الأحياء الدقيقة للأغذية

أ . د . فوزية عبد الرازق عبد الرحمن د . سليمان طاهر بوسلوم

منشورات جامعة عمر المختار 2022

الأحياء الدقيقة للأغذية

Food Microbiology

إعداد

أ. د. فوزية عبد الرازق عبد الرحمن

د. سليمان طاهر بوسلوم

منشورات جامعة عمر المختار 2022

اسم الكتاب: **الأحياء الدقيقة للأغذية**.

اسم المؤلف: **أ. د. فوزية عبد الرازق عبد الرحمن، د. سليمان طاهر بوسلوم**

رقم الإيداع: 2020/424.

دار الكتب الوطنية بنغازي – ليبيا

© 2022 المؤلفون

هذا كتاب يخضع لسياسة الوصول المفتوح (المجاني) ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي (CC BY-NC-ND 4.0)، والذي يسمح بالنسخ وإعادة التوزيع للأغراض غير التجارية دون أي اشتقاق، بشرط الاستشهاد بالمؤلف وبجامعة عمر المختار كناشر الاصلي.

منشورات

جامعة عمر المختار

البيضاء

الترقيم الدولي

رقم المجموعة: ردمك 2 - 112 - 79 - 9959 - 978 ISBN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَانظُرْ إِلَىٰ طَعَامِكَ وَشَرَابِكَ لَمْ يَتَسَنَّهْ ۖ

سورة البقرة (259)

المحتويات

الموضوع	الصفحة
مقدمة	1
الفصل الأول :تقسيم الأحياء الدقيقة	
1.1 مقدمة.....	9
2.1 الأسس المتبعة في تصنيف الأحياء المجهرية.....	10
3.1 تسمية الأحياء الدقيقة Nomenclature.....	19
4.1 الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية	21
الفصل الثاني: البكتيريا Bacteria	
1.2 مقدمة	25
2.2 تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا Structure Cell Wall	28
3.2 أجناس البكتيريا الهامة في مجال الأغذية	32
4.2 مجموعات البكتيريا الهامة في الأغذية	57
الفصل الثالث: الفطريات Fungi	
1.3 مقدمة	69
2.3 الأعفان	70
3.3 الخمائر Yeasts	85
الفصل الرابع: مصادر تلوث الأغذية	
1.4 مقدمة	99
2.4 الأحياء الدقيقة السائدة في المصادر المختلفة	100
الفصل الخامس: العوامل المؤثرة على نشاط الأحياء الدقيقة في الأغذية	
1.5 العوامل الداخلية Intrinsic Factors	125
2.5 العوامل الخارجية Extrinsic Factors	148

الموضوع	الصفحة

الفصل السادس: خصائص النمو الميكروبي

1.6 النمو الميكروبي Microbial Reproduction Or Growth 163

2.6 طبيعة النمو الميكروبي في الأغذية 169

الفصل السابع: التجرثم في الكائنات الدقيقة Microbial Sporulation

1.7 التجرثم في البكتيريا 179

2.7 أهمية الجراثيم في الأغذية 188

الفصل الثامن: العوامل المهمة في الفساد الميكروبي للأغذية

1.8 الفساد الميكروبي في الأغذية 193

2.8 العوامل المهمة في الفساد الميكروبي للأغذية..... 194

3.8 أهمية الأحياء الدقيقة في فساد الأغذية..... 196

4.8 الأحياء الدقيقة السائدة Predominant Microorganisms 199

5.8 أنواع البكتيريا المسببة لفساد الأغذية..... 201

6.8 دور الأغذية 205

الفصل التاسع: الفساد الميكروبي للحوم ومنتجاتها

1.9 اللحوم الطازجة 217

2.9 منتجات اللحوم المصنعة 229

3.9 التحكم في فساد اللحوم 330

الفصل العاشر: الأحياء الدقيقة للحوم الدواجن والبيض

1.10 الأحياء الدقيقة في لحم الدواجن 235

2.10 الفساد الميكروبي للبيض ومنتجاته 236

الفصل الحادي عشر: الفساد الميكروبي للأسماك والقشريات والرخويات

1.11 الأسماك Fish 245

الموضوع	الصفحة
2.11 القشريات	255
3.11 الرخويات Mollusks	255
الفصل الثاني عشر: الفساد الميكروبي للحليب ومنتجاته Dairy Microbiology	
1.12 الحليب الخام Raw Milk	259
2.12 الحليب المبستر Pasteurized Milk	266
3.12 الحليب المعامل بالحرارية الفائقة	267
4.12 منتجات الحليب المركز Concentrated Liquid Products	268
5.12 الأجبان	270
6.12 الزبدة Butter	271
7.12 منتجات الألبان المتخمرة Fermented Milks	274
الفصل الثالث عشر: الأحياء الدقيقة للخضروات والفواكه	
1.13 الخضروات	277
2.13 الفواكه	281
3.13 الخضروات والفواكه الجاهزة للأكل Ready – To- Use Produce	283
4.13 فساد الفواكه والخضر المجففة	284
5.13 فساد الفواكه والخضر المجمدة	285
6.13 الفواكه والخضر المخللة	285
7.13 فساد المخللات	286
8.13 الخضروات والفواكه المعلبة	288
9.13 الفساد الميكروبي لعصائر ومركزات الفواكه وعصائر الخضروات والمشروبات المحلاة	288
10.13 المربيات والعسل والدبس	292
11.13 العسل	293

الموضوع	الصفحة
12.13 التوابل والبهارات	294
13.13 الفساد الميكروبي للمايونيز وصلصات السلطة	295
الفصل الرابع عشر: الفساد الميكروبي في الحبوب ومنتجاتها	
1.14 مقدمة	301
2.14 فساد الحبوب والدقيق	302
3.14 فساد الخبز	303
4.14 العجائن المبردة	307
الفصل الخامس عشر: الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة	
1.15 مقدمة	311
2.15 الفساد الكيميائي	312
3.15 الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة	315
الفصل السادس عشر: فساد الأغذية بالإنزيمات الميكروبية	
1.16 دور الإنزيمات في إفساد الأغذية	325
2.16 البكتيريا المقاومة للبرودة في الحليب Psychrotrophic Bacteria	327
3.16 فساد الأغذية بالإنزيمات الثابتة حراريا	334
4.16 خفض تأثير الإنزيمات الثابتة حرارياً	337
5.16 التحكم في البكتيريا المقاومة للبرودة وإنزيماتها	338
الفصل السابع عشر: التسمم الغذائي	
1.17 مقدمة	343
2.17 الأمراض الميكروبية المنتقلة عن طريق الأغذية	344
3.17 العوامل البشرية المؤثرة في ظهور أعراض الأمراض المنقولة بالغذاء	348
4.17 التسمم الغذائي الميكروبي Foodborne Intoxication	351

الموضوع	الصفحة
5.17 المرضات الانتهازية Opportunistic Pathogens	368
6.17 التسمم الفطري Mycotoxicosis	375
الفصل الثامن عشر: العدوى الغذائية	
1.18 خصائص العدوى الغذائية Foodborne Infections	385
2.18 العدوى بالسالمونيلا Salmonellosis	386
3.18 عدوي بكتيريا Shigella: (الزحار) Shigellosis	394
4.18 بكتريا القولون المرضية Pathogenic Escherichia Coli	397
5.18 عدوي الليستيريا Listeriosis	405
6.18 عدوي الكمبايلوباكتر Campylobaceriosis	411
7.18 عدوي اليرسينيا Yersinia Enterocolitica	415
8.18 الالتهاب المعوي بعدوى بكتيريا الفيبريو Vibrio	417
9.18 أمراض عدوى أخرى منقولة عن طريق الغذاء	421
الفصل التاسع عشر: بكتيريا التسمم والعدوى الغذائية Foodborne Toxic infections	
1.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا Clostridium Perfringens	428
2.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا Bacillus Cereus: (Emetic And Enteric)	432
3.19 الكوليرا Cholera	435
4.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا E. Coli	439
الفصل العشرون: الفيروسات	
1.20 مقدمة	447
2.20 الأمراض الفيروسية المنتقلة عن طريق الأغذية	448
3.20 خصائص الفيروسات التي تنتقل عن طريق الأغذية	450
4.20 مصادر تلوث الأغذية بالفيروسات	451

الموضوع	الصفحة
5.20 فيروسات التهاب الكبد Hepatovirus	451
6.20 الفيروسات المعوية Viral Gastroenteritis	455
7.20 فيروسات الروتا Rotaviruses	458
8.20 فيرس شلل الأطفال Poliovirus	459
9.20 التحكم في العدوى بالفيروسات المنتقلة عن طريق الأغذية والمياه	460
الفصل الواحد والعشرون: السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية	
1.21 مقدمة	465
2.21 التحكم عن طريق منع وصول الميكروبات للأغذية (التنظيف والتطهير الصحي)	466
3.21 التحكم في الميكروبات بالاستبعاد Control By Physical Removal	478
الفصل الثاني والعشرون: السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية باستخدام الحرارة	
1.22 استخدام درجات الحرارة المنخفضة (دون 100م^{O})	485
2.22 استخدام درجات حرارة مرتفعة High-Heat-Processed Foods	487
3.22 تأثير الحرارة و الزمن على هلاك البكتيريا	488
4.22 حساسية الأحياء الدقيقة للحرارة Heat Sensitivity Of Microorganisms	495
5.22 تأثير الحرارة على الأحياء الدقيقة	503
الفصل الثالث والعشرون: السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية باستخدام درجات الحرارة المنخفضة	
1.23 مقدمة	507
2.23 تأثير عملية التبريد والتجميد على الأحياء الدقيقة	508
3.23 حساسية الأحياء الدقيقة لتأثير درجات الحرارة المنخفضة	509
4.23 تبريد الأغذية	516
5.23 تجميد الأغذية Freezing	517

الموضوع الصفحة

الفصل الرابع والعشرون: التحكم في نمو الأحياء الدقيقة بواسطة تعديل جو التعبئة والتغليف

1.24 التغليف في جو متحكم به Controlled Atmosphere Packaging (Cap) 523
2.24 تأثير التعبئة في جو معدل على الأحياء الدقيقة 526
3.24 العوامل المؤثرة على تعبئة الأغذية في جو معدل 528

الفصل الخامس والعشرون: السيطرة على نمو و نشاط الأحياء الدقيقة بالتحكم في نشاط الماء

1.25 التجفيف والتجفيد 535
2.25 إزالة الماء بالتمليح والتسكير 536
3.25 تأثير خفض النشاط المائي على الأحياء الدقيقة..... 537
4.25 العوامل المؤثرة على فعالية الانخفاض في النشاط المائي على نمو الأحياء الدقيقة 539

الفصل السادس والعشرون: السيطرة على نشاط الأحياء الدقيقة بالمواد الحافظة الكيميائية

1.26 مقدمة 547
2.26 الشروط الواجب توافرها في المواد الحافظة المضادة للأحياء الدقيقة 548
3.26 العوامل المؤثرة على فعالية المواد الحافظة المضادة للأحياء الدقيقة 549
4.26 تأثير المواد الحافظة على الأحياء الدقيقة 550
5.26 المواد الحافظة المستخدمة في الأغذية 550
6.26 وسائل أخرى للسيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية 559

الفصل السابع والعشرون: استجابة الكائنات الدقيقة للإجهاد في الأوساط الغذائية

1.27 مقدمة 569
2.27 التأقلم مع الإجهاد Stress Adaptation 570
3.27 الضرر والإجهاد ما دون الموت Sublethal Stress And Injury 575
4.27 الخلايا الحية غير القابلة للنمو: Viable But Not Culturable (Vbnc) 584

الموضوع الصفحة

الفصل الثامن والعشرون: الطبقة الحيوية Biofilm

1.28 مقدمة 591
2.28 ميكانيكية تكون الطبقة الحيوية 592
3.28 مشاكل الطبقة الحيوية في مجال الأغذية 601
4.28 طرق التحكم في الطبقة الحيوية 602

الفصل التاسع والعشرون: المياه المعبأة Bottled Waters

1.29 المقدمة 609
2.29 أنواع المياه المعبأة 610
3.29 الأحياء الدقيقة في مصادر المياه 616
4.29 التلوث الميكروبي في مصادر المياه 622
5.29 التلوث الميكروبي للمياه المعبأة 625

الفصل الثلاثون: الأحياء الدقيقة الدلائل في الأغذية

1.30 مقدمة 629
2.30 دلائل الجودة الميكروبية للأغذية 630
3.30 دلائل سلامة الأغذية 631
4.30 دلائل ميكروبية أخرى 639
المراجع 641
مسرد الكلمات والمصطلحات الأجنبية 651

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَانظُرْ إِلَىٰ طَعَامِكَ وَشَرَابِكَ لَمْ يَتَسَنَّهْ ۖ

سورة البقرة (259)

المحتويات

الموضوع	الصفحة
مقدمة	1
الفصل الأول :تقسيم الأحياء الدقيقة	
1.1 مقدمة.....	9
2.1 الأسس المتبعة في تصنيف الأحياء المجهرية.....	10
3.1 تسمية الأحياء الدقيقة Nomenclature.....	19
4.1 الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية	21
الفصل الثاني: البكتيريا Bacteria	
1.2 مقدمة	25
2.2 تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا Structure Cell Wall	28
3.2 أجناس البكتيريا الهامة في مجال الأغذية	32
4.2 مجموعات البكتيريا الهامة في الأغذية	57
الفصل الثالث: الفطريات Fungi	
1.3 مقدمة	69
2.3 الأعفان	70
3.3 الخمائر Yeasts	85
الفصل الرابع: مصادر تلوث الأغذية	
1.4 مقدمة	99
2.4 الأحياء الدقيقة السائدة في المصادر المختلفة	100
الفصل الخامس: العوامل المؤثرة على نشاط الأحياء الدقيقة في الأغذية	
1.5 العوامل الداخلية Intrinsic Factors	125
2.5 العوامل الخارجية Extrinsic Factors	148

الموضوع	الصفحة

الفصل السادس: خصائص النمو الميكروبي

1.6 النمو الميكروبي Microbial Reproduction Or Growth 163

2.6 طبيعة النمو الميكروبي في الأغذية 169

الفصل السابع: التجرثم في الكائنات الدقيقة Microbial Sporulation

1.7 التجرثم في البكتيريا 179

2.7 أهمية الجراثيم في الأغذية 188

الفصل الثامن: العوامل المهمة في الفساد الميكروبي للأغذية

1.8 الفساد الميكروبي في الأغذية 193

2.8 العوامل المهمة في الفساد الميكروبي للأغذية..... 194

3.8 أهمية الأحياء الدقيقة في فساد الأغذية..... 196

4.8 الأحياء الدقيقة السائدة Predominant Microorganisms 199

5.8 أنواع البكتيريا المسببة لفساد الأغذية..... 201

6.8 دور الأغذية 205

الفصل التاسع: الفساد الميكروبي للحوم ومنتجاتها

1.9 اللحوم الطازجة 217

2.9 منتجات اللحوم المصنعة 229

3.9 التحكم في فساد اللحوم 330

الفصل العاشر: الأحياء الدقيقة للحوم الدواجن والبيض

1.10 الأحياء الدقيقة في لحم الدواجن 235

2.10 الفساد الميكروبي للبيض ومنتجاته 236

الفصل الحادي عشر: الفساد الميكروبي للأسماك والقشريات والرخويات

1.11 الأسماك Fish 245

الموضوع	الصفحة
2.11 القشريات	255
3.11 الرخويات Mollusks	255
الفصل الثاني عشر: الفساد الميكروبي للحليب ومنتجاته Dairy Microbiology	
1.12 الحليب الخام Raw Milk	259
2.12 الحليب المبستر Pasteurized Milk	266
3.12 الحليب المعامل بالحرارية الفائقة	267
4.12 منتجات الحليب المركز Concentrated Liquid Products	268
5.12 الأجبان	270
6.12 الزبدة Butter	271
7.12 منتجات الألبان المتخمرة Fermented Milks	274
الفصل الثالث عشر: الأحياء الدقيقة للخضروات والفواكه	
1.13 الخضروات	277
2.13 الفواكه	281
3.13 الخضروات والفواكه الجاهزة للأكل Ready – To- Use Produce	283
4.13 فساد الفواكه والخضر المجففة	284
5.13 فساد الفواكه والخضر المجمدة	285
6.13 الفواكه والخضر المخللة	285
7.13 فساد المخللات	286
8.13 الخضروات والفواكه المعلبة	288
9.13 الفساد الميكروبي لعصائر ومركزات الفواكه وعصائر الخضروات والمشروبات المحلاة	288
10.13 المربيات والعسل والدبس	292
11.13 العسل	293

الموضوع	الصفحة
12.13 التوابل والبهارات	294
13.13 الفساد الميكروبي للمايونيز وصلصات السلطة	295
الفصل الرابع عشر: الفساد الميكروبي في الحبوب ومنتجاتها	
1.14 مقدمة	301
2.14 فساد الحبوب والدقيق	302
3.14 فساد الخبز	303
4.14 العجائن المبردة	307
الفصل الخامس عشر: الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة	
1.15 مقدمة	311
2.15 الفساد الكيميائي	312
3.15 الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة	315
الفصل السادس عشر: فساد الأغذية بالإنزيمات الميكروبية	
1.16 دور الإنزيمات في إفساد الأغذية	325
2.16 البكتيريا المقاومة للبرودة في الحليب Psychrotrophic Bacteria	327
3.16 فساد الأغذية بالإنزيمات الثابتة حراريا	334
4.16 خفض تأثير الإنزيمات الثابتة حرارياً	337
5.16 التحكم في البكتيريا المقاومة للبرودة وإنزيماتها	338
الفصل السابع عشر: التسمم الغذائي	
1.17 مقدمة	343
2.17 الأمراض الميكروبية المنتقلة عن طريق الأغذية	344
3.17 العوامل البشرية المؤثرة في ظهور أعراض الأمراض المنقولة بالغذاء	348
4.17 التسمم الغذائي الميكروبي Foodborne Intoxication	351

الموضوع	الصفحة
5.17 المرضات الانتهازية Opportunistic Pathogens	368
6.17 التسمم الفطري Mycotoxicosis	375
الفصل الثامن عشر: العدوى الغذائية	
1.18 خصائص العدوى الغذائية Foodborne Infections	385
2.18 العدوى بالسالمونيلا Salmonellosis	386
3.18 عدوي بكتيريا Shigella: (الزحار) Shigellosis	394
4.18 بكتريا القولون المرضية Pathogenic Escherichia Coli	397
5.18 عدوي الليستيريا Listeriosis	405
6.18 عدوي الكمبايلوباكتر Campylobaceriosis	411
7.18 عدوي اليرسينيا Yersinia Enterocolitica	415
8.18 الالتهاب المعوي بعدوى بكتيريا الفيبريو Vibrio	417
9.18 أمراض عدوى أخرى منقولة عن طريق الغذاء	421
الفصل التاسع عشر: بكتيريا التسمم والعدوى الغذائية Foodborne Toxic infections	
1.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا Clostridium Perfringens	428
2.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا Bacillus Cereus: (Emetic And Enteric)	432
3.19 الكوليرا Cholera	435
4.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا E. Coli	439
الفصل العشرون: الفيروسات	
1.20 مقدمة	447
2.20 الأمراض الفيروسية المنتقلة عن طريق الأغذية	448
3.20 خصائص الفيروسات التي تنتقل عن طريق الأغذية	450
4.20 مصادر تلوث الأغذية بالفيروسات	451

الموضوع	الصفحة
5.20 فيروسات التهاب الكبد Hepatovirus	451
6.20 الفيروسات المعوية Viral Gastroenteritis	455
7.20 فيروسات الروتا Rotaviruses	458
8.20 فيرس شلل الأطفال Poliovirus	459
9.20 التحكم في العدوى بالفيروسات المنتقلة عن طريق الأغذية والمياه	460
الفصل الواحد والعشرون: السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية	
1.21 مقدمة	465
2.21 التحكم عن طريق منع وصول الميكروبات للأغذية (التنظيف والتطهير الصحي)	466
3.21 التحكم في الميكروبات بالاستبعاد Control By Physical Removal	478
الفصل الثاني والعشرون: السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية باستخدام الحرارة	
1.22 استخدام درجات الحرارة المنخفضة (دون 100م^{O})	485
2.22 استخدام درجات حرارة مرتفعة High-Heat-Processed Foods	487
3.22 تأثير الحرارة و الزمن على هلاك البكتيريا	488
4.22 حساسية الأحياء الدقيقة للحرارة Heat Sensitivity Of Microorganisms	495
5.22 تأثير الحرارة على الأحياء الدقيقة	503
الفصل الثالث والعشرون: السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية باستخدام درجات الحرارة المنخفضة	
1.23 مقدمة	507
2.23 تأثير عملية التبريد والتجميد على الأحياء الدقيقة	508
3.23 حساسية الأحياء الدقيقة لتأثير درجات الحرارة المنخفضة	509
4.23 تبريد الأغذية	516
5.23 تجميد الأغذية Freezing	517

الموضوع الصفحة

الفصل الرابع والعشرون: التحكم في نمو الأحياء الدقيقة بواسطة تعديل جو التعبئة والتغليف

1.24 التغليف في جو متحكم به Controlled Atmosphere Packaging (Cap) 523

2.24 تأثير التعبئة في جو معدل على الأحياء الدقيقة 526

3.24 العوامل المؤثرة على تعبئة الأغذية في جو معدل 528

الفصل الخامس والعشرون: السيطرة على نمو و نشاط الأحياء الدقيقة بالتحكم في نشاط الماء

1.25 التجفيف والتجفيد 535

2.25 إزالة الماء بالتمليح والتسكير 536

3.25 تأثير خفض النشاط المائي على الأحياء الدقيقة..... 537

4.25 العوامل المؤثرة على فعالية الانخفاض في النشاط المائي على نمو الأحياء الدقيقة 539

الفصل السادس والعشرون: السيطرة على نشاط الأحياء الدقيقة بالمواد الحافظة الكيميائية

1.26 مقدمة 547

2.26 الشروط الواجب توافرها في المواد الحافظة المضادة للأحياء الدقيقة 548

3.26 العوامل المؤثرة على فعالية المواد الحافظة المضادة للأحياء الدقيقة 549

4.26 تأثير المواد الحافظة على الأحياء الدقيقة 550

5.26 المواد الحافظة المستخدمة في الأغذية 550

6.26 وسائل أخرى للسيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية 559

الفصل السابع والعشرون: استجابة الكائنات الدقيقة للإجهاد في الأوساط الغذائية

1.27 مقدمة 569

2.27 التأقلم مع الإجهاد Stress Adaptation 570

3.27 الضرر والإجهاد ما دون الموت Sublethal Stress And Injury 575

4.27 الخلايا الحية غير القابلة للنمو: Viable But Not Culturable (Vbnc) 584

الموضوع الصفحة

الفصل الثامن والعشرون: الطبقة الحيوية Biofilm

1.28 مقدمة 591

2.28 ميكانيكية تكون الطبقة الحيوية 592

3.28 مشاكل الطبقة الحيوية في مجال الأغذية 601

4.28 طرق التحكم في الطبقة الحيوية 602

الفصل التاسع والعشرون: المياه المعبأة Bottled Waters

1.29 المقدمة 609

2.29 أنواع المياه المعبأة 610

3.29 الأحياء الدقيقة في مصادر المياه 616

4.29 التلوث الميكروبي في مصادر المياه 622

5.29 التلوث الميكروبي للمياه المعبأة 625

الفصل الثلاثون: الأحياء الدقيقة الدلائل في الأغذية

1.30 مقدمة 629

2.30 دلائل الجودة الميكروبية للأغذية 630

3.30 دلائل سلامة الأغذية 631

4.30 دلائل ميكروبية أخرى 639

المراجع 641

مسرد الكلمات والمصطلحات الأجنبية 651

مقدمة الكتاب

ازداد الاهتمام بعلم الأحياء الدقيقة للأغذية Food Microbiology نظراً لارتباطه الوثيق بصحة وسلامة الإنسان كما يمكن للأحياء الدقيقة أن تسبب خسائر اقتصاديه كبيرة نابجة عن فساد الأغذية، وقد ازدادت مؤخراً في العالم حالات التسمم الغذائي والإصابة بالأمراض المنقولة عن طريق الأغذية الناتجة عن وجود الأحياء الدقيقة الممرضة أو سمومها في الأغذية.

إن التطور السريع في هذا المجال وتغير بعض المفاهيم ونتيجة توافر معلومات جديدة لاسيما فيما يتعلق بسلوك هذه الأحياء في الأغذية المختلفة جعل الحاجه ملحه لوضع كتاب متخصص في هذا العلم وباللغة العربية.

في هذا الكتاب تم تسليط الضوء على الأحياء الدقيقة وتصنيفها وأهمية الأحياء الدقيقة في الغذاء، والكائنات الدقيقة السائدة المرتبطة بالأغذية ومصادر هذه الكائنات في الأغذية أيضا تم التطرق إلى الفساد الميكروبي لأنواع الأغذية المختلفة بالإضافة إلى الكائنات الدقيقة الممرضة المنتقلة عن طريق الأغذية، تم أيضا عرض طرق التحكم في هذه الكائنات في الأغذية، وفي بعض الفصول تم تناول مواضيع حديثة ومؤثرة في الجودة الميكروبيولوجية للأغذية وسلامة الأغذية مثل أنزيمات الميكروبات في الأغذية وتأثير الإجهاد على سلوك الأحياء الدقيقة في الأنظمة الغذائية وتأثير الطبقة الحيوية Biofilm التي قد تتكون على الأغذية ومعدات الأغذية.

تم إعداد هذا الكتاب ليشمل ثلاثة وعشرين فصلاً لتكون دليلاً للطالب الجامعي سواءً كان منخرطاً في الدراسات الجامعية أو العليا، نتمنى أن يملأ هذا الكتاب جزءا من الفراغ في مجال الأحياء الدقيقة للأغذية ويضيف نواة لبناء المكتبة العلمية الليبية.

والله ولي التوفيق

المؤلفان

الأحياء الدقيقة للأغذية Food Microbiology

علم الأحياء الدقيقة هو علم دراسة الكائنات الدقيقة ذات الحجم الميكروسكوبي ويشمل هذا الحقل دراسة البكتيريا وبعض الطحالب والفطريات والبروتوزوا وكذلك العوامل التي لا تعتبر كائنات حية مثل الفيروسات.

ويختص علم الأحياء الدقيقة للأغذية بدراسة الكائنات المجهرية الضارة والنافعة ذات العلاقة بالأغذية من حيث الخصائص والتعريف والسلوك للحد من تلوث الأغذية بالأحياء الدقيقة الضارة أو السيطرة عليها وإبقاءها ضمن الحدود المقبولة في الأغذية كما يختص بزيادة الاستفادة من النافع منها عن طريق عزل هذه الكائنات وإكثارها واستخدامها.

ويعد الغذاء وسطاً جيداً وبيئة مناسبة لنمو وتكاثر الأحياء الدقيقة بالإضافة إلى أن الأغذية تمر بعدة مراحل أثناء الإنتاج مما يعرضها للتلوث بأحياء دقيقة عديدة ومتنوعة.

وعلاقة الكائنات الدقيقة بالغذاء ذات وجهين فمن ناحية تعتبر مسؤولة عن فساد المنتجات الغذائية مما يسبب خسائر اقتصادية كبيرة بسبب نمو هذه الكائنات في الغذاء والذي يؤدي إلى تكون روائح ونكهات غير مرغوبة، كما أن الأحياء الدقيقة الممرضة يمكن أن تنمو وتتكاثر في الغذاء وتسبب أمراضاً للإنسان ومن ناحية أخرى تعتبر بعض هذه الأحياء مفيدة في تصنيع منتجات غذائية مثل إنتاج الخبز والأجبان والألبان المتخمرة وصناعة والمخللات والدهون والبروتين وفي وبعض الفيتامينات والإنزيمات والأحماض وكذلك المضادات

الحيوية، كما أن بعضها يستخدم كغذاء في حد ذاته كما هو الحال بالنسبة لفطريات عش الغراب Mushrooms.

لمحة تاريخية عن تطور علم الأحياء الدقيقة

الكائنات الحية الدقيقة موجودة في كل مكان على الأرض وفي الغلاف الجوي فهي جزء من البيئة ولها علاقة وثيقة بالتربة والمياه والحيوانات والإنسان والنباتات والكائنات الحية الأخرى كما أنها يمكن أن تتكاثر في كل مكان أعدادها تفوق بكثير كل الخلايا الحية الأخرى على هذا الكوكب.

كانت الخلايا الحية هي الأولى التي سكنت الأرض قبل أكثر من 3 مليار سنة ومن ثم لعبت أدواراً هامة وكثير منها تعود بالفائدة على غيرها من النظم الحية.

ومن بين الكائنات الحية الدقيقة البكتيريا وبعض الأعفان والخمائر والفيروسات وهي تلعب أدوار مرغوبة وغير مرغوبة في غذائنا.

ومنذ القدم كان الصيادون وجامعو الثمار على علم بتلف المواد الغذائية والأمراض المنقولة عن طريق الأغذية حتى من دون أي تصور للعوامل المسببة واستخدموا الثلج والنار للحفاظ على الأطعمة وجعلها آمنة، ما بين 8000 و 1000 قبل الميلاد كان العديد من المواد الغذائية تحفظ بطرق مختلفة مثل التجفيف والطبخ والخبز والتدخين والتمليح والتحلية (مع العسل) والتخزين في درجات الحرارة المنخفضة (في الجليد)، والتخزين في جو لاهوائي

(في الحفر) والتخمير (مع الفواكه والحبوب والحليب) والتخليل والتتبيل للحد من فساد الأغذية، كان التخمير يستخدم على نطاق واسع من قبل العديد من الحضارات ليس فقط للحفاظ على الأطعمة ولكن أيضا كوسيلة لإنتاج أنواع مختلفة من الأطعمة المرغوبة من الحليب واللحوم والأسماك والبيض والحبوب والفواكه والخضار.

اكتشاف الكائنات الحية الدقيقة وعلاقتها بالأغذية

إن اكتشاف الأحياء الدقيقة سار بالتوازي مع اختراع وتحسين المجهر، ففي حوالي عام 1658 ذكر أثناسيوس كيرشر Athanasius Kircher أنه باستخدام المجهر رأى الديدان الحية الدقيقة في اللحوم المتعفنة وفي الحليب ووصف الميكروبات بأنها ديدان لا ترى وهي التي تسبب فساد الأغذية وبذلك يعتبر أول من أثبت دور الأحياء الدقيقة في فساد الأغذية.

في عام 1664 عام وصف روبرت هوك Robert Hooke تركيب الأعفان ومع ذلك فإن أنتوني فان ليوينهويك Antony van Leeuwenhoek ربما كان أول شخص رأى أنواع مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة وخاصة البكتيريا تحت المجهر الذي لم يكن لديه قوة تكبير عالية حيث لاحظ البكتيريا في اللعاب ومياه الأمطار، والخل وغيرها من المواد ورسم المجموعات الثلاث المورفولوجية (الكروية أو مكورات والعصوية والحلزونية) كما وصف بعض الأنواع المتحركة، وبين 1676 و1683 كتب ملاحظاته إلى منظمة علمية رائدة شكلت حديثاً وهي الجمعية الملكية في لندن حيث تم قراءة الملاحظات باهتمام، وفي المئة سنة التالية أكد العديد من والأفراد والعلماء ملاحظات ليوينهويك، وفي القرن التاسع عشر ونتيجة

للثورة الصناعية أصبحت المجاهر الجيدة متاحة الأمر الذي حفز العديد من العلماء لمراقبة ووصف المخلوقات تحت المجهر.

أقترح Ehrenberg عام 1838 (الذي أعطى المصطلح: بكتيريا) 16 نوعاً من البكتيريا ووضعها في أربعة أجناس، وفي سنة 1875 وضع فرديناند كون Ferdinand Cohn نظام التصنيف الأولي للبكتيريا، وكان كون أول من اكتشف أيضا أن بعض البكتيريا تنتج جراثيم، أما الفيروسات فإنها لوحظت في منتصف القرن التاسع عشر ولكن لم تُر إلا بعد اختراع المجهر الإلكتروني في الأربعينيات من ذات القرن.

ثيودور شوان (1837) وهيرمان هيلمهولتز (1843) اقترحاً أن التعفن والتخمر لها صلة بوجود الكائنات الحية المتواجدة في الهواء وفي عام 1860 استعمل باستور Pasteur الحرارة في وقف نشاط الأحياء الدقيقة غير المرغوب فيها في بعض الأغذية بطريقة البسترة Pasteurization المعروفة باسمه حتى الآن، أخيراً وفي عام 1875 أظهر باستور Pasteur أن تخمر العنب وإنتاج النبيذ سببه الكائنات الحية الدقيقة كما اثبت أيضا أن تلف اللحوم والحليب مرتبط بنمو الأحياء الدقيقة وفي وقت لاحق قال أنه تبين ارتباط الكائنات الدقيقة بالعديد من الأمراض في الإنسان والماشية والأغنام كما وضع أيضاً لقاحات ضد عدد من الأمراض التي تسببها الأحياء الدقيقة للإنسان والحيوان.

التطورات الرئيسية والأفكار المتعلقة بالأدوار المحتملة للكائنات الحية الدقيقة في الأغذية بدأها باستور في 1870 تليها العديد من العلماء الآخرين قبل نهاية القرن 19 وهذا مهد الطريق للإنشاء المبكر لعلم الأحياء الدقيقة للأغذية (Food Microbiology) في القرن العشرين.

الفصل الأول

تقسيم الأحياء الدقيقة

Taxonomy of microorganisms

1.1 مقدمة

علم تقسيم الأحياء Taxonomy يقوم على التشابه في التركيب الجيني وأصول التطور لترتيب الميكروبات إلى مجموعات وتحت مجموعات بينها علاقة تشابه مع بعضها، يعتبر تقسيم الكائنات الحية إلى مملكتين هما مملكة النبات ومملكة الحيوان تقسيما شائعا ومرضيا للكثير من العلماء العاملين بعلم الأحياء، ولكن وجد أن أغلب الأحياء الدقيقة لا يتوافق وضعها في أي من المملكتين ولذلك تم إنشاء مملكة جديدة تسمى مملكة البروتستا Kingdom Protista وتعني مملكة البدائيات وتضم الأحياء الدقيقة وحيدة الخلية، خلال القرن العشرين تم اختراع المجهر الإلكتروني الذي ساعد في دراسة التركيبات دون الخلوية Subcellular بالتفصيل وهذا أدى إلى فصل مملكة البروتستا إلى مملكتين: الأولى تضم الكائنات الأولية التي لا تحتوي على غشاء نووي مميز وتسمى مملكة البروكريوت Kingdom Prokaryotes وهي كلمة يونانية تعني بدائيات النواة كما تم إطلاق اسم مونيرا Kingdom Monera على هذه المملكة وهي كلمة تعني "الجديد"، أما المملكة الثانية فقد احتفظت باسم بروتستا وتضم الكائنات وحيدة الخلية التي لها نواة حقيقية Eucaryotes وهي كلمة يونانية الأصل ومشتقه من كلمتين هما -Eu وتعني حقيقي Karyon وتعني نواة.

أما الفطريات والخمائر فتتبع مملكة الفطريات التي تنتمي إلى حقيقيات النواة Eucaryotes، وحيث أن علم الأحياء الدقيقة هو عبارة عن دراسة الكائنات المجهرية والتي لا ترى بالعين المجردة فإن هذا العلم يشمل دراسة مملكة المنيرا ومملكة بروتستا كما يشمل

دراسة الفطريات التي تتبع مملكة الفطريات كما يشمل هذا العلم دراسة الفيروسات وهي كائنات متطفلة على الحيوانات والنبات والبكتيريا.

في سبعينيات القرن الماضي تم تقسيم مملكة بدائيات النواة Prokaryotes إلى بكتيريا حقيقية Eubacteria وهي التي تحتوي جدرها الخلوية على مادة الببتيدوجلايكان Peptidoglycan والارشيا Archaea وهي البكتيريا التي لا تحتوي جدرها على الببتيدوجلايكان، وفي التسعينيات تغير ذلك إلى Bacteria وArchaea والارشيا تضم بكتيريا غير هامة في مجال الأغذية.

ويتبع في تصنيف البكتيريا والفطريات والخمائر نظام هرمي يبدأ بالمملكة Kingdom ثم القسم Division يليه الصف Class ثم الرتبة Order يليها العائلة Family ثم الجنس Genus وأخيراً النوع Species، ويعتبر النوع هو المجموعة التصنيفية الأساسية والأنواع تحمل نفس خصائص الجنس التابعة له وعدة أجناس تكّون عائلة، وعادةً في تصنيف البكتيريا يستخدم النوع Species وهو يجمع السلالات التي لها نفس الخصائص.

2.1 الأسس المتبعة في تصنيف الأحياء المجهرية

وهناك عدة طرق لتحديد أنواع البكتيريا والفطريات والخمائر وتعتمد على العديد من الخصائص والصفات التي يحملها الكائن الحي المجهري والتي يتم الاستدلال على وجودها بتقنيات وأجهزة متخصصة ومهمة في تمييز الأحياء، وبشكل عام هناك العديد من الأسس التي يعتمد عليها في تصنيف الأحياء المجهرية منها:

1.2.1 علم المظهر Morphology

تمثل الصفات والخصائص الخارجية المظهرية ركيزة مهمة يُعتمد عليها في تصنيف الأحياء كما يُعتمد على صفة شكل الكائن وحجمه ووجود أو عدم وجود النواة وقدرته على التجرثم وشكلها وقدرته على الاصطباغ بالصبغات التمييزية كصبغة جرام Gran stain.

وهنا يعتمد على المجهر كوسيلة مهمة وأساسية لملاحظة هذه الصفات حيث أن فحص التراكيب الخلوية لكل كائن مجهري يمثل عامل مهم في عملية التصنيف فمثلا صفة وجود المحفظ Capsule لا تُلاحظ في جميع الأنواع البكتيرية ولذا يقال للبكتريا التي تملك محفظة بالبكتيريا الحاملة للمحفظة والتي لا تملكها هي غير محفظية , capsulated bacteria , non-capsulated bacteria كذلك وجود أو عدم وجود الأسواط وعددها ونوعها ومكانها وهل أن هذا الكائن متحرك أم لا وما هو نوع الحركة فيه، كل هذه الصفات تدرس وتصنف على أساسها الأحياء المجهرية، أما في الفطريات والخمائر فيعتبر الشكل المظهري وطريقة التكاثر والنمط الأيضي من أهم الأسس التي تُستخدم للتعرف على هذه الكائنات بالإضافة إلى بعض الخصائص الأخرى.

2.2.1 الخصائص المزرعية Cultural features

تُنمى الأحياء المجهرية وتزرع في أوساط غذائية طبيعية أو مصنعة متخصصة لهذه المجموعة أو تلك من الأحياء الدقيقة، تمثل هذه الأوساط مجموعة من المواد الغذائية الأساسية في تنمية الأحياء وتختلف هذه المغذيات باختلاف نوع الكائن وحاجته، عملية زرع الأحياء الدقيقة وتنميتها تستوجب وجود متطلبات أساسية للنمو الأمثل والذي يعطي أفضل حالة

نمو لهذا النوع من الأحياء ومن هذه المتطلبات درجة الحرارة المناسبة للنمو والأس الهيدروجيني الأمثل للنمو وضرورة وجود الأوكسجين أو عدم وجوده كذلك نوعية الأملاح التي يحتاجها الكائن وكميتها وغيرها من العوامل التي يكتشفها الباحث عند دراسته المختبرية للأحياء الدقيقة.

3.2.1 الخصائص الأيضية Metabolic features

وهي تمثل الخصائص الناتجة من نمو الكائنات المجهرية في أوساطها الغذائية الطبيعية أو الاصطناعية، تختلف الأحياء في نواتجها الأيضية باختلاف نوع الكائن ولذا اعتمدت هذه الصفة كصفة تصنيفية مهمة بين الأحياء المجهرية وبهذا نميز بين جنس وآخر أو بين نوع وآخر، وهناك الكثير من المواد التي تتكون أو تنتج في الوسط الزرعي نتيجة أيض هذه الأحياء أو تلك وتسمى بالنواتج الأيضية Metabolic products ومن هذه المواد الأسيتون وحامض الخليك والأيزوبروبانول والبيوتانول هذه المواد وغيرها يختلف إنتاجها باختلاف نوع الكائن الدقيق، فمثلاً أفراد جنس الكلوستريديوم *Clostridium* تختلف فيما بينها في نوع المادة الأيضية الناتجة عن تخمر الوسط الزرعي هل هي كحول أم حامض الخليك أم أسيتون أم غيرها وبذلك نميز كل نوع عن النوع الآخر التابع لنفس جنس الكلوسيريديوم، كذلك يكون لنوع السموم التي تكونها البكتيريا أو الكائن المجهري ونوع الأنزيم المتواجد في الأحياء دوراً مهماً في تمييز كل نوع عن الآخر لنفس الجنس أو للتمييز بين الأجناس المختلفة ولو أخذنا عائلة البكتيريا المعوية كمثال نجد أن بكتيريا جنس البروتيوس *Proteus* تملك جميع أنواعها أنزيم اليوريز urease بينما لا تحتوي بقية أجناس العائلة المعوية على هذا الأنزيم كما

يمكننا التمييز بين أنواع جنس البكتيريا العنقودية فنجد أن *Staphylococcus aureus* هو النوع الوحيد من هذا الجنس الذي يفرز بعض أفرادها أنزيم Coagulase وفي ما يخص السموم البكتيرية نجد أن بكتيريا *Streptococcus pyogenes* تنتج سموم من نوع B - hemolysins المحللة لكريات الدم الحمراء الموجودة في طبق آجار الدم الذي تُنمى فيه بينما النوع *S.salivarius* لا ينتج هذه السموم، كما يمكن التمييز بين الأجناس المتقاربة التابعة لنفس العائلة بالاعتماد على الخصائص الأيضية فمثلاً أفراد الجنس *Enterobacter* التابعة لعائلة *Entrobacteriacaea* تنتج مادة 2–3 بيوتانول عند تنميتها في وسط يحتوي على سكر العنب ولا تنتج الأندول عند تنميتها في وسط يحتوي على التربتوفان بينما أفراد جنس *Escherichia* تنتج الأندول ولا تنتج البيوتانول على العكس من الجنس الأول.

4.2.1 الأسس المناعية للتصنيف

هناك العديد من التقنيات المهمة التي تم استحداثها في السنوات الأخيرة والتي استخدمت بشكل ناجح في تصنيف الأحياء الدقيقة ومنها البكتيريا بشكل خاص فقد كان يعتمد في التصنيف على الخصائص المظهرية والوصفية غير أن هنالك العديد من الأنواع البكتيرية التي تسبب العديد من الأمراض للإنسان فمثلاً جنس البروسيلا *Brucella* يسبب مرض الحمى المالطية أو يسبب الإجهاض وبكتيريا السالمونيللا *Salmonella* تسبب حمى التيفوئيد أو العدوى الغذائية وبهذا لا يمكن الاعتماد على المرض أو الصفات المظهرية في تصنيف هذه الأحياء الدقيقة، وقد استخدمت العديد من التقنيات المناعية ومنها معرفة أو تحديد الأنماط المصلية لهذه البكتيريا الممرضة، فمثلاً أثبتت الدراسات الحديثة أن هناك أكثر

من 3000 نمط مصلي لبكتيريا السالمونيللا، ويقصد بالنمط المصلي serotype هو وجود تراكيب سطحية على سطوح العزلات البكتيرية تمثل التراكيب المستضدات النوعية specific antigens وتختلف هذه المستضدات في أنواعها باختلاف نوع البكتيريا وبذلك قد يكون مستضد معين موجود في نوع بكتيريا معين وغير موجود في نوع آخر.

5.2.1 التصنيف العددي

تعتمد عملية التصنيف العددي بشكل أساسي على دراسة مجموعة كبيرة من الخصائص والصفات لعدد من البكتيريا ثم ملاحظة درجة التشابه أو التطابق في هذه الصفات في العزلات البكتيرية المدروسة وأي من هذه الصفات هي الأكثر أهمية من غيرها ويتم إعطاء كل صفة من هذه الصفات درجة أو وزن معين وعندما يُراد إجراء التصنيف العددي لمجموعة عزلات بكتيرية ولتكن مثلاً ثلاثين عزلة فإنه يُعمل جدول يحدد به الصفات المدروسة في جانب والعزلات البكتيرية المراد معرفة خصائصها في الجانب الآخر وتثبت نتائج الفحص لكل عزلة فتعطي البكتيريا التي تملك صفة معينة درجة أو إشارة + والتي لا تملكها تعطي صفر أو إشارة – ثم تحسب النتيجة النهائية لكل العزلات على أساس النسبة المئوية للخصائص المتشابهة فإذا كان التشابه بين عشر عزلات مثلاً في جميع الصفات لهذه العزلات هو 100% تصنف في مرتبة تصنيفية واحدة والتي تتشابه في عدد أقل من الصفات توضع في جدول أو مرتبة تصنيفية أخرى لأن النسبة المئوية للتشابه أصبحت أقل 90 أو 80 % وبهذا يتم التصنيف على أساس عدد الصفات.

