخل الخبز واحداث الفساد وهذا الفساد بسبب نمو الفطريات التالية:

Rhizobus nigricans

Aspergillus niger

Penicillium expansum

Monilia

الظروف التي تساعد على فساد الخبز

1- التلوث الشديد الحاصل بعد عملية الخبز في حالة التبريد الطويل أي من الهواء الخارجي

2- من سكاكين التقطيع التي قد تكون ملوثة

3- عندما يغلف الخبز وهو ساخن سوف يسمح بتكثيف البخار وتكوين الرطوبة

4- خزن الخبز في الجو الدافي الرطب

ولمنع حدوث هذا اللوث ينصح بما يلي :

1- استعمال طحين نظيف

2-استبعاد قطع الخبز القديمة التي قد تكون مصدر للتلوث

3- الاهتمام بنظافة الجدران . الالات والمعدات بتعريضها للاشعة فوق البنفسجية U.V

4- تعريض سطح الخبز للاشعة فوق البنفسجية

5- خزن الخبز في مكان بارد

2- الخبز اللزج او المطاطي Ropiness

وهي ظاهرة شائعة في أنواع الخبز (خبز البيوت) وأنواع العصيات الجرثومية (المكونة للسبورات) Bacillus subtillus و Bacillus panis

من مميزات هذا النوع من الفساد هو تكوين مادة لزجة يمكن شدها وسحبها بهيئة خيوط لذلك يسمى هذا الغشاء بالمطاطي وترجع هذه الظاهرة الى وجود الأنواع الجرثومية الحاوية على كيس او كبسولة او غلاف هلامي وهذه تحمي الجراثيم من الظروف مثل مقاومتها للحرارة . المواد الكيمياوية وهذه الجراثيم تستطيع ان تحلل بروتين الطحين بواسطة انزيم الكلوتين وانزيم Protinase وتجلل النشا بالاميليز وهذا يرافقه رائحة كريهة وتغيير لوني يليه ظاهرة طراوة او نعومة للخبز

3- الخبز الأحمر الدموي Red Bloody

يسمى بهذا الاسم حيث يكون الخبز لزج وكذلك ذو لون احمر وهي ظاهرة نادرة الحدوث بسبب نمو بعض الجراثيم وهي Serratia marsescens وبسبب قلة النظافة ولارتفاع نسبة الرطوبة او قد يحصل هذا التلف بسبب نمو الفطر Monilia sitophilia , Monilia

4- الخبز الطباشيري Chalky bread

ظاهرة الخبز الطباشيري هي عبارة عن حالة غير شائعة الحدوث وقد سميت كذلك بسبب ظهور بقع بيضاء نتيجة نمو بعض الفطريات المشابهة للخميرة مثل Trichosporon variable

الاختبارات البكتريولوجية للخبز

1- تقدير العد الكلي للبكتريا

المواد والأدوات اللازمة

عينة طحين. قنينة زجاجية (9مل) ماء مقطر ومعقم . انابيب اختبار بها 9مل ماء معقم . اطباق بتري . بيئة اكار مغذي

طريقة العمل :

1- ناخذ 10 غم من عينة الطحين ونضعها في انبوبة اختبار تحوي 9 مل ماء مقطر معقم ثم ترج جيدا

2- نجري تخافيف عشرية 4-10.3-10,2-10,1-10

3- ناخذ 1 مل من التخفيف الثالث والرابع ونضعها في طبق بتري

4- تذوب البيئة المعقمة وتصب في الطبق على حرارة مناسبة ويخلط مع اللقاح وتحرك بشكل 8 وتترك لتتصلب

5- تحضن الاطباق بدرجة 30 ◦م لمدة ثلاثة أيام

6- تعد المستعمرات النامية وتحسب عدد البكتريا في 1 غم من العينة

عدد المستعمرات النامية في 1 غم من الطحين = عدد المستعمرات النامية * مقلوب التخفيف

2- تقدير عدد البكتريا المكونة للسبورات ذات النمو الهوائي

1- نضع التخفيف 1-10 و 2-10 في حمام مائي بدرجة حرارة 80◦م لمدة 15 دقيقة لقتل الخلايا الخضرية ولتبقى السبورات

2- ناخذ 1مل من هذه التخافيف ونصب عليها الوسط الغذائي وتترك لتتصلب ومن ثم نحضن على 30◦م لمدة ثلاثة أيام وتجفيفها هوائيا وتحسب عدد السبورات حسب المعادلة :

عدد السبورات النامية في 1 غم من الطحين =عدد المستعمرات النامية *مقلوب التخفيف

تكرر العملية السابقة مع التجفيف بظروف لاهوائية لعزل السبورات اللاهوائية التابعة لجنس Clostridium

3- اختبار فساد الطحين

نضع 5 مل ماء معقم في طبق بتري ثم ننشر على هذا الماء 10 غم من الطحين بدون تقليب ثم يحضن الطبق على درجة حرارة الغرفة ولمدة 7 أيام بعدها نلاحظ المظهر والرائحة