6.2.1 التقنيات الحديثة وأهميتها التصنيفية

بعد التقدم الكبير الذي حصل في مجال علوم الحياة واكتشاف العديد من التقنيات الحديثة في علم الحياة الجزيئي Molecular biology والذى أعتمد عليه كثيراً في تحديد الترابط والتقارب بين الأحياء بناءً على المعلومات الوراثية بين هذه الكائنات حيث يتم دراسة وتحديد تسلسل القواعد النتروجينية المكونة للأحماض النووية لهذه الكائنات هل هي متشابهة في تسلسلها أو تعاقبها وبهذا نتوصل إلى أنها تعود لأصل مشترك وعندما تكون مختلفة التعاقب فإن أصلها يكون مختلف، واخترعت في السنوات القليلة الماضية العديد من الأجهزة والتقنيات التي قدمت خدمة مهمة لعلم تصنيف الأحياء الدقيقة ومنها استخدام تقنية الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis للمكونات البروتينية الخلوية التي اعطت فائدة كبيرة في تمييز الأحياء الدقيقة بناءً على نوع بروتيناتها أو أنزيماتها، وقد أعتمد مؤخراً على الدراسات التصنيفية الكيميائية من خلال دراسة المكونات الكيميائية للأحياء ومعرفة نوع الأنزيمات وما تحتويه من أحماض أمينية وتسلسلها، كما كان لاكتشاف تقنية تفاعل أنزيم البوليميريز المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) الفضل الكبير في تحديد تسلسل وتعاقب القواعد النتروجينية للأحماض النووية والتي من خلالها يمكن التمييز بين الأحياء الدقيقة.

1.6.2.1 التقنية الجزيئية في التصنيف

أ. نسبة الجزيئات (Mol % G + C)

تمثل عملية تحديد نسب القواعد النيتروجينية المكونة للحامض النووي DNA أحد أهم تقنيات علم الحياة الجزيئي والمستخدمة بشكل واسع في الكشف عن العلاقات التطورية بين العزلات البكتيرية المختلفة حيث يتم الاعتماد على نسبة القاعدتين النتروجينيتين القوانين Guanine والسايتوسين Cytosine وهذه النسبة يجب أن تكون متساوية أي أن نسبة السايوسين مساوية لنسبة القوانين ونسبة الأدنين Adenine مساوية للثايمين Thymine لأن كل قاعدة في أحد الشريطين مكملة لقرينتها في الشريط الآخر، وعملية تحديد النسبة المئوية للقواعد تتبع المعادلة الآتية:

$$G+C\ \% = (G+C\ /\ G+C+A+T) \times 100$$

أي أننا نعبر عن كمية القاعدتين القوانين + السايتوسين نسبة إلى مجموع القواعد النتروجينية الأربع A,T,C,G وهنا فإنه عندما نقول أن نسبة G+C تساوي 50%فإن المقصود هنا أن كمية القواعد النتروجينية الأربع تكون متساوية لكل منها 25 ، ولكن عندما نقول أن نسبة G + C 25 % فهذا يعني أن كمية القوانين 12.5 % والسايتوسين أيضا 12.5 % أما الأدنين والثايمين فإن كمية كل منهما هو 37.5 %، نسبة القوانين والسايتوسين ليست متشابهة في جميع الأحياء ففي البكتيريا مثلاً تتراوح النسبة بين 21 - 75 % وبهذا قد نجد أن هناك عزلات بكتيريا تحمل نفس النسبة أو تكون العزلات مختلفة في النسبة وعندما نجد أن هناك عزلتين تملكان قيم مختلفة من القوانين والسايتوسين نستنتج أنهما مختلفتان في أصلهما

وعندما نجد أن القيم متشابهة فإنه لا يمكننا القول أنهما متشابهان أو لهما نفس الأصل لأن هناك العديد من الكائنات قد تحمل نفس القيم من القوانين والسايتوسين فمثلاً هناك العديد من البكتيريا لها قيمة قوانين + سايتوسين مساوية إلى 42 كذلك هناك كائنات راقية مثل الإنسان له نفس القيمة من النسبة وبهذا لا يمكن القول أن البكتيريا والإنسان متشابهان أو من أصل تطوري واحد.

ب. تهجين الـ Hybridization of DNA (DNA)

يقصد بتهجين الDNA هو تكوين وتخليق حامض نووي جديد يختلف عن الحامض الأصلي وهذا يتم بحل الشريط المزدوج للحامض النووي إلى شريطين منفردين باستخدام درجة حرارة مرتفعة مناسبة وعند التبريد البطيء يُعاد ارتباط القواعد النيتروجينية بواسطة الروابط الهيدروجينية التي تربط الشريطين ببعضهما ليتكون حامض جديد ثنائي الشريط وهذه العملية تدعى ترسيخ الـ (DNA DNA Annealing)، عملية تكوين حامض نووي هجين تتم عملياً بعزل الـ DNA لكائنين مختلفين ثم تفك الأشرطة الثنائية بالحرارة وتخلط الأشرطة المنفردة للكائنين ويبرد المحلول المحتوي على الأشرطة المنفردة للكائنين وبذلك فإن تكوين شريط ثنائي يعتمد على درجة التشابه في تسلسل القواعد النيتروجينية بين الحامضين النوويين المختلفين وعند تكون حامض جديد من الأشرطة مختلفة المصدر يسمى هذا الحامض بالهجين Hybrid والعملية تدعى بالتهجين Hybridization، ولمعرفة وتتبع مصدر القواعد المكونة للحامض الجديد الهجين تستخدم النظائر المشعة بغرس أو تنمية أحد

الكائنين في وسط يحتوي على مادة مشعة (الفوسفور المشع P32) ويلاحظ الحامض المتكون بعد الترسيخ هل الشرطيين غير معلمين أو كلاهما معلمين بالمادة المشعة أو أحدهما معلم والآخر غير معلم وهنا يحصل التهجين، ويمكن وصف درجة التشابه في تسلسل القواعد النيتروجينية بشكل نسبة مئوية فعندما يكون تسلسل أو تتابع القواعد النيتروجينية واحد تكون نسبة التشابه كلية 100% وهنا يكون الترسيخ قد حصل لكائن واحد، وقد يكون التسلسل مختلف تماماً ولا يوجد تشابه فتكون النسبة 0 % أو قد يكون هناك تشابه في التسلسل بدرجات معينة، وعلى العموم تزداد النسبة كلما زاد التشابه ويعتبر النوعين من أصل واحد أذا كان الـ DNA لهما متطابق بنسبة 90% أو اكثر، وبهذا يعتمد على درجة التشابه في تسلسل القواعد النتروجينية للحامض النووي البكتيري كمقياس مهم في تحديد تقارب الأحياء وتشابهها ومن ثمة تصنيفها، من الوسائل الأخرى المستخدمة في التصنيف هي الفيروسات التي تهاجم البكتيريا (العاثيات أو ملتهمات البكتيريا) Phages وعاثيات البكتيريا Bacteriophages تكون متخصصة أي أن كل فاج معين يكون مخصص لنوع معين من البكتيريا وبذلك يستخدم في تحديد الأنواع البكتيرية كما يمكن معرفة النمط الفيروسي من خلال معرفة نوع الفيروس الذي يهاجم ويحلل البكتيريا المراد دراستها، من الممكن أيضا الاعتماد على حساسية البكتيريا للأدوية والسموم والمضادات الحيوية كمعيار مهم للتمييز بين الأنواع المختلفة من البكتيريا كذلك يمكن أن يعتمد على قدرة بعض الكيمياويات أو الصبغات في التأثير على أنواع أو أجناس معينة دون غيرها أما الفيروسات فيتم تصنيفها بشكل اعتباطي ويعتمد على نوع المرض الذي تسببه ونوع العائل ونوع

الحامض النووي (RNA) أو (DNA) والتركيب المظهري.

3.1 تسمية الأحياء الدقيقة Nomenclature

قبل تسمية البكتيريا لابد من الإلمام ببعض المصطلحات الهامة وهي الجنس Genus والنوع Species الجنس مجموعة تشمل الأنواع التي تتميز بصفات ثابتة وغير متغيرة وتوجد بينها علاقة وراثية بمعنى أن تجمع عدة أنواع تحت جنس واحد يجب أن يتم طبقاً للتشابه في الصفات الطبيعية الثابتة التي ترجع إلى تطابق التركيب الوراثي للأنواع، أما النوع في البكتيريا مثلاً يشمل كل البكتيريا المتشابهة في جميع صفاتها على أن تكون هذه الصفات ثابتة وغير متغيرة.

المجموعة التصنيفية الأساسية في البكتيريا والخمائر والأعفان هي النوع Species وكل نوع يُعطى اسم والأسم يتكون من جزأين أو ما يعرف بالتسمية الثنائية (Binomial name): الجزء الأول هو اسم الجنس والاسم الثاني هو اسم لصفة خاصة Specific Epithet وكلا الجزأين يكتبان باللغة اللاتينية وبطريقة مائلة italicized أو يوضع تحت الاسم خط، ويكتب الحرف الأول من أسم الجنس بحجم كبير Capital letter مثل: *Lactobacillus acidophilus* و *Saccharomyces cerevisiae* و *Penicillium roquefortii* .

أحياناً يقسم النوع البكتيري إلى عدة سلالات Varieties or Strains (Subspecies: subsp. or ssp) إذا أظهرت الأنواع اختلافات طفيفة في الخصائص وهذا

يحدث عندما تتواجد اختلافات بسيطة لكنها ثابتة بين أفراد النوع لا تكفي لوضعها في نوع مستقل وفي هذه الحالة تستخدم التسمية الثلاثية (trinomial epithet) مثل *Lactococcus lactis ssp. lactis* وكذلك سلالة البكتيريا *Streptococcus lactis* والتي تعطي اللبن طعم الشعير تعرف بالاسم *Streptococcus lactis* Var . *maltige* وكل سلالة تعرف برقم خاص أو حروف أو بكليهما مثل *Pediococcus acidilactici* LB92. على مستوى العائلة تستخدم في تسميتها صيغة الجمع المؤنث ويتفق مع اللاحقة aceae مثل: *Enterobacteriaceae* الأنواع والسلالات في الجنس يمكن تمثيلها جماعي إما باستخدام "spp" بعد الجنس مثل *Lactobacillus* spp أو صيغة الجمع للجنس مثل:

Lactobacilli for *Lactobacillus* و Lactococci for *Lactococcus* و Salmonellae for *Salmonella* و *Leuconostocs* for *Leuconostoc*

ويعطى أسم البكتيريا طبقاً للمقاييس الدولية لتسمية البكتيريا والتي تختص بوضعها أو اختبارها اللجنة الدولية لعلم البكتيريا التابعة للاتحاد العالمي لعلم الأحياء الدقيقة International Code of Nomenclature of Bacteria واللجنة الدولية المعنية بعلم البكتيريا المنهجي التابعة للاتحاد الدولي لرابطة علم الأحياء الدقيقة:

The International Committee on Systematic Bacteriology of the International Union of Microbiological Association.

تقوم بفحص صلاحية كل اسم وتنشر عندئذ القوائم المعتمدة لأسماء البكتيريا من وقت لآخر الاسم الجديد (نوع أو جنس) يجب نشره في مجلة علم البكتيريا المنهجي الدولية

للإدراج في القائمة المعتمدة وأي تغيير في أسم البكتيريا (جنس أو الأنواع) لابد أن يحظى بموافقة هذه اللجنة.

أما الفيروسات فتتم تسميتها بطريقة اعتباطية وعادةً تعرف بحرف أو رقم أو خليط منهما مثل T4 أو bacteriophages λ، وقد تسمى الفيروسات طبقاً للمرض الذى تسببه مثل Hepatitis A لأنه يسبب مرض التهاب الكبد الوبائي، غير أنه تم مؤخرا إنشاء لجنة دولية (ICTCV) لتقسيم الفيروسات وقد قامت بجهود كبيرة لتوحيد تسمية الفيروسات.

4.1 الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية

المجموعات الميكروبية المهمة في الأغذية تتكون من عدة أنواع من البكتيريا (bacteria) والخمائر (yeasts) والأعفان (molds) والفيروسات (viruses) ورغم أن بعض الطحالب (algae) والحيوانات الأولية (protozoa) مثل الطفيليات parasites وكذلك بعض الديدان (worms) (مثل الديدان الخيطية) تعتبر هامة في الأغذية إلا أنه لم يتم إدراجها بين المجموعات الميكروبية في هذا الكتاب.

البكتيريا والخمائر والأعفان والفيروسات لها أهمية في الغذاء نظراً لقدرتها على إحداث فساد في الأغذية (Food spoilage) كما يمكن أن تسبب أمراضاً للإنسان منقولة عن طريق الأغذية Foodborne diseases أيضا تعتبر العديد من أنواع البكتيريا والأعفان والخمائر آمنة ومنها ما يستخدم لإنتاج الأغذية المخمرة والمكونات الغذائية.

أهمية الأحياء الدقيقة في الأغذية تعتبر ذات وجهين فهي من ناحية يمكن أن تكون

ذات فائدة كبيرة في تصنيع منتجات غذائية مختلفة ومن جهة أخرى تعتبر مسؤولة عن تلف وفساد كميات كبيرة من المواد الغذائية مما يسبب خسائر اقتصادية كبيرة وبعضها ينمو ويتكاثر في الغذاء ويسبب خطورة على صحة الإنسان، والناحية المفيدة للأحياء الدقيقة ترجع إلى قدرة بعضها على إحداث تغيرات مرغوبة في الغذاء حيث استغلت من قبل الإنسان وتم عزلها وإكثارها واستخدامها في صناعة الألبان المتخمرة والأجبان والمخللات وبعض الفيتامينات والأنزيمات والأحماض، كما تستخدم الخمائر في إنتاج الخبز والأجبان والألبان المتخمرة والدهون والبروتين، أما الفطريات فهي مهمة في إنتاج الأنزيمات والأحماض العضوية التي تدخل في الصناعات الغذائية مثل أنزيم الأميليز وحامض الستريك كما تستخدم أيضا في إنتاج بعض أنواع الأجبان وكذلك المضادات الحيوية، أما الأضرار التي تسببها الأحياءالدقيقة في الأغذية فبعضها اقتصادي والآخر صحي والضرر الاقتصادي سببه قدرة هذه الكائنات على إحداث تغيرات غير مرغوبة نتيجة نموها في الغذاء وإفساد مكوناته وتكوين نكهات وروائح غير مرغوبة وقد تكوّن مركبات سامة وضارة بالصحة، الضرر الصحي يكون بسبب ملاءمة الأغذية لنمو وتكاثر الأحياء الدقيقة الممرضة فيها مثل بكتيريا السل والتيفود والكوليرا وغيرها من البكتيريا والفطريات التي تسبب العدوى والتسمم للإنسان، والأحياء الدقيقة التي لها علاقة وثيقة بالأغذية ولها دور مفيد أو ضار تشمل البكتيريا والفطريات والخمائر، وتعتبر البكتيريا الأكثر أهمية من بين كل الأحياء الدقيقة بالأغذية بسبب وجودها في كل مكان وسرعة معدل نموها حتى تحت الظروف التي لا يمكن أن تنمو فيها الخمائر والأعفان، ولذلك فهي تعتبر الأكثر تورطاً في فساد الأغذية وانتشار الأمراض المنقولة عن طريق الغذاء، سيتم التعرض في الفصل الثاني والثالث لأهم الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية والتي تضم البكتيريا والخمائر والأعفان.

(RAY, 2004; JAY, 2005, MADIGAN et al., 2008; BLACK & BLACK, 2012)

الفصل الثاني

البكتيريا Bacteria

1.2 مقدمة

البكتيريا عبارة عن كائنات حية دقيقة لا ترى بالعين المجردة وهي ذات خلية واحدة بدائية النواة والمادة الوراثية توجد عادة في الكروموسوم الدائري الوحيد ولا تحتوي نواة أو نوية، ولا تحتوي على البروتينات الأساسية مثل الهستونات، تتراوح أطوالها من 0.4 إلى 0.8 ميكروميتر غير أن البكتيريا الحلزونية يمكن أن يصل طولها إلى 100 ميكروميتر.

البكتيريا لها ثلاثة أشكال رئيسية هي الكروي Cocci والعصوي Bacilli والحلزوني Spiral كما توجد في أشكال أخرى مثل العصويات المنحنية vibrios والشكل العصوي الكروي coccobacilli كما يمكن أن توجد في أشكال متعددة Pleomorphic bacteria مثل أفراد الجنس *Corynebacterium*.

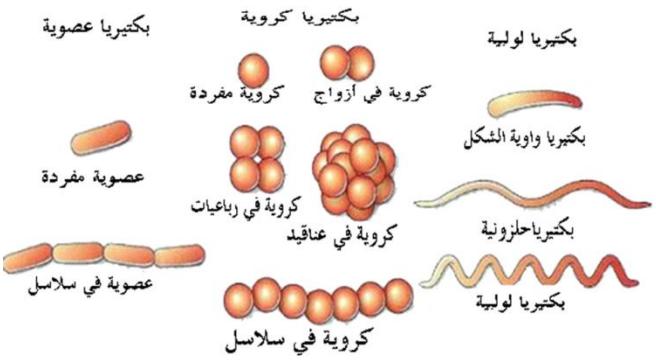
وقد تتواجد البكتيريا في تجمعات مثل العناقيد أو السلاسل أو الرباعيات وذلك طبقاً لطريقة انقسامها عندما تتكاثر بالانقسام الثنائي البسيط (Binary fission) فعندما تنقسم البكتيريا الكروية في مستوى واحد تنتج تجمعات على شكل أزواج أو سلاسل مثل بعض أنواع الجنس *Streptococcus* وعندما تنقسم في مستويين متعامدين ينتج تجمع على هيئة رباعيات كروية Tetracocci وإذا حدث الانقسام في ثلاثة مستويات تتكون كتل مكعبات كما في حالة الجنس *Sarcina* أما في حالة الانقسام في أي مستوى تنتج تجمعات تشبه العناقيد clusters مثل الجنس *Staphylococcus*.

أما البكتيريا العصوية فالتجمعات الناتجة عند انقسامها قد تكون في صورة سلاسل طويلة مثل بعض أنواع *Bacillus* أو قد تصطف الخلايا موازية لمحورها الأصلي فتعطي شكل

الحروف الصينية كما في الجنس *Corynebacterium* أما الجنس *Streptomyces* فيكون هيفات دقيقة تشبه هيفات الأعفان، هناك أيضا بعض التراكيب التي تميز بعض أنواع البكتيريا من حيث الشكل الخارجي حيث تمتلك بعض البكتيريا أسواطاً flagella للحركة والبعض الآخر يكون غلاف Capsule (عادةً تتكون من عديد من السكريات أو الدكسترين أو دكستران أو ليفان levan) حول الخلايا يؤدي إلى ظهور لزوجة أو غروية في الغذاء بالإضافة إلى أن هذه الأغلفة تزيد من مقاومة البكتيريا للمعاملات الحرارية والكيماويات.

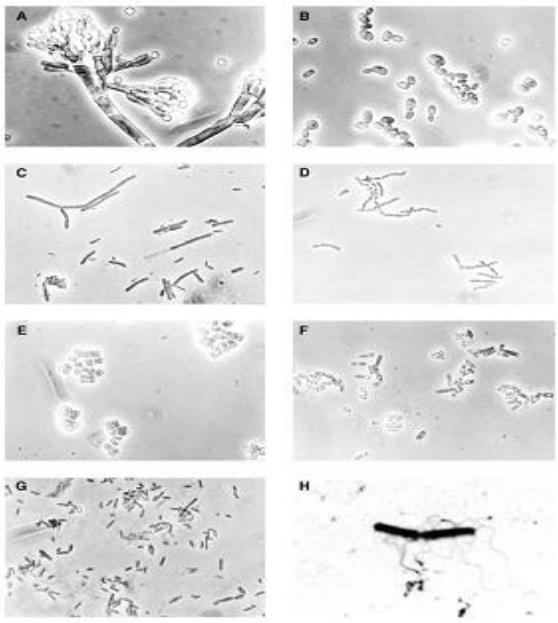
ويمكن أن تكون البكتيريا متحركة أو غير متحركة. المواد السيتوبلازمية في الخلية البكتيرية محاطة بغشاء وجدار صلب على السطح. ويتم نقل المواد الغذائية في شكل جزيئات وأيونات من البيئة عن طريق الغشاء بواسطة طرق عديدة.

بعض أنواع البكتيريا لها القدرة على تكوين جراثيم داخلية Endospores مثل أجناس *Clostridium* و*Bacillus* في حين أن غيرها من الأنواع العصوية والكروية لا تكون جراثيم وعموماً فإن جراثيم البكتيريا أكثر مقاومة للحرارة وغيرها من الظروف القاسية عن الخلايا الخضرية. وتظل الجراثيم كامنة لفترة طويلة حتى تتوفر الظروف البيئية المناسبة فتنبت وتعطي خلية خضرية ويوضح الشكل رقم (1.2) أشكال الخلايا البكتيرية وشكل (2.2) يوضح بعض التراكيب المختلفة في البكتيريا.



شكل (1.2): الأشكال المختلفة للخلايا البكتيرية وتجمعاتها

المصدر: POMMERVILLE, (2007)



شكل (2.2): صور مجهرية لبعض الأحياء الدقيقة: أ: فطر البنسيليوم *Penicillium*، ب: خميرة *Saccharomyces cerevisiae*، ج: بكتيريا *Bacillus sp*، د: *Streptococcus sp*، هـ: بكتيريا في رباعيات، و: بكتيريا متجرثمة *Bacillus*: بكتيريا *Clostridium* متجرثمة،: بكتيريا تمتلك أسواط للحركة

المصدر: RAY (2004)

2.2 تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا Cell Wall Structure

كل أنواع البكتيريا لها جدار خلوي ما عدا الـ Mycoplasma ويقوم الجدار الخلوي بعدة وظائف هامة للخلية البكتيرية وهي تحديد شكل الخلية وتوفير الحماية والصلابة لها كما يسمح الجدار الخلوي للبكتيريا أن تعيش في أماكن لا تستطيع الكائنات الحية الأخرى أن تعيش فيها أو تتحملها ولهذا يعتبر تركيب الجدار الخلوي من أهم العوامل في تطور البكتيريا وجعلها أوسع انتشاراً على الأرض، يتكون جدار الخلية كيمائياً من جزيئات كبيرة معقدة التركيب يطلق عليها peptidoglycan الببتيدوجلايكان وهي عبارة عن جزيء غير متجانس تتكون من وحدتين متكررتين هما N-acetylglucosamine و N- acetylmuramic acid مترابطة بواسطة نوعين مختلفين من السلاسل الجانبية المتكونة من الببتايد Peptide والتترابيتايد Tetrapeptide وقوة الجزيء تكون نتيجة كثافة الروابط التقاطعية بين سلاسل البلمر وتوجد هذه المركبات في جميع جدر الخلايا البكتيرية وتختلف سماكة جدار الخلية باختلاف نوع البكتيريا، فبعض أنواع البكتيريا التي يطلق عليها (البكتيريا موجبة صبغة جرام) تملك جدار خلية سميك بينما البكتيريا التي يطلق عليها سالبة لصبغة جرام يكون الجدار الخلوي لها رقيق وذلك تبعاً لاختلاف كمية الـ Peptidoglycan من المعروف أن الببتيدوجلايكانات جزيئات كبيرة تعمل كمشدات Corset تحافظ على الخلية من التمزق بفعل الضغط الأسموزي وتساهم أيضا في صلابة الجدار الخلوي وثبات شكل الخلية.

1.2.2 الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام

الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام يتميز باحتوائه على طبقة سميكة

(20 – 80 نانوميتر) من مادة الجليكانات البيبتيدية Peptidoglycans وتشكل حوالي 60 إلى 90% من الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام وهي المسؤولة عن احتجاز صبغة الجنسيان البنفسجي Crystal violet عند صبغ الخلية بصبغة جرام Gram stain لا يعتبر وجود الجليكانات البيبتيدية Peptidoglycans في جدر الخلايا البكتيرية ميزة تركيبية فقط ولكنه مصمم لمقاومة التمدد وخاصة الناتج عن تأثير الضغط الأسموزي ولذلك يمنع تمدد وانتفاخ الخلية وتمزقها إذا وضعت في محاليل منخفضة التركيز Hypotonic solutions كما يحتوي الجدار على مركب من كحولات عديدة polyalcohol يسمى أحماض التيشوك Teichoic acids وهي N-Acetylmannosaminuronic acids وتعتبر من أهم مكونات جدر خلايا البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وهي بوليمرات عديدة الفوسفات Polyphosphate Polymers وتقدر نسبتها في الجدار الخلوي ما بين 20% إلى 50% من الوزن الجاف للجدار وبعضها يوجد في الأغشية البلازمية للخلايا البكتيرية. وأحماض التيشوك مرتبطة مع الببتيدوجليكانات ولكن لها دوراً حيوياً مختلف ويتمثل دورها في تأمين كمية المغنيسيوم المناسبة من البيئة المحيطة بالخلية لأنه مطلوب لمختلف نشاطات الخلية الأيضية وعلى أساس هذه النظرية فإن أحماض التيشوك ترتبط بعنصر المغنيسيوم وتنقلة عبر الغشاء البلازمي إلى داخل الخلية.

أحماض التيشوك تعطي الخلية الموجبة لصبغة جرام شحنة سالبة نتيجة لوجود مجاميع الفوسفيت Phosphate groups (روابط ثنائية الأستر ما بين حمض التشيوك والـ Monomers) وهذه الشحنة السالبة تجعل الخلية قادرة على الالتصاق بالأسطح مثل

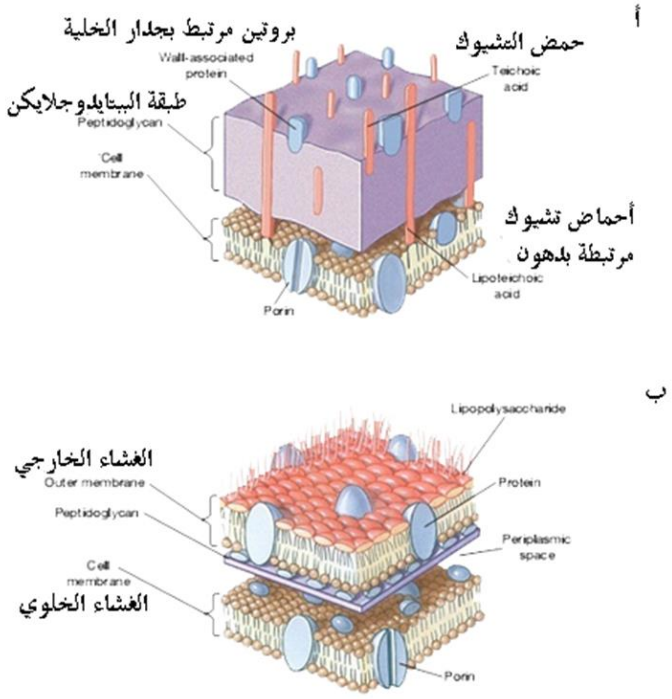
التربة والأنسجة الحية وغيرها. بعض أحماض التشيوك مرتبط بالدهن المتواجد في طبقة الغشاء البلازمي (الطبقة التي تقع تحت الجدار الخلوي) ليعطي أحماض لايبوتشيوك Lipopoteichoic acids وبالتالي يربط طبقة الـ Peptidoglycan بالغشاء البلازمي كما أن الـ Lipopoteichoic acids تعطي الخصائص المستضدة Antigenic properties للخلية. تحت الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة للجرام يقع فراغ يسمى البريبلازم Periplasm ويحتوي على الأنزيمات المفرزة خارج الخلايا Extracellular enzymes.

2.2.2 الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة لصبغة جرام

الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة لصبغة جرام أكثر تعقيداً في التركيب من الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام. فبعكس البكتيريا الموجبة لصبغة جرام يحتوي الجدار على طبقة رقيقة من مادة الجليكانات البيبتيدية Peptidoglycan يقدر سمكها من 7 إلى 8 نانوميتر وفقط حوالي 10 إلى 20% من الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة لجرام ولذلك لا تستطيع البكتيريا السالبة لصبغة جرام احتجاز صبغة الجنسيان البنفسجي عند صبغ الخلية بصبغة جرام وتزول بسهولة بالكحول الإيثيلي. وقد وجد بالإضافة إلى نسبة الجليكانات البيبتيدية الرقيقة في جدر الخلايا السالبة لصبغة جرام أن لها غشاء خارجي Outer membrane يحيط بالجدار الخلوي ويحتوي على السكريات العديدة والدهن Lipopolysaccharide اللايبوبروتين Lipoprotein والدهون المفسفرة Phospholipids طبقة السكريات العديدة والدهن Lipopolysaccharide أكثر الجزيئات البيولوجية تعقيداً حيث تحتوي على جزيئات إمفيباثية Amphipathic molecules وتعتبر الدهون المفسفرة

والسكريات العديدة هي الطبقة المواجهة للظروف الخارجية المحيطة بالبكتيريا وتعطي السكريات العديدة والدهن Lipopolysaccharide الخصائص المستضدة للخلية والشحنة السالبة لسطح الخلية. وعلى أساس التركيب الجزيئي لمكونات الغشاء الخارجي والجدار الخلوي يعتقد أنهما مرتبطان فيزيائياً ونتيجة لهذا الارتباط ربما لا تستطيع صبغة جرام النفاذ إلى داخل الخلية ولذلك لا يظهر عليها لون الصبغة بعد غسلها بالكحول أو أنها سهلة النفاذ إلى الخارج بسبب قلة الجليكانات البيبتيدية Peptidoglycans واللايبوبروتين lipoprotein و Lipopolysaccharide ترتبط بطبقة الدهون المفسفرة phospholipids.

طبقة الدهون المفسفرة تنتظم في طبقة ثنائية bilayer ويتجه الجزء الكارة للماء فيها (fatty acids الأحماض الدهنية) إلى الداخل بينما الجزء المحب للماء إلى الخارج (glycerol). والغشاء الخارجي Outer membrane (المتكون من بروتين وLipopolysaccharide ودهون مفسفرة) يحتوي على فتحات تسمى البورين porins والتي تسمح بمرور الجزيئات الصغيرة المحبة للماء. والغشاء الخارجي له قدرة نفاذية محدودة وإليه تُعزى مقاومة البكتيريا السالبة لصبغة جرام لعدة إنزيمات مثل اللايسوزيم lysozyme (الذي يحلل طبقة الجليكانات البيبتيدية) وللجزيئات الكارهة للماء hydrophobic molecules (مثل أملاح الصفراء و SDS) وللمضادات الحيوية Antibiotics مثل البنسيلين Penicillin الشكل رقم (3.2) يوضح تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام.



شكل (3.2): تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام (أ) والبكتيريا السالبة لجرام (ب)

المصدر: BLACK (2012)

3.2 أجناس البكتيريا الهامة في مجال الأغذية

تقسم البكتيريا إلى مجموعات حسب تفاعلها مع صبغة جرام واحتياجها للهواء وقدرتها على تكوين الجراثيم وشكلها الظاهري وذلك طبقا للتقسيم الحديث المتبع في الطبعة التاسعة لكتاب Bergey's Manual of Determinative Bacteriology الصادر عام 1993 حيث تم تقسيم البكتيريا إلى 35 مجموعة أو قسم والتي تضم أكثر من 560 جنس. تم ترتيب الأجناس التابعة لكل قسم أو مجموعة section أبجدياً مع كتابة رقم بين قوسين بجوار

كل مجموعة. البكتيريا الهامة في مجال الأغذية تقع في 8 أقسام أو مجموعات (2، 4، 5، 9، 12، 13،14،15). الجدول (1.2) يوضح 48 جنساً تعتبر هامة في مجال الأغذية.

1.3.2 البكتيريا الهوائية السالبة لصبغة جرام Gram-Negative Aerobes

1.1.3.2 الجنس *Campylobacter*

ويتكون هذا الجنس من نوعين هما *Campylobacter jejuni* و *C. coli* يسببان عدوى للإنسان، هذه البكتيريا صغيرة الحجم تحتاج القليل من الهواء حلزونية الشكل متحركة محبة لدرجات الحرارة المتوسطة موجودة في أمعاء الإنسان والحيوانات والطيور.

2.1.3.2 الجنس *Pseudomonas*

بكتيريا عصوية مستقيمة أو منحنية هوائية ومتحركة تنمو في درجات حرارة منخفضة Psychrotrophs أفراد هذا الجنس تتواجد على نطاق واسع في البيئة في التربة والمياه وفي الأغذية النباتية والحيوانية تضم عددا كبيراً من الأنواع، بعض أنواعها المهمة في الغذاء مثل P. aeruginosa و P. putida و Pseudomonas fluorescens، الأخير من أهم البكتيريا المفسدة للأغذية Spoilage bactria ويمكن أن تقوم بتحليل الكثير من الكربوهيدرات والبروتينات والدهون في الأغذية كما يمكنها إنتاج الفيتامينات وعوامل النمو اللازمة لها تنتج أنزيمات محللة للبروتين والدهن وتؤدي لفساد الأغذية المبردة كما يمكن لبعض أفرادها إنتاج إنزيم البكتينيز Pectinase والذي يحلل البكتين ويسبب التعفن الطري في الخضروات بعض أنواع هذا الجنس تنتج أصباغاً فلورسنتية تكون خضراء مصفرة تذوب في الماء ويمكن

مشاهدتها على الأغذية الفاسدة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية لا تتواجد هذه البكتيريا في الأغذية المعاملة حرارياً إلا إذا حدث تلوث بعد المعاملة الحرارية كما أنها غير مقاومة للتجفيف.

3.1.3.2 الجنس *Xanthomonas*

أغلب صفات هذه المجموعة تشبه صفات جنس *Pseudomonas* وهي من مسببات الأمراض النباتية وبالتالي يمكن أن تسبب تلف للفواكه والخضروات، سلالات النوع *Xanthomonas campestris* تستخدم لإنتاج صمغ xanthan والذي يستخدم كمثبت غذائي (Food stabilizer).

4.1.3.2 الجنس *Acetobacter*

بكتيريا عصوية الشكل سالبة لصبغة جرام توجد منفردة أو في سلاسل قصيرة ومتحركة بأسواط محيطية أو غير متحركة أو غير متحرك هوائية تأكسد الإيثانول إلى حامض الخليك وهي محبة للحرارة المتوسطة Mesophiles، تسبب حموضة في المشروبات الكحولية وعصائر الفواكه وتستخدم لإنتاج الخل (حامض الخليك). يمكن أن تفسد بعض الفواكه (تعفن) أيضا وتنتشر على نطاق واسع في النباتات وفي الأماكن التي يحدث فيها تخمير الكحول، أهم أنواعها *Acetobacter aceti*.

5.1.3.2 الجنس Gluconobacter

العديد من صفاتها تشبه صفات جنس Acetobacter . Gluconobacter oxydans تؤكسد الإيثانول إلى حمض خليك وتتواجد في الخل وكثير من الأغذية حيث تسبب فساد الأناناس والتفاح والكمثرى (تعفن: rot).

6.1.3.2 الجنس *Acinetobacter*

بكتيريا عصوية توجد في أزواج أو سلاسل صغيرة ارتعاشيه الحركة بسبب وجود أهداب قطبية Polar fimbriae هوائية إجبارية وتنمو بين 20 – 35 م° وتوجد في التربة والمياه ومياه الصرف الصحي، أهم أنواعها *Acinetobacter calcoaceticus*.

7.1.3.2 الجنس *Morexella*

عصوية قصيرة جداً تقترب كثيراً من الشكل الكروي توجد منفردة أو في أزواج أو سلاسل قصيرة ربما تكون محفظة capsulated ارتعاشيه الحركة twitching motility ودرجة الحرارة المثلى التي تنمو عندها هي 30 – 35 م° وتتواجد في بعض الأغشية المخاطية للحيوانات والإنسان وأهم أنواعها *Morexella lacunata*.

8.1.3.2 الجنس *Alteromonas*

عدة أنواع تابعة للجنس *Pseudomonas* صنفت حديثاً على أنها تتبع جنس *Alteromonas* معظم أنواع هذا الجنس المعروفة حالياً من أصل بحري وقد تكون موجودة في الأغذية ذات الأصول البحرية، تحتاج إلى تركيز عالي من الملح (كلوريد الصوديوم) للنمو

المثالي على عكس جنس *Pseudomonas* تسبب سلالاتها فساد للأسماك واللحوم وهي مقاومة للبرودة Psychrotrophs.

9.1.3.2 الجنس *Flavobacterium*

ويضم هذا الجنس بكتيريا عصوية غير متحركة وتنتج أصباغاً برتقالية أو صفراء أو صفراء مخضرة. تكون مستعمرات ملونة بعض أنواعها مقاومة للبرودة Psychrotrophs وتنمو على درجات حرارة أقل من 30 م° غير أن بعض السلالات تنمو على 37 م°. تتواجد في الماء والتربة وفي العديد من الأغذية مثل الخضروات الطازجة والمجمدة وفي الأسماك والمبردة واللحوم وتسبب فساد لون بعض الأغذية وتسبب فساد الحليب والبيض. ومن أهم أنواعها *Flavobacterium aquatile*.

10.1.3.2 الجنس *Alcaligenes*

بكتيريا عصوية أو عصوية مكورة Coccobacilli متحركة بواسطة أربعة إلى ثمانية أسواط محيطية موجبة لإنزيم الأوكسيديز وتوجد في المياه والتربة أو البراز. وهي محبة لدرجات الحرارة المتوسطة وتحدث تفاعل قلوي في البيئة، تسبب فساد الأغذية الغنية بالبروتين مثل البيض ومنتجات الألبان ومن أهم أنواعها *Alcaligenes faecalis*.

11.1.3.2 الجنس *Haloacterium*

هذه البكتيريا عصوية محبة للملوحة إجبارياً Obligate halohpils وتنمو في تركيزات عالية من الملح (15%)، وترتبط هذه البكتيريا بفساد الأغذية المملحة وتسبب تغير في لون الأغذية لإنتاجها أصباغ حمراء، ويتغير شكل هذه البكتيريا من العصوي إلى الكروي في

الأوساط الملحية المنخفضة.

12.1.3.2 الجنس *Brucella*

بكتيريا عصوية مكورة غالباً توجد منفردة وغير متحركة. تسبب أنواعها المختلفة أمراضاً للحيوانات تتضمن الماشية والخنازير والأغنام وأيضا ممرضة للإنسان وقد تسببت في انتقال الحمى المالطية (Brucellosis) للإنسان عن طريق الأغذية مثل الحليب الخام ومنتجات الألبان غير المعاملة حرارياً واللحم غير المطبوخ والسجق، وتنحصر حالات المرض في مربي المواشي والبيطريين ومفتشي الأغذية والعاملين في مصانع تعبئة اللحوم، كما يسبب النوع *Brucella abortus* الإجهاض في الأبقار.

13.1.3.2 الجنس *Psychrobacter*

تم التعرف على هذا الجنس في عام 1986 ويحتوي على نوع واحد هو *Psychrobacter immobilis* وهي بكتيريا عصوية مكورة غير متحركة وتستطيع النمو عند درجة 5 م° أو أقل وتوجد في الأسماك واللحوم والدواجن.

2.3.2 البكتيريا اللاهوائية الاختيارية السالبة لصبغة جرام

Gram-Negative Facultative Anaerobes

1.2.3.2 الجنس *Citrobacter*

ويضم الجنس بكتيريا عصوية مستقيمة مفردة أو في أزواج وعادةً متحركة بأسواط طرفية ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة، يمكنها استهلاك السترات كمصدر وحيد للكربون وتخمر اللاكتوز، تتواجد في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات والطيور وتوجد أيضا في

كثير من الأغذية خاصة الأغذية الحيوانية وهي مدرجة في المجموعة القولونية كمؤشر على التلوث البرازي وأهم أنواعها *Citrobacter freundii*.

2.2.3.2 الجنس *Escherichia*

ويضم هذا الجنس بكتيريا عصوية مستقيمة متحركة أو غير متحركة محبة لدرجات الحرارة المتوسطة وموجودة في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات والطيور وذوات الدم الحار أهمها النوع *Escherichia coli* ذي المصدر المعوي ومعظم سلالاتها مخمرة للاكتوز ولها القدرة على إنتاج الإندول (I) من التربتوفان وتنتج حامض وتعطي اختبار موجب مع أحمر الميثايل (M) ولا تكون أستيل ميثايل كربينول في اختبار فوجس بروسكر (Vi) ولا تستهلك السترات كمصدر وحيد للكربون (C) ولذلك فهي تعطي نتائج مع تلك الاختبارت والتي يرمز لها بالرمز IMVIC كالتالي: ++ – – الجدول (2.2) يوضح نتائج اختبارات IMVIC لبعض الأنواع والأجناس التابعة للعائلة *Enterobacteriaceae*.

تعتبر بكتيريا *Escherichia coli* أيضا غير مقاومة للحرارة ووجودها في الأغذية بعد المعاملة الحرارية يدل على حدوث تلوث بعد المعاملة الحرارية، يمكن لهذه البكتيريا أن تتواجد في العديد من الأغذية ومعدات تصنيع الأغذية كملوث وتسبب فساد في الأغذية نتيجة قدرتها على النمو في الغذاء واستهلاك معظم المواد الكربوهيدراتية منتجة حامض وغاز مما يؤدي إلى ظهور روائح ونكهات غير مرغوبة، العديد من سلالاتها غير ممرضة ولكن البعض من سلالاتها ممرضة للإنسان والحيوان وهي تشارك في الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية وأخطرها السلالة *Escherichia coli* O157:H7 والتي تسبب للإنسان عدوى غذائية قد

تؤدي إلى الفشل الكلوي وتستخدم Escherichia coli كمؤشر على التلوث البرازي للأغذية والمياه كما أنها مدرجة على رأس المجموعة القولونية Coliform ومجموعة القولون البرازية.

3.2.3.2 الجنس *Enterobacter*

بكتيريا عصوية مستقيمة متحركة بأسواط محيطة بالخلية ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة تتواجد في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات والطيور وتوجد في التربة والمياه وفي منتجات غذائية عديدة. وهي مدرجة في المجموعة القولونية كمؤشر على التلوث ومدى تطبيق الاشتراطات الصحية أثناء إنتاج الأغذية وأهم أنواعها *E. aerogenes* و *E. sakazakii* والأخيرة تسبب عدوى للأطفال الرضع.

4.2.3.2 الجنس *Edwardsiella*

بكتيريا عصوية صغير متحركة توجد في أمعاء الحيوانات ذوات الدم البارد والمياه العذبة، ويمكن أن تكون ممرضة للإنسان ولكن لم يتم تسجيلها كأحد مسببات الأمراض المنقولة بالأغذية.

5.2.3.2 الجنس *Erwinia*

بكتيريا عصوية صغير توجد في أزواج أو سلاسل قصيرة متحركة ولاهوائية اختيارية، درجة الحرارة المثلى للنمو عند 30م^{o} والعديد منها ممرضة للنبات وتسبب الفساد للمنتجات النباتية، منها النوع *Erwinia amylovora* التي تسبب أمراضاً للفواكه مثل التفاح والكمثرى.

جدول (1.2): الأجناس البكتيرية الهامة في الأغذية

القسم (المجموعة)**	الوصف	العائلة Family	الأجناس Genera
2	البكتيريا السالبة لجرام / هوائية أو تحتاج قليل من الأكسجين/ متحركة/ حلزونية أو واوية الشكل Gram-negatie aerobic/microaerophilic motile, helical/vibrioid	Not indicated (لا تعرف لها عائلات)	*Campylobacter*، *Arcobacter*، *Helicobacter*
4	بكتيريا عصوية أو كروية سالبة لجرام هوائية Gram-negative, aerobic, rods and cocci	*Pseudomonadaceae*	*Pseudomonas*, *Xanthomonas*
		Acetobacteraceae،	*Acetobacter*, *Gluconobacter*
		Nisseriaceae	*Acinetobacter*,، *Morexella*
		Not indicated، (لا تعرف لها عائلات)	*Flavobacterium*، *Alcaligenes*، *Alteromonas* *Psychrobacter Brucella*،
5	بكتيريا عصوية لاهوائية اختيارية ، سالبة الجرام Gram-negative facultative anaerobic rods،	*Enterobacteriaceae*	*Citrobacter* *Escherichia*, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Hafnia* ,*Klebsiella* *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella* ,*Shigella*, *Serratia*, *Yersinia*
		Vibrionaceae	*Vibrio*, *Aeromonas*، *Plesiomonas*
9	Rickettsias الركتاسيات	Rickettsiaceae	Coxiella
12 (17)	البكتيريا الكروية الموجبة لجرام Gram-positive cocci	Micrococcaceae	Micrococcus Staphylococcus،
		Not indicated (لا تعرف لها عائلات)	Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Sarcina
13 (18)	البكتيريا العصوية أو الكروية /الموجبة لجرام المكونة للجراثيم Gram-positive endospore-forming rods and cocci	لا تعرف لها عائلات	Bacillus, Sporolactobacillus, Clostridium, (Desulfotomaculum) *

القسم (المجموعة)**	الوصف	العائلة Family	الأجناس Genera
14(19)	البكتيريا العصوية المنتظمة الشكل ، الموجبة الجرام الغير متجرثمة، Gram- ،nonsporing regular rods positive	لا تعرف لها عائلات	Lactobacillus, Carnobacterium, Brochothrix, Listeria
15(20)	البكتيريا العصوية الموجبة لجرام الغير منتظمة الشكل غير المتجرثمة، Gram-positive,nonsporing irregular rods	لا تعرف لها عائلات	Corynebacterium Brevibacterium، Propionibacterium، Bifidobacterium

***الجنس *Desulfotomaculum* سالب لصبغة جرام.**

****القسم: كما هو موجود في كتاب: Bergys's Manual of Systematic Bacteriology**

الرقم ما بين قوسين كما هو موجود في كتاب: Bergys's Manual of Determinative Bacteriology.