الدرس العملي التاسع

الفحص الميكروبي للحوم

يعد اللحم وسط غذائي مثالي للعديد من الميكروبات لارتفاع نسبة الرطوبة فيه aw=0.99 والبروتين فيه واحتوائه على مركبات نتروجينيه وكربوهيدراتية ومعادن واملاح بكميات مناسبة ويحتوي على العديد من الفيتامينات وبنسب مختلفة حسب نوع اللحم مثل thiamine riboflavin, B12,B6,folic acid, كما ان pH اللحم ملائم لنمو الاحياء التي تسبب احداث تغييرات حيوية غير مرغوب ة في اللحم وفي الحالة الطبيعية تحوي اللحوم عددا من الاحياء المجهرية وتكون الفلورا الميكروبية متكونة أساسا من البكتريا

اللحوم المفرومة تحتوي على اعداد كبيرة من الاحياء المجهرية نتيجة تعرض مساحة سطحية اكبر منه الى التلوث إضافة الى حيث تسهم الات فرم اللحم في التلوث إضافة الى خلط الأجزاء الملوثة مع غير الملوثة كذلك فان إضافة التوابل والخضراوات الملوثة يضيف اعدادا أخرى من الاحياء المجهرية ولعدة أسباب :

1-تحتوي اللحوم المفرومة على أجزاء من اللحوم وقطع للأمعاء وقطع لحم غير مرغوب بها

2-تتميز اللحوم المفرومة بزيادة مساحتها السطحية مما يسمح لنمو البكتريا الهوائية

3-تتعرض اللحوم المفرومة للعديد مم الآلات والأدوات مثل السكاكين والاوعية والمفارم التي تلعب دور في التلوث الميكروبي

اهم اجناس البكتريا الموجودة باللحم
Pseudomonas,Serratia,Bacillus,Coliforms,Streptococcus,Clostridium,

Monila,Mucor والاعفان Achromobacter

مصادر التلوث

1-ذبح الحيوان: التلوث الميكروبي الأول يحدث عن طريق سكين الذبح حيث تنتقل هذه الملوثات عن ظريف الدم اثناء موت الحيوان وتنتقل الى العضلات فأثناء مرور السكين على جلد الرقبة يحدث لها تلوث وتنتقل هذه الملوثات عبر الدورة الدموية الى العضلات حيث يصل بعضها بالقرب من العظم محدثة تعفن . مثال ذلك ذبح الحيوانات خارج المسالخ او في مسالخ ذات ارضيات ملوثة يؤدي الى انتقال الملوثات عن طريق الدم اثناء الذبح

أيضا يحدث التلوث اثناء سلخ الحيوان اذا لمس الجلد سطح الذبيحة حيث تنتقل منه اعداد كبيرة من البكتريا تفوق المليون في السنتيمتر المربع الواحد ويجب توخي الحذر اثناء إزالة الاحشاء من الذبيحة حتى لا تنتقل مكوناتها الى اللحوم وفي المسالخ الحديثة تجرى عملية السلخ بأجهزة اتوماتيكية تقلل بشكل كبير من تلوث سطح الذبائح

2-غسل الحيوان : تتعرض الذبائح أيضا الى التلوث من المياه المستخدمة في غسل الذبائح او الارضيات وعليه يجب ان تكون المياه المستخدمة في المسالخ ذات جودة عالية وخالية من الميكروبات وأيضا يجب منع استخدام قطع القماش المبللة في تنظيف الذبائح لأنها تؤدي الى تلوث اللحم ونشر الملوثات من منطقة الى أخرى

3- تلوث الهواء : بعد عملية السلخ تظل الذبائح معلقة لفترة (20-30) قبل إدخالها في غرف التبريد وتتعرض اثناء ذلك الى سقوط الميكروبات من الهواء على اسطح الذبائح وتتوقف اعداد البكتريا في الهواء على كمية الهواء الداخلة الى المسالخ من الخارج وكمية الملوثات في الأماكن المحيطة بها .

4- غرف التبريد: التأثير الفعال لتبريد اللحوم على الملوثات الميكروبية تحكمه عدة عوامل

فالتبريد السريع على درجات حرارة منخفضة مع وجود توزيع جيد للهواء داخل البرادات وفي وجود رطوبة منخفضة يمنع او يبطئ نمو البكتريا بصورة فعالة ويساعد على إطالة فترة

الصلاحية وفي حالة حدوث أي خلل في التبريد تبدا بعض أنواع البكتريا المقاومة للبرودة في

النمو بصورة بطيئة واحداث تغيرات غير مرغوبة في اسطح الذبائح أيضا يمكن ان تتعرض

الذبائح الى التلوث بالهواء داخل غرفة التبريد ولمنع ذلك فقد حددت لوائح المسالخ مستوى

تلوث الهواء في غرفة التبريد بحيث لايزيد عدد البكتريا فيها عن 100 في النتر المربع في الدقيقة

كذلك يجب مراقبة درجات التبريد اثناء تخزين ونقل اللحوم وفي أماكن بيعها لان أي خلل قد يؤدي الى نمو وتكاثر الأنواع المسببة للأمراض وللتسمم الغذائي من البكتريا والتي يفرز بعضها سموما مقاومة لدرجة حرارة الطبخ كذلك يجب التأكد من تنظيف وتعقيم اسطح العمل والسكاكين والمناشير المستخدمة في غرف التقطيع

عوامل التحكم في تلوث اللحوم

1- استخدام أدوات مطهرة جيدا

2-التأكد من كون المجزر نظيف

3- استخدام طرق صحية في عمليات نزع الجلد والاحشاء

4-تنظيف الأدوات والمعدات من ان لأخر اثناء عملية التشغيل

5-تطبيق اعلى مستويات النظافة الشخصية للعاملين

6-تجويع الحيوان قبل الذبح لتقليل المحتوى الميكروبي

7-عدم اجهاد الحيوان قبل الذبح لان ذلك يؤدي الى تحول الجلايكوجين الى حامض اللاكتيك وبذلك يصبح غير كافي لخفض ال pH بعد عملية الذبح لاستهلاك اللاكتيك

8-غسل اللشة بالماء الساخن بدرجة 65 درجة مئوية للتخلص من الميكروبات المحبة للبرودة

9-رش سطح اللشة بالكلور PPM200 لمدة دقيقتين

10-تبريد اللحم مباشرة بعد الذبح الى 4 درجة مئوية

أنواع التلف الميكروبي

1- رائحة ومواد لزجة   off-oder and slime

اول علامات تلف اللحوم هي ظهور رائحة يتبعها تكون مواد لزجة على السطح و المسبب الرئيسي لهذا التلف هو Pseudomonas, Serratia, Flavobacterium, Achromobacter

2-تغيير لون اللحم   Discoloration

تظهر بقع ملونة على سطح اللحم نتيجة لنشاط الاحياء المجهرية خاصة التابعة لجنس Pseudomonas mephitis وظهور بقع ملونة باللون الأخضر يظهر في اللحوم المخزنة بالظروف الهوائية بدرجة حرارة 1-2 مئوية بسبب تحول مادة myoglobin الى مادة sulfomyoglobin

3-التعفن والتزنخ Putrification and Rancidity

يحدث التعفن نتيجة لنشاط الاحياء المجهرية تحت ظروف لاهوائية وإنتاج انزيم protease محللة البروتين الى NH3 و H2S وغيرها من المركبات العفنة

اما التزنخ فيحدث نتيجة تحلل دهن اللحم الى Fatty acid و Glycerol فيعطي الرائحة الزنخة بفعل انزيم اللايبيز وإنتاج حامض البيوتيريك وتحول لون الدهن من الأصفر الى الارجواني وفي كلا الحالتين البكتريا المسؤولة هي Pseudomonas

4- حموضة اللحم Meat souring

يحدث عند خزن اللحم في درجة الحرارة الغرفة اذ تنشط البكتريا وسطية الحرارة Mesophiles مثل بكتريا القولون coliforms,Lactobacills هذه البكتريا تؤكسد المواد السكرية في اللحم الى احماض عضوية

الجزء العملي

1- العد الكلي للبكتريا الميزوفيلية : mesopillic bacteria

نأخذ 10 غم لحم مع سحق اللحم بالهاون وتضاف 90مل ماء معقم مع إضافة قليل من رمل البحر ثم يرسب ويؤخذ 1مل من التخفيف ويحضر عدة تخافيف منها الى 4- 10 بعدها نأخذ من التخفيفين الأخيرين 1 مل وتوضع في طبق بتري ويصب عليها nutrient agar والمضاف له دليل bromochresole purple وتحضن على درجة 35 درجة مئوية لمدة ثلاثة أيام .

2-العد الكلي للبكتريا المحبة للبرودة: psychrophilic bacteria

ناخذ 1 مل من التخفيف الثاني ويصب في طبق بتري ثم يحضن على درجة حرارة 10 درجة مئوية ولمدة 5ايام

3- عد الفطريات :

ناخذ 1 مل من التخفيف الثاني ثم يصب عليه وسط Potato Dextrose Agar ويحضن على درجة 25 درجة مئوية لمدة 5-7 أيام

4- عد بكتريا القولون:

يؤخذ 1 مل من التخفيف الأول ويضاف الى انبوبة الاختبار حاوية على مرق الماكونكي وانبوب درهام ويحضن على درجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة لملاحظة تكون الغاز والحامض

5- عد المكورات العنقودية : Staphylococcus aureus count

ناخذ 1 مل من التخفيف الثاني ويوضع في طبق يصب فوقه وسط Staohylococcus agar تحضن على 30 درجة مئوية لمدة 3 أيام ونلاحظ المستعمرات النامية الذهبية اللون .