المصدر: RAY (2004).

جدول (2.2) اختبارات IMViC لأنواع وأجناس من العائلة المعوية *Enterobacteriaceae*

Citrate	Voges Proskauer	Methyl red	Indole	
-	-	+	+	*Escherichia coli*
-	-	+	v	*Shigella*
-	-	+	-	*Salmonella Typhimurium*
+	-	+	-	*Citrobacter freundii*
+	+	-	-	*Klebsiella pneumoniae*
+	+	-	-	*Enterobacter aerogenes*

المصدر: ADAMS & MOSS,(2008)

6.2.3.2 الجنس *Hafnia*

بكتيريا عصوية صغيرة متحركة تتواجد في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات والطيور وتوجد في البيئة ومرتبطة بفساد الأغذية المبردة مثل اللحوم والخضروات ولها نوع واحد حتى الآن هو *Hafnia alvei*.

7.2.3.2 الجنس *Klebsiella*

بكتيريا عصوية متوسطة توجد منفردة أو في أزواج متحركة وتكّون غلافاً أو محفظة Capsulated ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة. تتواجد في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات والطيور وتتواجد في التربة والمياه والحبوب والأغذية المجمدة وتسبب فساد لبعض الأغذية وهي مدرجة في المجموعة القولونية كمؤشر على التلوث البرازي للأغذية، أهم أنواعها *Klebsiella pneumonia*.

8.2.3.2 الجنس *Morganella*

بكتيريا عصوية صغيرة متحركة ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة موجودة في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات يمكن أن تكون مسببة للأمراض ولكن لم يتم تسجيلها كأحد مسببات الأمراض المنقولة بالأغذية. أهم أنواعها *Morganella morganii*.

9.2.3.2 الجنس *Proteus*

بكتيريا مستقيمة وعصوية صغيرة تتواجد مفردة أو في أزواج أو سلاسل قصيرة عالية الحركة والبعض منها ينمو عند درجات حرارة منخفضة. تتواجد في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات وتوجد في البروتينات الحيوانية المتحللة وتسبب فساداً للأغذية مثل البيض واللحوم والأغذية البحرية. تواجدها بأعداد كبيرة في الأغذية غير المبردة قد يؤدي لحدوث تسمم غذائي للإنسان، أهم أنواعها *Proteus vulgaris*.

10.2.3.2 الجنس *Salmonella*

بكتيريا عصوية متوسطة عادةً متحركة بأسواط محيطة بالخلية محبة لدرجات الحرارة

المتوسطة لا تخمر اللاكتوز أو السكروز، هناك أكثر من 2000 طراز مصلي Serovars تابع لهذا الجنس، وهي موجبة لاختبار الكاتليز وسالبة لاختبار الأوكسديز وتعتبر من مسببات الأمراض للإنسان، توجد في محتويات الأمعاء للإنسان والحيوانات والطيور والحشرات، كما قد تتواجد في بعض المنتجات الغذائية والعلائق ومعدات التصنيع كملوث وهي من أهم أنواع البكتيريا المسببة للأمراض المنقولة عن طريق الأغذية ومنها *Salmonella enterica ssp. enterica*.

11.2.3.2 الجنس *Shigella*

بكتيريا عصوية متوسطة غير متحركة وهي محبة لدرجات الحرارة المتوسطة، توجد في أمعاء الإنسان ومرتبطة بفساد الأغذية ومن أنواعها *Shigella dysenteriae* الممرض للإنسان (عدوى غذائية).

12.2.3.2 الجنس *Serratia*

بكتيريا عصوية صغيرة متحركة ومستعمراتها بيضاء أو وردية أو حمراء وبعض منها تنمو عند درجة حرارة التبريد. هوائية ومحللة للبروتين Proteolytic وتوجد في التربة والمياه والقناة الهضمية والنباتات وعلى شعر الحيوانات وفي معدات الأغذية. وتسبب فساد للأغذية ومن أنواعها *Serratia marcescens* التي تنتج صبغات حمراء وتسبب تلون الغذاء و*Serratia liquefaciens* نوع سائد وتسبب فساد اللحوم والخضروات المبردة.

13.2.3.2 الجنس *Yersinia*

بكتيريا عصوية صغيرة متحركة أو غير متحركة لا تخمر اللاكتوز، تنمو عند درجات

حرارة من 4 – 37 م^{o} كما تستطيع النمو عند درجة 1م^{o} وتبقى حية أثناء التجميد، توجد في أمعاء الحيوانات وعزلت من المياه وكثير من الأغذية مثل اللحوم والأسماك والدجاج والبيض والحيوانات الصدفية البحرية والحليب ومنتجاته خاصة المثلجات اللبنية النوع *Yersinia enterocolitica* تورط في تفشي الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية حيث يسبب عدوى غذائية Foodborne gastroenteritis.

14.2.3.2 الجنس *Vibrio*

بكتيريا عصوية منحنية متحركة ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة. توجد في المياه العذبة والبيئة البحرية وبعض أنواعها تحتاج لكلوريد الصوديوم (NaCl) لكي تنمو والعديد من أنواعها ممرضة إذا انتقلت للإنسان عن طريق الغذاء أو الماء مثل *Vibrio cholera* و *V. Parahaemolyticus vulnificus* بينما أنواعاً أخرى تسبب فساد للأغذية مثل *V. alginolyticus*.

15.2.3.2 الجنس *Aeromonas*

بكتيريا عصوية صغيرة مفردة أو في أزواج متحركة بأسواط طرفية موجبة لاختبار الكاتليز والأوكسديز وتستطيع اختزال النترات ومحبة للبرودة Psychrotrophs. وتوجد في البيئة المائية والأسماك والمنتجات البحرية، النوع *Aeromonas hydrophila* يمكن أن يسبب عدوى غذائية (التهاب معوي: Gastroenteritis) للإنسان خاصة الأطفال ومن يعانون من ضعف المناعة، كما يعتبر هذا النوع من الممرضات الأساسية للأسماك.

16.2.3.2 الجنس *Plesiomonas*

بكتيريا عصوية صغيرة متحركة وتوجد في الأسماك والحيوانات المائية والنوع *Plesiomonas shigelloides* ويعتقد أنها أحد مسببات الأمراض المنقولة عن طريق الغذاء.

3.3.2 الركتسيا Rickettsias

الركتسيا بكتيريا ذات خلايا كروية أو عصوية صغيرة جداً سالبة لصبغة جرام، وهي متطفلة إجبارية Interacelluar Obligate Parasites لا تعيش إلا داخل العائل كان يعتقد قديماً أن الركتسيا هي عبارة عن فيروسات نظراً لتطفلها الإجباري ولكنها وضعت مع البكتيريا نظراً لانسجام خصائصها مع خصائص البكتيريا وليس مع خصائص الفيروسات.

من أهم هذه الخصائص أنها تحتوي الحمضين النوويين DNA و RNA كما أنها تتكاثر بالانقسام الثنائي البسيط وتستطيع أنتاج ATP كمصدر للطاقة وتحتوي خلاياها على نشاط أيضي إنزيمي، الريكتسيا عوامل مسببة للعديد من الأمراض مثل حمى التيفوس وحمى كيو، اختراق خلية الريكتسيا لخلية العائل هي عملية نشطه تتطلب أن يكون العائل والطفيل حيين ونشيطين أيضياً البكتيريا عندما تكون داخل خليه العائل تتضاعف أساساً في السيتوبلازم وتستمر بالتضاعف حتى تمتلئ خلية العائل بالطفيل ثم تتمزق خلية العائل وتتحرر البكتيريا إلى السائل المحيط ومن أهم الأجناس التابعة لعائلة *Rickettsiaceae* الهامة في مجال الأغذية هو جنس *Coxiella*.

1.3.3.2 الجنس *Coxiella*

ينتمي لهذا الجنس نوع واحد وهو النوع *Coxiella burnetii*: بكتيريا سالبة لصبغة

جرام غير متحركة خلاياها صغيرة جداً: (0.2 × 0.5 ميكروميتر) متطفلة إجبارياً تنمو في خلايا المضيف تقاوم نسبيا درجات الحرارة العالية (62 م^{o} لمدة 30 دقيقة)، تسبب إصابة للأبقار وحمى كيو (Q fever) للإنسان وخاصة الذين يستهلكون الحليب الغير مبستر، ولقد سميت الحمى التي تسببها هذه الريكيتسيا بهذا الاسم نسبة إلى المكان الذي اكتشفت فيه وهي أستراليا (منطقة Queensland) من قبل الباحث Burnet وأعراض هذه الحمى تشبه أعراض الأنفلونزا، وتبعاً لذلك أقترح باستير الزمن ودرجة الحرارة اللازمة للبسترة على أن تكون 8.62 م^{o} لمدة 30 دقيقة لضمان القضاء على هذه البكتيريا وبالتالي القضاء على كل البكتيريا الممرضة للإنسان، *Coxiella burnetii* هي الأكثر مقاومه بين الريكتسيا للظروف الطبيعية مثل الجفاف لأنها تنتج أشكال شبيهه بالجراثيم الداخلية وهذا يفسر قدرتها على البقاء في الهواء.

4.3.2 البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام Gram-Positive Cocci

1.4.3.2 الجنس *Micrococcus*

بكتيريا كروية (2.0 – 2 ميكروميتر) توجد في أزواج ثلاثية أو مجموعات هوائية إجبارية غير متحركة وبعض الأنواع تنتج مستعمرات صفراء، محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ومقاومة للبرودة، ويمكنها أن تنمو في تركيز 5% كلوريد صوديوم، توجد في التربة والماء وعلى جلد الإنسان وفي الكثير من الأغذية، وتستطيع أن تسبب الفساد لبعض الأغذية ومنها *Micrococcus luteus*.

2.4.3.2 الجنس *Staphylococcus*

بكتيريا كروية توجد مفردة أو في أزواج أو في تجمعات تشبه عناقيد العنب غير متحركة ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة لاهوائية اختيارية وتستطيع النمو في تركيز من الملح NaCl يتراوح من 5.7 إلى 15% مصدرها الرئيسي جلد الإنسان والحيوانات والطيور، وهى حساسة للحرارة والنوع *Staphylococcus aureus* يسبب تسمم غذائي نتيجة إفراز سموم في الأغذية.

3.4.3.2 الجنس *Streptococcus*

بكتيريا بيضاوية أو كروية توجد في أزواج أو في سلاسل غير متحركة لاهوائية اختيارية ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة سالبة لأنزيم الكاتليز تخمر الجلوكوز منتجة حامض لاكتيك وتنمو عند درجة 50 م°، النوع *Streptococcus pyogenes* ممرض ويوجد متعايش في الجهاز التنفسي للإنسان ويسبب الحمى القرمزية وينتقل عن طريق الأغذية، والنوع *S. thermophilus* يستخدم كبادئ (Starter) في صناعة الزبادي كما يمكن أن يوجد في الحليب الخام.

4.4.3.2 الجنس *Enterococcus*

بكتيريا كروية توجد في أزواج أو سلاسل غير متحركة ومحبة لدرجات الحرارة المعتدلة ومصدرها الطبيعي أمعاء الإنسان والحيوانات والطيور وأيضا توجد على النباتات وفي التربة والمياه. ويمكنها أن تلوث معدات الأغذية وتستخدم كمؤشر على التلوث البرازي كما أنها تسبب فساد الأغذية ومن أنواعها *Enterococcus faecalis* وتسبب سلالات هذا النوع

أمراضاً للإنسان.

5.4.3.2 الجنس *Lactococcus*

خلايا هذا الجنس بيضاوية مطولة توجد في أزواج أو في سلاسل قصيرة غير متحركة لاهوائية اختيارية محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ولكن تستطيع النمو عند درجة 10م^{o}، تخمير الكربوهيدرات وتنتج حمض اللاكتيك فقط ولذلك تسمى بكتيريا حامض اللاكتيك متجانسة التخمر Homofermentative توجد في الحليب الخام والنبات وتستخدم أنواع هذا الجنس في إنتاج العديد من الأغذية الحيوية Bioprocessed foods المصنعة خاصة منتجات الألبان المخمرة مثل الأنواع *Lactococcus lactis subsp. Lactis* و *Lactococcus lactis subsp. cremoris* العديد من السلالات تنتج مواد مضادة لنمو البكتيريا تسمى البكتيريوسين (Bacteriocins) وبعض هذه المواد لها تأثير واسع ضد البكتيريا الموجبة لجرام مما يزيد من احتمالية استخدامها كمواد حافظة حيوية للأغذية.

6.4.3.2 الجنس *Leuconostoc*

بكتيريا كروية أو عدسية الشكل توجد في أزواج أو في سلاسل وغير متحركة لاهوائية اختيارية. محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ولكن بعض الأنواع أو السلالات تستطيع النمو عند درجة حرارة 3 م^{o} أو أقل. توجد هذه البكتيريا في النباتات واللحوم والحليب. تخمر أفراد هذا الجنس الجلوكوز وتنتج حامض وكحول إيثيلي وثاني أكسيد الكربون ولذلك تعتبر بكتيريا مختلطة التخمر Heterofermentative. ما يميز بعض أنواع هذا الجنس هو قدرتها على تحمل تركيزات عالية من الملح وبعض الأنواع الأخرى تتحمل تركيزات عالية من السكر

(من 55 إلى 60%). السلالات المحبة للبرودة تفسد الأغذية المبردة المعبأة تحت تفريغ Vacuum-packaged refrigerated foods.

الأنواع: *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* و *L. Lactis* و *L. carnosum* و *L. mesenteroides subsp dextranicum* تنتج dextran عندما تنمو على السكروز مما يسبب لزوجة في المحاليل السكرية ويعتبر هذا الجنس من المشاكل في صناعة السكر وبعض السلالات تسبب عيوباً في نكهة مركزات البرتقال، بعض منها تستخدم كبادئ في صناعة الخضروات المملحة ومنتجات الألبان المتخمرة، العديد من السلالات تنتج البكتريوسين Bacteriocins المضاد لنمو الكثير من البكتيريا الموجبة الصبغة جرام.

7.4.3.2 الجنس *Pediococcus*

بكتيريا كروية تتواجد في أشكال رباعية Tetrads أو سلاسل أغلبها توجد في أزواج غير متحركة لاهوائية اختيارية متجانسة التخمر Homofermentative محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ولكن بعض منها يستطيع النمو عند 50م^{o} والبعض منها ينجو خلال عملية البسترة. مقاومة للملوحة حيث تستطيع النمو في تركيز 5.5% ملح وبعض السلالات والأنواع تستخدم في تخمير الأغذية. توجد في الخضروات والمخللات وبعض منتجات الأغذية الأخرى. ومن أنواعها *Pediococcus acidilactici* و *P. pentosaceus*. والعديد من سلالاتها تنتج البكتريوسين Bacteriocins.

8.4.3.2 الجنس *Sarcina*

بكتيريا كروية كبيرة غير متحركة توجد في تجمعات من ثمانية خلايا أو أكثر تنتج حمض وغاز من الكربوهيدرات لاهوائية اختيارية توجد في التربة والمنتجات النباتية وبراز الحيوانات وتستطيع أن تسبب فساد للأغذية النباتية المصدر ومن أنواعها.

5.3.2 البكتيريا العصوية الموجبة لجرام المكونة للجراثيم

Gram-Positive, Endospore-Forming Rods

1.5.3.2 الجنس *Bacillus*

بكتيريا عصوية موجبة لصبغة جرام مستقيمة تتفاوت في الحجم بشكل واسع (صغيرة أو متوسطة أو كبيرة). تتواجد مفردة أو في سلاسل متحركة أو غير متحركة تتفاوت أفراد هذا الجنس في مدى درجات حرارة النمو فمنها ما هو محب لدرجات الحرارة المتوسطة أو محب للبرودة Psychrotrophic أو محب لدرجات الحرارة العالية. ولذلك تتراوح درجة الحرارة الدنيا لهذا الجنس من -5 إلى 45 مْ (23 إلى 113 فْ) ودرجة الحرارة القصوى للنمو تتراوح من 25مْ (77فْ) لبعض الأنواع إلى 75 مْ (167فْ) للبعض الآخر. الأنواع في هذا الجنس هوائية أو لاهوائية اختيارية منتجة لأنزيم الكاتليز وجميع جراثيمها داخلية Endospores ويكون شكل الجراثيم كروي أو بيضاوي ويمكن أن تكون كبيرة أو صغيرة الحجم (واحدة لكل خلية)، والجراثيم مقاومة لدرجات الحرارة العالية.

يتراوح مدى الأس الهيدروجيني للنمو من 2 إلى 8 بعضها لا يتحمل 2% ملح بينما أنواع أخرى تنمو في تركيز يصل إلى 25%، المصدر الرئيسي لهذا الجنس هو التربة والغبار

والمنتجات النباتية. يمكن أن تتنقل إلى الأغذية عن طريق المواد الخام الداخلة في تصنيع بعض الأغذية أو من بعض المضافات مثل الدقيق والتوابل والنشا والسكر والتي يمكن أن تحتوي على جراثيم أنواع هذا الجنس. العديد من الأنواع والسلالات تستطيع أن تنتج إنزيمات خارج الخلية والتي تحلل الكربوهيدرات والبروتينات والدهون وتسبب فساد للأغذية خاصة الأغذية المعلبة. العديد من الأنواع مهمة في مجال الغذاء لأنها تستطيع أن تسبب الأمراض والتسممات للإنسان، النوع *B.coagulans* يسبب فساد منتجات الطماطم المعلبة. أما النوع و *B.stearothermophilus* يسبب فساد الأغذية المعلبة منخفضة الحموضة. والنوع *B.subtilis* يحلل البكتين والسكريات في المنتجات النباتية ويؤدي إلى تلفها بينما النوع *B.cereus* يسبب تسمم غذائي للإنسان. أنزيمات بعض الأنواع والسلالات تستخدم في التصنيع الحيوي للأغذية.

2.5.3.2 الجنس *Clostridium*

البكتيريا عصوية موجبة لصبغة جرام سالبة لإنزيم الكاتليز تتفاوت بشكل واسع في الشكل والحجم متحركة أو غير متحركة لا هوائية إجبارية ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة Mesophilic أو محبة للبرودة Psychrotrophic، تكون جراثيم داخلية (بيضاوية أو كروية) عادة عند أحد طرفي الخلية جراثيمها مقاومة للحرارة، أنواع هذا الجنس توجد في التربة والرواسب البحرية ومياه الصرف الصحي والنباتات المتحللة والحيوانات ومنتجات النباتات وكذلك في الأعلاف والسماد، تقاوم تراكيز ملحية (كلوريد صوديوم) من 5.2 إلى 5.6%

كما يتم تثبيط نموها بوجود 0.5 إلى 1% نترات صوديوم.

بعض الأنواع مهمة في مجال الأغذية مثل: *Clostridium botulinum* والتي تسبب تسمم غذائي خطير للإنسان كما أن المعاملات الحرارية المطبقة في صناعة تعليب الأغذية ذات الحموضة المنخفضة تحسب على أساس القضاء على جراثيم هذه البكتيريا، النوع *Cl. Perfringens*: ممرض ويسبب عدوى غذائية للإنسان *Cl. tyrobutyricum* و *Cl. aramie* و *Cl. saccharolyticum*: تسبب فساد للأغذية عن طريق إنتاج أحماض وغازات وتعفن. وبعض أنواعها تستخدم كمصدر للإنزيمات المحلّلة للكربوهيدرات والبروتين في الصناعات الغذائية.

3.5.3.2 الجنس *Sporolactobacillus*

بكتيريا رقيقة وعصوية متوسطة الحجم (1×4 ميكروميتر) متحركة محبة للقليل من الهواء Microaerophilic وتكون جراثيم داخلية ولكن جراثيمها أقل مقاومة لدرجات الحرارة من جراثيم الجنس *Bacillus* وتوجد في أعلاف الدجاج والتربة وأهميتها للأغذية غير معروفة بوضوح ومن أنواعها *Sporolactobacillus inulinus*.

6.3.2 البكتيريا العصوية السالبة لصبغة جرام المكونة للجراثيم

Gram-Negative, Endospore-Forming Rods

1.6.3.2 الجنس *Desulfotomaculum*

يحتوي هذا الجنس نوع واحد له أهمية في الغذاء وهو *Delsufatomaculum nigrificans* عصوية متوسطة الحجم ومتحركة ومحبة لدرجات الحرارة

العالية Thermophilic لاهوائية إجبارية، تنتج H_2S من اختزال الكبريتات والكبريتيت، جراثيمها الداخلية تكون بيضاوية ومقاومة للحرارة، وتوجد في التربة وتسبب الفساد الكبريتدي في الأغذية المعلبة.

7.3.2 البكتيريا العصوية المنتظمة الشكل غير المكونة للجراثيم الموجبة الجرام
Gram-Positive, Nonsporulating Regular Rods

1.7.3.2 الجنس *Lactobacillus*

بكتيريا عصوية أسطوانية تتفاوت بشكل واسع في الشكل والحجم، بعض منها طويلة جد اً بينما البعض الآخر مكورات عصوية Coccobacilli توجد مفردة أو في سلاسل صغيرة أو كبيرة لاهوائية اختيارية أغلب أنواعها غير متحركة. سالبة لاختبار الكاتليز ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة Mesophilic (ولكن بعضها محبة للبرودة Psychrotrophic)، بعض أنواعها مختلطة التخمر والبعض الآخر متجانسة التخمر. تتواجد في النباتات واللحوم والحبوب والحليب والمخللات وبراز الحيوانات، العديد منها يستخدم في إنتاج الأغذية المتخمرة مثل *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* التي تستخدم كبادئ في صناعة الزبادي *Lb. helveticus* و *Lb. plantarum* (ف *d* صناعة المخللات) والبعض منها يستخدم لإنتاج الأغذية المتخمرة العلاجية (بروبايوتك Probiotics) مثل *Lb. reuteri* و *Lb. casei* و *Lb. acidophilus subsp. Casei* البعض منها ينمو في المنتجات المخزنة تحت تفريغ على درجات حرارة منخفضة Refrigerated temperature ويسبب فسادها مثل *Lb. sake* و *Lb. curvatus*. والعديد من سلالاتها تنتج البكتريوسين

Bacteriocins ولذلك هناك إمكانية لاستخدامها كمواد حافظة للأغذية.

2.7.3.2 الجنس *Carnobacterium*

بكتيريا لديها العديد من الصفات تشبه خلايا جنس *Lactobacillus* توجد في اللحوم والأسماك لاهوائية اختيارية مختلطة التخمر غير متحركة ولها القدرة على النمو في الأغذية خاصة في منتجات اللحوم المخزنة في درجات حرارة منخفضة. بعض من سلالاتها تنتج البكتيروسين ومن أنواعها *Carnobacterium piscicola*.

3.7.3.2 الجنس *Brochothrix*

ويضم بكتيريا لديها العديد من الصفات تشبه خلايا جنس *Lactobacillus* لاهوائية اختيارية غير متحركة مختلطة التخمر. درجة الحرارة المثلى للنمو من 20 إلى 25 م° (68 – 77 ف°) والمدى الحراري للنمو من صفر إلى 45 م° (32 - 113 ف°) تنمو في مدى واسع من الأس الهيدروجيني (5 - 9) وتنمو أيضا في تركيزات ملحية عالية (6.5 - 10%). توجد في اللحوم وتستطيع أن تنمو في اللحوم المعبأة تحت تفريغ (ظروف لا هوائية) والمخزنة في درجات الحرارة المنخفضة ومن أنواعها *Brochothrix thermosphacta*.

4.7.3.2 الجنس *Listeria*

بكتيريا عصوية قصيرة (0.5 × 1 ميكروميتر) موجبة لصبغة جرام، توجد منفردة أو في سلاسل قصيرة متحركة لاهوائية اختيارية، تستطيع النمو عند درجة حرارة 1 إلى 42 م° (33.8 - 108 ف°) تنمو في مدى واسع من الأس الهيدروجيني (5.6 - 9.8) موجبة للكاتليز،

تموت أثناء البسترة وأنواعها ذات انتشار واسع في البيئة وعزلت من أنواع عديدة من الأغذية منها النوع *Listeria monocytogenes* الذي يفسد الأغذية المبردة خاصة ذات الأس الهيدروجيني أعلى من 6 مثل الألبان ومنتجاتها واللحوم ومنتجاتها والأسماك والخضروات حيث يستطيع النمو على درجة حرارة التبريد كما يعتبر هذا النوع من الممرضات المنقولة عن طريق الأغذية حيث يسبب عدوى غذائية للإنسان.

8.3.2 بكتيريا عصوية موجبة لصبغة جرام غير منتظمة الشكل غير مكونة للجراثيم Gram-Positive, Nonperforming Irregular Rods

1.8.3.2 الجنس *Corynebacterium*

يضم هذا الجنس أنواع ممرضة للإنسان والنبات وأنواع غير ممرضة. وهي بكتيريا عصوية مستقيمة أو منحنية قليلاً ولها ميل لتكوين أشكال هراوة ومستدقة الراس club and pointed shape موجبة لصبغة جرام ولاهوائية اختيارية محبة لدرجات الحرارة المتوسطة.

وتوجد في التربة والمياه والنباتات والحيوانات خاصة ضرع الأبقار، أهم أنواعها *C.diphtheriae* وهو المسبب لمرض الدفتيريا للإنسان والمنقول عن طريق الغذاء، بعض أنواعها تسبب فساد للأغذية، النوع *Corynebacterium glutamicum* يستخدم لإنتاج حمض الجلوتاميك Glutamic acid.

2.8.3.2 الجنس *Brevibacterium*

خلايا هذه البكتيريا يمكنها أن تتغير من عصوية إلى كروية الشكل هوائية غير

متحركة ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة، هناك نوعان منها هما *Brevibacterium linens* و *B. casei* قد يتسببان في تطور نكهة العديد من أصناف الأجبان (نضوج السطح) وذلك لأنها تنتج مركبات الكبريت (مثل *methanethiol*)، يمكن أن تسبب فساد للأغذية الغنية بالبروتين مثل الأسماك وتوجد في أنواع الأجبان المختلفة والحليب الخام.

3.8.3.2 الجنس *Propionibacterium*

عصوية متعددة الأشكال مكورة أو متفرعة. توجد مفردة أو في سلاسل قصيرة على هيئة حروفV&Y وفي تجمعات مثل ترتيب الحروف الصينية، بكتيريا غير متحركة ولاهوائية وموجبة لاختبار الكاتليز ومحبة لدرجات الحرارة المتوسطة وتنتج حامض البرولين والبروبيونيك والخليك وثاني أكسيد الكربون، وتوجد في الحليب الخام والأعلاف والجبنة السويسرية النوع Propionibacterium freudenreichii يستخدم لتسوية الجبن السويسري.

4.8.3.2 الجنس *Bifidobacterium*

عصوية متعددة الأشكال توجد منفردة أو في سلاسل تنتظم على شكل V أو على شكل نجمة غير متحركة محبة لدرجات الحرارة المتوسطة لاهوائية. تخمر الكربوهيدرات إلى حمض لاكتيك وحمض خليك، وتوجد في قولون الإنسان والحيوانات والطيور. وبعض أنواعها تستخدم في إنتاج الألبان المتخمرة العلاجية مثل *B. infantis* و*B. Adolescentis* و *Bifidobacterium bifidum*.

9.3.2 الجنس *Mycobacterium*

هذا الجنس يتبع عائلة *Mycobacteriaceae* والتي تتبع القسم 16 (section 16) طبقاً للتقسيم المتبع في الطبعة التاسعة لمرجع بيرجي قد تظهر أفراد هذا الجنس تفرعاً غير حقيقي أو معدوم، خلايا هذا الجنس عصوية مستقيمة غير متحركة موجبة لصبغة جرام وموجبة للصبغ المقاوم للأحماض، تحتوي خلايا هذا الجنس على مواد شمعية أو دهنية كثيرة خاصة حمض الميكوليك mycolic acid والذى يعطيها إيجابية للصبغ المقاوم للأحماض acid-fast النوع *M. tuberculosis* من أهم الأنواع وهو المسبب لمرض السل في الإنسان والحيوان حيث أن الغذاء الملوث (الحليب) يعتبر أحد وسائل نقل هذا المرض للإنسان.

4.2 مجموعات البكتيريا الهامة في الأغذية

تعتبر البكتيريا من أهم المجموعات من بين الأحياء الدقيقة الموجودة في الأغذية وذلك ليس فقط بسبب وجود الأنواع المختلفة منها في الأغذية ولكن أيضا بسبب معدل سرعة نموها وقدرتها على الاستفادة من المغذيات الموجودة في الأغذية وقدرتها على النمو في الظروف المختلفة من المدى الواسع لدرجات الحرارة والتهوية والأس الهيدروجيني (pH) والنشاط المائي كذلك قدرتها على البقاء في الظروف الغير مناسبة مثل مقاومة الجراثيم لدرجات الحرارة العالية، تم تقسيم البكتيريا إلى مجموعات اعتماداً على التشابه في صفاتها وهذه المجموعات ليس لها أي أهمية تصنيفية وهي كالتالي:

1.4.2 بكتيريا حامض اللاكتيك Lactic Acid Bacteria

وهي البكتيريا التي تنتج كميات كبيرة نسبياً من حمض اللاكتيك نتيجة تخمير الكربوهيدرات وأنواعها غالباً من هذه الأجناس *Lactococcus* و *Leuconostoc* و *Pediococcus* و *Lactobacillus* و *Streptococcus* وتتواجد بكتيريا حمض اللاكتيك في الحليب ومنتجاته والنباتات المخللة واللحوم والخضر والفواكه والعصائر والحبوب وفي أمعاء وفم الإنسان تخمر هذه البكتيريا اللاكتوز بطريقتين:

أ. التخمر المتجانس Homofermentation: في هذا النوع من التخمر يتحول أكثر من 90% من سكر اللاكتوز إلى حامض لاكتيك بحيث يكون هو الناتج الأساس لعملية التخمر وقد تتكون كميات قليلة من حامض الفورميك وحامض الخليك مع حامض اللاكتيك.

ب. التخمر غير المتجانس Heterofermentation: في التخمر الغير متجانس يتحول 50% فقط من سكر اللاكتوز إلى حامض لاكتيك و25% إلى ثاني أكسيد كربون و 25% إلى حمض خليك أو الإيثانول، تنتمي البكتيريا المنتجة لحامض اللاكتيك لعدة أجناس مثل *Leuconostoc* و *Lactobacillus*.

2.4.2 بكتيريا حامض الخليك Acetic Acid Bacteria

وهي البكتيريا التي تنتج حمض الخليك مثل *Acetobacter aceti*. وتنتج حمض الخليك كناتج أساسي حيث تقوم بأكسدة الكحول الإيثيلي وتحوله إلى خل وأهم جنس يقوم بهذه الأكسدة هو جنس *Acetobacter*.

3.4.2 بكتيريا حمض البروبيونيك Propionic Acid Bacteria

وهي البكتيريا التي تنتج حمض البروبيونيك أغلبها يوجد في جنس *Propionibacterium* الذي يستخدم كبادئ في تصنيع الجبن السويسري لإعطاء نكهة حامض البربيونيك المميزة حيث تحول هذه البكتريا حامض اللاكتيك المتكون بالجبن نتيجة تخمر سكر اللبن بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك إلى حمض بروبيونيك وحامض خليك (تعطي النكهة للجبن) وثاني أكسيد الكربون الذي يكون الثقوب المميزة للجبن السويسري ومن أمثلتها *Propionibacterium freudenreichii* التي تستخدم في تخمير الألبان.

4.4.2 بكتيريا حمض البيوتريك Butyric Acid Bacteria

وهي البكتيريا التي تنتج حمض البيوتريك بكميات كبيرة نسبياً ومنها بعض من Clostridium spp. مثل Clostridium butyricum.

5.4.2 البكتيريا المحللة للبروتين Proteolytic Bacteria

وهي البكتيريا التي تستطيع أن تحلل البروتينات لأنها تنتج إنزيمات البروتينيز *proteinases* خارج الخلية وأنواعها من هذه الأجناس *Pseudomonas* و*Alteromonas* و *Flavobacterium* و *Alcaligenes* و *Micrococcus* و *Staphylococcus* و *Bacillus* و *Clostridium* وبعض من *Enterobacteriaceae* و *Brevibacterium*.

6.4.2 البكتيريا المحللة للدهن Lipolytic Bacteria

وهي البكتيريا التي لها القدرة على أن تحلل الدهون الثلاثية لأنها تنتج أنزيمات اللاييز

lipases خارج الخلية وأنواعها من هذه الأجناس *Micrococcus* و *Staphylococcus* و *Pseudomonas Alteromonas* و *Flavobacterium*.

7.4.2 البكتيريا المحللة للسكريات Saccharolytic Bacteria

وهي البكتيريا التي القدرة على تحليل السكريات المعقدة مثل أنواع هذه الأجناس *Bacillus* و*Clostridium* و*Aeromonas* و*Pseudomonas* و *Enterobacter*.

8.4.2 البكتيريا المحبة للحرارة العالية Thermophilic Bacteria

وهي البكتيريا القادرة على النمو عند 50 م° أو أعلى، وأنواعها تقع في هذه الأجناس *Bacillus* و *Clostridium* و *Pediococcus* و *Streptococcus* و *Lactobacillus* يمكن أن تسبب فساد الأغذية المعاملة بالحرارة المرتفعة مثل بعض الأنواع من جنس *Bacillus* التي تسبب الفساد الحامضي المسطح في الأغذية المعلبة.

9.4.2 البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrtolerant Bacteria

وهي البكتيريا القادرة على النمو في درجة حرارة الثلاجة (أقل من أو تساوي 5 م°) وتشمل بعض الأنواع من *Pseudomonas* و *Alteromonas* و *Alcaligenes* و *Serratia* و *Bacillus* و *Clostridium* و *Lactobacillus* و *Flavobacterium* و *Leuconostoc* و *Carnobacterium* و *Brochothrix* و *Listeria* و *Yersinia* و *Aeromonas*.

10.4.2 البكتيريا المتحملّة للحرارة Thermoduric Bacteria

وهي البكتيريا لها القدرة على البقاء حية في درجة حرارة البسترة وتشمل بعض

الأنواع من *Micrococcus* و *Enterococcus* و *Lactobacillus* و *Pediococcus* وجراثيم كل من بكتيريا *Bacillus* و *Clostridium*.

11.4.2 البكتيريا المتحملّة للملوحة Halotolerant Bacteria

وهي البكتيريا التي تكون قادرة على البقاء حية في تركيزات عالية من الملح (أكثر من أو تساوي 10%) وتشمل بعض الأنواع من *Bacillus* و *Micrococcus* و *Staphylococcus* و *Pediococcus* و *Vibrio* و *Corynebacterium* وهذه الأنواع لها أهميتها في الأغذية المملحة والمخللات.

12.4.2 البكتيريا المقاومة للحموضة Aciduric Bacteria

وهي البكتيريا التي تكون قادرة على البقاء حية في درجة الحموضة المنخفضة (pH: أقل من 4) وتشمل بعض الأنواع من *Lactobacillus* و *Pediococcus* و *Lactococcus* و *Enterococcus* و *Streptococcus*.

13.4.2 البكتيريا المحبة للضغط الأسموزي العالي Osmophilic Bacteria

وهي البكتيريا التي يمكن أن تنمو في بيئة ذات ضغط أسموزي عالي نسبياً من ذلك اللازم للأنواع الأخرى من البكتيريا وتشمل بعض أنواع الأجناس *Staphylococcus* و *Lactobacillus* و *Leuconostoc* أنواع من جنس *Leuconostoc* تسبب مشاكل كبيرة في عصير السكروز حيث تكّون مواد لزجة تعوق صناعة السكر. ولكن في العموم تعتبر البكتيريا أقل في قدرتها على تحمل الضغط الأسموزي العالي من الخمائر والأعفان.

14.4.2 البكتيريا المنتجة للغاز Gas-Producing Bacteria

وهي البكتيريا التي تنتج غاز ثاني أكسيد الكربون CO_2 والهيدروجين H_2 وكبريتيد الهيدروجين H_2S خلال عملية التمثيل الغذائي للمغذيات. وتضم بعض أنواع هذه الأجناس أجناس تنتج ثاني أكسيد الكربون مثل *Propionibacterium* و *lactobacillus* و *Leuconostoc* وأجناس تنتج ثاني أكسيد الكربون والهيدروجين *Clostridium* و *Bacillus* و *Proteus* و *Enterobacter* و *Escherichia* وأجناس تنتج H_2S مثل *Desulfotomaculum*.

15.4.2 البكتيريا المنتجة للمواد اللزجة Slime Producers

وهي البكتيريا التي تنتج مادة لزجة (Slime) لأنها تقوم بإنتاج السكريات المتعددة (Polysaccharides) وتضم بعض من أنواع أو سلالات *Xanthomonas* و *Leuconostoc* و *Alcaligenes* و *Enterobacter* و *Lactococcus* و *Lactobacillus* ومن أمثلتها *Alcaligenes viscosus* و *Enterobacter aerogenes* والأخيرة تسبب لزوجة اللبن والذي يطلق عليه الحليب الخيطي Ropy milk أما *Leuconostoc* فتسبب لزوجة المحاليل السكرية، بعض أنواع الجنس *Lactobacillus & Streptococcus* تجعل الحليب خيطياً أو لزجاً وبعض أنواع الجنس *Micrococcus* تسبب لزوجة المحلول الملحي للحم.

16.4.2 البكتيريا المكونة للجراثيم Spore Formers

وهي البكتيريا التي لها القدرة على إنتاج الجراثيم وأنوعها تنتمي للأجناس التالية:

Bacillus و *Clostridium* و *Desulfotomaculum* وتقسم أيضا إلى البكتيريا المكونة للجراثيم المحبة للحرارة أو اللاهوائية أو الهوائية أو المنتجة للكبريتيد.

17.4.2 البكتيريا الهوائية Aerobes

وهي البكتيريا التي تحتاج لوجود الأكسجين أثناء نموها وتكاثرها وتنتمى أنواعها إلى الأجناس: *Pseudomonas* و *Bacillus* و *Flavobacterium*.

18.4.2 البكتيريا اللاهوائية Anaerobes

وهي البكتيريا التي لا تنمو في وجود الأكسجين وتضم أنواعاً من الجنس *Clostridium*.

19.4.2 البكتيريا اللاهوائية الاختيارية Facultative Anaerobes

وهي البكتيريا التي لها القدرة على النمو في وجود الأكسجين أو عدم وجوده مثل *Lactobacillus* و *Pediococcus* و *Leuconostoc* والبكتيريا الممرضة من أصل معوي Enteric pathogens وبعض أنواع *Bacillus* و *Serratia* وبكتيريا القولون Coliforms.

20.4.2 بكتيريا القولونColiform bacteria

وتضم هذه المجموعة الأجناس *Escherichia* و *Enterobacter* و *Citrobacter* و *Klebsiella* وهي تستخدم كمؤشر على التلوث البرازي واحتمال وجود أحياء دقيقة ممرضة. هذه المجموعة مهمة في الأغذية لأنها:

أ. تنتج غازات وأحماض نتيجة لتخمير الكربوهيدرات كما تنتج مواد ذات طعم ونكهة غير مرغوبة في الأغذية.

ب. بعض سلالات جنس *Enterobacter* تنتج مواد صمغية لزجة في الألبان وذلك بسبب تكوينها مواد تدخل في تركيب الحافظة أو الكبسولة.

ج. تستخدم كأدلة لتلوث الأغذية والمياه بالبراز (خاصة *E. coli*) Pollution indicators واحتمال تواجد البكتيريا المرضية فيها مثل *Salmonella* و *Shigella*.

21.4.2 بكتيريا القولون البرازية Fecal Coliforms

وهي تتضمن غالباً *Escherichia* وهي أيضا تستخدم كمؤشر على التلوث البرازي واحتمال وجود أحياء دقيقة ممرضة في الأغذية أو المياه.

22.4.2 البكتيريا المعوية المرضية Enteric Pathogens

وهي البكتيريا الممرضة (المسببة للعدوى) للإنسان ذات المصدر المعوي والتي تتنقل للإنسان عن طريق الغذاء أو الماء وتضم: *Salmonella* و *Shigella* و *Campylobacter* و *Yersinia* و *Escherichia* و *Vibrio* والتهاب الكبد الوبائي أ hepatitis A، *Listeria* وأنواع أخرى من البكتيريا. ونظراً لأهمية هذه المجموعات البكتيرية في الغذاء تم تصميم العديد من الطرق المخبرية للكشف عن مجموعة معينة بدلاً من جنس أو أنواع معينة، وبالمثل فقد تم تصميم طرق لمكافحة نمو أو للوقاية من مجموعة محددة.

23.4.2 البكتيريا المنتجة للصبغات Pigmented bacteria

من أهم الأجناس المنتجة للصبغات هو الجنس *Flavobacterium* حيث يعطي صبغات من أصفر إلى برتقالي بينما بكتيريا *Serratia* تعطي صبغة حمراء اللون بينما بكتيريا

Pseudomonas تعطي صبغة خضراء مزرقة ويمكن لبكتيريا *Micrococcus* أن تعطي صبغات بألوان مختلفة.

24.4.2 البكتيريا المحللة للبكتين Pectolytic bacteria

وهي البكتيريا القادرة على إفراز إنزيم البكتينيز *pectinase* الذى يحلل البكتين ويفقد الأنسجة النباتية صلابتها ويؤدي لرخاوة الأنسجة Softening of tissues ومن أمثلتها أنواع من أجناس *Erwinia* و *Clostridium* و *Bacillus* وبعض الفطريات.

25.4.2 بكتيريا المحللة للسكريات Saccharolytic bacteria

هذه البكتيريا يمكنها تحليل السكريات الثنائية أو المعقدة إلى سكريات أبسط مثل بكتيريا *Clostridium butyricum* و *E.coli* نادراً ما تحلل البكتيريا النشا وهناك عدد محدود من البكتيريا لها القدرة على تحليل النشا Amylolytic حيث تفرز إنزيم الاميليز amylase خارج الخلايا وتحلل النشا مائياً. ومن أمثلتها الأنواع *Clostridium Butyricum* و *Bacillus subtilis*، أما السلليولوز فأنواع قليلة جداً من البكتيريا لها القدرة على تحليله تحليلا مائياً.

26.4.2 البكتيريا المحللة للدهون Lipolytic bacteria

وهي البكتيريا التي تنتج إنزيم الليبيز Lipase الذي يحلل الدهن تحليلاً مائياً إلى أحماض دهنية وجلسرول، وتشمل مجموعة كبيرة من البكتيريا وهي ومن الأجناس: *Alcaligenes* و *Micrococcus* و *Pseudomonas* و *Achromobacter* و *Serrati*

(AYRES et al. 1980; BANWART 1998; RAY, 2004, MADIGAN, 2008; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الثالث

الفطريات **Fungi**

1.3 مقدمة

الفطريات كائنات حية ثالوسية لا تحتوي جذور ولاسيقان ولا أوراق ونظراً لخلوها من الكلوروفيل فهي غير ذاتية التغذية ولذلك تعيش رمية أو متطفلة وبعضها يعيش معيشة تعاونية وتنتمي الفطريات لمملكة حقيقيات النواة Eucaryotic تنتشر الفطريات في الأوساط المختلفة في التربة وفي المياه وفي الهواء والمواد العضوية المتحللة، يهاجم الكثير منها النبات والحيوان والإنسان كما يستعمل بعضها كغذاء. تشبه الفطريات الطحالب في تركيبها إلا إنها خالية من الكلوروفيل كما إن لمعظمها جدار خلوي صلب يحدد شكلها وهى كائنات غير متحركة. وتتكون بعض الفطريات من خلية واحدة (الخمائر) وبعضها عديد الخلايا ويسمى أعفان Molds ويتركب من خيوط أنبوبية متفرعة تُعرف بالهيفات (Hyphae) وتسمى مجموع الهيفات التي تكّون جسم الفطر ميسيليوم (Mycelium). والفطريات التي ليس لها نموات خيطية تسمى الخمائر Yeasts.

الفطريات تنمو على الأغذية وتعرف بمظهرها الزغبي أو الوبري والذي يتغير إلى اللون الداكن نتيجة لتكثف الجراثيم الملونة وظهورها على السطح الذي ينمو عليه الفطر وعادة الغذاء المصاب بالفطريات يكون غير صالح للاستهلاك وعلى الرغم من أن الفطريات تسبب تلف كثير من الأغذية إلا أن هناك أنواعاً منها مفيدة في تصنيع بعض أنواع من الأغذية مثل بعض أصناف الجبن التي يُستخدم الفطر في عملية تسويتها مثل جبن الريكفورت والكاممبرت Raquefort و Camembert، وقد تستخدم الفطريات لإنتاج مواد تستخدم في صناعة

الأغذية مثل إنزيم الأميليز وإنتاج حامض الستريك وقد تُستخدم الفطريات نفسها كغذاء مثل الأنواع غير السامة من عيش الغراب، كما تنتج بعض الفطريات مضادات حيوية تستخدم في مكافحة كثير من الأمراض.

2.3 الأعفان

وهي الفطريات الخيطية المجهرية Microscopic filamentous fungiالفطر يتكون من كتلة من الخيوط المتفرعة والتي تسمى بالهيفات (مفرد هيفا) وهذه الكتلة في مجموعها تسمى بالميسليوم وقد تكون هيفات الميسليوم غير مقسمة Nonseptate بجدر عرضية (وحيدة الخلية) وقد تكون مقسمة Septate بجدر عرضية (أي عديدة الخلايا). ويتكون جدار خلايا الفطر من مادة الكيتين (Chitin) أو السليلوز أو كلاهما. وتحتوي خلايا الفطر على نواة واحدة أو نواتين أو عدة أنوية وتتواجد حبيبات صغيرة غير معروفة الوظيفة تسمى لوماسومات (lomasomes) كما توجد ميتاكوندريا وفجوة شبكة أندوبلازمية وجليكوجين وريبوسومات منغمسة في سيتوبلازم الخلايا.

الهيفات قد تنمو داخل المادة الغذائية وتمتص الغذاء اللازم لها وتسمى هيفات مغمورة Submerged أو تبقى في الهواء على المادة التي تتغذى عليها وتسمى هيفات هوائية Aerial. الهيفات أما أن تكون خضرية Vegetative (الهيفات المغمورة) أو هيفات تكاثرية Reproductive. أيضا الهيفات قد تكون خصبة وهي التي تنتج جراثيم (الهيفات الهوائية). وتتميز بعض الهيفات بتكوين كتلة تقاوم الحرارة وظروف النمو الصعبة تسمى Sclerotia.

وتختلف الأعفان في شكلها الظاهري سواءً بالعين المجردة أو تحت المجهر وتستخدم هذه الاختلافات في تقسيم الأعفان. يمكن تمييز لون الميسليوم بالعين المجردة وقد يكون لونه أبيض أو أخضر أو بني أو رمادي أو أسود. أما باستخدام المجهر يمكن تمييز الهيفات من ناحية كونها مقسمة أو غير مقسمة. وكذلك يمكن تقسيم الأعفان على أساس التعرف على بعض التراكيب الخاصة في الميسليوم مثل أشباه الجذور في الجنس Rhizopus وخلية القدم foot cell في الجنس Aspergillus والتفرع على شكل حرف Yكما في الجنس Geotrichum (شكل: 1.3 & 2.3).

1.2.3 التكاثر في الفطريات

تتكاثر الأعفان لا جنسياً وجنسياً. الفطريات التي تستطيع أن تتكاثر جنسياً تسمى الفطريات التامة Perfect fungi أما التي لم يعرف لها تكاثر جنسي تسمى الفطريات الناقصة Imperfect fungi .

أولاً: التكاثر اللا جنسي Asexual Reproduction

وهذه الطريقة تعد أكثر طرق التكاثر اللاجنسي شيوعاً بين الأعفان ويتم بتكوين جراثيم لاجنسية للعفن تنتشر بكميات كبيرة في كل مكان وهي صغيرة وخفيفة الوزن ومقاومة للجفاف وتنمو إذا توافرت الظروف المناسبة. والجراثيم اللاجنسية لها عدة أنواع هي:

أ. الجراثيم السبورانجية Sporangiospores

وتتكون الجراثيم داخل كيس يسمى الكيس الجرثومي *sporangium*عند نهاية هيفا

خصبة تسمى حامل الكيس الجرثومي *sporangiophore* والذي ينتهي بجزء منتفخ على شكل قبة كما هو الحال في عفن *Mucor* (شكل: 1.3).

ب. الجراثيم المفصلية (الارثروية) *Arthrospore*

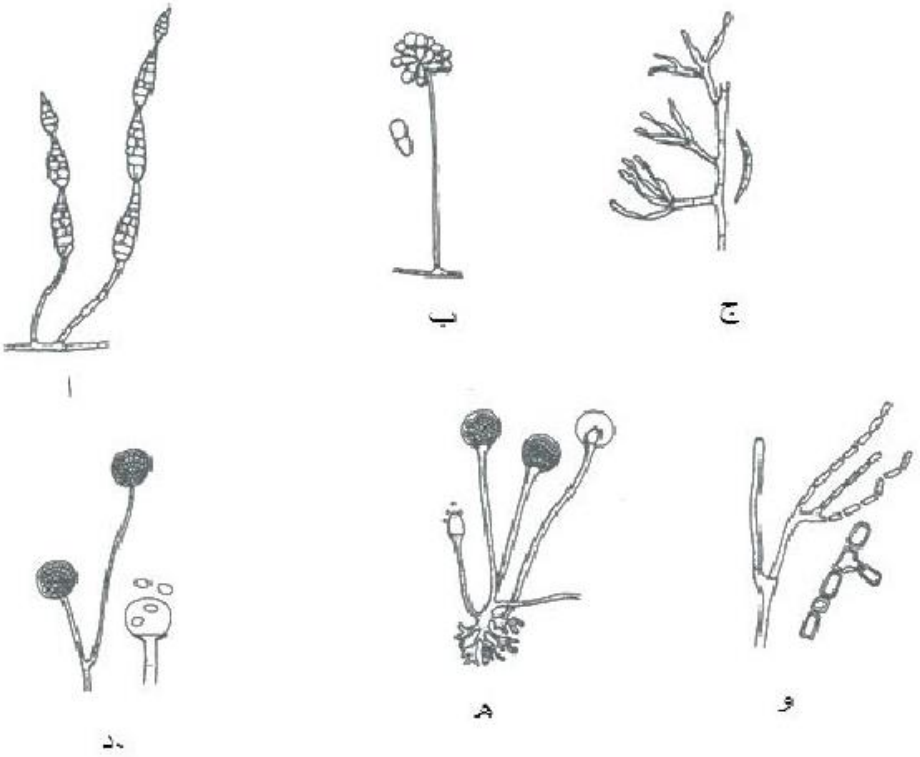
هذه الجراثيم تتكون نتيجة انفصام في الهيفات التكاثرية فتصبح خلايا الهيفا هي الجراثيم، شكل (1.3).

ج. الجراثيم الكوندية *Conidiospores*

وهي جزء أو برعم من هيفا خصبة تحمل هذه الجراثيم على حامل يسمى الحامل الكونيدي Conidiophore وعادةً هذه الجراثيم تكون عارية وليست متواجدة في وعاء وليس لها غطاء، وتختلف الكونيديا في الحجم والشكل واللون والملمس وقد تتواجد مفردة (*Aspergillus*) شكل (2.3 ب) أو في مجاميع وقد تُحمل فوق ذنيبات Sterigmata أولية أو ثانوية كما هو الحال في فطر *Penicillium* شكل (2.3 أ).

د. الجراثيم الكلاميدية *Chlamydospores*

وهي جراثيم مقاومة للظروف البيئية وتتكون بتغلظ الجدار قبل انفصال الخلايا مع تخزين مواد غذائية وتعرف الخلية حينئذ بالجرثومة الكلاميدية (Chlamydospore). وتختلف الجراثيم اللاجنسية والهيفات في الحجم والشكل والمظهر الخارجي وبذلك تستخدم في التعرف على الأعفان المختلفة.



الشكل (1.3): أشكال توضيحية لبعض الأعفان

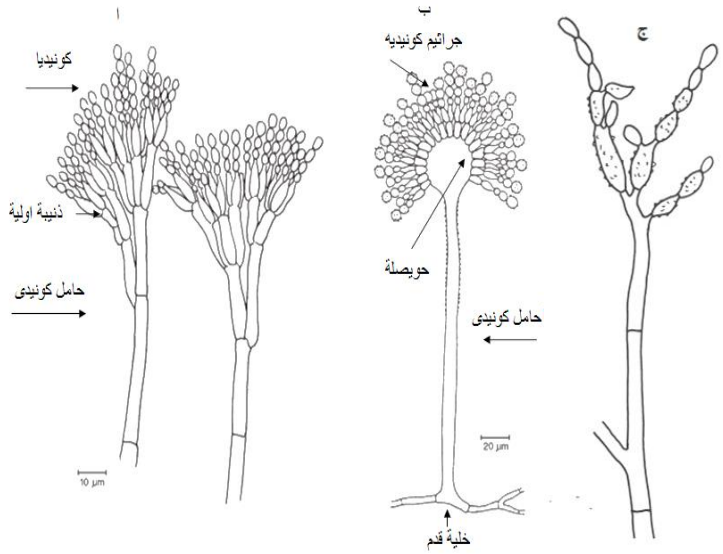
أ: *Alternaria* **(الكونيديا عديدة الخلايا مقسمة طوليا وعرضياً)،**

ب: *Trichothecium*، **جـ:** *Fusarium* **(يلاحظ بجوارها شكل للماكروكونيديا)،**

د: *Mucar*، **هـ:** *Rhizopus* **(ويلاحظ أشباه الجذور في الأسفل)،**

و: *Geotrichum* **(ويلاحظ أن الهيفات متفرعة ومقسمة).**

المصدر: BENSON (1979)



شكل (2.3) الهيفات والجراثيم اللا جنسية لفطر *Pencillium expansum* **(ا) وفطر** *Aspergillus flavus* **(ب) وفطر** *Cladosporium* **(ج)**

المصدر: ADAMS & MOSS (2008)

ثانياً: التكاثر الجنسي (Sexual Reproduction)

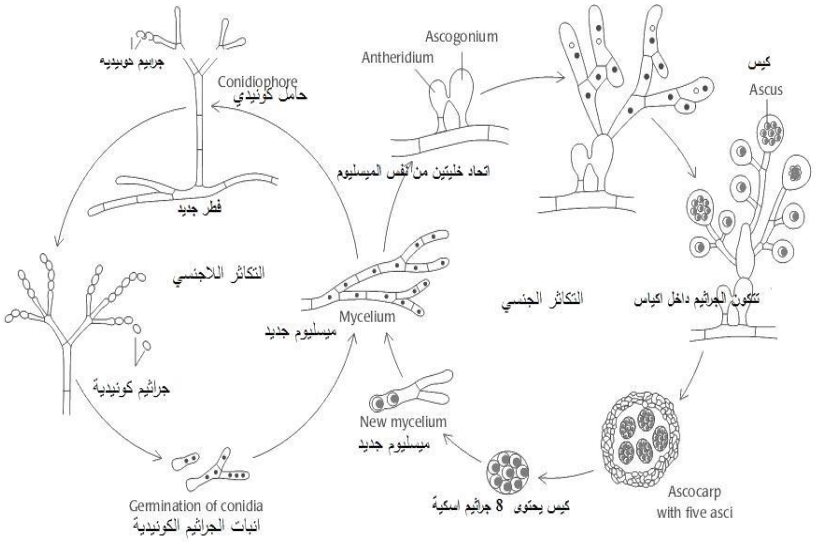
التكاثر الجنسي يتم عادةً مرة واحدة في نهاية دورة حياة الفطر وينتج عنه غالباً جراثيم كامنة لضمان حفظ النوع أثناء الظروف البيئية غير الملائمة. ويتم بطرق مختلفة وتُتخذ الطريقة التي تتكون بها الجراثيم الجنسية كقاعدة أساسية في تقسيم الفطريات إلى الجراثيم الجنسية البيضية *Oospores* والجراثيم الزيجية *Zygospores* والجراثيم الأسكية *Ascospores* والجراثيم البازيدية.

أ. الجراثيم الزيجية *Zygospore*

وتتكون من اتحاد هيفتين متشابهتين وتنتج جراثيم ذات جدار سميك تقاوم الظروف غير المناسبة. والجراثيم الزيجية تكونها الهيفات غير المقسمة التابعة للقسم *Zygomycotina*.

ب. الجراثيم الاسكية *Ascospores*

وتتكون هذه الجراثيم نتيجة اتحاد خليتين من نفس الميسليوم أو من ميسليوم مختلف وتتكون الجراثيم داخل أكياس بعد الاندماج وكل كيس يحتوى عادةً على 8 جراثيم أسكية وتكون هذا النوع من الجراثيم الفطريات ذات الهيفات المقسمة التابعة للقسم *Ascomycotina*. شكل (3.3) يوضح التكاثر الجنسي واللا جنسي في الفطريات.



شكل (3.4) التكاثر الجنسي واللا جنسي في الفطريات

المصدر: GLAZER &NIKAIDO (2007)

2.2.3 الخواص الفسيولوجية للأعفان

أ. الرطوبة

الأعفان تحتاج لأقل نسبة من الرطوبة للنمو مقارنة بالخميرة والبكتيريا. ويتوقف الحد الأدنى من الرطوبة لنمو وتكاثر الفطريات على عدة عوامل مثل نوع الفطر ونوع ومقدار المواد المنحلة خارج الخلية وطبيعة تركيبها فمثلاً إذا انخفضت نسبة الرطوبة في وسط ما إلى أقل من 14 أو 15% فإن نمو الفطر يتوقف كما هو الحال في المواد الغذائية مثل الدقيق والفواكه والخضروات المجففة، وقد وجد أن نسبة الرطوبة المثالية لنمو الفطر هي 18%.

ب. الحرارة

معظم الأعفان من الأحياء المحبة لدرجة الحرارة المتوسطة Mesophiles (درجة الحرارة المثلى لها من 25– 30م^{o}) (77 — 86 ف^{o}) ولذلك فإن معظمها يمكن أن تنمو على درجة الحرارة العادية. وهناك بعض الفطريات تنمو جيداً على درجة 35 إلى 37 م^{o} (95 — 99 ف^{o}) أو أعلى مثل أنواع من جنس *Aspergillus*. بينما يستطيع فطر *Cladosporium herbarum* النمو على درجة حرارة التبريد حيث ينمو على اللحوم المبردة. وهناك أنواع تنمو على درجة حرارة التجميد من –5 إلى– 10^{o}م وأعداد قليلة جداً محبة لدرجات الحرارة العالية Thermophilic. كما أن الأعفان وجراثيمها تموت بالحرارة.

ج. الأكسجين والأس الهيدروجيني (pH)

الأعفان جميعها هوائية أي تحتاج إلى الأكسجين، ينمو العفن بصورة طبيعية في

وسط حامضي (الأس الهيدروجيني pH: 3.5 إلى 4.5) كما يمكن للأعفان النمو في مدى واسع من الأس الهيدروجيني (2 إلى 8.5).

د. الاحتياجات الغذائية

الأعفان تتغذى على جميع أنواع الأغذية سواءً البسيطة منها أو المعقدة التركيب حيث تنتج أغلب الأعفان أنواعاً عديدة من الإنزيمات المحللة لمكونات غذائية عديدة مثل أنزيمات الاميليز amylase والبكتينيز pectinase و البروتينيز*proteinase* والليبيز lipase.

3.2.3. الصفات المزرعية للأعفان

نمو الأعفان إما أن يكون هشاً أو يكون لاصقاً بالمادة النامية عليها وبعضها يكون بمظهر ناعم قطيفي. وقد يكون نموها جاف ومسحوقي كالبودرة والآخر شكله جيلاتيني لزج. وبعضها محدود النمو والبعض الآخر ينمو بشكل منتشر على كل الغذاء. وهناك بعض الفطريات يمكن معرفة نوعها مباشرة من نموات الفطر مثل *Aspergillus niger*. والصبغات الموجودة في الميسليوم الفطري (أحمر – أصفر- بني - رصاص - أسود ... الخ) تميز نوع الفطر. كذلك تتلون الكميات الكبيرة من الجراثيم اللاجنسية بألوان مثل الأخضر – الأخضر المزرق – الأصفر – البرتقالي – الأحمر – البني – الرصاصي – الأسود.

4.2.3 الأعفان ذات الأهمية في مجال الأغذية

الأعفان الهامة في مجال الأغذية يقع بعض منها في قسم الزيجوميكوتينا *Zygomycotina* أما معظم الأعفان الهامة في الأغذية تتبع القسم اسكوميكوتينا

Ascomycotina والقسم ديوتيروميكوتينا *Deuteromycotina*.

1.4.2.3 القسم *Zygomycotina*

ميسليوم الأعفان التابعة لهذا القسم عادةً غير مقسم كما تعتبر من الفطريات الكاملة *perfect fungi* نظراً لقدرة أفراده على التكاثر الجنسي بواسطة الجراثيم الزيجية، أما جراثيمها اللاجنسية تتكون داخل كيس يسمى الكيس الجرثومي، ومن أهم أجناسها:

أ. الجنس *Mucor*

هيفات هذا العفن غير مقسمة ويتكاثر لاجنسيا عن طريق تكوين جراثيم سبورنجية Sporangiospore*s* داخل أكياس Sporangium محمولة على حوامل هوائية تسمىSporangiophores (شكل 1.3 د)، هذا العفن واسع الانتشار يتواجد في التربة والروث والخضروات والفواكه والحبوب، يكّون مستعمرات قطنية Cottony Colonies ويسبب تلف الكثير من الأغذية حيث يكوّن نمواً زغبياً أبيض كثيف على الأغذية، بعض الأنواع تستخدم في تصنيع بعض الأغذية المتخمرة والبعض الآخر يستخدم في إنتاج الإنزيمات، النوع *M.miehei* يستخدم في إنتاج إنزيم اللاييز lipase، ويستخدم النوع *M. roxii*, في تحويل النشا إلى سكريات بسيطة وفي إنضاج جبن جاميلوست Gamelost.

ب. الجنس *Rhizopus*

الهيفات في هذا العفن غير مقسمة وتتواجد الجراثيم اللاجنسية داخل أكياس كبيرة سوداء اللون محمولة على حوامل جرثومية تنشأ عند مناطق العقد والتي تتواجد عندها أيضا أشباة الجذور شكل (1.3 هـ)، كما أنه ينمو على كثير من الأغذية المخزنة ويسبب فساد

الفواكه والخضر وخاصة البصل ويكون نموا زغبياً أسود على الأغذية، ويعتبر النوع *R.stolonifer* هو الأكثر شيوعاً ويعرف بعفن الخبز Bread molds، كما أنه له القدرة على إنتاج إنزيمات محللة للبكتين Pectinases ويسبب بذلك الفساد الرخو Soft rot للخضروات والفواكه.

ج. الجنس *Thamnidium*

يتميز هذا العفن بأن حامل الكيس الجرثومي له يتفرع قرب القاعدة تفرع شجيري وكل فرع يحمل كيس جرثومي صغير يحتوي على 2 إلى 12 جرثومة. وتسبب هذه الأعفان فساداً للأغذية المبردة وخاصة اللحوم المبردة مثل النوع *T. elegans* وهو عفن فاتح اللون وله نمو منتشر.

2.4.2.3 القسم *Ascomycotina*

الأعفان التابعة لهذا القسم لها هيفات مقسمة وتتكاثر الأعفان جنسياً عن طريق الجراثيم الأسكية التي تتواجد داخل أكياس Ascus، ويضم هذا القسم الكثير من الأعفان والخمائر إلا أن القليل منها ذو علاقة بمجال الأغذية:

أ. الجنس *Byssochlamys*

تتكاثر أنواع هذا الجنس لاجنسياً بواسطة تكوين الجراثيم الكونيدية التي تتواجد في سلاسل وجنسياً بواسطة الجراثيم الأسكية. النوع *B.fulva* و*B.nivea* يسببان فساد العصائر والفواكه المعلبة .النوع *B.fulva* يتميز بقدرته على النمو في الأوساط الحامضية والمنخفضة المحتوى من الاكسجين كما أن جراثيمه الأسكية مقاومة للحرارة وينتج أنزيمات تحلل

البكتين.

ب. الجنس *Neurospora*

كان هذا العفن يسمى *Monilia* وأصبح الآن يتبع القسم *Ascomycotina* بعد اكتشاف الطور الجنسي له، يسبب الفطر فساد عصير قصب السكر المستخدم في صناعة السكر. وأهم أنواع هذا الجنس النوع *N. citophila* ويسبب التعفن الأحمر في الخبز Bloody bread.

ج. الجنس *Claviceps*

من أهم الأنواع التابعة لهذا الجنس هو *C. purpurea* والذى ينتج سموم فطرية على الحبوب.

3.4.2.3 القسم *Deuteromycotina*

هذا القسم يشمل أعداداً كبيرة من الفطريات التي لها هيفات مقسمة وتتكاثر لاجنسياً ولم يعرف لها تكاثر جنسي ولذلك تسمى بالفطريات الناقصة. ومن أهم الأعفان التابعة لهذا القسم:

أ. الجنس *Alternaria*

الهيفات غير مقسمة ويكون هذا الجنس كونيديا عديدة الخلايا مقسمة طوليا وعرضيا ذات لون بني تتراص فوق بعضها في سلاسل فوق الحامل الكونيدي الذى يكون ذو لون قاتم ولون الميسليوم يكون بني أو رمادي مخضر أو أخضر (شكل: 1.3 أ) يعتبر هذا العفن مألوفا ويهاجم أنسجة الطماطم المجرحة أو الضعيفة في الحقل ويسبب ما يسمى

بالتعفن الأسود كما يهاجم القمح، النوع *A. citri* يسبب تعفن الموالح، بعض الأنواع تغير نكهة منتجات الألبان كما أن بعضها الآخر ينتج سموم فطرية.

ب.الجنس *Aspergillus*

هذا العفن منتشر بشكل واسع في الطبيعة حيث يتواجد في التربة والخضروات والفواكه والحبوب المخزنة وغيرها، هيفات هذا العفن مقسمة وتخرج الحوامل الكونيدية من خلية القدم وهي خلية من خلايا الميسيليوم تتميز بكبر الحجم وسمك الجدار وينتفخ الحامل الكونيدي في نهايته العليا مكوناً حويصلة عليها ذنيبات Sterigmate أولية وثانوية وتترتب الكونيديا فوقها في سلاسل شكل (2.3 ب)، لون الكونيديا حسب الأنواع فيمكن أن يكون أسود أو أخضر أو بني.

الكثير من أنواعه تستطيع العيش في نشاط مائي منخفض xerophilic ويسبب هذا فساد كثير من الحبوب المخزنة ويقلّل إنبات البذور كما يسبب فساد العديد من الأغذية مثل المربيات والمكسرات والخضروات والفواكه وغيرها. تنتج بعض أفراد هذا الجنس مثل *A. flavus* و *A. parasitics* سموما فطرية في الأغذية تسمى سموم الافلاتوكسين Aflatoxins وهي سموم مسرطنة للكبد، هناك الكثير من أنواع هذا العفن لها استخدامات صناعية مثل إنتاج الأحماض العضوية والإنزيمات، النوع *A. niger* يستخدم لإنتاج حمض الستريك والإنزيمات مثل إنزيم *β-galactosidase* و*glucoamylase* و*invertase* و*lipase* و*pectinase*. كما ينتج النوع *A.oryzae* أنزيم α-amylase.

ج. الجنس *Cladosporium*

الهيفات في هذا الجنس مقسمة وتتميز بكونيديا تتكون من خلية أو خليتين وتتواجد في سلاسل متفرعة على الحامل الكونيدي (تشبه الشجرة)، لون العفن النامي أسود إلى أخضر زيتوني الشكل (2.3 ج)، ويسبب هذا العفن بقعاً سوداء على سطح العديد من الأغذية، يعتبر من فطريات الحقل التي تصيب حبوب الشعير والقمح كما يتواجد العفن في التربة، وبعض الأنواع تسبب فساد الزبد والمرجرين. والنوع *C.herbarum* يؤدي إلى تبقع اللحم المبرد باللون الأسود. بعض الأنواع تسبب الفساد الرخو لبعض الفواكه.

د. الجنس *Fusarium*

تختلف ألوان الميسيليوم للأنواع التابعة لهذا الجنس من الأبيض والأحمر والبني والأزرق والبنفسجي والوردي والأزرق والقرمزي. ويظهر الميسيليوم بمظهر قطني خفيف. الكونيديا إما أن تتكون من عدة خلايا ومنحنية عند نهايتيها المدببتين وتسمى ماكروكونيديا Microconidia أو تتكون من خلية واحدة مستطيلة أو بيضاوية وتسمى ميكروكونيديا Macroconidia شكل (1.3 ج)، الكونيديا لهذا الغفن لها أشكال مختلفة منها الكروي والمستطيل والأسطواني والإبري أو الكمثري أو الهلالي أو البيضاوي. أفراد هذا الجنس منتشرة في الطبيعة بشكل واسع حيث تتواجد في التربة وفي كثير من الأغذية والمواد المتحللة. تعتبر من فطريات الحقل حيث تسبب بعض الأنواع تعفن الطماطم ويسبب التعفن الأبيض للبطاطس (*Fusarium solani*). كذلك يهاجم الموالح ويسبب التعفن البني للموالح والأناناس والتين كما يهاجم العديد من الحبوب مثل القمح والشعير، ينتج فطر *Fusarium*

سموم فطرية مثل الزيرالينون Zearalenone ومجموعة الترايكوثيسين Trichothecenes ومنها السم الفطري فوميتوتوكسين Vomitoxins والذي يسبب القيء للحيوانات إذا تواجد في العليقة.

هـ. الجنس *Geotrichum*

الهيفات في هذا الجنس مقسمة ومتفرعة وتتكسر إلى جراثيم أرثروية وهذه الجراثيم تكون بيضوية أو مستطيلة أو كروية أو تشبة شكل البرميل (شكل 1.3 و)، ينمو هذا العفن ويكون مستعمرات شبيه بمستعمرات الخميرة لونها أبيض أو كريمي. ويفسد منتجات الألبان ولذلك يطلق عليه عفن الألبان ومنتجاتها Dairy mold. من أهم الأنواع *G. candidum* والذي يسمى عفن المعدات أو الماكينات نظراً لنموه على معدات التصنيع الملامسة للغذاء أو العصائر أثناء التصنيع وخاصة المعدات التي لم تُنظف جيدا حيث ينمو على بقايا الأغذية وبالتالي يلوث كثير من أنواع الأغذية، النوع *G.albidum* يسبب التعفن الحامضي للموالح Sour rot والخوخ كما يسبب فساد الكريم.

و. الجنس *Penicillium*

أفراد هذا الجنس لها هيفات مقسمة والحامل الكونيدي مقسم ومتفرع ويكون رأسا من الكونيديا تشبة شكل المكنسة (شكل: 3.2 أ). الكونيديا ناعمة وكروية ولونها قد يكون أخضر أو أخضر رمادي أو أخضر مزرق أو أبيض، هذا الجنس منتشر بكثرة في الطبيعة وهو من فطريات التخزين حيث ينمو على الحبوب أثناء التخزين ويسبب فسادها كما يفسد الكثير من الأغذية الأخرى مثل الخضروات والفواكه واللحم والخبز والجبن، النوع

p. expansum ونموه أخضر اللون يسبب فساد الفواكه مثل التفاح والكمثرى والخوخ، النوع *P. digitatum* وجراثيمه لونها أخضر زيتوني ويسبب العفن الأخضر في الموالح. أما النوع *P. italicum* يسبب تعفن ذو لون أزرق مخضر في الموالح، يمكن لهذا الجنس أن ينتج أكثر من مائة سم فطري مثل سم الاوكرتوكسين (Ochratoxin A) والباتشلين Patulin والسترينين Citrinin، هناك بعض الأنواع التي تُستخدم في صناعة الجبن مثل *P. roquefortii* و *P. camembertii*، بعض الأنواع تستخدم في إنتاج الإنزيمات مثل glucose oxidase وإنتاج العديد من المضادات الحيوية.

ز. الجنس *Sporotricum*

يتميز هذا العفن بأن الكونيديا صغيرة الحجم ومفردة ذات شكل كمثري توجد على نتوءات ولا توجد في سلاسل، مستعمرات الفطر عادةً بيضاء أو كريمية وأحيانا يكون لها لون أحمر أو أخضر أو وردي أو رمادي. النوع *S. carnis* يعتبر من أهم أنواع الجنس ويمكنه النمو في درجات حرارة منخفضة (-8 إلى -5 م^{o}) (18 - 23 ف^{o}) ولذلك نجده ينمو على اللحوم المبردة ويسبب الفساد الذي يعرف بالبقع البيضاء، النوع *S. thermophile* له درجة حرارة مثلى للنمو تصل إلى 40 م^{o} (104 ف^{o}) يستطيع إنتاج إنزيم السليوليز Cellulase ولذلك يستخدم في تحليل السليولوز Cellulose إلى مركبات أبسط.

ح. الجنس *Trichthecium*

الهيفات مقسمة والكونيديا ذات خليتين وتتواجد في شكل عناقيد على حامل

كونيدي قصير يضم هذا الجنس نوع واحد هو *T.roseum* وهو عفن لونه وردي ويسبب تعفن وردي اللون للفواكه مثل التفاح والخوخ والخضروات مثل الخيار كما يسبب تعفن الحبوب مثل القمح والشعير والذرة.

3.3 الخمائر Yeasts

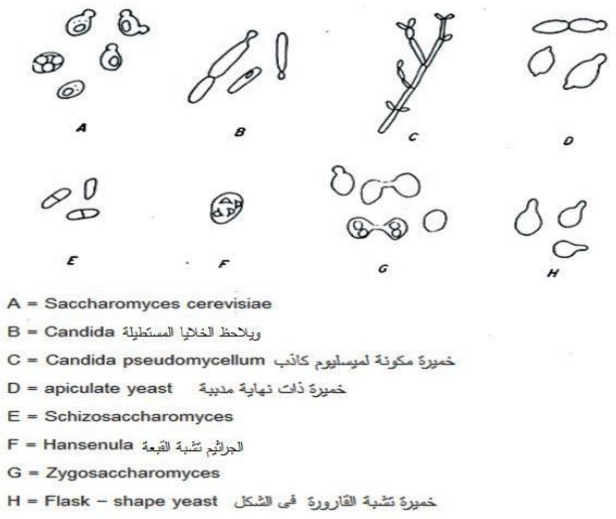
تعرف الخمائر بأنها عبارة عن فطريات وحيدة الخلية لا تكون هيفات وتكون الخلايا بيضاوية أو كروية الشكل تحتوي على نواة حقيقية، كون الخمائر وحيدة الخلية يعطيها ميزة هامة وهي أن نسبة السطح إلى الحجم كبيرة مما يسمح بنشاط حيوي أعلى وانتشارا وتوزيعاً أكثر عما لو كانت في صورة ميسيليوم، والخمائر قد يكون لها دوراً هاماً في تصنيع الأغذية (صناعة الخبز والخل وإنتاج بعض أنواع الجبن والفيتامينات والدهون وفي إنتاج البروتين من مخلفات الصناعات الغذائية) والإنزيمات والعلف وغيرها والبعض الآخر قد تكون ضارة في الأغذية عندما تنمو وتسب فساداً للعسل والمربيات والجلي ولعصائر الفواكه والمخللات واللحوم والألبان ومنتجاتها.

1.3.3 خصائص الخمائر

اولاً: الشكل الظاهري

معظم مستعمرات الخميرة تكون بيضاء أو ذات لون كريمي أو ملونة، كما أن مستعمرات الخميرة حديثة العمر تكون ذات قوام لزج ومبتلة، وتتركب الخلايا من الجدار الخارجي والسيتوبلازم والقطرات المائية والزيتية والنواة وحبيبات أخرى بعضها ملون، يمكن أن

تُميز خلايا الخميرة عن خلايا البكتيريا بواسطة كبر حجم خلايا الخميرة (2 إلى 10 ميكروميتر) وشكل الخلايا قد يكون كروي أو بيضاوي أو على شكل مثلث triangular أو مستطيلة elongate أو كمثرية pear - shape أو تشبه ثمرة الليمون lemon - shape أو أسطوانية أو تشبه شكل القارورة (شكل: 4.3). قد تتواجد الخلايا منفردة أو في أزواج أو كتل أو تكّون هيفا كاذبة من خلايا مستطيلة ثم تكّون ميسليوم كاذب Pseudomycelium من الهيفات الكاذبة (شكل: 3.4). وقد تكّون بعض الخمائر ميسليوم حقيقي تحت ظروف نمو معينة، وتعتبر الخمائر غشائية film yeasts أو مُؤكسدة Oxidative yeasts إذا نمت كغشاء على سطح البيئة بينما تعتبر خمائر مخمرة إذا نمت داخل البيئة السائلة.



شكل (4.3): أشكال توضيحية لخلايا الخميرة المختلفة

المصدر: FRAZIER &WESTHOFF (1988)

3.3. 2 التكاثر في الخمائر

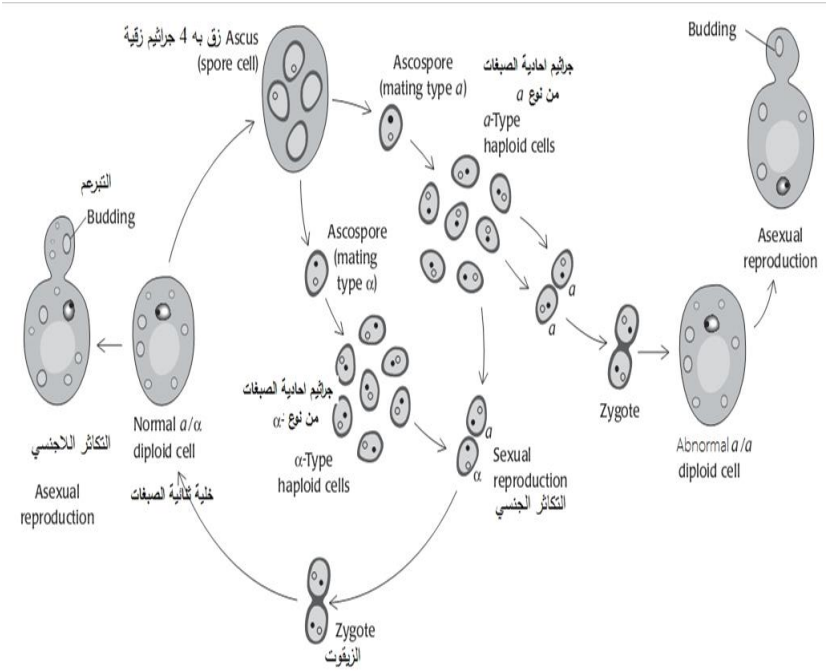
1.2.3.3 التكاثر اللاجنسي Asexual reproduction

أغلب الخمائر تتكاثر لا جنسياً بواسطة التبرعم Budding وتسمى الخمائر التي لا تتكاثر جنسياً بالخمائر الكاذبة False yeast. والتبرعم طريقة شائعة للتكاثر في حوالي 50% من الخمائر، حيث يبدا ظهور نتوء من الخلية الأم ثم ينتفخ ويكبر ليكون خلية ناشئة وقد تحمل الخلية الأم برعماً واحداً أو أكثر، ويطلق على التبرعم عدة أسماء حسب مكان وعدد البراعم على الخلية الأصلية فإذا ظهر البرعم عند طرف الخلية يسمى تبرعم طرفي Polar وإذا تكون برعمان على طرفي الخلية يسمى التبرعم ثنائي الطرف Bipolar أما إذا تكونت براعم متعددة على أي مكان في الخلية الأصلية يسمى التبرعم الجانبي المتعدد Multilateral budding، هناك بعض الخمائر تكّون براعم على نتوءات لتصبح جراثيم يمكن للخلية بعد ذلك أن تقذف بهذه الجراثيم بعيدا وتسمى هذه الجراثيم بالجراثيم البالستية Ballistospores بعض الخمائر تتكاثر بالانقسام الثنائي Fission والبعض الآخر بواسطة الانقسام الثنائي والتبرعم. والشكل (5.3) يوضح الانقسام الثنائي والتبرعم في الخمائر.

2.2.3.3 التكاثر الجنسي

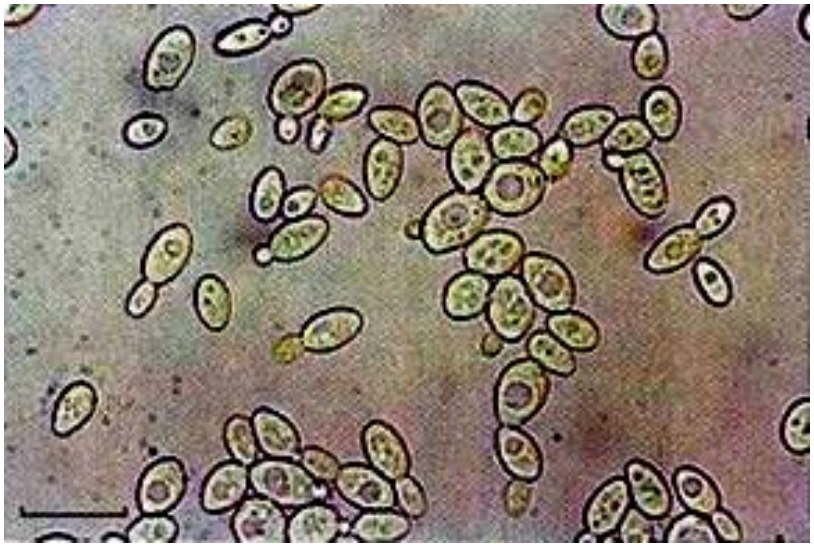
تتكاثر الخمائر الحقيقة تكاثراً جنسياً إضافة إلى التكاثر اللاجنسي وذلك بواسطة الجراثيم الجنسية التي يطلق عليها Ascospores ويتم ذلك بواسطة التحام خليتين وتكوين الجراثيم الزقية Ascospore. وتتحول خلية الخميرة إلى كيس جرثومي *Ascus* تحمل بداخلها الجراثيم الأسكية ويعتبر عدد ومظهر الجراثيم داخل الكيس من الصفات المميزة لنوع الخميرة

حيث تختلف الجراثيم في اللون والشكل فيمكن أن تكون إبرية needle- shape الشكل أو بيضوية Oviodأو كروية Spheroidal أو أسطوانية Cylindrical أو كلوية bean – shape أو مثلثة triangular أو تشبه شكل القبعة hat-shape والشكل (6.3) يوضح التكاثر الجنسي واللا جنسي في الخمائر.



الشكل (4.3) التكاثر الجنسي واللا جنسي في الخميرة

المصدر: GLAZER & NIKADIO (2007)



شكل (5.3) خلايا الخميرة تحت المجهر الضوئي ويلاحظ عملية التبرعم لعدة خلايا

المصدر: POMMEMILLE (2007)

ثالثاً: الخصائص الفسيولوجية

أ. الرطوبة

في العموم تحتاج الخمائر في نموها إلى نسبة رطوبة أعلى مما تحتاجه الأعفان وأقل مما تحتاجه البكتيريا، ولكل نوع من الخمائر نشاط مائي a_w (وهو مقياس لمدى توافر المياه للوظائف البيولوجية ويتعلق بوجود الماء في المواد الغذائية في شكل حر) أمثل للنمو، ويتراوح مدى النشاط المائي لنمو الخمائر الاعتيادية من 0.88 إلى 0.94 بينما تتطلب الخمائر المحبة للتركيز العالي من السكر Osmophilic نشاطاً مائيا ما بين 0.62 إلى 0.65 وتختلف حاجة الخمائر للرطوبة باختلاف بعض العوامل مثل درجة الحرارة والأس الهيدروجيني ووجود المثبطات في بيئة النمو وغيرها من العوامل.

ب. درجة الحرارة

معظم الخمائر تنمو جيداً على درجات الحرارة المتوسطة وتتراوح درجة الحرارة المثلى لها من 25 إلى 30 م^{o} (77 – 86 ف^{o}) وتتراوح درجة الحرارة القصوى ما بين 35 إلى 47 م^{o} (95 — 117ف^{o}) غير أن هناك بعض الخمائر تستطيع النمو على درجة حرارة الصفر المئوي (32ف^{o}) أو أقل. كما أن الخمائر وجراثيمها تموت بالحرارة.

ج. الأس الهيدروجيني pH

تنمو خلايا الخمائر في مدى واسع من الأس الهيدروجيني ولكن أفضل نمو لها يكون ما بين 4 إلى 5.4 ونادرا ما تنمو في الوسط القلوي إلا إذا تأقلمت عليه.

د. الأكسجين

تفضل الخمائر النمو في وجود الأكسجين حيث تقوم هذه الخمائر بأكسدة الأغذية العضوية مثل السكريات والكحولات والأحماض العضوية منتجة غاز ثاني أكسيد الكربون، أما الأنواع المخمرة تنمو ببطء في الظروف اللاهوائية.

هـ. الاحتياجات الغذائية

تفضل معظم الخمائر السكريات كمصدر للطاقة وتتطلب الخمائر نسبة عالية من مصدر الكربون في بيئة النمو، وبإمكان الخمائر المؤكسدة أن تؤكسد الأحماض العضوية والكحول إضافة للسكريات، وتستطيع الخمائر استهلاك المركبات النيتروجينية المعقدة مثل الببتيدات والبسيطة مثل الأمونيا واليوريا، كما تحتاج الخمائر إلى بعض عوامل النمو.

3.3.3 الخمائر ذات الأهمية في مجال الأغذية

تقسم الخمائر على أساس الشكل الظاهري والخصائص المزرعية والخصائص الكيموحيوية والفسيولوجية وطريقة التكاثر، يوجد حوالي 597 نوعاً مقسمة إلى 83 جنساً ويتم مناقشة الأجناس الهامة في مجال الأغذية من الخمائر الكاذبة والحقيقة.

أولاً: الخمائر الكاذبة False yeasts

وتضم الخمائر التي لم يعرف لها تكاثر جنسي ولا تكّون جراثيم جنسية Ascopores وتتبع القسم *Deuteromycotina* ومنها:

أ. الجنس *Candida*

وينتشر أفراد هذا الجنس انتشاراً واسعاً في الطبيعة حيث توجد في التربة والهواء والمياه والنباتات ومياه المجاري وأجهزة تصنيع الأغذية، والخلايا كروية أو بيضوية أو مستطيلة أو اسطوانية وكل الأنواع تكون ميسيليوم كاذب والبعض يكون ميسيليوم حقيقي، عدة أنواع من هذا الجنس تسبب فساد للأغذية الحامضية ومرتفعة التركيز من الملح أو السكر وهي خمائر مؤكسدة يمكنها أن تكون أغشية على الأغذية الحامضية والمخللات، بعض الأنواع تحلل الدهون وتسبب التزنخ للزبد ومنتجات الألبان، كما أن بعضها يفسد الفواكه والخضروات الطازجة.

ب. الجنس *Rhodotorula*

وتضم أنواع من الخمائر ذات خلايا كروية أو بيضوية أو مستطيلة، وتتكاثر بالتبرعم

الجانبي المتعدد *multilateral budding* وتتميز بأنها تكون صبغات pigment forming yeasts وتسبب تغير لون الأغذية مثل أن تكّون بقعاً ملونة على اللحوم والأسماك . النوع *R.glutinis* و النوع *R.mucilaginosa* هما الأكثر انتشاراً في الأغذية ويسببان تلون الأغذية باللون الأحمر أو الوردي. يضم هذا الجنس أنواعاً وسلالات مقاومة للبرودة تتواجد على اللحوم والأسماك والدواجن الطازجة.

ج. الجنس *Torulopsis*

الخلايا كروية أو بيضوية وتتكاثر بالتبرعم الجانبي المتعدد والمستعمرات بيضاء أو ذات لون كريمي، تستطيع هذه الخمائر أن تتحمل تراكيز من الملح (كلوريد الصوديوم) تتراوح من 2 إلى 21%، تسبب فساد الحليب نتيجة قدرتها على تخمير اللاكتوز مثل النوع *Torulopsis versatilis*، كما تستطيع أنواع منها إفساد الأغذية الحامضية ومركزات عصائر الفواكه كما تُفسد القشدة والزبد والحليب المكثف المحلّى واللحوم المبردة والمحاليل الملحية للعديد من الأغذية.

د. الجنس *Trichosporon*

تعتبر من الخمائر المؤكسدة تتكاثر بالتبرعم وبتكوين جراثيم أرثروية Arthroconidia كما تكوّن ميسيليوم حقيقي، تنمو أفراد هذا الجنس على درجة الحرارة المنخفضة. وُجدت في العديد من الأغذية مثل اللحم والزبد والجبن والفواكه وفي الجمبري

الطازج، النوع *T.pullulan* واسع الانتشار وينتج أنزيم اللاييز lipase.