الدرس العملي العاشر

الفحص الميكروبي للمواد السكرية

المواد السكرية، محاليل سكرية او مولاس، اذا كانت ملوثة فانها تعد مصدرا لتلوث المنتوجات المصنعة منها لذا فمن المهم اجراء الاختبارات المكروبية على المواد السكرية قبل اضافتها للمنتوج لكي تسبب تلف المنتوج فيما بعد.

ان وجود السكر في الغذاء يعرقل من نمو الكائنات الدقيقة وذلك لارتفاع الضغط الازموزي لكن هناك بعض الكائنات الدقيقة تستطيع ان تنمو في الاغذية السكرية Osmophilic Microorganism حيث تتحمل تراكيز عالية من السكر وخاصة الخمائر Yeast.

أنواع المواد السكرية

السكر الخام وينتج من البنجر او قصب السكر ، والبنجر السكري نبات ينمو في التربة لذلك يكون ملوث باعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة ويأتي هذا التلوث من التربة والاسمدة وماء السقي والهواء واهم

الكائنات الموجودة هي

-

Coliform) bacteria, Bacillus, Achromobacter, Micrococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Aspergillus, Candida, Saccharomyces.

يؤخذ محصول البنجر ويغسل بالماء واحيانا الماء المستخدم في ا الغسل يضيف ايضا كمية من التلوث الى المحصول وخاصة ببكتريا ال coliformثم يتم تقطيع البنجر والعصر للحصول على العصير الخام الحاوي على اعداد كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة وخاصة الجنس Leuconostoc

حيث تسبب البكتريا التابعة لهذا الجنس مشاكل في عملية بلورة المنتوج وكذلك في عمليات التصفية تكون هذه البكتريا الكبسولة وهي مادة هلامية تحيط بخلايا البكتريا (بعدها يمر العصير السكري بمراحل تصنيعية كثيرة كالطبخ والتعقيم التي تقلل من المحتوى المكروبي (الخلايا الخضرية وتبقى فقط السبورات البكتيرية التابعة لجنس Bacillus, clostridiumحيث تبقى في السكر المتبلور لذا فعند الخزن اذا توفرت لها ظروف رطوبة تزيد 17% تبدأ هذه السبورات بالنمو وتتحول الى خلايا خضرية وهذا فيما يخص السكر الجاف الاعتيادي امل الحلوي نادرا ما تتعرض للفساد الارتفاع) نسبة المواد السكرية فيها .

2- العسل : نادرا ما يتعرض العسل للتلف نتيجة لارتفاع المواد السكرية الى (75%) و pH

العسل - 5.5 هذان العاملان كلاهما يمنعان نمو الكائنات الحية الدقيقة بنسبة 25% ما عدا بعض الخمائر التي تنمو على السطح وخاصة خميرة (Saccharomycesو

Zygosaccharomycesحيث تنمو على الطبقة السطحية العليا للعسل الحاوية على نسبة رطوبة ممتصة من الجو

3- الدبس : نادرا ما يتعرض للتلف ايضا وهناك عاملان يحفظانه من التلوث هما

ا- نسبة المواد السكرية عالية تصل الى 70%

ب- البسترة العالية او المعاملة الحرارية . عندا نضعه

الاختبارات التي تجري على السكر

الكشف عن الكائنات الحية الدقيقة الميزوفيلية Mesophilic bacteria

أ العد الكلي للبكتريا Total bacterial count

طريقة العمل :-

1-نزن 10 غم سكر

2 نضيفه الى 90 مل ماء مقطر معقم

3- نعمل تخافيف عشرية لحد 4-10 وحسب تلوث العينة

4- نأخذ 1 مل من التخفيفين الاخيرين ويصب في طبقين في تصهر البيئة وتبرد وتستخدم بيئة Nutrient agar الحاوي على دليل (Bromocresol purple حيث لونه أصفر في الوسط الحامضي وبنفسجي في الوسط المتعادل وازرق في الوسط القاعدي)

5- نحضن على درجة حرارة 30م مدة 3 ايام ونعد المستعمرات النامية التي تكون محاطة بهالة صفراء بسبب ان البكتريا تفرز الحامض وتسمى بالبكتريا المنتجة للحامض وبذلك يتغير اللون ن البنفسجي الى الاصفر .