ثانياً: الخمائر الحقيقة True yeasts

أ. الجنس *Debaryomyces*

خلايا هذا الجنس كروية أو دائرية وتتكاثر بالتبرعم الجانبي المتعدد أما التكاثر الجنسي فيتم عن طريق تكوين الجراثيم الأسكية الناتجة من اتحاد الخلية الأصل مع البرعم وتختلف أشكال الجراثيم الأسكية فقد تكون دائرية أو بيضوية ويوجد عادةً من 1 إلى 2 جرثومة داخل كل كيس أسكي، تنمو أنواع هذا الجنس في تركيز عالي من ملح الطعام حيث تنمو في محاليل الجبن التي يصل تركيز الملح فيها إلى 24% كما تستطيع العيش في نشاط مائي يصل إلى 0.65 أنواع هذا الجنس من أكثر الأنواع التي تفسد المحاليل الملحية وذلك بتكوين طبقة أو غشاء على سطح الأغذية المحفوظة في محاليل ملحية، تنمو أنواع هذا الجنس في الزبادي والأجبان وفي عصير ومركزات البرتقال كما تنمو على اللحوم المملحة ومن أمثلتها النوع *D. hansenii* (الاسم القديم: *D. kloeckeri*).

ب. الجنس *Hanseniaspora*

خلايا هذه الخميرة تشبه الليمون في شكلها مع وجود نتوء في كل طرف أو تكون بيضوية أو بيضوية طويلة، القدرة التخميرية لهذه الخميرة عالية ولكنها لا تقاوم الكحول، تسبب تخمير وفساد الكثير من أنواع الفواكه مثل التين والفراولة والطماطم والموالح.

ج. الجنس *Hansenula*

تستطيع أفراد هذا الجنس أن تتكاثر لا جنسياً بتكوين البراعم الجانبية المتعددة وتتكاثر جنسيا عن طريق تكوين جراثيم أسكية تشبه شكل القبعة. تستطيع تكوين ميسيليوم كاذب، عزلت أنواع هذه الخميرة من الحبوب والفواكه والمحلول الملحي للزيتون وللخيار المملح.

د. الجنس *Kluyveromyces*

أفراد هذا الجنس لها خلايا بيضوية أو أسطوانية أو مستطيلة وتتكاثر لا جنسيا بالتبرعم الجانبي المتعدد، المدى الحراري للنمو ما بين 5 إلى 46 م^{o} (41 – 115 ف^{o}). بعض الأنواع تتحمل التراكيز العالية من السكر Osmophilic yeasts ولها قدرة تخميرية عالية للسكريات. تنتج إنزيم بيتا جالاتوسايديز β-galactosidase. تفسد عدة أنواع من الأغذية مثل منتجات الحليب والتين، النوع *K .marxianus* (الاسم القديم: *Saccharomyces fragilis*) يسبب فساد الجبن ومنتشر بشكل كبير في الحليب ومنتجاته كما يستخدم هذا النوع في إنتاج إنزيم اللاكتيز lactase من الشرش.

هـ. الجنس *Pichia*

خلايا هذا الجنس بيضاوية أو أسطوانية وتتكاثر لا جنسياً بالتبرعم الجانبي المتعدد وتتكاثر جنسياً بتكوين الجراثيم الأسكية والتي تحتوي 4 جراثيم أسكية والتي تكون مستديرة أو على شكل قبعة أو على شكل الكوكب زحل، يمكنها أن تكوّن ميسيليوم كاذب وجراثيم

أرثروية Arthrospores، تنمو هذه الخمائر على سطح الأغذية الحمضية والمخللات مكونة أغشية على سطحها وتسبب فساد الفواكه ومنتجات الألبان.

و. الجنس *Saccharomyces*

خلايا هذا الجنس دائرية أو أسطوانية أو مستطيلة وتتكاثر لا جنسيا بالتبرعم الجانبي المتعدد وجنسياً بتكوين جراثيم أسكية في أكياس تحتوي 1 إلى 4 جرثومة لكل كيس، المستعمرات تظهر على بيئة الآجار بيضاء أو بلون كريمي ولها رائحة الخميرة المثالية. أفراد هذا الجنس لها قدرة تخميرية عالية وتنتشر هذه الخمائر بشكل واسع وتسبب فساد للفواكه ومنتجات السكر والعسل ومنتجات الألبان والخيار المخلل. يعتبر هذا الجنس مهماً في الصناعات الغذائية خاصة النوع *S. cerevisiae* الذي يستخدم في صناعة الخبز وفي إنتاج إنزيم الإنفرتيز invertase (الإنزيمات المحولة) الذي يستخدم في صناعة الحلوى.

ز. الجنس *Schizosaccharomyces*

خلايا هذا الجنس كروية أو أسطوانية وتتكاثر لا جنسياً عن طريق الانقسام وليس التبرعم وتتكاثر جنسياً عن طريق تكوين الجراثيم الأسكية حيث يحتوي الكيس على 4 – 8 جرثومة كلوية الشكل، قد تكوّن الخلايا ميسيليوم حقيقي وجراثيم أرثروية، تفسد هذه الخمائر الفواكه مثل التين والبرقوق والزبيب والمولاس، النوع *S. pombe* أكثر الأنواع انتشاراً وهي محبة للضغط الأسموزي العالي Osmophilic وتقاوم بعض المواد الحافظة الكيميائية (FRAZIER, 1968; BANWART,1998; RAY,2004; JAY et al., 2005; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الرابع

مصادر تلوث الأغذية

Sources of Food contamination

1.4 مقدمة

يمكن أن يتعرض الغذاء للتلوث بالميكروبات من مصادر داخلية أو خارجية أثناء عملية الإنتاج وحتى وقت الاستهلاك.

الأنسجة الداخلية للنباتات والحيوانات السليمة تكون أساساً معقمة، إما الأغذية الخام والمصنعة (باستثناء الأغذية المعقمة) تحتوي على أنواع مختلفة من الأعفان (molds) والخمائر(yeasts) والبكتيريا (bacteria) والفيروسات (viruses)، هذه الأحياء الدقيقة لا تتوالد ذاتياً ولكنها قد تلوث الغذاء أثناء إنتاجه أو حصاده أو تداوله أو تصنيعه أو تخزينه أو توزيعه أو أثناء إعداده للاستهلاك. ولذلك فإن الأحياء الدقيقة المتواجدة في أو على غذاء معين (الفلورا الميكروبية) هي عبارة عن الأحياء الدقيقة المصاحبة للمادة الغذائية وتلك المكتسبة أثناء تجهيز وتداول الغذاء بالإضافة إلى تلك التي أمكنها النجاة بعد أي معاملة أجريت لحفظ هذا الغذاء.

المصادر الطبيعية للأحياء الدقيقة في الأغذية من أصل نباتي تشمل أسطح الفواكه والخضروات والحبوب والمسام في بعض الدرنات (مثل الفجل والبصل)، المصادر الطبيعية للأحياء الدقيقة في الأغذية ذات الأصل الحيواني تشمل الجلد والشعر والريش والجهاز الهضمي والجهاز التناسلي والجهاز التنفسي وقنوات الحليب (حلمة القناة) من ضرع الحيوان، الميكروفلورا الطبيعية موجودة في توازن بيئي مع عوائلها وأنواعها كما أن مستوياتها تختلف اختلافاً كبيراً حسب أنواع النباتات والحيوانات وكذلك الجغرافية والمواقع والظروف البيئية، إلى

جانب الأحياء الدقيقة الطبيعية يمكن للغذاء أن يتلوث بأنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة من مصادر خارجية مثل الهواء والتربة والمياه ومياه الصرف الصحي والأعلاف ومن الإنسان والمكونات الغذائية ومن المعدات ومواد التعبئة والحشرات

أنواع الميكروبات الآتية من هذه المصادر ومستوياتها ووجودها في الأغذية تختلف بشكل كبير وتعتمد على درجة تطبيق الاشتراطات الصحية أثناء التعامل مع الأغذية، أن معرفة مصادر الأحياء الدقيقة في الأغذية يساعد كثيراً في تطوير طرق للتحكم في وصول هذه الأحياء الدقيقة للغذاء وتطوير معاملات تصنيعية للقضاء عليها وتحديد الجودة الميكروبيولوجية للأغذية وإنشاء معايير ومواصفات ميكروبيولوجية للأغذية والمكونات الغذائية. وسيتم في هذا الفصل مناقشة الأحياء الدقيقة السائدة في كل مصدر من مصادر تلوث الغذاء وطرق تقليل تلوث الغذاء من هذه المصادر.

2.4 الأحياء الدقيقة السائدة في المصادر المختلفة

1.2.4 النباتات (الفواكه والخضروات)

الأنسجة الداخلية للنبات السليم هي أساساً خالية من الأحياء الدقيقة أو تحتوي أعداد قليلة جدا منها (مثل: عدد قليل من الخضار المسامية مثل البصل والفجل والخضروات الورقية مثل الملفوف وبراعم القرنبيط)، كما أن بعض النباتات تنتج مواد أيضية تعمل كمضادات ميكروبية طبيعية Natural antimicrobial metabolites تحد من وجود الأحياء الدقيقة. الفواكه والخضروات تحتوي كائنات دقيقة على السطح وتختلف أنواعها ومستوياتها

باختلاف نوع النبات والتربة ونوع الأسمدة والمياه المستخدمة في عملية الري ومدى تلوث الهواء المحيط، الأعفان والخمائر وبكتيريا حامض اللاكتيك والبكتيريا من أجناس *Pseudomonas* و *Alcaligenes* و *Micrococcus* و *Erwinia* و *Bacillus* و *Clostridium* و *Enterobacter* يمكن أن تأتي من هذا المصدر الأحياء الدقيقة الممرضة وخاصة الأنواع المعوية enteric types يمكن أن تتواجد في هذه المنتجات.

أعداد هذه الأحياء الدقيقة وكذلك الأنواع السائدة منها يمكن أن يتزايد إلى حد كبير في حالة تلوث التربة بمياه الصرف الصحي غير المعالجة أو في حالة أمراض النباتات أو إذا حدث ضرر سطحي للخضر والفواكه مثل الجروح والخدوش (قبل وأثناء وبعد الحصاد) وكذلك إذا طالت الفترة الزمنية ما بين الحصاد وعملية الغسيل أو في حالة عدم ملاءمة ظروف التخزين والنقل بعد الحصاد وقبل التصنيع وكذلك عند سوء تخزين المنتجات عقب التصنيع. استخدام الأساليب الصحيحة أثناء نمو النبات في الحقل (مثل استخدام مياه الصرف الصحي المعالجة أو غيرها من أنواع الأسمدة) والحرص على عدم إحداث تضرر ميكانيكي للمحصول أثناء الحصاد وإجراء عملية الغسل السريع بمياه نظيفة لإزالة التربة والأوساخ والتخزين في درجة حرارة منخفضة قبل وبعد التصنيع كل هذه الإجراءات تقلل من أعداد الميكروبات في الأغذية ذات الأصل النباتي.

2.2.4 الحيوانات والطيور والأسماك والمحار

الأغذية من الأصل الحيواني والطيور عادةً تحتوي على العديد من أنواع الأحياء الدقيقة الداخلية في الجهاز الهضمي والجهاز التنفسي والجهاز التناسلي وقنوات حلمات

الضرع وكذلك يمكن أن تتواجد على الجلد وفي الحوافر والشعر والريش، تعتمد أعداد هذه الأحياء الدقيقة على نوع العضو فيمكن أن تكون في بعض الأعضاء عالية جداً (مثل محتويات الأمعاء الغليظة : يمكن أن يكون مرتفعا بحيث يصل إلى 10^{10} بكتيريا / جرام). وهذه الأحياء الدقيقة يمكن أن تنتقل إلى الجزء المأكول من اللحم أثناء المعاملات التصنيعية. كما أن كثير من الحيوانات قد تكون حاملة لأحياء دقيقة ممرضة مثل Salmonella serovars و Escherichia coli و Campylobacter jejuni و Yersinia enterocolitica و Listeria monocytogenes بدون أن يظهر عليها الأعراض، وعند وضع البيض للطيور المشتبه بأنها تحمل Salmonella Enteritidis في المبايض يحدث تلوث للبيضة أثناء عملية الإباضة، حالات مرض الحيوان مثل التهاب الضرع في الأبقار Mastitis والالتهابات المعوية والجهاز التنفسي والرحم وكذلك الإصابات يمكن أن تغير في الأحياء الدقيقة الطبيعية للحيوان، وبالمثل التلوث البرازي على سطح الجسم (الجلد والشعر والريش والضرع) واستخدام المياه الملوثة والعلف الملوث (على سبيل المثال ملوث بالسالمونيلا) أيضاً يغير الأحياء الدقيقة الطبيعية للحيوان، الأحياء الدقيقة الموجودة بالتربة والماء وغذاء الحيوان وروثه والغبار قد تكون موجودة على جلد الحيوان ومن جلد الحيوان قد تنتشر في الهواء أو تنتقل إلى أيدي العاملين وملابسهم ثم تنتقل إلى الغذاء.

الأسماك والمحار تحمل في طياتها أحياء دقيقة طبيعية في الخياشيم والجلد والجهاز الهضمي، مدى جودة المياه المتواجد بها السمك وطريقة تغذية الأسماك والأمراض يمكن أن تغير من أنواع ومستوى الأحياء الدقيقة الطبيعية في الأسماك، الأحياء الدقيقة الممرضة مثل

Vibrio cholera و V. vulnificus و V. parahaemolyticus يمكن أن تأتي من هذه المصادر.

العديد من الأحياء الدقيقة المفسدة والمسببة للأمراض يمكن أن تصل للأغذية ذات الأصل الحيواني (الحليب والبيض واللحوم ومنتجات الأسماك) أثناء الإنتاج والتجهيز، يمكن أن يتلوث الحليب بالبراز الموجود على سطح الضرع وتتلوث قشرة البيض بالمواد البرازية خلال وضع البيض وتتلوث اللحوم من محتويات الأمعاء أثناء الذبح وتتلوث الأسماك من محتويات الأمعاء أثناء التجهيز. وتلوث الأغذية ذات المصدر الحيواني بالبراز يجب تجنبه نتيجة احتمال وجود أحياء دقيقة معوية مسببة للأمراض. بالإضافة إلى التلوث بالممرضات المعوية من المواد البرازية اللحوم والطيور يمكن أن تُلوث أيضا بالعديد من الأحياء الدقيقة المفسدة (Spoilage) والمسببة للأمراض من الجلد والشعر والريش مثل

Staphylococcus aureus و *Micrococcus spp*. و *Propionibacterium spp*. و *Corynebacterium spp*. والأعفان *molds* والخمائر Yeasts، ولمنع تلوث الأغذية من هذه المصادر يجب اتباع أساليب سليمة في تربية الحيوانات والطيور والتي تتضمن إعداد حظائر جيدة وتزويدها بالأعلاف والمياه الغير ملوثة، وكذلك اختيار الحيوانات والطيور الغير حاملة للأحياء الدقيقة الممرضة وإعدام الحيوانات والطيور الحاملة للمرض للحد من انتشار الأحياء الدقيقة المسببة للأمراض في الأغذية، وكذلك استخدام نوعية جيدة من المياه للغسل وتنظيف الذبائح (ويفضل إضافة مواد مضادة للميكروبات لمياه الغسل) وإزالة الشعر الريش وإزالة الجهاز الهضمي والتناسلي والجهاز التنفسي بعناية وبدون تلوث للأنسجة وإزالة الأجزاء

الملوثة وتطبيق الاشتراطات الصحية المناسبة أثناء مراحل الذبح والتجهيز لتقليل الحمل الميكروبي للمنتج.

كذلك التنظيف الجيد للضرع قبل الحلب وتبريد الحليب مباشرة بعد الحلب والتصنيع السريع والحفاظ على تطبيق الاشتراطات الصحية في جميع المراحل مهم للحفاظ على مستويات منخفضة للميكروبات في الحليب. كما يجب جمع البيض بعد فترة وجيزة من وضع الدواجن للبيض وغسله وتخزينه وفقا للإجراءات الموصى بها، الأسماك والمنتجات البحرية يجب أن تُحلب من المياه الغير ملوثة. ويجب استخدام الشروط الصحية المناسبة أثناء عملية التجهيز، وينبغي تخزينها بالشكل الصحيح لمنع زيادة التلوث ونمو الميكروبات، كما يجب أن يكون الثلج المستخدم للتخزين من مياه غير ملوثة.

3.2.4 الهواء (Air)

قد يحتوي الهواء على أحياء دقيقة كثيرة توجد في الغبار والرذاذ الرطب في الهواء. ولا يحتوي الهواء على فلورا ميكروبية محددة ولكنه يكتسبها من مصادر عديدة. الأحياء الدقيقة لا تنمو في الغبار ولكن قد تنتقل عبره وهذا يتوقف على البيئة، جراثيم بكتيريا *Bacillus spp* و *Clostridium spp* والأعفان molds وبعض خلايا البكتيريا الموجبة لجرام (مثل*Micrococcus spp., Sarcina spp*) وكذلك الخمائر يمكن أن تكون سائدة في الهواء. ويمكن للبكتيريا الممرضة أن تنتقل بواسطة الهواء إذا كان المحيط يحتوي على الأحياء الدقيقة الممرضة على سبيل المثال من مزارع الحيوانات والدواجن أو النباتات المعاملة بمياه الصرف

الصحي الغير المعالجة فيمكن أن تنتشر عن طريق الهواء أنواع مختلفة من البكتيريا والفيروسات (Bacteriophages)، عموما الهواء الجاف له محتوى منخفض من الغبار ودرجة حرارة مرتفعة ولذلك يحتوي أعداد منخفضة من الميكروبات. كذلك الهواء في أعلى الجبال يحتوي أعداداً ميكروبية أقل بينما تكون الأعداد هائلة في الجو المغبر. كما أن الأمطار تقلل من الميكروبات في الجو، والهواء يكون اكثر تلوثاً في فصل الصيف عنه في الشتاء، ووجد أن أنواع الأحياء الدقيقة يرتبط بنوع النشاط الموجود في المنطقة مثلاً نجد أن بكتيريا Streptococci منتشرة بالقرب من مصانع الألبان بينما تنتشر الخمائر بالقرب من المخابز. ويزداد الحمل الميكروبي لهواء المصانع أثناء عمليات التصنيع نتيجة تكون الرذاذ أو الهباء الجوي aerosols أثناء الغسيل أو التبريد بالرش أو أثناء عمليات التنظيف بواسطة الرش بالضغط العالي وكذلك ينتج رذاذ من العاملين نتيجة العطس والكحة ونتيجة حركة المعدات والمواد الخام وهذا يؤدي لإحداث تيارات من الهواء في المصنع مما يزيد من الحمل الميكروبي للهواء داخل المصنع، التلوث الميكروبي للغذاء من الهواء في مصانع الأغذية يمكن تقليله عن طريق التحكم في المصادر المسببة للتلوث والسيطرة على جزيئات الغبار في الهواء بإجراء فلترة وتنقية للهواء أو إجراء معاملات كيميائية أو استخدام الحرارة والإشعاع مثل استخدام الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم هواء المصنع أو يُحتفظ بضغط عالي في المناطق النظيفة في المصنع وبذلك عند فتح الأبواب يخرج الهواء من المناطق النظيفة ولا يدخل هواء من الخارج إليها.

4.2.4 التربة (Soil)

تعتبر التربة مصدراً طبيعياً لكثير من أنواع الأحياء الدقيقة وخاصة التربة التي تستخدم

للزراعة وتربية الحيوانات والطيور، ولأن الأحياء الدقيقة يمكن أن تتكاثر في التربة فإن أعدادها تكون عالية جداً (مليار/جرام) في التربة، ووجد أن أعداد الأحياء الدقيقة في التربة القريبة من السطح أعلي وتتناقص بزيادة عمق التربة، نوع وأعداد الأحياء الدقيقة تختلف باختلاف نوع التربة والظروف البيئية المحيطة فالتربة الخصبة أو المسمّدة بالفضلات الحيوانية أو الآدمية تحتوي أعداد أكبر من الميكروبات عن التربة الغير الخصبة (الرملية)، العديد من أنواع الأعفان والخمائر وأجناس البكتيريا (مثل: *Enterobacter* و *Streptomyces* و *Pseudomonas* و *Corynebactrium* و *Proteus* و *Micrococcus* و *Enterococcus* و *Bacillus* و*Clostridium*) يمكن أن تلوث الأغذية عن طريق التربة. التربة الملوثة بمواد برازية يمكن أن تكون مصدراً للبكتيريا المسببة للأمراض المعوية والفيروسات في الأغذية، يمكن للترسيبات، البحرية التي جُلبت منها الأسماك والحيوانات الصدفية البحرية أيضا أن تكون مصدراً لتلوث هذه الأغذية بالأحياء الدقيقة (تتراوح الأحياء الدقيقة بالترسيبات بين 10^4 إلى 10^9/ جم) كما يمكن أن تكون مصدراً للأحياء الدقيقة الممرضة في تلك الأغذية، كما أن أنواع مختلفة من الطفيليات يمكن أن تصل إلى الغذاء من التربة، إزالة التربة (والرواسب) بواسطة الغسل وتجنب تلوث الأغذية بالتربة يمكن أن يقلل من الأحياء الدقيقة في الأغذية من هذا المصدر.

5.2.4 مياه الصرف الصحي Sewage

مياه الصرف الصحي وخصوصاً عندما تُستخدم كسماد في المحاصيل يمكن أن تلوث الأغذية بالأحياء الدقيقة وأهمها البكتيريا المعوية الممرضة والفيروسات والطفيليات

المعوية وهذا يمكن أن يشكل مصدر قلق كبير في حالة الأغذية التي تنمو عضويا وكثير من الفواكه والخضروات المستوردة التي يمكن أن يُستخدم لزراعتها مياه الصرف الغير معالجه كسماد طبيعي. يمكن للطفيليات المسببة للأمراض أن تصل للغذاء من مياه الصرف الصحي. وللحد انتشار التلوث الميكروبي للأغذية فمن الأفضل عدم استخدام مياه الصرف الصحي كسماد وإذا ما أُستخدمت ينبغي أن تعامل بكفاءة لقتل مسببات الأمراض. أيضا من المهم الغسل الجيد للمحصول قبل الاستهلاك.

6.2.4 الماء Water

المياه إما أن تكون سطحية كمياه الأنهار والبحيرات والبحار وإما مياه جوفية كمياه الآبار والعيون. المياه السطحية تحتوي أعداداً كبيرة من الميكروبات مقارنةً بالمياه الجوفية وتحتوي مياه الأنهار ميكروبات أكثر عدداً من مياه البحار المالحة نظراً لاحتوائها على الملح الذي يعوق ويمنع نمو كثير من الأحياء الدقيقة.

ويستخدم الماء لإنتاج وتصنيع الأغذية وتحت ظروف معينة لتخزين الأغذية كما يتم استخدامه لأغراض الري للمحاصيل والشرب من قبل الحيوانات والطيور وتنمية الأسماك والمنتجات البحرية وغسل الأغذية وفي التجهيز (البسترة والتعليب والتبريد وتسخين الأغذية) وتخزين الأغذية (مثل السمك في الثلج) وغسل وتعقيم المعدات وخدمات النقل، كما يُستخدم الماء بوصفه أحد المكونات في العديد من الأغذية المصنعة، وبالتالي فإن جودة المياه لها تأثيراً كبيراً على نوعية ومستوى الميكروبات في الأغذية، وقد سُجلت العديد من حالات

تلوث الأغذية بالبكتيريا المسببة للأمراض وبالفيروسات والطفيليات من المياه الملوثة، ويمكن إعادة تدوير مياه الصرف الصحي لأغراض الري، المياه المعالجة بالكلور ينبغي أن تُستخدم في تجهيز وغسل وتعقيم الأغذية وكذلك عند استخدمها كأحد المكونات في الأغذية. وعلى الرغم من أن مياه الشرب لا تحتوي على مسببات الأمراض وبكتيريا القولون (غالباً الأنواع المعوية) يمكن أن تحتوي على بكتيريا أخرى قادرة على التسبب في فساد الأغذية مثل Pseudomonas و Alcaligenes و Flavobacterium، المياه الغير معالجه بشكل صحيح يمكن أن تحتوي على البكتيريا المسببة للأمراض، للتغلب على هذه المشاكل العديد من مصانع الأغذية تؤسس وحدة مستقلة خاصة بمعاملة المياه قبل إدخالها في تصنيع الأغذية.

7.2.4 الإنسان Human

الإنسان يعتبر من أهم مصادر التلوث في الأغذية وذلك من خلال تداوله للأغذية. عدم تنظيف اليدين بشكل صحيح وانعدام النظافة الشخصية والملابس القذرة والشعر والجلد يمكن أن تكون من المصادر الرئيسية للتلوث الميكروبي للأغذية. وجدت بكتيريا *S. aureus* على الوجه والأيدي وفي الأنف لنسبة عالية من الأشخاص العاديين، تتضمن عمليات الإنتاج والاستهلاك للأغذية تداول كثير للأغذية من قبل العاملين وهي تشمل ليس فقط الأشخاص الذين يعملون في المزارع ومصانع الأغذية ولكن أيضا الأشخاص الذين يتداولون تلك الأغذية في المطاعم وفي متاجر البيع بالتجزئة وفي المنازل، والأشخاص المتداولون للأغذية والحاملين للمرض هم مصدر العدوى بالأحياء الدقيقة الممرضة والتي تسبب

الأمراض المنقولة بالغذاء في وقت لاحق خاصة عن طريق الأغذية الجاهزة للأكل Ready-to-eat foods وجود جروح بسيطة والدمامل أو الخراجات على الجلد وفي اليدين والوجه ووجود أعراض مرضية عامة خفيفة (على سبيل المثال، الأنفلونزا والتهاب الحلق والتهاب الكبد A في مرحلة مبكرة) هو النمط الأكثر شيوعاً لانتقال الميكروبات إلى الأغذية. بالإضافة إلى البكتيريا المفسدة للأغذية فإن هناك بعض الأحياء الدقيقة الممرضة مثل*S. aureus* و *Shigella spp* و *E. coli* المرضية و *Salmonella serovars* يمكن أن تلوث الأغذية من مصادر بشرية، التدريب المناسب وتوعية العاملين بالنظافة الشخصية والفحص المنتظم لصحة العاملين والحفاظ على تطبيق المعايير والاشتراطات الصحية ضروري لتقليل التلوث من هذا المصدر.

8.2.4 المكونات الغذائية Food Ingredients

في الأغذية المحضرة أو المصنعة يتم تضمين عدة مكونات ومواد مضافة بكميات مختلفة. العديد من هذه المكونات يمكن أن تكون مصدر للأحياء الدقيقة المسببة للأمراض وفساد الأغذية. التوابل المختلفة بشكل عام تحتوي على كميات عالية جداً من الأعفان والجراثيم البكتيرية، النشا والسكر والطحين قد تحتوي على جراثيم البكتيريا المحبة للحرارة. وهذه الجراثيم تسبب مشكلة في حالة الأغذية المعلبة حيث أن زيادة أعدادها تعطي فرصة لبقائها حية بعد المعاملة الحرارية مما يسبب فساد الأغذية المعلبة، أيضا قد تتواجد الخمائر المحبة للضغط الأسموزي العالي Osmophilic yeasts في منتجات الحلوى نتيجة تلوث المكونات المضافة مثل الفاكهة والشكولاتة والمكسرات. وقد تم عزل أحياء دقيقة ممرضة من

بعض المكونات مثل جوز الهند المجفف والبيض والشكولاتة، المكونات ينبغي أن يتم إنتاجها في ظروف صحية ويمكن أن تضاف لها مضادات ميكروبية، وبالإضافة إلى ذلك فإن وضع مواصفات ميكروبية مقبولة للمكونات يحد من وجود الأحياء الدقيقة في الأغذية الآتية من هذا المصدر.

9.2.4 المعدات Equipments

تستخدم مجموعة كبيرة من المعدات في الحصاد والذبح والنقل وتجهيز والتصنيع وتخزين الأغذية، العديد من أنواع الأحياء الدقيقة من الهواء والأغذية الخام والمياه والأفراد يمكن أن تلوث معدات الأغذية. اعتماداً على البيئة (الرطوبة والمواد الغذائية ودرجة الحرارة) والوقت يمكن للأحياء الدقيقة أن تتضاعف من أعداد قليلة حتى تصل إلى مستوى عالٍ لتلوث كميات كبيرة من الأغذية التي تلامس هذه المعدات، الأحياء الدقيقة التي تكون موجودة من البداية في المعدات تتضاعف لتصبح مصدر مستمر لتلوث المنتجات المنتجة لاحقاً. في بعض المعدات هناك بعض الأجزاء الصغيرة لا يمكن الوصول إليها بمواد التنظيف والتطهير وبالتالي لا يحدث تنظيف أو تطهير بكفاءة ولذلك يمكن لهذه المواقع الميتة أن تكون بمثابة مصدر للأحياء الدقيقة المسببة للأمراض والمفسدة للأغذية. المعدات الصغيرة مثل لوحات التقطيع والسكاكين والملاعق وما شابة قد تؤدي للتلوث الخلطي Cross contamination وذلك بسبب التنظيف الغير جيد.

Salmonella و *Listeria* و *Escherichia* و *Enterococcus* و *Micrococcus*

و *Pseudomonas* و *Lactobacillus* و *Leuconostoc* و *Clostridium* و *Bacillus spp*. والخمائر والأعفان يمكن أن تلوث الأغذية من المعدات الغير نظيفة، التنظيف السليم للمعدات وعلى فترات محددة مهم لخفض مستويات الميكروبات في الغذاء، بالإضافة إلى أنه يجب أخذ المشاكل الميكروبيولوجية بعين الاعتبار في تصميم معدات تصنيع الأغذية. هناك مصادر تلوث أخرى للأغذية غير المذكورة أعلاه حيث يمكن أن تتلوث الأغذية بالميكروبات من مواد التعبئة والتغليف والحاويات والذباب والطيور والحيوانات الأليفة والقوارض، وتُستخدم العديد من مواد التعبئة والتغليف في الغذاء حيث تُستخدم في المنتجات الجاهزة للاستهلاك وفي بعض الحالات بدون المزيد من المعاملة الحرارية ولذلك فإنه من الضروري الالتزام بالمعايير الميكروبيولوجية المناسبة (أو المواصفات) لمواد التعبئة والتغليف، ويجب مكافحة الذباب والطيور والقوارض أثناء تجهيز وإعداد الأغذية وفي مرافق التخزين لأنها يمكن أن تحمل الأحياء الدقيقة المسببة للأمراض. الحيوانات الأليفة المنزلية يمكن أن تؤوي أيضا الأحياء الدقيقة المسببة للأمراض وينبغي إتباع العناية اللازمة حتى لا تُلوث الأغذية من هذه المصادر (RAY, 2004 ; JAY et al., 2005).

الفصل الخامس

العوامل المؤثرة على نشاط الأحياء الدقيقة في الأغذية

تتأثر الأحياء الدقيقة في الأغذية عادةً بظروف الغذاء الداخلية ويطلق عليها العوامل الداخلية Intrinsic factors وتتأثر بمجموعة عوامل أخرى تسمى العوامل الخارجية Extrinsic factors.

1.5 العوامل الداخلية Intrinsic factors

العوامل الداخلية هي عوامل تتعلق بالمواد الغذائية تشمل المغذيات وعوامل النمو ومثبطات النمو والنشاط المائي ودرجة الحموضة أو الأس الهيدروجيني وقدرتها على الحد من الأكسدة، وسيتم مناقشة تأثير كل عامل على النمو بشكل منفصل> ومن المعروف أن التأثير على نمو الميكروبات سواءً كان إيجابياً أو سلبياً في النظام الغذائي يكون حصيلة تأثير كل العوامل.

1.1.5 المغذيات والنمو

يتم نمو الميكروبات عن طريق تخليق المكونات الخلوية والطاقة وتستمد العناصر الغذائية اللازمة لهذه العملية من الأغذية وتشمل هذه المواد الغذائية الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والمعادن والفيتامينات، لا يعتبر الماء مادة مغذية ولكنه ضروري كوسيلة لإتمام التفاعلات الكيميائية الحيوية اللازمة للخلية ولإنتاج الطاقة. جميع الأغذية تحتوي هذه المجموعات الخمس الكبرى من المغذيات إما طبيعيا أو مضافة ونسبة كل هذه المواد الغذائية تختلف بشكل كبير باختلاف المواد الغذائية، بشكل عام اللحوم غنية بالبروتين والدهون والمعادن والفيتامينات ولكنها فقيرة في الكربوهيدرات، الأغذية النباتية غنية بالكربوهيدرات

ولكن يمكن أن تفتقر إلى البروتين والمعادن وبعض الفيتامينات، هناك أغذية مثل الحليب والعديد من الأغذية الجاهزة لديها هذه المجموعات الخمسة من المواد الغذائية بكميات كافية لنمو الميكروبات.

الأحياء الدقيقة الموجودة عادةً في الأغذية تختلف اختلافا كبيرا في الاحتياجات الغذائية فنجد أن البكتيريا تتطلب مغذيات أكثر تليها الخمائر والعفن. تختلف الأحياء الدقيقة اختلافا كبيرا أيضا في قدرتها على الاستفادة من الكربوهيدرات المعقدة (مثل النشا والسليلوز) والبروتينات الكبيرة (مثل الكازين في الحليب) والدهون. الأحياء الدقيقة القادرة على استخدام هذه الجزيئات تقوم بذلك من خلال إنتاج إنزيمات خارج الخلية (Exoenzymes) تحلل Hydrolyzing الجزيئات المعقدة إلى أشكال أبسط خارج الخلايا قبل نقلها داخل الخلية. الفطريات هي الأقدر على القيام بذلك وهذا يوفر فرصة لنمو الفطريات حيث تنافس الأنواع الغير قادرة على أيض الجزيئات المعقدة عند تواجدها مع خليط من الأحياء الدقيقة. أيضا الخلايا الميكروبية بعد موتها وتحللها تطلق إنزيمات يمكنها أيضا تحليل المغذيات المعقدة في المادة الغذائية إلى أشكال أبسط ومن ثم يمكن الاستفادة منها من قبل الأحياء الدقيقة الأخرى.

1.1.1.5 الكربوهيدرات في الأغذية

الكربوهيدرات الرئيسية الموجودة في الأغذية المختلفة إما طبيعياً أو مضافة يمكن تصنيفها على أساس طبيعتها الكيميائية على النحو التالي:

السكريات الأحادية Monosaccharides

- السكريات السداسية (Hexoses): الجلوكوز - الفركتوز - المانوز - الجالاكتوز - السكريات الخماسية (Pentoses): الزيلوز - أرابينوز - الريبوز - ريبولوز - زايلولوز

السكرية الثنائية Disaccharides

- اللاكتوز (سكر اللبن + الجلوكوز)
- السكروز (سكر الفواكه + الجلوكوز)
- المالتوز (الجلوكوز + الجلوكوز)

السكريات العديدة صغيرة الحجم Oligosaccharides

- رافينوز (الجلوكوز + الفركتوز + الجالاكتوز)
- Stachyose (الجلوكوز + الفركتوز + الجالاكتوز + الجالاكتوز)

السكريات العديدة Polysaccharide

- النشا (وحدات الجلوكوز)
- الجليكوجين (وحدات الجلوكوز)
- السليلوز (وحدات الجلوكوز)
- انيولين Inulin (وحدات الفركتوز)
- هيميسليولوز Hemicellulose (الزيلوز - الجالاكتوز - وحدات المانوز)
- الدكستران: (α-1, 6 glucose polymer).
- البكتين Pectins.
- الصموغ Gums.

ويتواجد اللاكتوز في الحليب فقط وبالتالي يمكن أن يكون موجود في منتجات الحليب، أما الجليكوجين فإنه يوجد في الأنسجة الحيوانية وخاصة في الكبد، السكريات الخماسية Pentoses ومعظم السكريات العديدة من نوع Oligosaccharides والسكريات العديدة موجودة بشكل طبيعي في الأغذية من أصل نباتي، جميع الأحياء الدقيقة التي توجد عادةً في المواد الغذائية تستطيع أيض أو استخدام الجلوكوز كمصدر للكربون ولكن قدرتها على الاستفادة من الكربوهيدرات الأخرى تختلف إلى حد كبير. ويرجع ذلك إلى عدم قدرة بعض الأحياء الدقيقة لنقل السكريات الأحادية والثنائية Disaccharides إلى داخل الخلايا وعدم قدرتها على تحليل السكريات العديدة خارج الخلايا بينما الفطريات هي الأكثر قدرة على استخدام السكريات العديدة Polysaccharides، غالبية البكتيريا تحلل السكريات الأحادية والثنائية في حين أنواع قليلة من البكتريا تحلل الكربوهيدات المعقدة مثل النشا والبكتين والسليولوز بينما أنواع كثيرة من الأعفان تحلل هذه السكريات المعقدة نظرا لقدرتها على إنتاج الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز.

وتستخدم الأحياء الدقيقة الكربوهيدرات للحصول على الطاقة من خلال العديد من المسارات الأيضية، بعض المنتجات الأيضية يمكن أن تستخدم لتخليق المكونات الخلوية للأحياء الدقيقة (على سبيل المثال لإنتاج الأحماض الأمينية من الأحماض الكيتونية).

الأحياء الدقيقة أيضا تنتج مركبات أيضية من التمثيل الغذائي تسبب فساد الأغذية (مثل غاز CO_2) أو أن هذه النواتج تعطي تغيرات مرغوبة كما هو الحال في المنتجات الغذائية المتخمرة (إنتاج حمض اللاكتيك في الزبادي واللبن المتخمر)، كما أن بعض

الميكروبات تنتج من أيض الكربوهيدرات الأحماض العضوية مثل حمض اللاكتيك والخليك والبروبيونيك والتي لها تأثير مضاد Antagonistic لنمو العديد من أنواع البكتيريا الأخرى.

الأحياء الدقيقة يمكنها بلمرة Polymerization (إكثار) بعض السكريات الأحادية لإنتاج الكربوهيدرات المعقدة مثل Dextrans ومواد محفظية Capsular materials وجدار الخلية (أو الغشاء الخارجي والغشاء المتوسط في البكتيريا السالبة لجرام)، يمكن لبعض الأحياء الدقيقة أن تكّون معقداً من هذه الكربوهيدرات مع البروتين مسببة الأمراض للإنسان وقد يسبب بعضها تلف للمواد الغذائية (مثل اللزوجة).

2.1.1.5 البروتينات

المكونات البروتينية الرئيسية في الأغذية هي بروتينات بسيطة والبروتينات المرتبطة والببتيدات والمركبات النيتروجينية اللابروتينية (NPN) (الأحماض الأمينية واليوريا والأمونيا والكرياتينين وثلاثي ميثيل أمين Trimethylamine)، البروتينات والببتيدات هي بوليمرات من الأحماض الأمينية تختلف في أنواع الأحماض الأمينية وقد ترتبط مع بعض المركبات العضوية (مثل الكربوهيدرات) أو مع غير العضوية (مثل الحديد) وتحتوي من 15 إلى 18 % نيتروجين. البروتينات الغذائية البسيطة مثل الالبيومينات albumins (في البيض) والجلوبيولين globulins (في الحليب) والجلوتلينات glutelins (الجلوتين gluten في الحبوب) و prolamins (في الحبوب) و albuminoids (الكولاجين collagen في العضلات) هي بوليمرات من الأحماض الأمينية، تختلف هذه البروتينات اختلافا كبيراً في الذوبانية وهذا يحدد قدرة الأحياء الدقيقة على الاستفادة من بروتين معين، العديد من الأحياء الدقيقة يمكن أن

تحلل الزلال (بروتين البيض) وهو قابل للذوبان في الماء، في المقابل نجد أن الكولاجين الغير قابل للذوبان في الماء أو المحاليل الحامضية الضعيفة لا يستخدم إلا من قبل عدد قليل من الأحياء الدقيقة المنتجة لإنزيم الكولاجينيز Collagenase والتي تلعب دور مهم في فساد اللحم. وتتواجد البروتينات بكميات أعلى في الأغذية ذات الأصل الحيواني مقارنة بالأغذية ذات الأصل النباتي. غير أن الأغذية النباتية مثل المكسرات والبقوليات تعتبر غنية بالبروتينات. تختلف الأحياء الدقيقة اختلافاً كبيراً في قدرتها على أيض البروتينات الغذائية، هناك بعض الأحياء الدقيقة تستطيع الاستفادة من النيتروجين في صورة نيترات أو أمونيا لإنتاج الأحماض العضوية الهامة للنمو. معظم الأحياء الدقيقة تنقل الأحماض الأمينية والببتيدات الصغيرة إلى داخل الخلايا وتحلل الببتيدات الصغيرة إلى أحماض أمينية داخل الخلايا كما هو الحال في بعض أنواع .*Lactococcus* spp.

الأحياء الدقيقة تنتج إنزيمات البروتينيز Proteinases والببتيديز Peptidases خارج الخلايا وتحلل البروتينات الكبيرة إلى ببتيدات والببتيدات إلى أحماض أمينية ولذلك تسمى بالأنواع المحلّلة للبروتين Proteolytic bacteria، تحلل البروتينات الغذائية Hydrolysis من قبل الأحياء الدقيقة يمكن أن يكون غير مرغوب فيه (فقدان القوام في اللحوم) أو مرغوبا فيه (تكوّن النكهة في الجبن)، الأحياء الدقيقة يمكنها أيض مركبات النيتروجين غير البروتينية (NPN) المختلفة الموجودة في الأغذية، وتُستخدم الأحماض الأمينية داخل الخلايا الميكروبية عبر مسارات مختلفة لتخليق المكونات الخلوية والطاقة.

3.1.1.5 الدهون

الدهون في الأغذية تشمل المركبات التي يمكن استخلاصها بواسطة المذيبات العضوية وتشمل الأحماض الدهنية الحرة والجلسريدات Glycerides والدهون الفوسفاتية Phospholipids والشمع والاسترولات Sterols، كمية الدهون تكون عالية في الأغذية ذات الأصل الحيواني عنها في الأغذية ذات الأصل النباتي على الرغم من أن المكسرات والبذور الزيتية وجوز الهند والزيتون لديها كميات عالية من الدهون، الكوليسترول موجود في الأغذية الحيوانية الأصل أو الأغذية التي تحتوي على مكونات من مصادر حيوانية، الدهون بصفة عامة غير مفضلة كمصدر للطاقة ولتخليق المواد الخلوية من قبل معظم الأحياء الدقيقة. كثير من الأحياء الدقيقة يمكن أن تنتج إنزيم اللاييز خارج الخلايا Extracellular lipases وتحلّل الجلسريدات إلى الأحماض الدهنية والجليسرول ثم يتم نقل الأحماض الدهنية إلى داخل الخلايا لاستخدامها في إنتاج الطاقة. بعض الأحياء الدقيقة تنتج إنزيم الاوكسيديز extracellular lipid oxidases خارج الخلية وتؤكسد الأحماض الدهنية غير المشبعة لتنتج الكيتونات والألدهيدات، وتعتبر الفطريات أكثر الأحياء الدقيقة قدرة على إنتاج هذه الإنزيمات، كذلك بعض أنواع البكتيريا مثل *Pseudomonas* و *Achromobacter* و *Alcaligenes* تحلل الخلايا الميكروبية الميتة يؤدي لتحرير إنزيمات اللابيز والاوكسديز الداخلية intracellular lipases, oxidases التي تستمر في تحليل الدهن في الغذاء. في العديد من الأغذية إنتاج هذه الإنزيمات يكون مرتبط بفساد بعض الأغذية وإحداث التزنخ rancidity بينما في أغذية أخرى ترتبط هذه الإنزيمات بإنتاج

الطعوم والنكهات المرغوبة كما هو الحال في تسوية الجبن بالفطريات. بعض أنواع البكتيريا المعوية النافعة مثل *Lactobacillus acidophilus* تستطيع أيض الكولسترول ويعتقد أنها بذلك تخفض مستويات الكوليسترول في مصل الدم.

4.1.1.5 المعادن والفيتامينات

الأحياء الدقيقة تحتاج عدة عناصر معدنية بكميات صغيرة مثل الفوسفور والكالسيوم والمغنيسيوم والحديد والكبريت والمنغنيز والبوتاسيوم. معظم الأغذية تحتوي هذه العناصر بكميات كافية. غير أن العديد من الأحياء الدقيقة تستطيع تخليق فيتامينات B كما أن الأغذية أيضا تحتوي معظم فيتامينات B.

بشكل عام معظم الأغذية تحتوي على مختلف الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والمعادن والفيتامينات بكميات كافية لنمو الفطريات والخمائر والبكتيريا وخصوصاً البكتيريا السالبة لصبغة جرام التي تتواجد عادةً في الأغذية. بعض الأغذية تحتوي كميات محدودة من واحد أو عدد قليل من المواد المغذية اللازمة لتسريع نمو بعض البكتيريا الموجبة لجرام وخاصة بعض أنواع بكتيريا حامض اللاكتيك ذات المتطلبات الغذائية الصعبة fastidious مثل *Lactobacillus*.

2.1.5 العوامل المحفزة والمثبطة لنمو الأحياء الدقيقة الموجودة طبيعياً في الأغذية

الأغذية يمكن أن تحتوي على بعض العوامل التي إما تحفز أو تؤثر سلباً على نمو الأحياء الدقيقة، طبيعة عوامل النمو هذه غير معروفة ولكنها موجودة بشكل طبيعي في بعض الأغذية، ومن الأمثلة على ذلك عوامل النمو في الطماطم (البندورة) التي تحفز نمو

بعض أنواع بكتيريا *Lactobacillus* ويمكن لهذه العوامل أن تضاف إلى المواد الخام خلال تصنيع الأغذية المتخمرة Food bioprocessing أو إلى البيئة لعزل بعض البكتيريا الحساسة من الأغذية. تحتوي الأغذية أيضا على العديد من المواد الكيميائية إما متواجدة طبيعيا أو مضافة والتي تؤثر سلباً على نمو الميكروبات، بعض المثبطات Inhibitors الطبيعية هي الليزوزايم Lysozyme في البيض و اجلوتينين Agglutinin في الحليب وبعض المركبات غير الطيارة مثل التنينات والجليكوسيدات والأوجينول Eugenol في القرنفل كما تحتوي القرفة على مادة طيارة تسمى Cinnimic aldehyde هذه المثبطات يمكن أن تمنع نمو أو تقتل الأحياء الدقيقة. قد تتكون بعض المواد المثبطة نتيجة نمو الميكروبات في الأغذية مثل إنتاج المضادات الحيوية من قبل الأعفان، بكتيريا *Propionibacterium* تكون حامض البروبيونيك في الجبن السويسري وتوقف نشاط الأعفان فيه. وتكوين المضاد الحيوي البكتريوسين bacteriocin بواسطة *S. lactis* في الحليب يمنع نمو الـ *Clostridium* والـ *Staphylococcus* وغيرها وتكوين حمض اللاكتيك يمنع أو يوقف نشاط البكتيريا المحللة للبروتين.

3.1.5 البناء البيولوجي للمادة الغذائية Biological structure

تمتلك بعض الأغذية تراكيب تعمل كحواجز لحمايتها من دخول الأحياء الدقيقة إلى الأجزاء الداخلية مثل غلاف الحبة (القصرة) في الحبوب والقشرة والأغشية الداخلية في البيض والكيوتيكل المحيط ببعض الأعضاء النباتية وكذلك الجلد الموجود على اللحم والأسماك يحافظان عليهما من الفساد، وعند حدوث تلف في هذه الحواجز الناتج عن فعل الحشرات

أو القوارض أو التلف الميكانيكي فإنها تتعرض للفساد بسرعة أكثر من تلك السليمة. وصناعياً تضاف طبقات واقية إلى بعض الأغذية لحفظها من الفساد كإضافة طبقة من الشمع أو البلاستيك إلى التفاح والبرتقال.

4.1.5 النشاط المائي Water Activity

النشاط المائي (a_w) هو مقياس لمدى توافر المياه للوظائف البيولوجية ويتعلق بوجود الماء في المواد الغذائية في شكل حر، في النظام الغذائي الماء الكلي أو الرطوبة موجود في أشكال حرة ومرتبطة، الماء المرتبط يستخدم لترطيب وإذابة المواد المذابة وليس متاحاً للوظائف البيولوجية وبالتالي فإنه لا يعبر عن النشاط المائي، ويعرف النشاط المائي بأنه النسبة ما بين ضغط بخار الماء في هذا الغذاء P ($P<1$) إلى ضغط بخار الماء النقي P_o ($P_o = 1$) عند نفس درجة الحرارة.

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

وينحصر مدى النشاط المائي ما بين أكثر من صفر إلى أقل من 1($0 <$ إلى < 1) لأنه ليس هناك أي غذاء نشاطه المائي صفر أو غذاء نشاطه المائي يساوي واحد ($0 - 1$) وتتراوح قيم النشاط المائي للأغذية من 0.99 إلى أقل من 1.0.

وجد أن قيم النشاط المائي لبعض المجموعات الغذائية هي على النحو التالي: الحبوب والبسكويت والسكر والملح والحليب الجاف 0.1 إلى 0.2 : المكرونة (noodles) والعسل والشوكولاتة والبيض المجفف أقل من 0.60: المربى والجلي والفواكه المجففة والجبنة

والمكسرات 0.60 إلى 0.85 السجق المخمرة واللحوم الجافة والحليب المكثف المحلى 0.85 إلى 0.93 الحليب المبخر ومعجون الطماطم والخبز وعصائر الفواكه والأسماك المملحة والنقانق والجبن المطبوخ 0.93 إلى 0.98 واللحوم الطازجة والأسماك والفواكه والخضروات والحليب والبيض: 0.98 إلى 0.99.

الماء الحر في الغذاء ضروري لنمو جميع الأحياء الدقيقة فهو ضروري لنقل المواد الغذائية ولإذابة العناصر الغذائية التي يحتاجها الكائن ونقلها للداخل وإجراء التفاعلات الإنزيمية ويشارك في التفاعلات الكيميائية الحيوية الأخرى وفي تخليق المواد الخلوية ويحمل نواتج عملية الأيض إلى خارج الخلية الحية كما يحافظ على شكل الخلية ورطوبة السيتوبلازم.

كل نوع من أنواع الميكروبات (أو المجموعة) لديها نشاط مائي امثل Optimum ونشاط مائي أقصى Maximum ونشاط مائي أدنى Minimum مثلا الحد الأدنى من النشاط المائي اللازم لنمو أغلب الفطريات هو 0.8 وللفطريات المحبة للجفاف Xerophilic molds قد يصل إلى 0.60، ولأغلب الخمائر 0.85 وللخمائر الأسموزية Osmophilic yeasts من 0.6 إلى 0.7 أما معظم البكتيريا الموجبة لجرام فالحد الأدنى لنموها 0.90 وللبكتيريا السالبة لجرام 0.93 بعض الاستثناءات هي نمو *Staphlococcus aureus* عند نشاط مائي 0.85 والبكتيريا المحبة للملوحة Halophilic bacteria عند 0.75 والجدول (1.5) يوضح الحد الأدنى من النشاط المائي اللازم لنمو الأحياء الدقيقة، الشكل (1.5) يوضح مدى النشاط المائي اللازم لنمو بعض الأحياء الدقيقة.

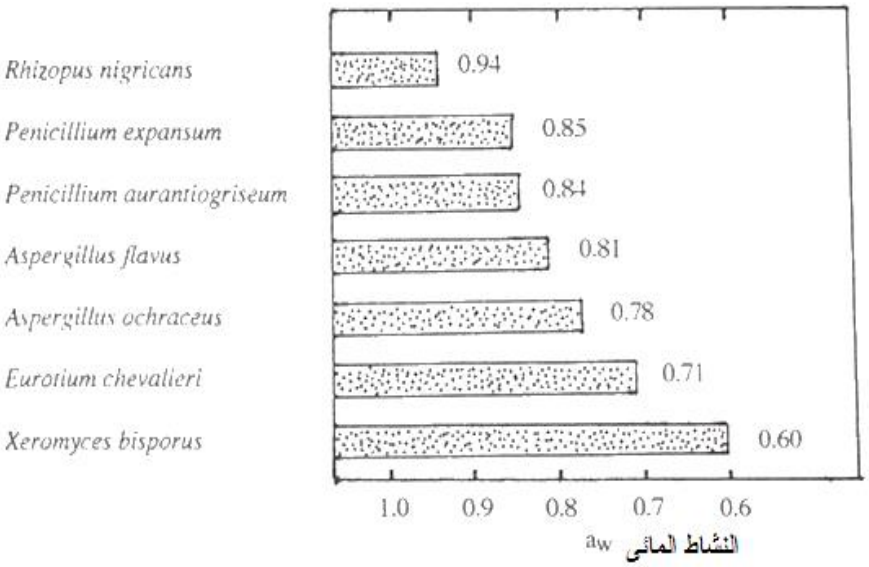
وجد أن النشاط المائي لتجرثم البكتيريا وإنبات الجراثيم وللميكروبات السامة لإنتاج

السموم يكون عادةً أعلى من الحد الأدنى للنمو، والحد الأدنى لنمو الميكروب في الظروف المثلى للنمو يكون أقل مقارنة بالظروف غير المثالية، وكمثال: الحد الأدنى من النشاط المائي لسلالة بكتيرية في أس هيدروجيني 6.8 هو 0.91 بينما في الأس الهيدروجيني 5.5 يمكن أن يكون 0.95 أو أكثر. إذا قل النشاط المائي إلى دون مستوى الحد الأدنى المطلوب لنمو الأحياء الدقيقة تبقى خلايا قابلة للحياة لفترة من الوقت، ولكن إذا انخفض النشاط المائي بشكل كبير فإن الخلايا الميكروبية تفقد حيويتها بسرعة في البداية ومن ثم ببطء أكثر.

جدول (1.5) الحد الأدنى من النشاط المائي اللازم لنمو الأحياء الدقيقة

مجموعة الأحياء الدقيقة	الحد الأدنى للنشاط المائي
معظم البكتيريا السالبة لصبغة جرام	0.97
معظم البكتيريا الموجبة لصبغة جرام	0.90
معظم الخمائر	0.88
معظم الفطريات	0.80
البكتيريا المحبة للملوحة Halophilic bacteria	0.75
الفطريات المحبة للجفاف Xerophilic fungi	0.61

المصدر: عن ADAMS & MOSS (2008)



شكل (1.5) مدى النشاط المائي اللازم لنمو بعض الأحياء الدقيقة

المصدر: ADAMS & MOSS (2008)

5.1.5 الأس الهيدروجيني pH

مصطلح الأس الهيدروجيني (pH) يُستخدم للتعبير عن اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الهيدروجين أو تركيز البروتون في وسط ما، ويتراوح الأس الهيدروجيني (درجة الحموضة) من 0 إلى 14 مع 7.0 تعبر عن أس هيدروجيني متعادل، تركيز أيون الهيدروجين يمكن أن يختلف في الوسط اعتمادا على نوع الحامض، بعض الأحماض القوية المستخدمة في الأغذية مثل حمض الهيدروكلوريك وحامض الفوسفوريك تتأين تماماً، أما الأحماض الضعيفة مثل حمض الخليك أو اللاكتيك تبقى في حالة توازن مع الأشكال المتحللة والغير متحللة

Dissociated وUndissociated:

$$[HCl] \rightarrow [H^+] + [Cl^-], \text{ pH of 0.1 } N \text{ HCl is 1.1}$$

$$CH_3COOH\ [H^+] + [CH_3COO^-], \text{ pH of 0.1 } N\ CH_3COOH \text{ is 2.9}$$

ويختلف الأس الهيدروجيني اختلافا كبيراً تبعا لنوع الغذاء وتقسم الأغذية بناءً على قيمة الأس الهيدروجيني إلى:

أولا: أغذية عالية الحموضة High-acid foods

وهي أغذية لها أس هيدروجيني أقل من 3.7 مثل بعض الفواكه مثل التفاح والبرقوق وعصائر الفواكه مثل الجريب فروت والليمون والأغذية المتخمرة مثل المخللات واللحوم المخمرة ومنتجات الألبان المتخمرة وصلصات السلاطة Salad dressings.

ثانيا:أغذية منخفضة الحموضة Low - acid foods

وهي أغذية لها أس هيدروجيني أعلى من 4.6 مثل معظم الخضروات واللحوم والأسماك والحليب ومنتجاته.

ثالثا: أغذية حامضية Acid foods

وهي الأغذية التي لها أس هيدروجيني أعلى من 3.7 وأقل من 4.5. مثل معظم الفواكه مثل الكمثرى والعنب والخوخ والبرتقال والطماطم والمربيات، الشكل (2.5) يوضح قيم الأس الهيدروجيني للأغذية المختلفة. الحد الفاصل بين المجموعتين هو 4.6 وقد أُختير هذا

الحد نظراً لأن الأس الهيدروجيني ما دون 4.6 يثبط جراثيم بكتيريا *Clostridium botulinum* المسببة للتسمم البوتشليني وقد اخُتيرت بكتيريا التسمم البوتشيليني لأنها تفرز سموماً عصبية هي الأخطر من الناحية الميكروبية.

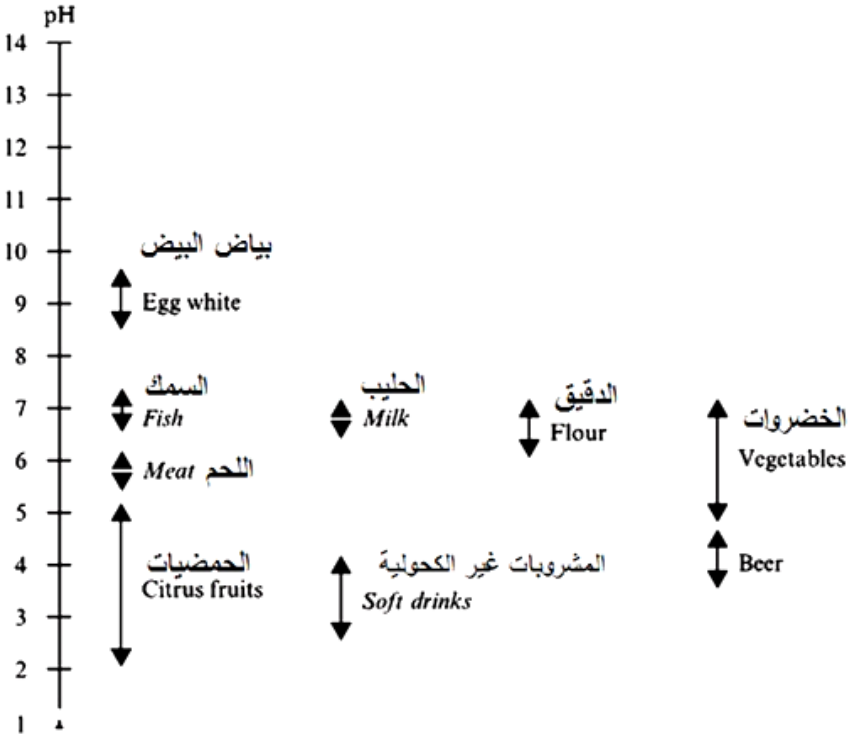
الحد الأعلى للأس الهيدروجيني لمعظم الأغذية منخفضة الحموضة لا يزال أقل من 7.0؛ وفي عدد قليل من الأغذية مثل المحار (الأس الهيدروجيني 7.1) وزلال البيض (الأس الهيدروجيني 8.5) يتجاوز 7.0 وبالمثل فإن الحد الأدنى للأس الهيدروجيني لمعظم الأغذية عالية الحموضة يبقى فوق 3.0 ما عدا في بعض الحمضيات (مثل:الليمون والجريب فروت) وعصير التوت البري حيث يمكن أن يصل pH إلى 2.2 الأحماض في الأغذية إما أن تكون موجودة بشكل طبيعي (كما في الفواكه) أو أُنتجت خلال عملية التخمير كما هو الحال في الأغذية المتخمرة أو تم إضافتها أثناء تجهيز بعض الأغذية كما هو الحال في صلصات السلاطة.

الأس الهيدروجيني للغذاء له تأثير كبير على نمو وبقاء الخلايا الميكروبية. ولكل ميكروب حد أعلى وحد أدنى وحد أمثل من قيم الأس الهيدروجيني لكى تنمو في وسط ما. والجدول (2.5) يوضح الحد الأدنى من قيم الأس الهيدروجيني اللازم لنمو الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية. معظم الأحياء الدقيقة تفضل الأس الهيدروجيني القريب من التعادل والقليل منها ينمو تحت أس هيدروجيني 4.

معظم أنواع البكتيريا تفضل قيم للأس الهيدروجيني قريبة من التعادل (7) للنمو مقارنة بالفطريات والخمائر والتي بشكل عام قادرة على النمو في وسط له أس هيدروجيني

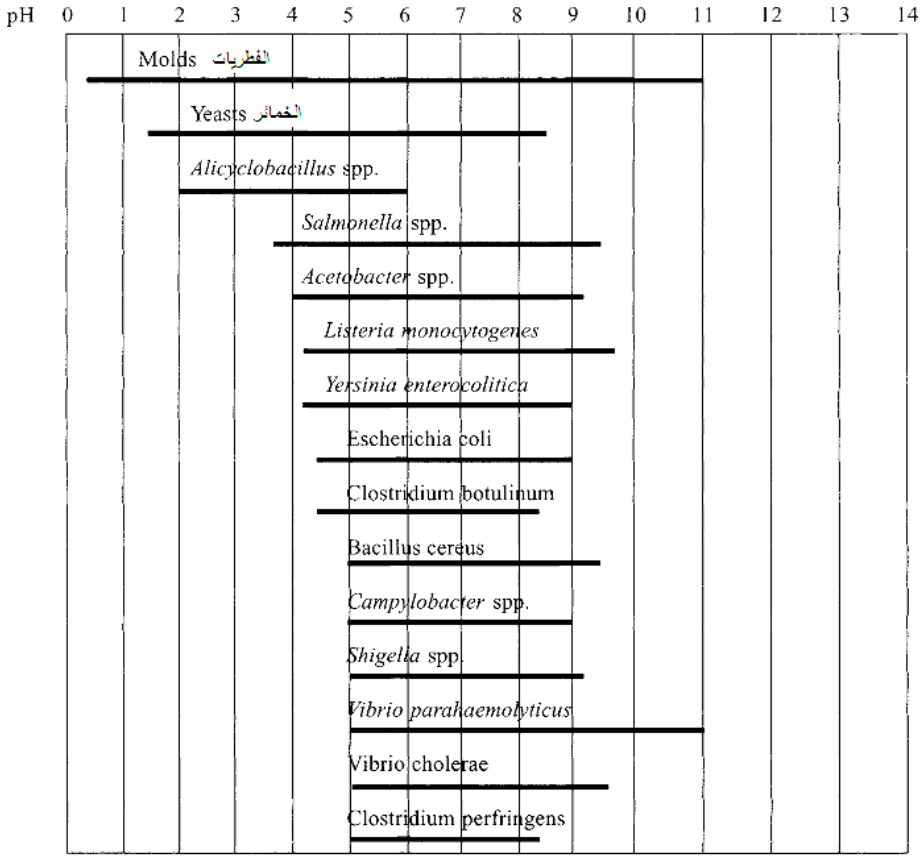
أقل(حموضة). البكتيريا السالبة لجرام Gram-negative bacteria هي أكثر حساسية لانخفاض الأس الهيدروجيني من البكتيريا الموجبة لجرام Gram-positive bacteria.

مدى الأس الهيدروجيني لنمو للفطريات هو 1.5 – 9.0 وللخمائر 2.0 – 8.5 أما للبكتيريا الموجبة لجرام فهو من 4.0 إلى 8.5 وللبكتيريا السالبة لجرام من 4.5 – 9.0 هناك اختلافات فردية كبيرة بين الأنواع في الحد الأدنى للأس الهيدروجيني اللازم للنمو وعلى سبيل المثال بكتيريا *Pediococcus acidilactici* تنمو في درجة الحموضة 3.8 و*S. aureus* تنمو عند 4.5 ولكن عادة بكتيريا *Salmonella* لا تستطيع، وبعض أنواع البكتيريا تنمو أفضل في وسط يميل للحموضة مثل أنواع الجنس *Lactobacillus* وتستطيع الفطريات النمو في وسط أكثر حموضة مما تستطيع الخمائر كما أن الخمائر أكثر مقاومة للوسط الحامضي من البكتيريا، وفي الوسط المتعادل عادةً ما تنمو البكتيريا أسرع من الخمائر وعند وصول الأس الهيدروجيني إلى 5 تتفوق الخمائر على البكتيريا في النمو، الشكل (3.5) يعرض مدى الأس الهيدروجيني لنمو الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية.



شكل (2.5): مدى الأس الهيدروجيني لبعض الأغذية

المصدر: ADAMS & MOSS (2008)



شكل (3.5): المدى التقريبي للأس الهيدروجيني اللازم لنمو الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية

المصدر: JAY (2000)

جدول (2.5) : الحد الأدنى من قيم pH اللازمة لنمو الأحياء الدقيقة ذات العلاقة بالأغذية

Aeromonas hydrophila	ca. 6.0
Asaia siamensis	3.0
Alicyclobacillus acidocaldarius	2.0
Bacillus cereus	4.9
Botrytis cinerea	2.0
Clostridium botulinum, Group I	4.6
C. botulinum, Group II	5.0
C. perfringens	5.0
Escherichia coli 0157:H7	4.5
Gluconobacter spp.	3.6
Lactobacillus brevis	3.16
L. plantarum	3.34
L. sakei	3.0
Lactococcus lactis	4.3
Listeria monocytogenes	4.1
Penicillium roqueforti	3.0
Propioniibacterium cyclohexanicum	3.2
Plesiomonas shigelloides	4.5
Pseudomonas fragi	ca. 5.0
Salmonella spp.	4.05
Shewanella putrefaciens	ca. 5.4
Shigella flexneri	5.5–4.75
S. sonnei	5.0–4.5
Staphylococcus aureus	4.0
Vibrio parahaemolyticus	4.8
Yersinia enterocolitica	4.18
Zygosaccharomyces bailii	1.8

المصدر: **JAY (2000)**

تأثير الأس الهيدروجيني على الأحياء الدقيقة يأتي على مستويين الأول: التأثير على الإنزيمات والثاني التأثير على نقل العناصر الغذائية. عندما ينخفض الأس الهيدروجيني (درجة الحموضة) في الغذاء إلى أقل من الحد الأدنى لنمو الميكروبات فإن الخلايا تتوقف عن النمو وتفقد حيويتها viability ومعدل هذا الفقد يتوقف على مدى انخفاض درجة الحموضة.

يعتبر الغشاء السيتوبلازمي للميكروبات غير منفذ نسبياً لأيونات الهيدروجين أو أيونات الهيدروكسيل لذلك فإن تركيز هذه الأيونات يبقى ثابت نسبياً داخل الخلية حتى لو تغيرت قيم الأس الهيدروجيني في البيئة المحيطة، إذا استطاعت الميكروبات النمو في بيئة حامضية فلابد وأنها تستطيع أن تمنع دخول أيونات الهيدروجين أو تمنع ضخها إلى الخارج إذا دخلت الخلية، سلالات البكتيريا المقاومة للحموضة Acid-resistant يمكن أن تكتسب مقاومة للأس الهيدروجيني الأقل مقارنة مع السلالات الأخرى (على سبيل المثال بكتيريا *Salmonella* المقاومة للأحماض) (acid-resistant *Salmonella*).

يمكن للأحياء الدقيقة أن تغير الأس الهيدروجيني للوسط أثناء النمو مثل بكتيريا *Helicobacter pylori* والتي تتواجد في معدة الإنسان (وسط حامضي) وتبقى حية نظراً لقدرتها على إنتاج أنزيم اليوريز Urease والذي يحلل اليوريا منتجاً الأمونيا التي تؤدي إلى ارتفاع الأس الهيدروجيني للوسط المحيط مما يوفر حماية لها من تأثير حموضة المعدة.

في بعض أنواع البكتيريا الأخرى تقوم بعض الإنزيمات مثل إنزيم دي كربوكسيليز Decarboxylase والذي له نشاط أمثل عند أس هيدروجيني 4 بتعديل الأس الهيدروجيني

باتجاه التعادل عندما تنمو الخلايا في وسط حامضي وهذا التغير في الأس الهيدروجيني يكون بسبب الأمينات الناتجة. وتقوم بعض البكتيريا مثل *Clostridium acetobutylcum* باختزال حمض البيوتريك إلى بيوتانول الذي يؤدي إلى رفع قيمة الأس الهيدروجيني، وتنتج بكتيريا *Enterobacter aerogenes* مركب الأسيتون من حمض البيروفيك، وتقوم بعض إنزيمات الدي أمينيز Deaminases والتي يكون نشاطها الأمثل عند الأس الهيدروجيني 8 بخفض الأس الهيدروجيني نتيجة لتراكم الحمض العضوي (RAY, 2004 ; JAY et al., 2005).

6.1.5 جهد الأكسدة والاختزال

Redox or oxidation–reduction (O – R) potential

جهد الأكسدة والاختزال (يرمز له بالرمز Eh) هو قياس قدرة نظام حيوي ما على إعطاء الإلكترونات، تنطوي هذه العملية على فقدان إلكترونات من مادة مختزلة Reduced substance (وبالتالي فإنها تتأكسد: oxidized) وكسب الإلكترونات من قبل المادة المؤكسدة Oxidized substance (وبالتالي تصبح مختزلة: reduced)، قدرة النظام على مقاومة التغير في الأكسدة والاختزال تسمى سعة اتزان الأكسدة والاختزال، وفي النظم البيولوجية عملية الأكسدة والاختزال للمواد هي الوسيلة الرئيسية لتوليد الطاقة، إذا تواجد الأكسجين الحر في النظام فإنه يعمل كمستقبل للإلكترونات وفي غياب الأكسجين الحر يعمل الأكسجين المرتبط بمجاميع أخرى مثل النترات NO_3 والكبريتات SO_4 كمستقبل للإلكترونات، أما إذا خلا النظام تماماً من الأوكسجين يمكن لمركبات أخرى أن تستقبل الإلكترونات، وبالتالي وجود الأكسجين ليس شرطاً لتفاعل الأكسدة والاختزال، ويمكن

تقسم الأحياء الدقيقة حسب احتياجها إلى الأوكسجين الحر إلى:

أولا: الأحياء الدقيقة الهوائية إجبارياً Obligated aerobes

الأحياء الدقيقة الهوائية الإجبارية تحتاج الأكسجين الحر لتوليد الطاقة حيث أن الأكسجين الحر هو المستقبل النهائي للإلكترونات في التنفس الهوائي مثل *Bacillus* subtilis و *Bacillus megaterium* و Pseudomonads و *Moraxella* و Micrococci والفطريات ومعظم الخمائر، هذه الأحياء الدقيقة نجدها مرتبطة بفساد الأغذية المعرضة للهواء حيث تنمو على سطح اللحوم وغيرها من الأغذية المخزنة في الهواء.

ثانيا: الأحياء الدقيقة اللاهوائية الاختيارية Facultative anaerobes

يمكن للأحياء الدقيقة اللاهوائية الاختيارية أن تنمو في وجود وغياب الأكسجين. حيث يمكنها توليد الطاقة إذا كان الأكسجين الحر متوفرا وفي غياب الأكسجين يمكن أن تستخدم الأكسجين المرتبط في بعض المركبات مثل NO_3 وSO_4 كمستقبل نهائي للإلكترونات من خلال التنفس اللاهوائي، إذا لم يتوفر الأكسجين هناك مركبات أخرى تستخدم لاستقبال الإلكترون(أو الهيدروجين) من خلال التخمر (اللاهوائي) ومثال على ذلك هو تقبل الهيدروجين من $NADH_2$ بواسطة البيروفات Pyruvate لإنتاج اللاكتات Lactate ونقل الإلكترونات من خلال عملية التخمير تقوم به الأحياء الدقيقة اللاهوائية واللاهوائية الاختيارية فقط، هذا النوع من الأحياء الدقيقة ينمو على سطح وفى داخل الأغذية، بعض الأمثلة من اللاهوائيات الاختيارية هي بكتيريا حمض اللاكتيك والبكتيريا الموجودة في العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* مثل *E.coli*.

ثالثا: أحياء دقيقة لا هوائية إجبارياً Obligate or strict anaerobes

العديد من اللاهوائيات الإجبارية تنمو في غياب الأكسجين ولا يمكن أن تنمو في وجود حتى كميات صغيرة من الأكسجين الحر لأنها تفتقر إلى إنزيم superoxide dismutase السوبر أكسيد دسميوتيز اللازم للتخلص من الجذور الحرة السامة ومن أمثلتها أفراد تابعة لبكتيريا *Clostridium* و *Bacteroides*.

رابعا: الأحياء الدقيقة شحيحة الحاجة للأوكسجين Microaerophiles

هذه الأنواع يحدث لها ضرر في وجود التركيز العادي من الأكسجين وتنمو على نحو أفضل في وجود أكسجين أقل مثل أفراد الجنس *Campylobacter* و *Vibrio* .

أن نمو الأحياء الدقيقة وقدرتها على توليد الطاقة من تفاعلات أيضية معينة تتوقف على جهد الأكسدة والاختزال للأغذية. جهد الأكسدة والاختزال Eh للمجموعات المختلفة من الأحياء الدقيقة اللازم للنمو هي كما يلي: الهوائيات : +500 إلى +300: اللاهوائية الاختيارية : +300 إلى +100 : اللاهوائيات: +100 إلى −250 ميللي فولت (mV) أو أقل، وهذا يختلف إلى حد كبير باختلاف تركيز المواد المختزلة في الغذاء ووجود الأكسجين. على الرغم من أن معظم الفطريات هي هوائية إجبارية إلا أن عدد قليل منها يمكن أن يتحمل ظروف أقل في الأكسجين، وبالمثل الخمائر حيث تعتبر في الأساس هوائية ولكن يمكن أن ينمو بعضها في جهد أكسدة واختزال منخفض، يتأثر جهد الأكسدة والاختزال بالتركيب الكيميائي للغذاء وطريقة تصنيعه وحالة تخزينه (فيما يتعلق بالهواء)، الأغذية الطازجة النباتية والحيوانية المنشأ في حالة مختزلة Reduced state وذلك بسبب وجود

مواد مختزلة Substances Reducing مثل حمض الأسكوربيك والسكريات المختزلة Reducing sugars ومجاميع –SH في البروتين، بعد توقف تنفس الخلايا في الغذاء ينتشر الأكسجين في الداخل ويغير في جهد الأكسدة والاختزال.

ويتواجد الأكسجين في الغذاء في حالة غازية (على السطح أو عالق في الداخل) أو في شكل ذائب، كذلك نجد أن الأغذية السائلة التي تعرضت للتقليب لها جهد أكسدة واختزال أعلى من الغير مُقلّبة، وهكذا نجد الأغذية مثل عصائر الفواكه التي لها جهد أكسدة واختزال مرتفع وحامضية عرضة لسيادة الخمائر الهوائية والفطريات فيها بينما نجد سيادة البكتيريا الهوائية على سطح اللحوم المعرضة للهواء، أما في الأنسجة العميقة ونظراً لانخفاض جهد الأكسدة والاختزال تنمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية. عمليات التصنيع مثل التسخين يمكن أن تزيد أو تنقص جهد الأكسدة والاختزال. كذلك جهد الأكسدة والاختزال للأغذية المخزنة في الهواء أعلى من الأغذية المخزنة تحت تفريغ أو في جو معدل من الغازات (مثل: CO_2 وN_2). وفي اللحم المفروم فإن تغير جهد الأكسدة والاختزال يؤدي إلى سيادة الأحياء الدقيقة الهوائية.

2.5 العوامل الخارجية Extrinsic factors

العوامل الخارجية الهامة في نمو الميكروبات في الغذاء تشمل البيئة المحيطة والظروف التي تم تخزين الغذاء عندها، وهي درجة الحرارة والرطوبة النسبية وتركيب الجو المحيط من الغازات، تأثير العاملين الأخيرين على الميكروبات تمت مناقشته سابقاً حيث تؤثر الرطوبة

النسبية في النشاط المائي ويؤثر تركيب الجو المحيط من الغازات في جهد الأكسدة والاختزال للأغذية. وسيتم هنا فقط مناقشة تأثير درجة الحرارة على نمو الميكروبات.

1.2.5 درجة الحرارة التي يخزن عندها الغذاء

تعتبر درجة الحرارة من أهم العوامل البيئية المؤثرة في نمو ونشاط الأحياء الدقيقة وبسبب تأثيرها على التفاعلات الكيميائية وعمليات الأيض الخلوية. نمو الأحياء الدقيقة يتم من خلال التفاعلات الإنزيمية ومعدل التفاعل الإنزيمي يتأثر كثيراً بحدوث أي انخفاض في درجة الحرارة. ولكل كائن حي مجال حراري معين لينمو وينشط فيه مثلا بكتيريا *Bacillus subtilis* لها مجال حراري واسع إذ يمكنها النمو ما بين 6 مْ وحتى 50 مْ ولبكتيريا *Escherichia coli* مجال حراري أضيق يقع بين 10 مْ حتى 45 مْ بينما تملك الأحياء الدقيقة الممرضة مجالاً حرارياً ضيقاً جداً مثل عصيات السل التي تفضل درجة حرارة الجسم. وعلى أساس المجال الحراري يمكن تحديد ثلاث درجات حرارة لنمو الأحياء الدقيقة:

درجة الحرارة الدنيا Minimum growth temperature: وهي أدنى درجة حرارة يمكن أن ينمو عندها الكائن الدقيق وإذا انخفضت درجة الحرارة عن هذا الحد فإن الكائن الحي لا يستطيع النمو.

درجة الحرارة المثلى Optimum temperature: هي أفضل وأنسب درجة حرارة لنمو الكائن الحي الدقيق وعندها يُلاحظ أعلى معدل للنمو وغزارة في إنتاج الخلايا وهي تعكس درجة حرارة المنشأ للكائن الحي الدقيق.

درجة الحرارة القصوى Maximum temperature: وهي أعلى درجة حرارة يمكن

للكائن الدقيق أن ينمو عندها وإذا تجاوزت درجة الحرارة هذا الحد توقف النمو، وتنقسم الأحياء الدقيقة الهامة في الأغذية إلى ثلاث مجموعات على أساس درجة حرارة نموها وكل مجموعة لها درجة حرارة مثلى للنمو ونطاق حراري النمو:

أ. الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة العالية Thermophiles

تنمو في درجة حرارة عالية نسبياً ولها درجة حرارة مثلى للنمو حوالي 55 م° (131ف°) ولها مدى حراري للنمو 45 إلى 70م° (113 – 158 ف°).

ب. الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles

تستطيع هذه الميكروبات أن تنمو في درجة الحرارة الغرفة مع درجة مثلى للنمو 35 م° (95 ف°) ومدى حراري من 10 إلى 45 م° (50–113 ف°). نجد أن الكثير من الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان (لها درجة حرارة مثلى في المدى 35 — 45 م°) والمفسدة للأغذية (درجة الحرارة المثلى لنموها 25 — 30 م°) تقع في هذه المجموعة التي تفضل درجات الحرارة المتوسطة ودرجة الحرارة المثلى لنموها ما بين 25 — 45 م° (77— 113ف°) ودرجة الحرارة الدنيا لنموها من 5 إلى 15م° (41 — 59 ف°)، كما أن الزمن الجيلي generation time عند درجة الحرارة المثلى للعديد من هذه الأحياء الدقيقة حوالى 30 دقيقة أو أقل.

ج. الأحياء الدقيقة المحبة لدرجات الحرارة المنخفضة Psychrophiles

وهي الأحياء الدقيقة التي تنمو في درجة حرارة منخفضة مع درجة مثلى للنمو حوالي 15م°

(59 ف م°) ومدى حراري من −5 إلى 20 م° (86 ف). كما يطلق عليها اسم المحبة لدرجات الحرارة المنخفضة إجبارياً psychrophiles Obligated

د. الأحياء الدقيقة المقاومة للبرودة Psychrotrophs

وتسمى أيضا الأحياء الدقيقة المحبة لدرجات الحرارة المنخفضة اختيارياً facultative psychrotrophs وهي تستطيع النمو على درجة حرارة التبريد (0 إلى 5 م°) (32 إلى 41 ف م°) بغض النظر عن درجة الحرارة القصوى والمثلى لها، وهي عادةً تنمو سريعاً على درجة حرارة ما بين 10 إلى 30 م° (50 − 86 ف°) وتضم: فطريات مثل أفراد من الأجناس *Aspergillus* و*Penicillium* و*Cladosporium* وخمائر مثل أفراد من الأجناس *candida* و *Torulopsis* و *Rhodotorula* و *Cryptococcus* وبكتيريا سالبة لجرام من الأجناس *Pseudomonas* و *Achromobacter* و *Yersinia* و *Serratia* و *Aeromonas* و *Vibrio* و *Escherichia* و *Klebseilla* و *Proteus* و *Flavobacterium* و *Enterbacter* و *Alcaligenes* وبكتيريا موجبة لجرام من الأجناس *Leuconostoc* و *Lactobacillus* و *Bacillus* و *Clostridium* و *Listeria*.

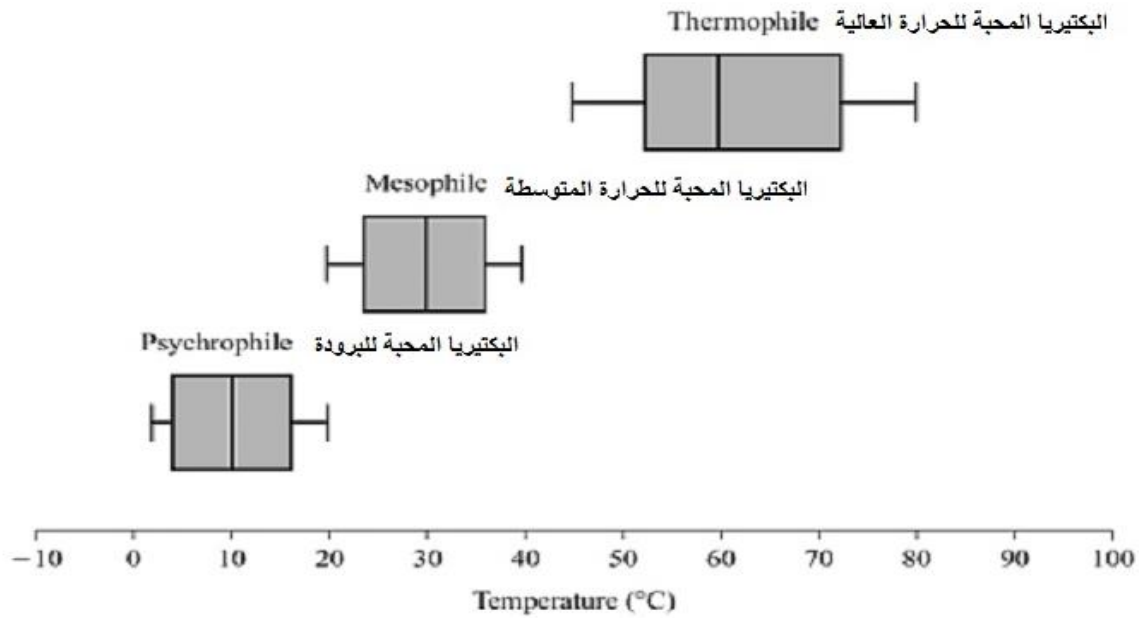
الأحياء الدقيقة التي تستطيع النجاة خلال عملية البسترة تسمى متحمّلة للحرارة thermodurics وتضم أنواع تابعة للأجناس *Micrococcus* و *Bacillus* و *Clostridium* و *Lactobacillus* و *Pediococcus* و *Enterococcus* وكذلك الجراثيم البكتيرية والتي لها درجات حرارة للنمو مختلفة والعديد منها يستطيع النمو على درجة حرارة التبريد وكذلك على

درجات الحرارة العالية، الشكل (4.5) يوضح المدى الحراري لنمو المجموعات المختلفة من البكتيريا.

وتحدد درجة حرارة تخزين الأغذية أهمية كل مجموعة من هذه الأحياء الدقيقة فالأغذية المبردة قد تهاجم من الأحياء الدقيقة المحبة للبرودة والتي تكون هي السائدة وتؤدي إلى فسادها. أما الأحياء الدقيقة المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة والتي تشمل عدة أنواع تابعة لأجناس مختلفة فنجد أنها تفسد الأغذية المخزنة على درجات الحرارة المتوسطة كما يمكن أن تنمو الميكروبات الممرضة أيضا مثل *Salmonella* و *Clostridium* و *Shigella* و *Staphylococcus* وغيرها إذا تواجدت بالأغذية، وفساد الأغذية بهذه المجموعة يكون أسرع مقارنة بالأحياء الدقيقة المحبة للبرودة نظراً لملائمة الحرارة وارتفاع معدلات النمو والنشاط الإنزيمي للخلايا الميكروبية، وتتعرض الأغذية للفساد بواسطة الأحياء الدقيقة إذا خُزنت عند درجات حرارة عالية (50 إلى 70 م^{o}) (122 – 158ف^{o}) وذلك أثناء التسخين عند طبخ أو تصنيع الأغذية حيث يكون الفساد أسرع بهذه المجموعة مقارنة بالمجاميع السابقة نظراً لقصر الزمن الجيلي عند درجات الحرارة المثلى للنمو.

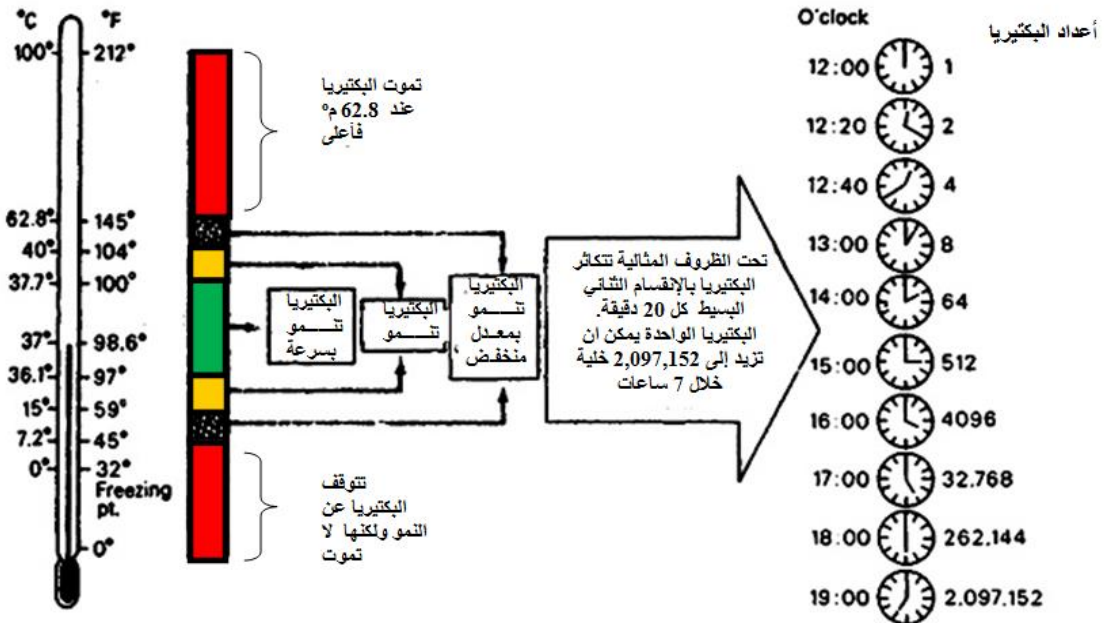
وتتعرض الأغذية لدرجات حرارة مختلفة منذ وقت الإنتاج حتى الاستهلاك، واعتماداً على ظروف التصنيع يمكن أن يتعرض الغذاء إلى درجة حرارة عالية من 65 م^{o} (عند تحميص اللحوم) أو إلى أكثر من 100م^{o} (في التصنيع باستخدام درجة حرارة عالية جداً Ultrahigh temperature)، وفي حالة التخزين على المدى الطويل يمكن أن تحفظ المواد

الغذائية على 5 م° (التبريد) أو على – 20 م° أو أقل (التجميد) ويمكن أن تحفظ بعض الأغذية المستقرة نسبياً أيضا بين 10 و35م° (درجة التبريد إلى حرارة الغرفة)، وتحفظ بعض الأغذية الجاهزة للأكل في درجة الحرارة (50 إلى 60 م°) لعدة ساعات على سبيل المثال أثناء العرض في الأسواق والمطاعم، الشكل (5.5) يبين تأثير درجة الحرارة والزمن على نمو البكتيريا ودرجات الحرارة الخطرة والآمنة للأغذية، إذا تعرضت الأغذية لدرجات حرارة في مدى نمو الميكروبات (اللون الأخضر والأصفر: الشكل 5.5) فإنها تنمو وتتزايد في العدد وعندما تتعرض الأغذية لدرجات حرارة تتجاوز الحد الأقصى أو الحد الأدنى لدرجة حرارة النمو(اللون الأحمر) فإن الخلايا الميكروبية تموت بسرعة عند ارتفاع درجات الحرارة وببطء نسبياً في درجات الحرارة المنخفضة، نمو الميكروبات وقدرتها على البقاء من الاعتبارات الهامة في الحد من فساد الأغذية وتعزيز سلامتها ضد الميكروبات المرضية.



شكل (4.5): المدى الحراري للمجموعات البكتيرية

المصدر : **HARDY (2002)**



شكل (5.5): تأثير درجات الحرارة على نمو ونشاط البكتيريا. درجات الحرارة الآمنة والخطرة على الأغذية

المصدر: JAY (2000)

2.2.5 كمية الرطوبة في الجو المحيط بالأغذية

1.2.2.5 الهجرة الخارجية للماء

إذا كان الغذاء مخزن في عبوات مفتوحة أو عبوات غير مانعة لنفاذ الرطوبة فإن ضغط بخار الماء في الهواء المحيط سيؤثر على النشاط المائي لهذه الأغذية، مثلاً الحبوب المستوردة من مناطق جافة إلى مناطق ذات جو رطب فإن الحبوب ستمتص الرطوبة مما يؤدي إلى نمو الأعفان، كذلك عند تعرض الأغذية المبردة لتيار هواء دافئ يتكثف عليها الماء مؤدياً إلى ارتفاع النشاط المائي في الغذاء مما يسرّع من نمو البكتيريا وفساد الأغذية، ولذلك يجب مراعاة ما يسمى باتزان الرطوبة النسبية Equilibrium relative humidity (ERH%) وهو تعبير يشير إلى الإتزان بين الجو المحيط مع المادة الغذائية فإذا كان النشاط المائي للمادة الغذائية (a_w) ✕ 100= النسبة المئوية للرطوبة (RH%) في الجو المحيط فإن المادة الغذائية في حالة إتزان مع الرطوبة للجو المحيط أما في حالة أن النشاط المائي (a_w) ✕ 100= أقل من الرطوبة النسبية في الجو فهذا سيؤدي إلى تكاثف الماء على سطح الغذاء حتى يحدث إتزان، أما إذا كان حاصل الضرب a_w ✕ 100= أعلى من الرطوبة النسبية للجو المحيط فإن ذلك سيؤدي إلى جفاف سطح المادة الغذائية حتى حدوث إتزان مع الرطوبة النسبية للجو المحيط.