-6- يحسب عدد البكتريا = عدد المستعمرات النامية * مقلوب التخفيف

7- يحسب عدد البكتريا المنتجة للحامض = عدد المستعمرات المحاطة بهالة صفراء * مقلوب التخفيف

الدرس العملي الحادي عشر

الاحياء المجهرية في الاغذية المعلبة

توجد العديد من الفحوصات الفيزياوية والمايكروبية للمعلبات

اذ تحفظ الاغذية بالعلب المعدنية والزجاجية والبلاستيكية وغيرها . وتتعرض الاغذية في داخل العلب الى فساد اسبابه قد تكون نتيجة تفاعلات كيمياوية بين الاغذية ومادة العلب او قد تكون نتيجة فعل المايكروبات التي تتواجد في الأغذية المعلبة

اما بسبب عدم تعرض العلب إلى معاملة حرارية كافية للقضاء على المايكروبات التي تسبب الفساد underprossesing

او بسبب عدم كفاءة صناعة سد العلب وبذلك يكون عيبا فيها ليسمح للمايكروبات دخولها بعد تعقيمها مما يسبب تلفها

1/الفحوصات الفيزيائية

يتم ملاحظة وجود أي تاكسد او خدش او تجعدات

او وجود عيب في عملية الغلق وغيره - تلاحظ العلبة اذا كانت طبيعية مستوية (او مقعرة النهايتين)

او اذا كانت منتفخة من جانب واذا كان هذا الانتفاخ قوي ام خفيف واذا كان الانتفاخ من جانب يتحول عند الضغط عليه بالابهام للجانب الاخر واذا كانت نهايتي العلبة منتفخة دلالة على وجود الغاز بداخلها

تفرغ العلبة من الغذاء الذي فيها وتغسل جيداً وتجفف ثم يفحص عن الغلق وعن وجود خدوش او تأكيد او ثقوب او تلون او اي عيب اخر في سطح العلبة الداخلي. وبالامكان اعادة غلق العلبة وفحصها عن وجود ثقوب فيها بواسطة استخدام ضغط هوائي عال

2/ الفحوصات المايكروبية للمعلبات التجارية الطبيعية

ا/ غير الفاسدة

ويتم من خلال معرفة مؤشرين مهمين وهما

1/ كفاءة التعقيم

2/ إمكانية الخزن

كفاءة التعقيم :

يزال غطاء العلبة بملقط حلزوني معقم وتغطى العلبة بطبق بتري معقم او أي غطاء معقم تؤخذ العينة الغذائية السائلة بواسطة ماصة معقمة والأغذية الصلبة بواسطة الة ثقب الفلين المعقمة

يؤخذ 1 -5مل من العينة السائلة ونفس المقدار من الأغذية الصلبة بعد مضاعفة حجم الغذاء بالماء المقطر

تلقح العينة على وسط الاكار المغذي وتحضن على درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة 2-3 أيام للكشف عن البكتريا المحبة للحرارة الاعتيادية mesophiles وتحضن على درجة حرارة 55 درجة مئوية لمدة يومين للكشف عن البكتريا المحبة للحرارة العالية thermophile بعد انتهاء فترة التحضين يفحص نمو البكتريا ويتم عد المستعمرات الكلي

2/الفحص عن ثباتية الخزن :

اذا كانت الاغذية واطئة الحامضية HDاو اعلى تحضن المعلبات لمدة

٤ - ٣٠ يوم على درجة حرارة ٣٧ م لمدة ٧ - ١٠

ايام على درجة حرارة 55 م عدا معلبات اللحوم والاسماك

تفحص العلب عن ظهور علامات فساد بينها ثم يقاس pHالغذاء فيها .

اما اذا كان الغذاء حامضياً (او اقل تحضن المعلبات لمدة ١٤ يوم على درجة ٣٧ م وتفحص كما جاء في الاغذية قليلة الحامضية . من الممكن حضن معلبات الطماطة على درجة حرارة ٥٥ م لمدة يومين للفحص عن بكتريا Flat

3/ الفحص الميكروبي للمعلبات التجارية الفاسدة

إن اسباب فساد الاغذية المعلبة باستخدام الحرارة يكون اما عن طريق نمو المايكروبات التي لم يقض عليها اثناء المعاملات الحرارية او يكون نتيجة وجود عيب دخلت خلاله المايكروبات بعد عملية المعاملة الحرارية .

- فحص الاغذية المعلبة ذات الحموضة القليلة والمتوسطة بواسطة الفحص عن :

نمو المايكروبات المحبة للحرارة العالية

نمو البكتريا المحبة للحرارة الاعتيادية

أولا - الفحص عن مجموعة البكتريا المحبة للحرارة العالية وفيها يتم الفحص عن ثلاث مجاميع بكتيرية هي :

1/الفحص عن بكتريا flat sour

2/الفحص عن البكتريا اللاهوائية المحبة للحرارة العالية والتي لاتنتج غاز كبريتيد الهيدروجين

3/ بكتريا الفساد الكبريتي

1/ الفحص عن بكتريا flat sour

تلقح علبة تحتوي على الذرة او البزاليا بالبكتريا من نوع Thermophilesوالتي تسمى Bacillus stearothermophilusثم تغلق بواسطة اللحيم solderوتحضن مع علبة اخرى بدون تلقيح للسيطرة على درجة حرارة ٥٥ م لمدة ٢-٥ ايام ثم تفتح العلبتان وتجرى عليها الفحوصات التالية :

1/ مجهرياً عن ايجابية أو سلبية تصبيغ البكتريا في العلبة الملحقة بعد تحضير الشريحة الزجاجية لهذا الغرض ومقارنة ذلك

2/يفحص عن pHالغذاء في العلبتين لغرض المقارنة مع علبة السيطرة

3/ زرع عينة من الغذاء المعلب بالأطباق للفحص عن بكتريا

وذلك بواسطة نقل 1مل من سائل الغذاء بواسطة الماصة المعقمة سعة 9مل الماء ثم تجري التخفيفات اللازمة (4 تخافيف)ثم ينقل 1 مل من التخفيفين الأخيرين الى اطباق بتري ثم يضاف الوسط الغذائي الاكار المغذي الحاوي على دليل bromcresol purple agar تحضن الاطباق على درجة حرارة ٥٥ م لمدة ٢ - ٥ ايام ثم يفحص عن مستعمرات بكتريا flat sour

2/ الفحص عن البكتريا اللاهوائية المحبة للحرارة العالية والتي لا تنتج غاز كبريتيد الهايدروجين)
Thermophiles anaerobes not producing H_2S

تلقح علبة تحتوي على الذرة او القرع بمقدار ٥ مل " من مزرعة البكتريا Clostridium thermosaccharolyticum وتسد باللحيم Solder تحضن علبة اخرى غير ملقحة بالبكتريا للسيطرة والمقارنة على درجة حرارة ٥٥ م لمدة ٢ ايام . تغلف العلب بالقماش قبل حضنها حماية لانفجارها ثم تفحص العلب دورياً وترفع العلب المنتفخة من الحاضنات قبل انفجارها

يفحص الغذاء عن وجود البكتريا مجهرياً . ثم يلقح انابيب اختبار تحتوي الوسط الزرعي Thioglycolate medium بالغذاء في العلب قيد الدراسة تم يضاف طبقة من ٣% اكار فوق الوسط الزرعي ثم تحضن انبوبة على درجة حرارة ٣٧م واخرى على درجة حرارة ٥٥ م لمدة ٢ - ٥ ايام ثم لاحظ التغيرات التي تطرا في الانابيب

3/بكتريا الفساد الكبريتي sulfite spollage bacteria

والتي تسمى Clostridium nigrificansوذلك بواسطة نقل مقدار 1 مل من محلول الغذاء في العلبة بواسطة ماصة معقمة الى 9 مل ثم تجري التخافيف اللازمة ثم ينقل 1 مل من اخر تخفيفين الى انبوبة تحتوي الوسط الزرعي sulfite agarودرجة حرارة الوسط ٤٠ م . ثم ينقل 1 مل من محتوى هذه الانبوبة بعد خلطها الى انبوبة ثانية تحوي نفس الوسط الزرعي وهكذا لغاية ٥ انابيب . يضاف ٣٪ آكار على سطح الانابيب ثم تحضن الانابيب على درجة حرارة ٥٥ م لمدة ٢ - ٥ ايام

ثم يفحص عن المستعمرات السوداء

ب- الفحص عن البكتريا المحبة للحرارة الاعتيادية التي قد تسبب فساد المعلبات بواسطة الفحص عن :

1- البكتريا اللاهوائية المحللة للبروتين

2- الأغذية الملعبة الحامضية

1/البكتريا اللاهوائية المحللة للبروتين

يفحص غذاء معلب فاسد بهذه البكتريا ويلاحظ مظهر العلبة من الخارج والداخل ومظهر ولون ورائحة الغذاء. تحضر وتصبغ شريحة زجاجية من الفاسد وتفحص مجهرياً . تلقح انابيب اختبار تحتوي على الوسط الزرعي Thioglycolate medium من الغذاء الفاسد ثم يوضع ٣% آكار على سطح الوسط ثم تحضن الانابيب على درجة حرارة ٣٧ م وتحضن مجموعة مشابهة اخرى على درجة حرارة ٥٥م لمدة ٢ - ٥ ايام ثم لاحظ النموات والتغيرات التي تحدث في الانابيب

ثم يفحص عن الفساد الذي يحدث نتيجة وجود نضوح Leakage في العلب تفحص العلب المنتفخة ظاهرياً عن طبيعة الانتفاخ ثم تفتح وتحضر شرائح زجاجية وتصبغ بصبغة كرام ثم تفحص مجهرياً عن نوع البكتريا التي قد تتواجد في مثل هذه المعلبات

2/ فحص الأغذية المعلبة الحامضية

تفسد الاغذية الحامضية المعلبة بطريقتين الاولى تكون بواسطة التفاعلات الكيمياوية التى قد تحدث بين مكونات الاغذية والعلبة وينتج عنها غازات الهايدروجين او ثاني اوكسيد الكاربون تفحص المعلبات التى تحتوى على المخللات ، والكرز ايضا او الطماطا او معلبات الليمونيات يجمع الغاز في داخل العلبة ويفحص عما اذا كان ثاني أوكسيد الكاربون او الهايدروجين