2.2.2.5 الهجرة الداخلية للماء

في الأغذية الجافة نسبياً والمعبأة في عبوات لا تنفذ الرطوبة فإن التغيرات التي تحدث في درجات حرارة الليل والنهار يمكن أن تؤدي إلى هجرة داخلية للماء حيث نجد أن بعض

الأجزاء من المادة الغذائية تمتص كمية من الرطوبة تسمح بنمو الفطريات. كذلك قد يحدث ذلك في شراب الفواكه المركز والمخزن حيث يؤدي التخفيف الموضعي على سطح الشراب إلى نمو الخمائر المحبة للضغط الأسموزي العالي Osmophilic yeasts وإفساد المنتج.

3.2.5 تركيب غازات الجو المحيط بالأغذية

تركيب ونوع الغازات المحيطة بالغذاء قد تحدد أنواع الأحياء الدقيقة فيه. وجد أن الأكسجين يشجع نمو الميكروبات الهوائية بينما نقص أو غياب الأكسجين يؤدي إلى نمو وسيادة الأحياء الدقيقة اللاهوائية أو اللاهوائية الاختيارية، كما وجد أن الأحياء الدقيقة تختلف في استجابتها أو تحملها لغاز ثاني أكسيد الكربون CO_2 في الجو المحيط حيث أن له تأثير تثبيطي متخصص ضد بعض الأحياء الدقيقة فقد يكون له تأثير مثبط أو قاتل أو لا يؤثر أو قد يشجع نمو الأحياء الدقيقة ويعتمد ذلك على نوع وعمر الكائن الدقيق وتركيز الغاز وعلى قيمة الأس الهيدروجيني والنشاط المائي للمادة الغذائية. وعلى سبيل المثال عند تخزين اللحوم الطازجة المعبأة تحت تفريغ في عبوات غير منفذة للغاز على درجات حرارة التبريد فإنه يكون لها مدة حفظ أطول بكثير من تلك المخزنة بدون تفريغ (في الهواء العادي) تحت نفس الظروف ويعزى ذلك لزيادة تركيز CO_2 في الجو المحيط ليصل إلى 30% ويقابل ذلك نقص المحتوى من الأكسجين (ينخفض الأكسجين إلى 1–2%) نتيجة لنشاط الإنزيمات في داخل اللحم، وهذا يؤدي إلى تثبيط نمو البكتيريا الهوائية المفسدة للحم مثل *Pseudomonas* ويشجع في نفس الوقت نمو Lactobacilli والتي تنمو ببطء في اللحم،

التحكم في تركيب الغازات في الجو المحيط بالغذاءControlled atmosphere storage يستخدم أيضا في حفظ الخضروات حيث أن تعديل الجو المحيط بزيادة تركيز CO_2 يؤدي إلى تثبيط نمو الأعفان والخمائر كما يؤدي إلى ضبط نضج الفواكه.

4.2.5 تأثير المعاملات التي تجري على الأغذية Food treatments

تجري بعض المعاملات على الأغذية تؤدي إلى أن تتعرض الأحياء الدقيقة لمؤثرات فيزيائية وكيمائية تغير من خصائصها وبذلك تؤثر على نمو الأحياء الدقيقة في الأغذية مثل المعاملات الحرارية وعملية التجميد والتشعيع للأغذية واستخدام المواد الحافظة مما يؤدي إلى توقف نشاط العديد من الأحياء الدقيقة المفسدة لها. أما المعاملة الحرارية فإنها تقضي على العديد من الأحياء الدقيقة غير إنها تغير في التركيب الكيميائي للأغذية مما يجعل المركبات المعقدة في الغذاء سهلة الاستغلال من قبل الميكروبات حيث تعمل على تقطيع الأنسجة وتحرير الماء وتسهيل دخول الأكسجين إلى الغذاء وتغير من صفات البروتين Protein denaturation وغيرها من التغيرات التي تسهل عمل الأحياء الدقيقة حيث يكون الغذاء المطبوخ أسرع فساداً من الغذاء الطازج زيادة على أن الحرارة تؤدي إلى إبادة كثير من الميكروبات التي قد تنافس الميكروبات الأخرى المفسدة للأغذية.

5.2.5 التأثير المشترك للعوامل المؤثرة على نمو الأحياء الدقيقة

عادةً لا يؤثر عامل واحد فقط على نمو الأحياء الدقيقة في الأغذية ولذلك نجد أن استخدام أكثر من عامل والتفاعل بينهم يؤدي إلى تأثير كبير على حماية الأغذية من فعل

الميكروبات. نجد أن معدلات النمو العالية للأحياء الدقيقة المفسدة أو الممرضة ما هي إلا نتيجة للتأثير المشترك لكل عوامل النمو المتواجدة في الأغذية على نشاط هذه الأحياء الدقيقة، مثلا تأثير الأس الهيدروجيني والنشاط المائي ودرجة الحرارة على الأحياء الدقيقة المسببة للتسمم نجد أن هذه الميكروبات يمكنها النمو في مدى واسع لأحد العوامل عندما يكون العاملان الآخران عند الحد الأمثل للنمو أما إذا أبتعد العاملان عن الحد الأمثل للنمو فإن النمو يحدث في مدى ضيق لنفس العامل، مثلا بكتيريا CL. Botulinum type A يمكنها أن تنمو عند نشاط مائي 0.94 إذا كانت درجة حرارة النمو 37م^{O} وكان الأس الهيدروجيني 7 وأما إذا تغير الأخير فأصبح 5.3 فإن النشاط المائي المحدد للنمو سيكون 0.99، ولهذا فإن التأثيرات الغير مناسبة لنمو الكائن الدقيق يمكن أن تُستخدم لتثبط نموه. فمثلاً تحفظ بعض منتجات اللحوم باستخدام التأثير المشترك للملح والأس الهيدروجيني وتركيز النيتريت مع المعاملة الحرارية المتوسطة ليؤدي ذلك كله لإحداث تأثير تثبيطي مشترك على نمو الأحياء الدقيقة، والجدول (3.5) يوضح العوامل المشتركة في حفظ بعض الأغذية ذات الرطوبة المتوسطة. وهكذا نجد أن صفات الوسط الفيزيائية والكيميائية تتحكم في نمو الميكروبات من خلال التأثير على عملية الأيض المرتبطة بإنتاج الطاقة والمكونات الخلوية. فإذا ما وضع الميكروب خارج مدى النمو لهذه العوامل منفردة أو مجتمعة فيمكن السيطرة على نمو الميكروبات وحتى تدميرها في الأغذية (BANWART, 1998; JAN et. al; 2005, ADAMS & MOSS 2008; RAY, 2004).

جدول (3.5): العوامل المشتركة في حفظ بعض الأغذية ذات الرطوبة المتوسطة

المنتج	العوامل المشاركة في التأثير على النمو الميكروبي
المربيات	نشاط مائي منخفض – أس هيدروجيني منخفض – مواد حافظة (حمض الاسكوربيك) – معاملة حرارية.
اللحوم	نشاط الماء – قيمة pH – جهد الأكسدة والاختزال– مواد حافظة– (نيتريت) – درجة حرارة التخزين.
الكيك	نشاط الماء منخفض – مواد حافظة – معاملة حرارية – درجة حرارة التخزين
فاكهة مجففة	نشاط مائي منخفض – أس هيدروجيني منخفض – مواد حافظة – معاملة حرارية
أغذية مجمدة	نشاط مائي منخفض – درجة حرارة التخزين منخفضة

المصدر: ICMSF (1980)

الفصل السادس

خصائص النمو الميكروبي

1.6 النمو الميكروبي Microbial reproduction or growth

تتكاثر البكتيريا بالانقسام الثنائي البسيط Binary Fission حيث تزداد الخلية الأم في الطول ثم يتكون أخدودان متقابلان في وسط جدار الخلية وتوزع المادة الوراثية على جانبي الأخدودين بالتساوي ثم تخصّر الخلية ويتم الانفصال إلى خليتين وتنقسم كل خلية إلى خليتين جديدتين وهكذا. وعند الظروف البيئية المناسبة يحدث هذا النوع من التكاثر بمعدل سريع جداً حيث تتضاعف أعداد بعض الأنواع في حوالي 20 دقيقة فقط.

الخمائر أيضا تتكاثر لا جنسياً عن طريق التبرعم Budding حيث يبرز نتوء من الخلية الأم ويزداد في الحجم وتنقسم النواة إلى نواتين تظل أحداهما في الخلية الأصلية والأخرى تنتقل إلى النتوء الذي يتخصر حتى ينفصل معطيا فرداً جديداً، تستطيع الخمائر أن تتكاثر جنسياً وذلك تحت الظروف غير المناسبة (نقص الغذاء في البيئة) حيث يحدث اتحاد بين خليتين بواسطة أنبوب صغير بينهما ثم يحدث اندماج ويتحلل الحاجز الفاصل وتتحد الأنوية وتتكون اللاقحة التي تنقسم إلى أربعة أنوية وتغلف كل نواة مكونة جرثومة جديدة، الفطريات تتكاثر لا جنسياً بواسطة تكوين أعداد كبيرة من الجراثيم أما أن تكون حرة (بدون غلاف) على جوانب أو نهايات الحوامل الكونيدية أو تتواجد داخل كيس خاص يسمى جراثيم اسبورنجية (Sporangium) وتنتشر هذه الجراثيم في الطبيعة وعندما تتهيأ لها ظروف بيئية مناسبة تنمو لتعطي كل جرثومة فطر جديد.

الفيروسات لا تستطيع أن تتكاثر بمفردها ولكن تتضاعف في العدد داخل العائل

كما أن الفيروسات المنقولة عن طريق الأغذية لا تتضاعف في الغذاء.

1.1.6 الزمن الجيلي أو زمن التضاعف Generation Time or Doubling Time

الزمن الجيلي أو زمن التضاعف هو الزمن اللازم الذي تحتاجه الخلية البكتيرية لتنقسم إلى خليتين. الزمن الجيلي ومعدل النمو يختلف باختلاف أنواع الأحياء الدقيقة وحتى ما بين السلالات المختلفة للنوع الواحد. في العموم وتحت الظروف المثالية للنمو يكون للبكتيريا زمن تضاعف أقصر يليها الخمائر ثم الفطريات، بعض أنواع البكتيريا مثل *Vibrio parahaemolyticus* لها زمن تضاعف قصير جداً يبلغ حوالي10 – 12 دقيقة وذلك تحت ظروف النمو المثالية، زمن التضاعف للأحياء الدقيقة يكون أقصر في البيئات الميكروبية السائلة عنه في الأنظمة الغذائية، ويمكن حساب زمن التضاعف للأحياء الدقيقة عن طريق إيجاد الفرق في العدد الميكروبي خلال فترة محددة من الزمن، ونظراً لكبر أعداد البكتيريا يتم التعبير عنها لوغاريتمياً، وتستخدم المعادلة التالية في حساب زمن التضاعف:

$$G = \frac{0.3t}{\log_{10} z - \log_{10} x}$$

حيث G: زمن التضاعف (بالدقائق)، 0.3 : ثابت (قيمة لوغاريتم 2)، t: مدة الدراسة بالدقائق، $\log_{10} x$ و$\log_{10} z$: الأعداد الأولية والنهائية للخلايا لكل ملليلتر أو وحدة مكونة للمستعمرات و.ت.م / مل على التوالي، مثلاً إذا كان العدد البكتيري الأولّي تحت ظروف معينة هو 10^4 خلية/ مل وزاد بعد مرور 120 دقيقة إلى 10^6 خلية/مل فإن زمن التضاعف

يحسب كالتالي:

$$G = \frac{0.3x120}{6-4} = 18\text{min}$$

والجدير بالذكر أن قيمة زمن التضاعف تتغير لنفس السلالة من البكتيريا إذا تغيرت ظروف النمو.

2.1.6 عدد الخلايا الناتجة في زمن محدد Specific Growth Rate

معدل نمو الأحياء الدقيقة أثناء مرحلة النمو اللوغاريتمي Exponential growth phase يمكن أن تقدر رياضياً بواسطة تقدير أعداد الخلايا والكثافة الضوئية OD_{600nm} وتقدير كتلة الخلايا (الوزن الرطب أو الجاف) وتقدير مكونات الخلية (البروتينات، RNA، DNA).

إذا كان N_0 عند الزمن t_0 و Nt عند زمن t هي كمية وزمن أيّا من هذه المكوّناتِ على التوالي فإن معدل النمو النوعي للكائن الدقيق يحسب كالتالي:

$$N_t = N_0 e^{\mu(t-t_0)}$$

حيث μ معدل النمو النوعي في وحدة الزمن (ساعة)، ويمكن أن يعبر عن المعادلة لوغاريتمياً كالتالي:

$$\ln \frac{N_t}{N_0} = \mu(t - t_0)$$

$$\log N_t \; - \; \log N_0 \; = \; \frac{\mu}{2.3}(t - t_0)$$

$$\mu = \frac{2.3(\log N_t - \log N_0)}{t - t_0}$$

ومعدل النمو النوعي في الساعة يختلف باختلاف نوع الكائن الدقيق وظروف النمو وهو عادةً حوالي 0.2 للفطريات والخمائر، أما البكتيريا السريعة النمو وتحت الظروف المثلي للنمو يمكن أن تصل إلى 2.5 لكل ساعة، وتحت الظروف الغير مثلى للنمو تتراوح ما بين0.02 إلى 0.2 / ساعة. وبمعرفة معدل النمو النوعي μ يمكن إيجاد زمن التضاعف Doubling time للكائن الدقيق بواسطة العلاقة:

$$t_d/h = 0.69/\mu$$

حيث 0.69 هي قيمة ln 2. هذه المعادلات مهمة للتنبؤ بمعدلات النمو ومستويات الأعداد الميكروبية أثناء عمليات التخمر وفي تحديد مدة صلاحية الأغذية.

3.1.6 النمو الأمثل للكائن الدقيق: Optimum Growth

هناك عدة عوامل بيئية تؤثر في معدل النمو الميكروبي مثل درجة حرارة التخزين

والأس الهيدروجيني والنشاط المائي وجهد الأكسدة والاختزال والمغذيات، إذا كانت كل العوامل السابقة ثابتة وعند الحدود المثلى للنمو وحدث تغير في أحد هذه العوامل مثل درجة الحرارة وتم قياس معدل النمو للكائن الدقيق فنجد أن معدل النمو يكون أسرع عند درجة حرارة معينة تسمى في هذه الحالة بدرجة الحرارة المثلى Optimum temperature وأن النمو سيحدث له انخفاض كلما بعدنا عن الدرجة المثلى سواءً بالزيادة أو النقصان إلى أن نصل إلى درجة الحرارة القصوى للنمو Maximum growth temp أو درجة الحرارة الدنيا للنمو Minimum growth temp.، وتُعرف درجة الحرارة القصوى والدنيا للنمو بأنها درجات الحرارة التي لا يمكن للكائن أن ينمو على درجة حرارة أعلى أو أقل منها على التوالي وهذا ما يسمى بمجال النمو Growth range للكائن الدقيق. وإذا وضُع الكائن الدقيق على درجة ما بعد مجال النمو فإنه يبدأ في فقد حيويته ثم يموت. وبصورة عامة كل عامل من عوامل النمو الأخرى ينطبق عليه ما ينطبق على درجة الحرارة وبذلك فإن سرعة نمو الكائن الدقيق تتأثر بالعوامل السابقة مجتمعة. مدى النمو والنمو الأمثل للكائن يعطي معلومات قيمة عن كيفية التحكم في نمو الكائن الدقيق في الغذاء سواءً بزيادة أو تثبيط نموه.

4.1.6 منحنى النمو Growth Curve

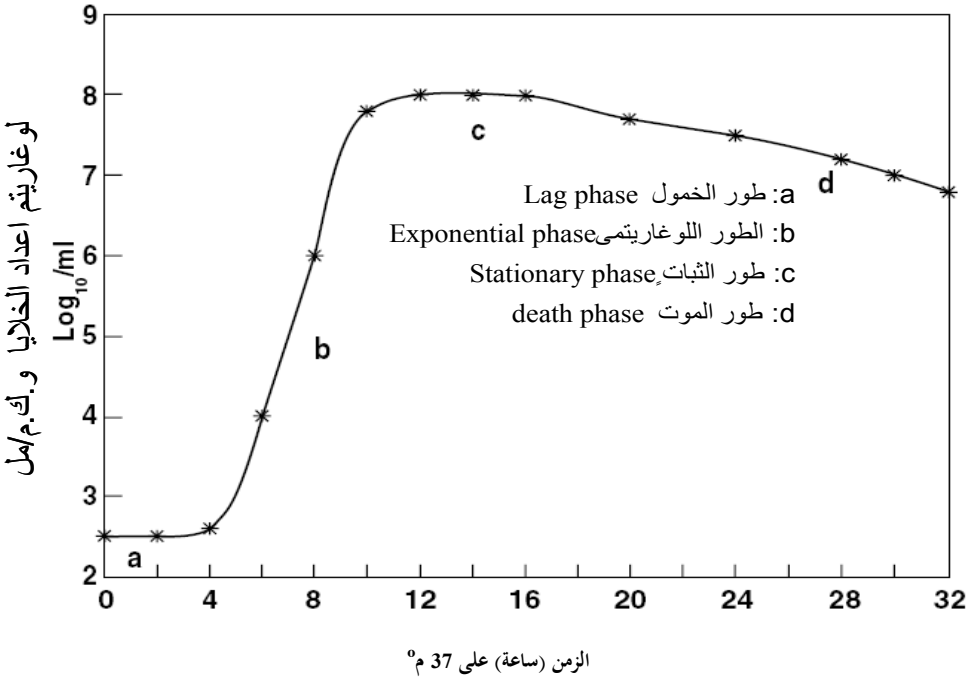
معدل وخصائص النمو الميكروبي تحت ظروف معينة يمكن أن تمثل بيانياً بحساب العدد الميكروبي الكلي ضد الزمن. يمكن أن يُعبر عن معدل النمو بقياس الكثافة الضوئية لمعلق الخلايا باستخدام المطياف عند طول موجي محدد (عادةً عند 600 nm) أو بقياس

مكونات خلوية مثل RNA أو DNA أو البروتينات، إذا تم عمل رسم بياني يمثل عدد الخلايا ضد الزمن فإننا نتحصل على شكل رقم (1.6) والذي يلاحظ فيه مراحل وخصائص نمو الخلايا عند مراحل زمنية مختلفة.

في المرحلة الأولى والتي تسمى مرحلة الخمول (Lag phase) والتي لا تحدث فيها زيادة في أعداد الخلايا ولكن يحدث امتصاص للمغذيات ويزداد حجم الخلايا. بعد ذلك تأخذ الأعداد في الزيادة بشكل بطيء ثم بشكل أسرع نتيجة اختلاف الخلايا في معدل النشاط الأيضي وهذا ما يعرف بطور النمو المتسارع أو اللوغاريتمي Log phase وفي هذه المرحلة يمكن تقدير أو تحديد الزمن الجيلي (Generation time).

بعد ذلك تبدأ المغذيات في التناقص وتتراكم منتجات الأيض في البيئة ولذلك فإن أعداد قليلة من الخلايا تموت وأخرى تتكاثر وهذا يجعل أعداد الخلايا ثابتة وتسمى هذه المرحلة طور الثبات Stationary phase ثم تدخل الخلايا في طور الموت Death phase والذي فيه يكون معدل موت الخلايا أعلى من معدل انقسام الخلايا، واعتماداً على السلالة وظروف النمو فإن أعداد من الخلايا قد تبقى حية بعد دخول مرحلة الموت لمدة طويلة قد تصل في بعض الأحيان إلى عدة سنوات، هذه الخاصية تعتبر مهمة خاصة في وضع بعض المعايير الميكروبية للأغذية للتحكم في الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان والمفسدة للأغذية، من المهم ملاحظة أن التغيرات في ظروف النمو مثل حفظ الأغذية بالتبريد يُحدث تناقص في معدل نمو الخلايا ولكن بعد فترة قد يزداد ويسبب مشكلة في الغذاء، كذلك الخلايا الميتة

يمكن أن تتحلل ذاتياً ويمكن أن تطلق إنزيمات خلوية في الأغذية تقوم بتحليل مكونات الأغذية.



شكل (1.6) منحنى النمو للبكتيريا

المصدر: عن RAY, (2004)

2.6 طبيعة النمو الميكروبي في الأغذية

عادةً يحتوي الغذاء على أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة والتي يمكن أن تشمل البكتيريا والفطريات والخمائر، الأحياء الدقيقة تتواجد في الأَغذية في صورة متنوعة أو مختلطة وليس في صورة نقية (Pure) وتتفاعل الأحياء الدقيقة باستمرار طالما كانت نشطة أيضياً

وبالتالي فإن سيادة أحياء دقيقة معينة في الغذاء تكون عملية متغيرة أو متحركة Dynamic process وهذه التفاعلات قد تكون تعاونية Symbiotic أو علاقات تضادية (Antagonistic) حسب تأثيرها على النمو بالتشجيع أو التثبيط على التوالي، وبذلك فإن نمو الأحياء الدقيقة في الأغذية تصاحبه ظواهر تحدد علاقتها مع بعضها أثناء النمو على الغذاء:

1.2.6 النمو التعاوني Symbiotic Growth

في مثل هذا النوع من النمو يساعد أحد الأحياء الدقيقة كائناً آخر على النمو في الغذاء عن طريق إنتاج مواد أيضية هامة لنمو الكائن الثاني والذي لا يستطيع إنتاجها بمفرده وفي المقابل يقوم الكائن الثاني بإنتاج مادة مغذية تستحث النوع الأول على النمو بشكل أفضل. وهذا يحدث في بعض الأغذية المتخمرة مثل اليوغرت yogurt حيث تقوم بكتيريا *Streptococcus thermophilus* بتحليل بروتينات الحليب وتنتج أحماض أمينية والتي تؤدي إلى تحسين نمو *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* وفي المقابل تقوم *Lactobacillus* بإنتاج الفورمات formate التي تحفز نمو بكتيريا *Streptococcus thermophilus* بشكل أفضل وبالتالي فإن إضافتهما معاً في صناعة الياغورت تؤدي إلى إنتاج منتج ذو جودة عالية.

2.2.6 النمو التكافلي Synergistic Growth

في مثل هذا النوع من النمو كل نوع من الأحياء الدقيقة يستطيع أن ينمو بطريقة مستقلة دون الاعتماد على الآخر ويُنتج مواد أيضية بمعدل أقل ولكن عندما ينمو مع أنواع أخرى فإن معدل النمو بالإضافة إلى مستوى النواتج الأيضية يزداد بشكل كبير، مثال ذلك عندما تنمو كل من *S. thermophilus* و *Lb. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* بشكل منفصل في الحليب فإن كل منهما ينتج حوالي 8 – 10 جزيء في المليون (ppm) من مادة الاستالدهايد Acetaldehyde وهو المركب المسؤول عن النكهة في اليوغورت ولكن عند تنميتهما معاً فإن كمية الاستالدهايد المنتجة تكون حوالي 30 جزيء في المليون أو اكثر ولذلك يُستخدم النوعان مع بعضهما في صناعة اليوغورت لإعطاء منتج ذو مواصفات جيدة.

3.2.6 تسلسل النمو Sequence of Growth

في الأغذية التي تحتوي على أحياء دقيقة مختلطة Mixed population فإن أنواع معينة منها يمكن أن تصبح سائدة بشكل متسلسل أثناء التخزين، مثلاً واحد أو اثنين من هذه الأحياء ونتيجة توفر الظروف المناسبة يمكن أن ينمو ويهيئ ظروف لا يستطيع أن تنمو فيها ولكن هذه الظروف الجديدة تكون مناسبة لنمو كائن آخر بشكل سريع ويصبح سائداً، هذا التغير في سيادة الأَحياء الدقيقة يمكن أن يحدث عدة مرات أثناء تخزين الغذاء خاصة في الأغذية المخزنة لمدة طويلة، مثال ذلك إذا خُزن لحم مفروم محفوظ في كيس

بلاستيك فإن الأحياء الدقيقة الهوائية هي أول من ينمو ويستهلك الأكسجين المتواجد في البيئة وبذلك تصبح الظروف لاهوائية مما يشجع نمو الأحياء اللاهوائية واللاهوائية الاختيارية وتصبح هي السائدة، مثال آخر وهو ترك الحليب الخام ليتخمر طبيعياً على درجة حرارة الغرفة حيث يبدأ نمو بكتيريا *Lactococcus lactis* وبكتيريا القولون Coliform إلى أن يحدث تثبيط لهذه الأحياء الدقيقة نتيجة لإفرازها حمض اللاكتيك ثم يبدأ نمو ونشاط بكتيريا *Lactobacilli* والتي تؤدي إلى زيادة تركيز حامض اللاكتيك في الحليب حتى يحدث لها تثبيط.

يبدأ بعد هذه المرحلة نمو الفطريات والخمائر في الحليب مؤدية لخفض حموضة اللبن وتشجيع نمو البكتيريا المحللة للبروتين. كذلك كثير من الخمائر والفطريات يمكنها استهلاك الأحماض الموجودة طبيعياً (كما في الفواكه) أو المضافة (المخللات) وهذا يرفع الأس الهيدروجيني ويتيح فرصة لنمو البكتيريا متوسطة المقاومة للأَحماض مما يؤدي إلى فساد الأغذية.

4.2.6 النمو المتعاقب Growth in Succession

في هذا النوع من النمو Successive growth الأحياء الدقيقة تستطيع أن تستخدم اثنين أو أكثر من المغذيات المتواجدة في الغذاء ولكنها تفضل واحد من هذه المغذيات عن الآخر والذي يوجد بشكل محدود فتُظهر هذه الكائنات نمو على مراحل مفصولة بمرحلة قصيرة من طور الخمول Lag phase، مثلاً تنمو بكتيريا معينة بواسطة استهلاك مادة مغذية

معينة مفضلة إياها عن غيرها وبعد طور خمول قصير للتأقلم تنمو بواسطة استخدام المغذيات الأخرى، وفي كل مرحلة منحنى النمو يكون له مرحلة للنمو المتسارع والثابت Stationary Exponential & phases ثم مرحلة خمول ما بينهما، مثال ذلك نمو بعض سلالات بكتيريا حامض اللاكتيك والبكتيريا السالبة لصبغة جرام في اللحم الطازج حيث تنمو البكتيريا باستهلاك التركيزات المحدودة من الكربوهيدرات ثم تدخل مرحلة خمول ثم تنمو مجدداً باستهلاك المركبات النيتروجينية الغير بروتينية مثل الأحماض الأمينية.

5.2.6 النمو التضادي Antagonistic Growth

النمو التضادي للأحياء الدقيقة يعني منافسة Competition الأحياء الدقيقة لبعضها البعض في النمو بحيث أن نمو كائن دقيق معين يمنع نمو الآخر، المنافسة قد تكون ما بين الأنواع المختلفة أو داخل النوع الواحد من الأحياء الدقيقة. التطفل Parasitism يعتبر أيضا من علاقات التضاد التي تحدث ما بين الكائنات الدقيقة غير إنه يحدث في حدود أضيق من علاقة التنافس التي تحتل الأهمية الأولى بين الأحياء الدقيقة. والتنافس يمكن أن يتم بعدة طرق كما يلي:

أ. التنافس على المغذيات

في هذه الحالة يقوم أحد الأحياء الدقيقة باستهلاك مغذيات متواجدة في الغذاء مما يؤدي إلى تثبيط نمو كائنات دقيقة أخرى ويغزى هذا لاختلاف معدلات نمو الأحياء الدقيقة

أو لاختلافات في نشاطها الأيضي، مثال ذلك إنه على الرغم من تواجد بكتيريا *Staphylococcus aureus* في اللحم المفروم غير المصنع إلا أنه لم يُسجل أي وجود لسموم هذه البكتيريا في اللحم نظراً لوجود بكتيريا أخرى في اللحم مثل *Pseudomonas - Morxella - Acinetobacter* والتي لها معدل نمو أكبر من بكتيريا *.S. aureus*

ب. خفض قيمة الأس الهيدروجيني

تقوم بعض الأحياء الدقيقة مثل بكتيريا حامض اللاكتيك بخفض قيمة الأس الهيدروجيني أثناء نموها نتيجة إنتاج حامض اللاكتيك كما هو الحال في السجق والمخللات مما يؤدي لتثبيط البكتيريا العصوية السالبة لصبغة جرام والتي تكون سائدة قبل نمو بكتيريا حامض اللاكتيك.

ج. إنتاج مواد مضادة للأحياء الدقيقة Antimicrobial substances

الكثير من الأحياء الدقيقة تنتج نواتج أيضية لها نشاط مضاد لنمو أحياء دقيقة أخرى، هذه النواتج قد تكون ذات تركيب كيميائي بسيط مثل CO_2 والإيثانول والبيروكسيدات والأحماض العضوية (حمض الخليك – حمض البروبيونيك – حمض اللاكتيك) والتي تنتجها أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة ولها تأثير مثبط على عدة أحياء دقيقة مفسدة للأغذية، بعض الأحياء الدقيقة تنتج مضادات للنمو والتي تثبط نمو أحياء دقيقة أخرى مثل البكتريوسين Bacteriocins والذي له تطبيقات في مجال الأغذية وهو عبارة عن جزيئات

كبيرة تتكون من عديد الببتيد Polypeptides أو البروتين وهى مثبطة لسلالات لنفس النوع أو لسلالات تابعة لأنواع تربطها علاقة قريبة Closely related species وأهم مركبات البكتيريوسين مركب النيسين Nisin ومركب الكوليسين Colicins والأخير تنتجه بكتيريا *E.coli*. بعض الخمائر تستطيع إنتاج إنزيمات محلّلة لجدر خلايا الفطريات وبذلك تثبط نمو الفطريات. ظاهرة التضاد تحظى الآن باهتمام في مجال الأغذية للتحكم في نمو الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان والمفسدة للأغذية.

أما علاقة التطفل بين الأحياء الدقيقة Parasitism فإنه يوجد طفيليان Parasites يتطفلان على البكتيريا وهما فيروسات البكتيريا التي تسمى بكتيريوفاج Bacteriophages (ملتهمات البكتيريا) والجنس البكتيري *Bdellovibrio* بعض الفيروسات البكتيرية يكون عائلها عدد معين من الأنواع البكتيرية أو قد يضم أجناس مختلفة من البكتيريا، الجنس البكتيري *Bdellovibrio* عبارة عن بكتيريا حلزونية الشكل سالبة لصبغة جرام صغيرة الحجم يبلغ طولها 0.81 – 2 ميكروميتر وعرضها 0.25 - 0.4 ميكروميتر متحركة بسوط واحد تحلل البكتيريا وتعطي لويحة (Plaque) وهي منطقة شفافة في وسط النمو البكتيري ولكن في فترة أطول (من يوم وقد تصل إلى 6 أيام من التحضين) من البكتيريوفاج (12 - 24 ساعة) التضاد بواسطة هذه المتطفلات التي تحلل الخلية البكتيرية لا تزال ذات أهمية تطبيقية محدودة .(BANWART 1989 ; RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008)

الفصل السابع

التجرثم في الكائنات الدقيقة

Microbial sporulation

الكائنات الدقيقة الهامة في مجال الأغذية سواء كانت فطريات أو خمائر أو بعض أنواع البكتيريا لها القدرة على تكوين الجراثيم، في الخمائر والأعفان التجرثم يرتبط بالتكاثر بينما التجرثم في البكتيريا يعد أحد وسائل النجاة من الظروف الغير مناسبة.

أيضا التجرثم في الخمائر والأعفان يمكن أن يكون جنسياً أو لا جنسياً بينما في البكتيريا تفاضلياً يعطي للخلية فرصة للاحتفاظ بالحيوية تحت الظروف القاسية للنمو، الجراثيم البكتيرية لها أهمية كبيرة في مجال الأغذية حيث إنها تقاوم العديد من العمليات المستخدمة في تصنيع وحفظ الأغذية بينما جراثيم الفطريات والخمائر أقل مقاومة لتلك العمليات، وحيث أن التجرثم في الفطريات والأعفان قد تم التعرض له في الفصل (الثالث) من هذا الكتاب فإنه سيتم في هذا الفصل مناقشة التجرثم في البكتيريا فقط.

1.7 التجرثم في البكتيريا

خاصية القدرة على تكوين الجراثيم تتميز بها القليل من أنواع البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وهي: *Bacillus* و *Alicyclobacillus* و *Clostridium* و *Sporolactobacillus* و *Sporosarcina* وأنواع البكتيريا السالبة لجرام *Desulfotomaculum* ومن بين هذه الأجناس المذكورة أعلاه تعتبر الأجناس *Bacillus* و *Clostridium* و *Alicyclobacillus* و *Desulfotomaculum* ذات أهمية كبيرة في مجال الأغذية حيث أنها إذا تواجدت في الغذاء تكون إما مفسدة للأغذية أو ممرضة للإنسان، وبخلاف جراثيم الفطريات والخمائر تنتج البكتيريا جراثيم داخلية (داخل الخلايا) endospores وتعطي الخلية جرثومة واحدة فقط قد

تكون في وسط أو طرف الخلية، وتحمل الجرثومة شحنة سالبة وسطحاً كارهاً للماء، توجد الجراثيم في حالة ساكنة dormant (خاملة) وتبقى على هذه الحالة لمدة تصل لسنين عديدة، وتتميز الجراثيم، بأن لها القدرة على تحمل المعاملات الفيزيائية والكيميائية والتي تتأثر بها عادةً الخلايا الخضرية.

1.1.7 تركيب الجرثومة

تركيب الجرثومة موضح في الشكل رقم (1.7). التركيبات الجرثومية من الداخل إلى الخارج:

أ. اللب Core: ويحتوي على المكونات الخلوية مثل الأحماض النووية DNA و RNA وحمض الداي بوكولينيك dipicolinic acid (DPN) والإنزيمات والكاتيونات ثنائية التكافؤ وكمية قليلة جداً من الماء، الحمض النووي يكون مغطى بالكروماتين شبيه البروتين – Chromatin like protein والذي يحمي الـ DNA من تأثير الحرارة والأشعة الفوق بنفسجية.

ب. جدار الخلية الجرثومية germ cell wall والذي يحيط بالغشاء السيتوبلازمي.

ج. طبقة القشرة Cortex وهي طبقة تحيط بجدار الخلية تتكون من الببتيدات peptides والجلاكن glycan.

د. الغشاء الخارجي للجرثومة ثم الأغلفة الجرثومية خارج القشرة والغشاء وتتكون من طبقات من البروتين وهي التي تعطي الجرثومة القدرة على التحمل.

هـ. جراثيم بعض الأنواع من البكتيريا لها تركيب يسمى اكسوسبوريم Exosporium وهو الغلاف الخارجي للجرثومة ويتكون من طبقة رقيقة خارج غلاف الجرثومة تعمل على استبعاد المواد السامة كما يمكن أن تحتوي على إنزيمات الإنبات. وأثناء الإنبات والنمو Outgrowth تتحلل طبقة القشرة وتزال أغشية وأغلفة الجرثومة أثناء خروج الخلية الخضرية.

2.1.7 تكوين الجراثيم Spore formation

عملية التحول من الخلايا الخضرية إلى جراثيم تكون مرتبطة بتغير الظروف البيئية للبكتيريا إلى ظروف غير مناسبة مثل نقص المكونات الغذائية أو تغير في درجات الحرارة المثلى وتغير في الأس الهيدروجيني.

التحول من دورة الانقسام الثنائي البسيط إلى التجرثم يُحكم بواسطة عدة جينات وتبدأ عملية التجرثم فقط عند نهاية عملية تكرار أو استنساخ الحمض النووي DNA حيث تقرر الخلية ما إذا كانت تتجه لمسار التجرثم أو الانقسام الثنائي البسيط، وتتم عملية التجرثم في عدة خطوات موضحة في شكل (2.7) وهي:

أ. إنهاء عملية استنساخ وتكاثف للحامض النووي DNA ثم تحدث استطالة للكروموزوم Chromosome بطول الخلية.

ب. ينقسم الحامض النووي DNA إلى قسمين ويتجه أحد القسمين إلى أحد طرفي الخلية ويحدث انبعاجاً لغشاء الخلية بالقرب من أحد طرفي نهاية الخلية ويتكون حاجزاً أو غشاءً

بلازمياً مستقلاً يحيط بالـ DNA المتواجد عند طرف الخلية.

ج. يستمر الغشاء البلازمي للخلية في النمو ويمتد ليحيط بالجزء الطرفي منها إحاطة كاملة ويقوم كل غشاء بلازمي بإفراز جدار إلى الخارج فيصبح للجرثومة جداران يحصران بينهما طبقة تعرف بالقشرة Cortex والتي تتكون من مادة Peptidoglycan.

د. تراكم أيونات الكالسيوم الموجبة وتخليق حمض الداي بوكولنيك DPN وهذا الحمض يعتقد أنه مسؤول عن ثبات الحمض النووي DNA كما يمكن أن يكون مسؤول عن مقاومة الجرثومة للحرارة، دخول أيونات الكالسيوم من الخارج يؤدي إلى إزالة الماء من الخلية ويحدث جفاف للبروتوبلاست وتصبح الخلية أكثر مقاومة للحرارة وتتكون طبقة من البروتين تلي طبقة القشرة، بعض الجراثيم تكّون طبقة إضافية تسمى Exosporium.

هـ. يحدث تحلل إنزيمي لجدار الخلية ثم تنطلق الجرثومة للخارج.

3.1.7 خصائص الجراثيم

من أهم خصائص الجراثيم:

أ. غير نشطة أيضياً ويمكنها أن تبقى ساكنة لسنوات عديدة ويمكنها أن تتحول إلى خلية خضرية عند زوال الظروف الغير مناسبة للنمو وتعطي كل جرثومة خلية واحدة فقط.

ب. الجراثيم حية وساكنة ولها القدرة على كسر الضوء وعلى مقاومة الظروف البيئية مقارنة

بالخلايا الخضرية فهي تقاوم الحرارة العالية وبعض الأشعة ذات الموجات القصيرة وكذلك تقاوم المواد الكيميائية السامة والجفاف، مقاومة الجراثيم للحرارة ترجع إلى قلة محتواها المائي وكذلك إلى أن الماء الموجود بها يكون في صورة مرتبطة بالبروتينات الغروية وليس حراً كما هو الحال في الخلايا الخضرية كما تُعزى هذه المقاومة أيضا إلى وجود ملح الكالسيوم لحمض الداي بيكولونيك.

ج. الجراثيم تحتوي على تركيز عالي من السيستين مقارنة بالخلايا الخضرية وهو ضروري لتخليق الغلاف الجرثومي لحماية الجرثومة من المؤثرات الخارجية.

د. تتحور الإنزيمات في الجراثيم لتعطي إنزيمات جرثومية مثل إنزيم الألدوليز Aldolase إنزيم الألدوليز المستخلص من الجراثيم له مقاومة للحرارة أعلى من المستخلص من الخلايا الخضرية، ووجد أن الإنزيمات ترتبط بالمكونات الجرثومية بحيث يصعب عزلها والتعرف على أنواع من البروتينات في الجراثيم.

4.1.7 تحول الجراثيم إلى خلايا خضرية

عند تعرض الجراثيم لظروف مناسبة للنمو تزول حالة السكون حيث تنشط وتدخل الجرثومة في عدة تفاعلات حيوية تشمل التنشيط والإنبات والنمو، الجراثيم المتضررة Injured spores تحتاج لإصلاح الضرر قبل أن تنشط.

هناك بعض الجراثيم تحتاج مدة طويلة كي تستعيد نشاطها وتسمى فائقة السكون

super dormant spores حيث تكون عادةً من الأجناس *Bacillus* و *Clostridium*، وقد تسبب هذه الأنواع مشكلة في الأغذية بسبب أن هذه الجراثيم لا يمكن أن تُكشف بسهولة وإذا ما سمحت الظروف تنمو وتسبب فساد الأغذية أو إحداث المرض للمستهلك أذا كانت جراثيم لبكتيريا ممرضة، وتتحول الجراثيم إلى خلايا خضرية بعد المرور بعدة مراحل هي:

1.4.1.7 التنشيط Activation

الجراثيم يمكن أن تنشط بواسطة عدة طرق مثل استخدام معاملات حرارية ما دون الموت sublethal (تسخين على درجة حرارة 60 م° لمدة ساعة أو على 65 م° لمدة 2 ساعة) والتشعيع واستخدام الضغط العالي مع عوامل أكسدة واختزال أو استخدام درجات قصوى من الأس الهيدروجيني، كل هذه المعاملات تُسَرع من عملية التنشيط بواسطة زيادة نفاذية تركيبات الجرثومة لعوامل التنشيط. وعملية التنشيط عكسية أي يمكن أن تعود الجرثومة لحالة السكون مرة أخرى إذا كانت الظروف غير مناسبة.

2.4.1.7 الإنبات Germination

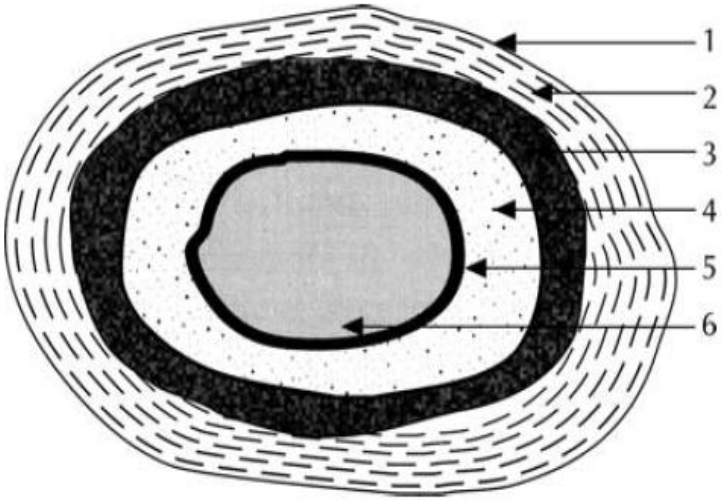
تحدث عدة تغيرات تركيبية ووظيفية أثناء عملية الإنبات وبمجرد أن تبدأ عملية الإنبات تنتهي مرحلة السكون نهائياً، التغيرات التركيبية تشمل ترطيب اللب وإفراز أيونات الكالسيوم Ca^{2+} وحمض الدبلوكولنيك DPN وفقد خاصية المقاومة وزيادة قابليتها للصبغ بالطرق البسيطة ونقص في الوزن الجاف، أما التغيرات الوظيفية فتشمل بدء النشاط الأيضي

ونشاط إنزيمات معينة من البروتييز proteases الإنزيمات المحللة لطبقة القشرة cortex-lytic enzymes وانطلاق المركبات الناتجة من تحلل القشرة.

عملية الإنبات تبدأ بانخفاض الأس الهيدروجيني وبارتفاع درجة الحرارة وبارتفاع الضغط وبإنزيم اللايسوزايم lysozyme وبوجود المغذيات مثل الأحماض الأمينية والكربوهيدرات وعدة عوامل أخرى.

3.4.1.7 النمو Outgrowth

وتحدث أثناء النمو عمليات الإصلاح لأي ضرر في الجرثومة وعمليات تخليق حيوي لبعض المواد قبل أن تحدث عملية النمو، في هذه المرحلة يحدث انتفاخ في الجرثومة نتيجة الترطيب واستهلاك المغذيات ويحدث تخليق للحمض النووي RNA وللبروتين ومواد الغشاء الخلوي وجدار الخلية كما يحدث تحلَل للأغلفة واستطالة للخلية واستنساخ للحمض النووي DNA، العوامل التي تشجع ذلك هي تواجد المغذيات والأس الهيدروجيني والحرارة المرغوبة، وعند نهاية عملية النمو تخرج الخلايا الخضرية من الجراثيم وتدخل دورة التكاثر بواسطة الانقسام الثنائي البسيط.