الطريقة الثانية التي يمكن ان تفسد بواسطتها الأغذية الحامضية المعلبة فتكون نتيجة نمو البكتريا flat sour بذلك يفحص عن بكتريا Bacillus coagulance وكما جاء في الفحص عن البكتريا المحبة للحرارة العالية أعلاه

الدرس العملي الثاني عشر

دراسة الاحياء المجهرية في الأغذية المجمدة

تستخدم عملية التجميد للاغذية لغرض ايقاف النشاط المايكروبي وابطاء النشاط الانزيمي وبالتالي يمكن اطالة فترة خزن الاغذية الجامدة لفترة طويلة وهذه الفترة تعتمد على عوامل متعددة في التجميد تهلك نسب متفاوتة من المايكروبية على الاغذية وان شدة هلاك ومقاومة المايكروبات للتجميد تعتمد هي الاخرى على عوامل متعددة.

يعتبر العد المايكروبي الكلي مقياساً لنظافة الاغذية المجمدة ولا يسمح لوجود البكتريا المرضية ويسمح لوجود اعداد محدودة من بكتريا القولون

طريقة العمل

تفتح الأغذية المجمدة بطريقة معقمة ثم يؤخذ نموذج من كل واحدة اذا كانت فواكه او خضر وتؤخذ عينات مماثلة للأغذية الاخرى وتمزج جيدا ثم تترك حق تذوب Thaw او يوزن منها العينة المطلوبة قبل ذوبانها ان امكن .

الفواكه والخضر وغيرها :

يوزن مقدار ٥غم من الغذاء المجمد قيد الدرس ويخلط مع ٤٥ مل ماء مقطر معقم بالخلاط الميكانيكي لمدة دقيقتين. ثم تترك لمدة دقيقتين.. تحرك ثم ينقل مقدار ١ مل من الخليط الى 9مل ماء معقم فقط وتجري التخفيفات الملائمة ثم يتم دراسة ما يلي :

أ - تقدير العد البكتيري الكلي

Total count

ينقل مقدار ١ مل من تخفيفات الغذاء الملائمة في اطباق بتري ثم يصب اليها الوسط الزرعي وبعد التصلب تحضن الاطباق مقلوبة على درجة حرارة ٣٠ - ٣٢ م لمدة 3-4 ايام وتعد المستعمرات (معدل لطبقتين) ثم تحسب النتائج على اساس العدد البكتيري لكل غم غذاء

ب - تقدير عدد الاعفان والخمائر : ينقل مقدار 1 مل من تخفيفات خليط الغذاء والماء الى اطباق بتري ويضاف الوسط الزرعي potato doxtrose agar المحمض بحامض التارتاريك بنسبة 5% وتحضن الاطباق على درجة حرارة ٢٢ م لمدة ٣ - ٥ ايام وتحسب النتائج لعدد الاعفان والخمائر في 1 غم غذاء

المختبر العملي الثالث عشر
الفحص الميكروبي للبيض

ان دراسة الصورة المايكروبية لقشرة البيض ومحتوى البيضة الداخلي ذو أهمية كبيرة من الناحيتين الصحية والصناعية عندما توضع البيوض تكون قشرتها مكسوة بطبقة شمعية تحميها من الهجوم المايكروبي الخارجي . والقشرة تكون ملونة من الخارج بفضلات جهاز الطيور الهضمي اثناء مرورها في مخرجها وغالبا تكون محتويات البيضة من الداخل خالية من المايكروبات . ولكن ما تلبث الطبقة الشمعية الواقية أن تتشقق وتدخل البكتريا من تلك الشقوق أو تدخل عن طريق الفتحات الطبيعية التي بعضها يسمح لدخول البكتريا وبالتالي تنفذ الى بياض البيض الذي يحتوي على مواد مضادة للبكتريا تعرقل نفاذها واخيرا قد تصل الى صفار البيض ثم تفسد .

اختبار سلامة البيضة من المايكروبات

طريقة العمل :

يغسل سطح البيضة بالماء المعقم الدافيء والصابون بمساعدة الفرشاة المعقمة . تغطس البيضة بمحلول ٧٠٪% كحول اثيلي لمدة ١٠ دقائق . بعد ازالة الكحول من على سطح البيضة تعرض الى لهب المصابيح ثم يفتح القشر من جانب البيضة المدبب بمساحة ١/٤ بوصة ثم تعرض الفتحة الى اللهب بواسطة ماصة معقمة ينقل مقدار ١مل من كل من بياض وصفار البيضة الى انبوبتي اختبار تحوي على الوسط الزرعي Nutrient broth

تحضن الانابيب على درجة حرارة 25-30 لمدة 2-5 أيام ثم تفحص ظاهريا وتسجل النتائج عن وجود او عدم وجود نمو في تلك الانابيب

تقدير العدد المايكروبي في البيض :

يحضر عدد من البيوض كما هو الحال سابقا وتفرغ محتويات البيضة أو البيض في قدح زجاجي معقم وذلك بعد فتح ثقب في نهاية البيضة الواسعة وبطريقة معقمة وبهدوء تفرغ محتويات البيضة جميعها . ثم تمزج جيداً بملعقة او شوكة معقمة . ينقل مقدار ١ غم من خليط محتويات البيضة الى ٩ مل ثم تجرى لها التخافيف المعتادة ويؤخذ من اخر تخفيف 1مل وينقل الى طبق بتري ويضاف له وسط الاكار المغذي وتحضن بدرجة 30 م لمدة 3 أيام ويحسب عدد البكتريا الكلي بتطبيق المعادلة الخاصة به

- الاعفان والخمائر :

ينقل مقدار ١ مل من تخفيف البيض المعين الى طبق بتري ويضاف له الوسط الزرعي potato dextrose agar بعد تعديل (pH) فيه الى ٣,٥ بواسطة اضافة حامض التارتاريك المعقم. تحضن الاطباق على درجة حرارة ٢٥ م لمدة 3 أيام .

تحسب مستعمرات الامان والخمائر وتسجل النتائج بالغرام الواحد .

الفحص عن البكتريا سالمونيللا الاحتمالي :

Salmonella Presumptive Test

تحوي قشرة البيوض على البكتريا سالمونيللا بنسب قد تصل الى ٣٠٪ او أكثر . وقد تدخل هذه البكتريا محتويات البيضة وتنمو وتتكاثر هناك . وان مصدر هذه البكتريا هو اصابة الطيور بهذه البكتريا . يفحص عن وجود البكتريا الاحتمالي بواسطة غسل قشرة البيضة بواسطة الوسط الزرعي السائل مرق اللاكتوز المعقم او بواسطة تغطيس البيضة بهذا الوسط. ثم يتم حضن الوسط تحت درجة حرارة لمدة ٢٤ ساعة . بعدئذ ينقل حملة لوب من هذا الوسط الى الوسط الزرعي المتصلب Brilliant green agar في اطباق بتري ويزرع بطريقة التخطيط Streak . يتم حضن الاطباق تحت درجة حرارة ٣٥ م لمدة ٢٤ ساعة وعند ظهور المستعمرات الحمراء البراقة دلالة على احتمال تواجد البكتريا المرضية Salmonella

الدرس العملي الرابع عشر

تنتشر صناعة المشروبات الغازية في العالم بشكل متزايد ففي قطرنا يوجد عدة منشئات لهذه الصناعة في كلا القطاعين العام والخاص

يجب أن تخضع المشروبات الى نفس المقاييس الميكروبية التي تخضع لها مياه الشرب بالإضافة الى عدم تواجد الميكروبات التي قد تكون محتملة لتسبب فسادها . وبالرغم من عدم اعتبار المشروبات الغازية مصدراً للميكروبات المرضية ولكنها تتعرض ذاتها لمشاكل ميكروبية تسبب فسادها بالرغم من تعرضها الى أساليب تعقيم كافية للقضاء على الميكروبات التي يحتمل ان تسبب هذا الفساد . إن دراسة المشروبات الغازية ومكوناتها الاساسية وخط تصنيعها يعتبر أساساً للحفاظ على نوعية تلك المشروبات والسيطرة على نظافة المعمل ومرافقه

طريقة العمل

تؤخذ علب المشروبات الغازية من خط الصناعة ، او من الباعة وتفتح القناني او العلب بطريقة معقمة ثم تعرض الفتحة الى لهب . واذا كان المشروب الغازي في علبة فيجب غسلها جيداً ويعقم الجانب المراد فتحه مسحاً بالكحول ثم يعرض على اللهب ثم يفتح بواسطة مفتاح علب معقم .

ينقل بواسطة الماصة 1 مل من العينة ويعمل لها تخافيف كما تعلمنا ثم ينقل من اخر تخفيفين 1 مل الى اطباق بتري, ثم يصب في طبقين لكل تخفيف من الوسط الزرعي المغذي (NA)لغرض العدد البكتيري الكلي ويصب في الطبقين الآخرين الوسط الزرعي البطاطا الدكستروز اكار المحمض PDAاو الوسط الزرعي مولت اكار لغرض تقدير الاعفان والخمائر.

تحضن اطباق الوسط الزرعي الاول NAعلى درجة حرارة35م لمدة ثلاث ايام وتحضن الاطباق التي تحوي الوسط الزرعي PDA)بدرجة حرارة 25 م لمدة ٥ حسب عدد المستعمرات في كل تخفيف ويقدر العدد الكلي البكتيري Mesophilesوعدد الاعفان والخمائر في 1مل من كل مشروب غازي

الدرس الخامس عشر والأخير

مراجعة شاملة نظرية وعملية لمنهج احياء الأغذية العملي

انوي لكم الموفقية والنجاح والتمييز
م.م ايناس منير العبيدي