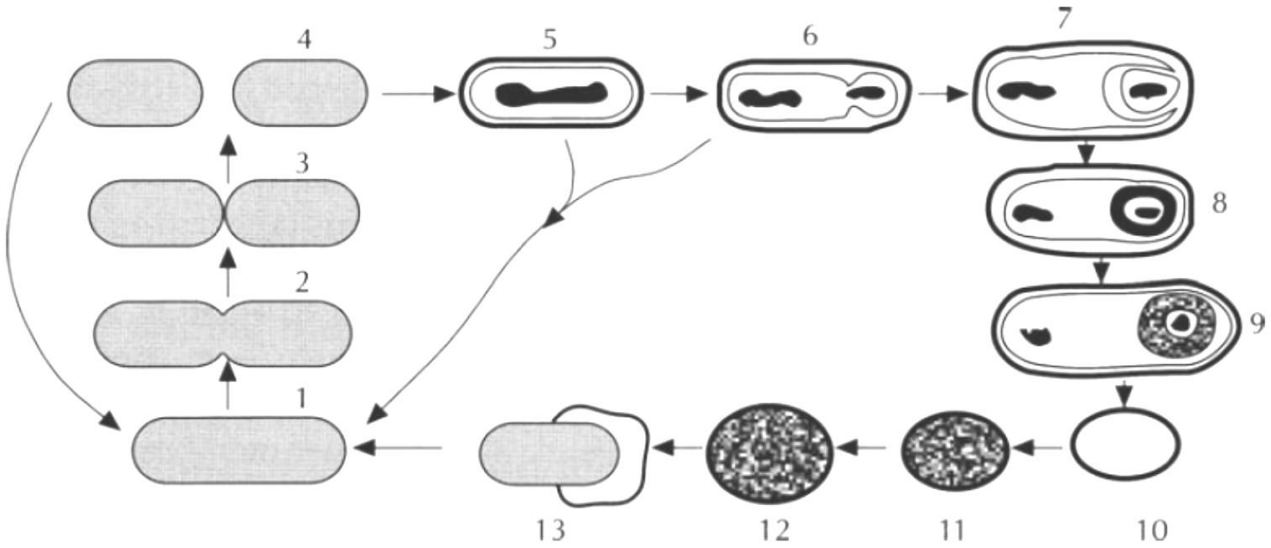


شكل (7.1): رسم تخطيطي لقطاع في الجرثومة البكتيرية يوضح التركيبات المختلفة للجرثومة:

(1) الغلاف الخارجي للجرثومة Exosporium (2) الغلاف Coat (3) الغشاء الخارجيOuter membrane

(4) القشرة Cortex (5) جدار الجرثومة germ cell wall (6) اللب Core

المصدر: عن Ray (2004)



شكل (2.7): خطوات التكاثر وتكوين الجرثومة في البكتيريا المكونة للجراثيم **1- 4** الإنبات والنمو **(5-13)** : الخطوات المختلفة لتكوين الجراثيم الداخلية **(5)** تكاثف الحمض النووي **DNA** واستطالته بطول الخلية **(6)** انفصال جزء من الحمض النووي واتجاهه إلى أحد طرفي الخلية (7) تكون الجرثومة الأولية **(8)** تكوين القشرة **Cortex (9)** تكوين الغلاف **Coat (10)** انطلاق الجرثومة الحرة **(11)** الإنبات بعد التنشيط **(12)** تضخم أو انتفاخ الجرثومة **(13)** النمو **Outgrowing**

2.7 أهمية الجراثيم في الأغذية

الجراثيم الفطرية حساسة للحرارة يمكن أن يُمنع نموها بواسطة تغليف الأغذية لحرمانها من الأكسجين، معظم الجراثيم البكتيرية في الأغذية مصدرها التربة وتأتي للأغذية عن طريق سلسلة صناعة الغذاء مثل مكونات الغذاء أو تكون ملتصقة على معدات الأغذية بواسطة زوائد تكون متواجدة على أسطح الجراثيم، ونظراً لمقاومة الجراثيم للحرارة فقد أُعطيت أهمية خاصة في مجال تصنيع وسلامة الأغذية حيث أن الظروف التي تنبت عليها الجراثيم البكتيرية هي نفس الظروف المناسبة للتكاثر الخضري ولذلك إذا توافرت هذه الظروف في الغذاء فإن الجراثيم يحدث لها إنبات وتنمو وتسبب فساداً للغذاء أو تسمماً للإنسان.

العديد من الأنواع التابعة للأجناس *Bacillus* و *Clostridium* و *Desulfotomaculum* لها ارتباط بالأغذية من حيث أنها تكون مفسدة للأغذية أو ممرضة للإنسان ولذلك لأبد من مكافحتها في الأغذية بعدة وسائل منها:

أ. أن يسمح لها بالنشاط والإنبات والنمو وذلك باستخدام ضغط منخفض ثم قتلها باستخدام معاملات أخرى مثل الحرارة أو المضادات الميكروبية.

ب. في معلبات الأغذية المنخفضة الحموضة يجب تطبيق معاملة حرارية عالية لإنجاز التعقيم التجاري الذي يقتل الجراثيم المفسدة للأغذية والممرضة للإنسان.

ج. لمنع إنبات الجراثيم وحسب نوع الغذاء يمكن أن يُستخدم النيتريت (في اللحوم المعاملة)

أو خفض الأس الهيدروجيني أو خفض النشاط المائي أو استخدام التركيز العالي من الملح.

د. يمكن استخدام الضغط الهيدروستاتيكي ولكن مصحوب بدرجة حرارة عالية 90 م° أو أكثر وضغط عالي يصل إلى 700 ميجا باسكال (MPa) للقضاء على الجراثيم الممرضة والمفسدة للأغذية (PRESCOTT et al, 1999; RAY, 2004).

الفصل الثامن

العوامل المهمة في الفساد الميكروبي للأغذية

1.8 الفساد الميكروبي في الأغذية Microbial spoilage of foods

الفساد Spoilage هو أي تغَير يطرأ على المادة الغذائية ويحولها إلى مادة غير مقبولة بواسطة المستهلك. بعض المؤشرات المرتبطة بفساد الأنواع المختلفة للأغذية هي تغيرات في اللون والرائحة والقوام وتكوين مادة لزجة وتراكم الغازات أو تكوين رغوة أو تجمع سائل (تنضيح)، غير إنه في حالات أخرى يصعب الكشف عن هذه التغيرات إذا تواجدت أحياء دقيقة ممرضة أو في حالة حدوث فقد في القيمة الغذائية.

على الرغم من وجود العديد من أنواع الأحياء الدقيقة في الطبيعة إلا أنه في ظل الظروف الطبيعية يأوي الغذاء بصفة عامة أنواع قليلة من الميكروبات، هذه الأنواع تشمل الميكروبات الموجودة بصورة طبيعية في الأغذية الخام وتلك التي تدخل من مصادر خارجية والتي قد يتعرض لها الغذاء من وقت الإنتاج حتى الاستهلاك.

الأعداد النسبية لنوع معين من الأحياء الدقيقة الموجود بصورة أولية (بدون نمو) في الغذاء تعتمد على الظروف الداخلية والخارجية التي يتعرض لها الغذاء، وإذا حدث النمو فإن الأنواع السائدة predominant types تكون تلك التي توفر الحالة المتواجد عليها الغذاء ظروف النمو الأمثل لها.

إن الأغذية المنتجة تحت ظروف صحية ملائمة عادةً ما تحتوي على أحياء دقيقة أقل بكثير عن تلك الأغذية التي لوحظ عليها الفساد، وبالتالي نمو بعض أنواع الميكروبات

بالإضافة إلى تلك الموجودة مسبقاً تُمكّن الأحياء الدقيقة من الوصول إلى مستوى الفساد الملحوظ، وهناك العديد من العوامل التي تحدد أي الأنواع سوف تتكاثر بسرعة كبيرة نسبياً لتصبح حين ذاك الكائن الدقيق المفسد والسائد، بالإضافة إلى أنواع الأحياء الدقيقة تمتلك أنواع وبيئة الأغذية (سواءً العوامل الداخلية والخارجية) دوراً مهماً في تحديد ميكروب الفساد السائد في الغذاء.

الفساد الميكروبي للأغذية يحدث لعدة أسباب قد تكون أسباب داخلية أو خارجية أي أسباب مرتبطة بالغذاء نفسه أو من مصدر خارجي، في هذا الفصل سنتناول الأحياء الدقيقة السائدة المرتبطة بتلف المجاميع الغذائية المختلفة، وبما أن هذه المجاميع الغذائية تتشابه في محتواها الغذائي والبيئة فإن أنواع الأحياء الدقيقة المرتبطة بتلفها عادةً ما تكون متشابهة، وسيتم في الفصول التالية التعرض للفساد الميكروبي لعدة أنواع من المجموعات الغذائية.

2.8 العوامل المهمة في الفساد الميكروبي للأغذية

فساد الأغذية يكون نتيجة لنمو الميكروبات في الغذاء أو نتيجة لتحرر الإنزيمات الخارجية والداخلية بعد موت وتحلل الخلايا في البيئة الغذائية. الفساد بالنمو البكتيري يحدث أسرع بكثير من التلف الإنزيمي الخلوي سواء بالإنزيمات الداخلية أو الخارجية في غياب الخلايا الميكروبية الحية، وتستخدم طرق مختلفة لحفظ معايير القبول للأغذية بين الإنتاج الأولي (مثل حصاد الأغذية النباتية وذبح الحيوانات) والناتج النهائي والتي تهدف إلى تقليل أعداد الميكروبات ونموها، وبالرغم من ذلك فإنه ما زال هنالك العديد من الأحياء الدقيقة التي تنمو

وتتكاثر وتسبب فساد الأغذية والذي يكون عالياً في بعض الأغذية، ومن المهم فهم العوامل المتعلقة بالفساد الميكروبي للأغذية وذلك للتعرف على أسباب حدوثه ولتطوير السبل الفعَالة للتحكم فيه، من أجل حدوث الفساد الميكروبي للأغذية هناك تغيرات متعددة يجب أن تتم في شكل تسلسلي حيث:

أ. يجب أن تصل الأحياء الدقيقة إلى الغذاء من مصدر واحد أو أكثر من مصادر تلوث الغذاء.

ب. أيضا بيئة الغذاء من ناحية الأس الهيدروجيني والنشاط المائي وجهد الأكسدة والاختزال المغذيات والعوامل المثبطة يجب أن تكون ملائمة لنمو نوع أو أكثر من تلك الأحياء الدقيقة الملوثة للغذاء.

ج. يجب أن يكون الغذاء مخزَّن عند درجة حرارة تسمح لنوع واحد أو أكثر من الأحياء الدقيقة الملوثة للغذاء بالنمو وبالتكاثر.

د. وأخيراً يجب أن يخزّن الغذاء تحت ظروف تسمح للنمو لفترة كافية من الزمن لتتكاثر الأنواع الميكروبية لتصل لأعلى عدد ضروري وتؤدي لتغيرات ملحوظة في الغذاء.

في الأغذية المعاملة حرارياً الأحياء الدقيقة المرتبطة بالفساد إما أن تستطيع البقاء حية خلال المعاملة الحرارية (مقاومة للحرارة) أو أنها وصلت إلى الغذاء بعد عملية التسخين (كملوثات بعد المعاملة)، فساد الأغذية المعاملة حرارياً بواسطة الإنزيمات الميكروبية في غياب

الخلايا الميكروبية الحية يمكن أن يحدث بسبب الإنزيمات المقاومة للحرارة المنتجة بواسطة الأحياء الدقيقة الموجودة في الغذاء قبل عملية المعاملة الحرارية، بالإضافة إلى ذلك نحتاج إلى تخزين الأغذية عند درجة حرارة مناسبة لفترة كافية من الزمن لتحدث التفاعلات الإنزيمية وبالتالي تحدث تغيرات ملحوظة على الغذاء.

3.8 أهمية الأحياء الدقيقة في فساد الأغذية

تلعب الأحياء الدقيقة دوراً أساسياً في فساد الأغذية ويتوقف ذلك على عدة عوامل:

1.3.8 أنواع الميكروبات Microbial Types

الأغذية النيئة (الغير معاملة حرارياً) والمصنعة تحتوي عادةً على أنواع متعددة من الفطريات "العفن"، والخمائر والبكتيريا القادرة على التكاثر والتسبب في حدوث الفساد (ماعدا الفيروسات حيث أنها لا تتكاثر في الأغذية)، وبما أن التكاثر هو سبب مهم في حدوث الفساد فإن البكتيريا وبسبب قصر الزمن الجيلي (فترة التوالد) تتبعها الخمائر في مواقع متقدمة على الفطريات في التسبب بالفساد السريع للأغذية، وعلى كل حال في الأغذية التي لا تتوافر فيها الظروف المثلى لنمو البكتيريا والخمائر والأغذية التي تخزن نسبياً لفترة طويلة من الزمن مثل الخبز والجبن الصلب والنقانق الجافة المخمرة والفواكه والخضروات الحامضة يكون فيها الفساد بواسطة الفطريات أكثر شيوعاً، إن التطور في التطبيقات الخاصة بالتعبئة

اللاهوائية للأغذية مؤخراً أدى إلى التقليل كثيراً من تلف الغذاء الناتج من الفطريات وإلى حد معين من الخمائر ولكن الحال ليس كذلك مع البكتيريا اللاهوائية واللاهوائية الاختيارية، لذلك ضمن المجموعات الميكروبية الثلاث أعلى نسب لحدوث الفساد خاصة السريع منها في الأغذية المعاملة حرارياً هي تلك التي تسببها البكتيريا تتبعها الخمائر ثم الفطريات.

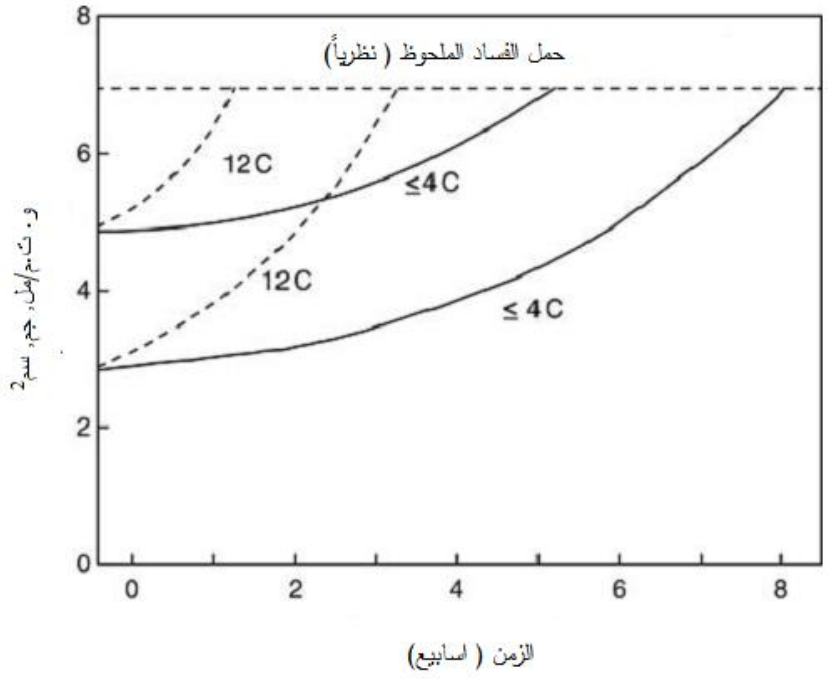
2.3.8 العدد الميكروبي Microbial Numbers

لإحداث تغيرات ملحوظة على اللون والرائحة والقوام للأغذية والمصحوب بتكوين مادة لزجة أو تراكم للغازات أو السوائل يجب أن تتكاثر الأحياء الدقيقة (البكتيريا والخمائر بشكل رئيسي) وتصل إلى مستويات معينة غالباً يُشار إليها "بمستوى الفساد الملحوظ"، "Spoilage detection level" وبالرغم من تنوع مستوى الفساد مع تنوع الأغذية والأحياء الدقيقة فإن البكتيريا والخمائر تحتاج للنمو وأن تصل لـ 10^7 خلية/جم أو / مل أو سم^2 في الغذاء ليحدث الفساد الملحوظ، واعتماداً على طبيعة الفساد وأنواع الميكروبات ومستوى الفساد الملحوظ يمتد من 10^6 إلى 10^8 خلية/جم أو /مل أو سم^2.

الفساد المرتبط بتكون كبريتيد الهيدروجين وبعض الأمينات والبروكسيد "فوق أكسيد الهيدروجين" H_2O_2 يمكن ملاحظته بحمل ميكروبي منخفض بينما تكوين حمض اللاكتيك يلاحظ في حالة حمل ميكروبي عالي، تكون مادة لزجة مرتبط بتراكم الخلايا الميكروبية ويلاحظ ذلك عامة عند $\leq 10^8$ خلية/جم أو /مل أو سم^2 لغذاء ما.

الأغذية المحتوية على حمل ميكروبي أولي عالي نسبياً من البكتيريا المسببة للفساد (أو الخمائر) وتم تخزينها تحت ظروف مناسبة محفزة للنمو السريع (زمن جيلي أو فترة توالد أقصر: germination time) سوف تفسد أسرع بكثير من الأغذية المحتوية على حمل ميكروبي منخفض ولها فترة توالد أطول. الشكل (1.8) يوضح أن العدد الميكروبي وصل إلى مستوى الفساد الملحوظ خلال 7 أيام في حالة ارتفاع الحمل الميكروبي الأولى (5×10^5/جم)، وللوصول إلى الفساد الملحوظ نحتاج إلى 20 يوماً مع حمل ميكروبي منخفض (5×10^2/جم) خلال التخزين عند 12°م، وفي العموم عندما يُخزن المنتج الذي يحتوي على حمل ميكروبي منخفض عند 4°م فإن الفساد البكتيري سيحتاج 55 يوماً ليصل مستوى الفساد الملحوظ. ولتقليل الفساد الميكروبي للغذاء يجب الحرص على خفض الحمل الميكروبي الأولي له وإطالة فترة تكاثر الأحياء الدقيقة المسببة للفساد خلال عملية التخزين.

الأغذية المتخمرة بصفة عامة تحتوي على أعداد كبيرة من الأحياء الدقيقة (10^{8-9} خلية/جم أو /مل)، بالرغم من ذلك وتحت الظروف الطبيعية تكون هذه الميكروبات من الأنواعً المرغوبة ولا تعتبر أغذية فاسدة، فساد هذه الأغذية مثل تكوين مادة لزجة ونكهة كريهة في جبنة القريش يمكن أن يحدث بسبب نمو بكتيريا غير مرغوب فيها مثل أنواع *Alcaligenes* و *Pseudomonas*.



الشكل (1.8) تأثير مستويات البكتيريا الأولية ودرجات حرارة التخزين على صلاحية المنتج المبرد

المصدر: RAY, 2004

4.8 الأحياء الدقيقة السائدة Predominant Microorganisms

الأغذية الغير معقمة والغير فاسدة عادة ما تحتوي على أنواع عديدة من الأحياء الدقيقة مثل البكتيريا والخمائر والفطريات (كذلك الفيروسات) من أجناس مختلفة وحتى أكثر من سلالة واحدة من نفس النوع، إن مستوى العدد الميكروبي لكل نوع يمكن أن يختلف بشدة عن الأنواع الأخرى، وعندما يفسد الغذاء وُجد أنه يحتوي على نوع واحد سائد أو اثنين والذي ربما لم يتواجد أصلاً من البداية بأعداد كبيرة في المنتج الطازج أو الغير فاسد،

الأنواع المختلفة المتواجدة منذ البداية والقادرة على النمو في غذاءٍ ما هي فقط الميكروبات التي تمتلك زمن جيلي قصير تحت ظروف التخزين حيث تزداد أعدادها وبسرعة مسببة بذلك الفساد، في دراسة عينة من لحم البقر (أسها الهيدروجيني 0.6) وجد أنها تحتوي أعداد ميكروبية أولية 10^3 خلية بكتيرية/جم ونسبة كل من *Pseudomonas* spp 1% و *Acinetobacter* و *Morexella* 11% و *Brochothrix thermosphacta* 13% وميكروبات أخرى (*Micrococcus* و *Staphylococcus* و *Enterobacteriaceae* وبكتيريا حمض اللبنيك ... وإلخ) 75%. وبعد عملية تخزين هوائية عند 2°م لمدة 12 يوم وصلت الأعداد الميكروبية إلى 6×10^7 خلية/جم مع نسبة لكل من *Pseudomonas* spp 99% وكل الباقي عند 1% العديد من الأنواع البكتيرية المتواجدة في البداية يمكنها النمو عند ظروف تخزين اللحم ولكن .*Pseudomonas* spp تمتلك زمن جيلي أقصر وبالتالي وبالرغم من أنها مثلت فقط 1% في البداية من إجمالي العدد الميكروبي وبعد 12 يوماً أصبحت هي السائدة (99%). واذا خزّنت نفس العينة لاهوائياً عند 2°م (مثل تلك المعبأة بالتفريغ) حتي يصل العدد البكتيري إلى 10^7/جم فإن البكتيريا السائدة هنا والأكثر ترجيحاً هي إما *Lactobacillus* أو *Leuconostoc* اللاهوائية الاختيارية أو الاثنين معاً وذلك لأن ظروف النمو مناسبة لها.

من المهم معرفة أن الزمن الجيلي للأنواع الميكروبية حتى عند الظروف المثلى للنمو يكون أطول بكثير في الغذاء عنه في بيئة المرق المغذى المعملي، أيضاً وتحت نفس الظروف التخزينية سلوك ونمو الميكروب في الوسط المحتوي على خليط من الميكروبات

mixed population يمكن أن يختلف بشدة في الغذاء عنه في المرق، وبسبب ذلك الأنواع السائدة بسبب نمو الميكروبات المختلطة في بيئة غذائية تختلف عن تلك السائدة في المرق تحت نقس الظروف.

5.8 أنواع البكتيريا المسببة لفساد الأغذية

حتى الآن القليل فقط من أجناس البكتيريا تم ربطها بفساد أغلب الأغذية، قدرة الأحياء الدقيقة على إحداث الفساد في الأغذية تعتمد على الخصائص البكتيرية وخصائص الأغذية وظروف التخزين. تأثيرات بعض هذه العوامل على تحديد البكتيريا المفسدة السائدة في الأغذية سيتم مناقشتها هنا بإيجاز مع عدم تضمين الأحياء الدقيقة الممرضة.

1.5.8 البكتيريا المحبة للبرودة Psychrophilic Bacteria

البكتيريا المحبة للبرودة تشتمل على أنواع البكتيريا القادرة على النمو عند 5 م° و/ أو أقل ولكنها تتكاثر بسرعة كبيرة عند 10 إلى 25 م° وحتى عند درجات حرارة أعلى. العديد من الأغذية تخزن فوق الثلج (تبريد: chilling) وداخل الثلاجات ويعتقد البعض أن لها مدى صلاحية طويل (50 يوماً أو أكثر)، من الممكن أن تتعرض هذه الأغذية لدرجة حرارة تصل إلى 10 م° أو أكثر. البكتيريا المحبة للبرودة (وكذلك العديد من الخمائر والفطريات تعتبر محبة للبرودة) تستطيع إفساد الأغذية.

وإذا تم تخزين الأغذية تحت الظروف الهوائية فالبكتيريا الهوائية المحبة للبرودة ستكون

هي البكتيريا المفسدة السائدة، أما في الأغذية التي خزّنت تحت ظروف لاهوائية (أيضا في داخل الأغذية المجهزة مسبقاً :interior of a prepared food) فإن البكتيريا اللاهوائية واللاهوائية الاختيارية هي التي ستسود، وإذا عُرّضت الأغذية لمعاملة حرارية منخفضة ولم تتعرض لتلوث بعد ذلك خلال التخزين عند درجة حرارة منخفضة فإن البكتيريا المقاومة للحرارة المحبة للبرودة سوف تتسبب في فسادها.

أ. البكتيريا الهوائية المحبة للبرودة المفسدة للأغذية Psychrophilic Aerobic

وتشمل: *Pseudomonas fluorescenas* و *P. fragi* وأنواع الـ*Pseudomonas* الأخرى و *Acinetobacter* و *Moraxella* و *Flavobacterium*، (بعض أنواع الفطريات والخمائر تشملها هذه المجموعة).

ب. بعض البكتيريا اللاهوائية الاختيارية المحبة للبرودة المفسدة للأغذية

Psychrophilic Facultative Anaerobic

وتشمل:

Lactobacillus viridescens و *Brochothrix thermosphacta* و *L. sake L. curvatus*. و unidentified *Lactobacillus* spp. و *Leuconostoc carnosum* و.*L.gelidum* و *L mesenteroides* و unidentified *Leuconostoc* spp. بعض أنواع *Enterococcus* spp. و *Alcaligenes* spp. و *Enterobacter* spp.

و *serratia liquifaciens* وبعض أنواع *Hafnia* و *Proteus* spp و *Shewanella putrefaciens* (سابقاً *Altermonas*) وبعض الخمائر المحبة للقليل من الأكسجين.

ج. بعض البكتيريا المحبة للبرودة والمقاومة للحرارة

Thermoduric Psychrotrophs

وتشمل: اللاهوائيات الاختيارية مثل جراثيم *Bacillus coagulans* و *B. megaterium* وبعض سلالات *L. viridescens* واللاهوائيات مثل: جراثيم *Clostridium Laramie* و *Cl.stertheticum* و *Cl. algidicarnis* و *Cl. putrefaciens* وأنواع .ال *Clostridium* الغير معروفة، الجراثيم تبقى حية مع المعاملة الحرارية المنخفضة ومن ثم تنشط وتنمو بكثافة وتنمو الخلايا عند درجة حرارة أقل.

عندما يخزن الغذاء عند درجة حرارة فوق 5°م (مثل: خلال النقل أو العرض في المتاجر) بعض الميكروبات المحبة للحرارة المعتدلة (درجة حرارة النمو بين 15 و45 م° والمثلى بين 25 إلى 40 م°) يمكنها أيضا النمو. عند 10 إلى 15 م البكتيريا المحبة للبرودة عادةً ما تنمو أسرع بكثير من تلك المحبة للحرارة المعتدلة.

2.5.8 البكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic Bacteria

البكتيريا في هذه المجموعة تنمو بين 40 و 90 م° وأفضل نمو يكون بين 55 و65م°،

بعض الأغذية المعاملة بالحرارة المرتفعة تُحفظ دافئة بين 50 و60°م لمدة طويلة من الزمن (مثل محلات الأغذية السريعة والمطاعم). جراثيم بعض أنواع *Bacillus* و *Clostridium* المحبة للحرارة المرتفعة يمكن أن تتواجد في هذه الأغذية المعاملة حرارياً والتي تنشط عند درجة حرارة دافئة وتتكاثر لتسبب الفساد، بالإضافة إلى ذلك بعض البكتيريا النشطة المقاومة للحرارة تنجو خلال المعاملة الحرارية المنخفضة (مثل عملية البسترة) أو البكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة التي تصل إلى الغذاء كتلوث بعد المعاملة الحرارية يمكنها أيضا النمو في هذه الأغذية الدافئة خاصة لو اقتربت درجة الحرارة من 50 م° وهذا يشمل: بعض بكتيريا حمض اللاكتيك مثل *Pediococus acidilactici* و*Streptococcus thermophilus* وكذلك بعض أنواع الـ *Bacillus* و*Clostridium* والتي يمكنها أن تبقى على قيد الحياة وتسبب الفساد للأغذية التي يتم طبخها عند درجات حرارة منخفضة (60 إلى 65°م مثلما يحدث لبعض اللحوم) أو تحفظ دافئة لفترة طويلة.

3.5.8 البكتيريا المحبة للحموضة Acid uric Bacteria

وهي البكتيريا التي يمكنها النمو بسرعة نسبياً في الأغذية عند أس هيدروجيني يبلغ 4.6 أو أقل عادةً يُشار إليها بالبكتيريا المحبة للحموضة aciduric (acidophilic) (أو المحبة للحموضة)، وتكون عادةً مرتبطة بفساد منتجات الأغذية الحامضية مثل: عصائر الفواكه والمخللات والصلصات وصلصات السلطة salad dressings والمايونيز mayonnaise والنقانق المخمرة، بكتيريا حمض اللاكتيك مختلطة التخمر

(مثل: *L. fructivorans* و *L. fermentum* و *L. mesenteroides*) وبكتيريا حمض اللاكتيك المتجانسة التخمر (مثل: *Lb. plantarum* و *P. acidilactici*) مرتبطة بمثل هذا الفساد، أما الخمائر والفطريات فهي محبة للحموضة ولذلك تعتبر أيضا مرتبطة بفساد مثل هذه الأغذية.

6.8 دور الأغذية

1.6.8 أنواع الأغذية

تختلف الأغذية كثيراً في قابليتها للفساد بواسطة الأحياء الدقيقة وذلك نظراً لاختلافها في العوامل الداخلية (النشاط المائي والأس الهيدروجيني وجهد الأكسدة والاختزال والمحتوى الغذائي والمواد المضادة للميكروبات وتراكيب الحماية).

إن الأغذية المحتوية على نشاط مائي منخفض (A_w: 0.90) أو أس هيدروجيني منخفض (pH : 5.3) تكون أقل تعرضاً للفساد البكتيري عن تلك الأغذية التي لها نشاط مائي يصل إلى $A_w = 0.98$ أو أس هيدروجيني مرتفع (pH: 6.4). الفطريات والخمائر تنمو جيداً تحت كلا الظرفين. وعلى أساس قابلية الأغذية للفاسد تم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات:

أ. الأغذية سريعة التلف Perishable foods

وتضم هذه المجموعة أغذية تحتوي نسبة عالية من الرطوبة مع توفر المغذيات اللازمة

لنمو ونشاط الأحياء الدقيقة ولذلك مدة حفظ هذا النوع من الأغذية قصيرة جداً وتتعرض للفساد السريع ما لم تحفظ بإحدى طرق الحفظ المناسبة مثل اللحوم والألبان والأسماك والخضر والفاكهة الطازجة.

ب. الأغذية بطيئة الفساد أو قليلة التعرض للفساد Semi perishable foods

وهي الأغذية متوسطة القابلية للفساد حيث تحتوي على رطوبة أقل وإذا تم حفظها بطريقة جيدة تبقى لمدة أطول بدون فساد. وقد يكون لها قشور جلدية سميكة للحماية مثل التفاح ودرنات البطاطس والبرتقال ويمكن حفظها من عدة أسابيع إلى شهور قليلة بشرط أن تكون خالية من التلف الميكانيكي (الجروح والتهشم) والتلوث الميكروبي.

ج. الأغذية غير سريعة الفساد Stable or nonperishable foods

وهي الأغذية التي لا تفسد إلا إذا تم تداولها بطريقة غير سليمة ويرجع ذلك لقلة الرطوبة بها مما يجعلها وسطاً جافاً وغير مناسب لنمو الأحياء الدقيقة، وهذه الأغذية يمكن تخزينها لمدة طويلة تصل من شهور إلى عدة سنوات مثل الغلال والحبوب والعدس والحلبة والتمر الجاف وذلك إذا تم إتباع وسائل التخزين المناسبة.

2.6.8 محتوى الغذاء من المغذيات

نمو الميكروبات في الأغذية يكون مرتبطاً بأيض بعض الكربوهيدرات والمركبات البروتينية والمركبات النيتروجينية الغير بروتينية والدهون.

تأثير الأنواع الرئيسية من الكربوهيدرات (السكريات المتعددة والسكريات الثلاثية والسكريات الثنائية والسكريات الأحادية والسكريات الكحولية) والمركبات البروتينية (البروتينات والببتيدات) والمركبات النيتروجينية غير البروتينية (الأحماض الأمينية واليوريا والكرياتينين وأكسيد ثلاثي ميثايل الأمين) والدهون (الدهون الثلاثية والدهون الفسفورية والأحماض الدهنية والستيرويدات) الموجودة في الأغذية على النمو الميكروبي سيتم مناقشتها هنا بشكل مختصر.

الأحياء الدقيقة تختلف كثيراً في قدرتها على أيض المغذيات في الأغذية المختلفة (مثل قدرتها من عدمها على استغلال كل من السيليلوز واللاكتوز كمصادر للكربون والكازين كمصدر للنيتروجين وأكسدة حمض الأوليك)، وبالمثل نفس المغذي (المادة) يمكن استغلاله عن طريق أحياء دقيقة مختلفة بواسطة مسارات أيضية مختلفة للحصول على نواتج أيضية مختلفة (مثل: أيض الجلوكوز بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك المتجانسة وغير المتجانسة التخمر). نفس المغذي (المادة) يمكن تحليله للحصول على نواتج نهائية مختلفة تحت ظروف أيضية هوائية ولاهوائية (عمليتي التنفس والتخمير على التوالي). لذلك الجلوكوز يتم تحليله بواسطة *Micrococcus* spp. هوائياً لإنتاج ثاني أكسيد الكربون والماء ولاهوائياً بواسطة *Lb. acidophilus* لتنتج بشكل رئيسي حمض اللاكتيك، خميرة *Saccharomyces cervisiae* تحلل الجلوكوز هوائياً إلى ثاني أكسيد الكربون وماء ولكنها تحت الظروف اللاهوائية تحلل الجلوكوز إلى إيثانول وثاني أكسيد الكربون.

تحت ظروف معينة بعض الأحياء الدقيقة تستطيع أيضاً تخليق (بناء) مركبات بوليميرية كنواتج نهائية مثل إنتاج الدكستران (بوليمر للجلوكوز) بواسطة *L. mesenteroides* خلال تحليلها للسكروز. بعض الأحياء الدقيقة تستطيع أيضا إفراز إنزيمات خارج الخلايا extracellular enzymes لتحليل جزيئات المغذيات الكبيرة (بوليميرات) في الغذاء (مثل تكسير النشا بواسطة بعض الفطريات).

أخيراً بعض الأحياء الدقيقة لها المقدرة على إنتاج أصباغ خلال نموها في الغذاء (مثل بكتيريا *Micrococcus luteus* التي تنتج صبغة صفراء)، لذلك أيض المكونات (المغذيات) في المادة الغذائية خلال نمو الأحياء الدقيقة فيها يؤثر سلباً على جودتها وقبولها نتيجة تغيرات من عدة نواحي مختلفة. بعض هذه التغيرات الناتجة من النمو الميكروبي هي الرائحة (نتيجة إنتاج نواتج متطايرة) اللون (إنتاج صبغة أو أكسدة المركبات الطبيعية الملونة كأكسدة مايوغلوبين اللحم) والقوام (تكسير البكتين بواسطة إنزيمات البكتينيز pectinases في النباتات وتطرية softening للأنسجة في اللحوم بواسطة إنزيمات البروتينيز أو تخثر الحليب بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتين proteolytic enzymes وتراكم الغازات (نتيجة إنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون أو الهيدروجين أو كبريتيد الهيدروجين) وتكوين مادة لزجة (نتيجةً لإنتاج الدكستران وأنواع مختلفة من السكريات العديدة الخارجية أو أعداد كبيرة من الخلايا الميكروبية متسببة في نمو مندمج) وتراكم السوائل (تجمع سائل نسيجي في اللحوم الطازجة والمصنعة وذلك نتيجةً تكسير التراكيب الممسكة بجزيئات الماء).

بعض هذه التغيرات تحدث أيضا من تأثير النواتج الأيضية على الأس الهيدروجيني للغذاء، إنتاج الأحماض العضوية بواسطة الأحياء الدقيقة يتسبب في انخفاض الأس الهيدروجيني للغذاء وبالتالي تقليل قدرة الغذاء على إمساك جزيئات الماء (مثل نمو بعض بكتيريا حمض اللاكتيك في منتجات اللحوم المصنعة منخفضة الدهون وعالية الأس الهيدروجيني)، وبالمثل إنتاج مركبات قاعدية بواسطة الأحياء الدقيقة في الغذاء يمكن أن ترفع الأس الهيدروجيني نحو القلوية وتقلل من جودته وقبوله (مثل نزع مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية في بعض منتجات اللحوم المعاملة بالحرارة المنخفضة مع إنتاج الأمينات ورفع الأس الهيدروجيني نحو القلوية وإحداث تغير في لون المنتج من البني الفاتح إلى الوردي في بعض اللحوم المصنعة)، والجدول (1.8) يبين بعض النواتج النهائية للأيض الميكروبي للمغذيات في المادة الغذائية والتي تساهم في فساد الأغذية، النواتج النهائية تتنوع مع طبيعة عملية الأيض (مثل: التنفس الهوائي أو التنفس اللاهوائي أو التخمر)، ومن الواضح أن العديد من هذه النواتج الأيضية لها المقدرة على إحداث تغيرات مرتبطة بالفساد الميكروبي للأغذية (تغير في الرائحة أو تراكم للغازات أو تكوين مادة لزجة).

3.6.8 الاستفادة من المغذيات في الغذاء

معظم الأغذية تقريباً تحتوي على نسب من الكربوهيدرات والمركبات البروتينية والمركبات النيتروجينية غير البروتينية والدهون المناسبة للاستخدام بواسطة الأحياء الدقيقة خلال نموها، خصائص فساد الأغذية تختلف بشكل كبير بسبب الاختلافات في طبيعة

وكمية مغذي معين متوفر في المادة الغذائية ونوع الأحياء الدقيقة الموجودة في الغذاء وطبيعة عملية الأيض (تنفس أو تخمر)، وبصفة عامة في إنتاج الطاقة تفضل الأحياء الدقيقة استخدام سكريات أحادية قابلة للأيض وسكريات ثنائية والكربوهيدرات المعقدة أولاً ومن ثمّ يليها استخدام المركبات النيتروجينية الغير بروتينية والببتيدات الصغيرة والمركبات النيتروجينية الكبيرة وأخيراً الدهون. الخصائص الأيضية تعتمد على قدرة سلالات معينة على استخدام كربوهيدرات معينة (كقدرتها من عدمها على الاستفادة من اللاكتوز) وتركيز وجودها (تركيز محدد أو عالي).

أيضا مع أي مغذي تستخدم الجزيئات الصغيرة أولاً قبل الجزيئات الكبيرة (بوليميرات)، إذا احتوى الغذاء على الكربوهيدرات التي يمكن أن تتخمر بواسطة الأحياء الدقيقة الملوِّثة فإنها سوف تكون عادةً أول ما يتم هضمها وأيضها، وإذا توفرت الكربوهيدرات القابلة للأيض بكميات كافية فإن المسارات الأيضية تبقى ثابتة خلال عملية النمو السريع، وعلى أي حال إذا كانت الكربوهيدرات متوفرة بتراكيز محدودة وبعد استهلاك الكربوهيدرات فإن الميكروبات عادة ما تبدأ باستخدام المركبات النيتروجينية الغير بروتينية والببتيدات الصغيرة والمركبات البروتينية الأخرى، على سبيل المثال الخمائر تنمو في عصير الفواكه المحتوية على كميات عالية نسبية من الكربوهيدرات القابلة للأيض (فركتوز، جلوكوز، سكروز) سوف تنتج إما ثاني أكسيد الكربون وماء (هوائياً) أو الكحول وثاني أكسيد الكربون (لاهوائياً).

كذلك نمو *P. fluorescens* هوائياً في اللحوم الطازجة المحتوية على كميات محدودة من الجلوكوز سوف يؤدي إلى أيضها في البداية ومن ثم يتم استهلاك الأحماض الأمينية الحرة والمركبات النيتروجينية غير البروتينية الأخرى، وإذا تركت تنمو لفترة طويلة فإنها سوف تنتج إنزيم البروتينيز الخارجي extracellular proteinases لتكسر بروتينات اللحم لينتج ببتيدات صغيرة وأحماضاً أمينية لتقوم بأيضها ومن المحتمل أيضا أن تقوم بإنتاج إنزيم الليبيز ليحلل دهون اللحم ويستخدم بعضاً من الأحماض الدهنية.

الأغذية مثل الحليب والذي يحتوي على كميات كبيرة من الكربوهيدرات (اللاكتوز) والبروتينات فإن الأحياء الدقيقة التي تستطيع استخدام اللاكتوز سوف تفضل استهلاك اللاكتوز منتجة حمض أو حمض وغاز مثل بكتيريا *L. lactis* التي تنتج حمض اللاكتيك فقط وأنواع *Leuconostoc* التي سوف تنتج حمضاً وغاز ولكن الكائن الدقيق غير القادر على الاستفادة من اللاكتوز سوف يستخدم المركبات النيتروجينية غير البروتينية والبروتينية للنمو (أنواع *Pseudomonas*) ولذلك نمط إحداث الفساد لهذه البكتيريا سوف يكون مختلف بشدة.

في حالة وجود أعداد متنوعة من الأحياء الدقيقة mixed microbial population، فإن وفرة وكمية الكربوهيدرات القابلة للأيض تؤثر بشكل كبير على نمط الفساد، اللحوم الطازجة وبسبب انخفاض مستوى الجلوكوز فيها معرضة للفساد من خلال التحليل الميكروبي للمركبات النيتروجينية غير البروتينية والمركبات البروتينية. وبالرغم من ذلك لو أضيفت

الكربوهيدرات القابلة للأيض (مثل: الجلوكوز، أو السكروز، أو اللاكتوز) إلى اللحوم فإن أيض الكربوهيدرات سيكون هو السائد. ولو كانت بكتيريا حمض اللاكتيك متواجدة بشكل طبيعي وكانت الظروف البيئية مناسبة فإنها سوف تنتج حمضاً كافيا لتوقف نمو العديد من الميكروبات الموجودة بشكل طبيعي والتي تفضل أيض المركبات النيتروجينية غير البروتينية والمركبات البروتينية (مثل: البكتيريا سالبة الجرام المحبة للبرودة)، هذا عادةً ما يعرف بالتأثير الموفر للبروتين protein-sparing effect (البروتين لا يتم أيضه).

الجدول (1.8): نواتج الأيض النهائية للمغذيات الناتجة بفعل الميكروبات في الأغذية

نوع المغذيات	النواتج النهائية
الكربوهيدرات	CO_2، H_2، H_2O_2، اللاكتيت، الأسيتيت، الفورميت، السكسينيت، البيوريت، الأيسوبيوريت، الأيسوفاليريت، الأيثانول، البروبانول، البيوتانول، الأيسوبيوتانول، ثنائي الأسيتايل، الأسيتوين، البيوتانيديول، ديكستران، ليفانات levans.
المركبات البروتينية والنيتروجينية غير البروتينية	CO_2، H_2 ,الأمونيا، كبريتيد الهيدروجين H_2S , الأمينات، الأحماض الكيتونية، الميركبتان mercaptans ، المركبات العضوية ثنائية الكبريتات organic disulfides، بيوتريسين putrescine، كادافيرين cadaverine، سكاتول skatole
الدهون	الأحماض الدهنية، جليسرول، البيروكسيد المائي، مركبات الكربونيل (الألدهيدات، الكيتونات)، القواعد النيتروجينية

المصدر: RAY, 2004

4.6.8 تعاقب النمو الميكروبي Microbial Growth in Succession

إن العوامل الداخلية والخارجية أو البيئة الغذائية هي التي تحدد أي الأنواع الميكروبية الموجودة طبيعياً سوف تتكاثر بسرعة لتصبح السائدة في الغذاء وتتسبب بالتالي في حدوث الفساد، عندما تنمو الأنواع السائدة فإنها تنتج مواداً أيضية تغير من بيئة الغذاء، في بيئة

الغذاء التي تغيرت فإن بعض الأنواع الميكروبية الأخرى الموجودة مسبقاً ولم تكن لها القدرة على التنافس ربما تصبح في وضع أفضل لتنمو بسرعة وتتسبب بذلك مرة أخرى في تغير أكثر في البيئة الغذائية لتمكن نوعاً ثالثا من الميكروبات من النمو السريع. ولو أعطيت وقت كافٍ فإن الأنواع الميكروبية السائدة وطبيعة فساد الغذاء يمكن أن تتغير. النمو المتعاقب لـ .*Lactococcus* spp و.*Bacillus* spp الحمضية وغير المخمرة السالبة للاكتوز والعصويات السالبة لجرام (مثل: .*Pseudomonas* spp) في عينة الحليب يمكن استعمالها هنا كمثال فرضي:

بدايةً النمو السريع لـ .*Lactococcus* spp (التي لها القدرة على أيض سكر اللبن "اللاكتوز") تحت ظروف النمو المناسبة لها سوف يؤدي لانخفاض الأس الهيدروجيني من مستواه الأصلي عند 6.5 إلى 5.0 ومقللاً على إثر ذلك معدل نمو العديد من أنواع الميكروبات الأخرى الموجودة، بينما يهبط مستوى الأس الهيدروجيني لأقل من 5.0 فإن زمن التوالد لدى .*Lactococcus* spp سيصبح أطول، وبسبب الطبيعة الحمضية لـ .*Bacillus* spp بالتالي تبدأ في التكاثر وتستهلك البروتين وتزيد من مستوى الأس الهيدروجيني (لنقل 5.8)، عند ارتفاع الأس الهيدروجيني تتمكن الـ.*Pseudomonas* spp الموجودة مسبقاً من النمو باستهلاك المركبات البروتينية الغير نيتروجينية والمركبات البروتينية وتزيد أكثر من مستوى الأس الهيدروجيني وذلك بإنتاج نواتج أيضية قاعدية (الأمينات والأمونيا)، بهذه الطريقة الأحياء الدقيقة المفسدة للأغذية السائدة والمواد الأيضية المرتبطة بفساد (مثل: طبيعة الفساد) الأغذية يمكن أن تتغير اذا خُزن هذا الغذاء لفترة طويلةٍ .(BANWART, 1998; ADAMS & MOSS. 2008; RAY, 2004)

الفصل التاسع

الفساد الميكروبي للحوم ومنتجاتها

يتعرض اللحم الطازج إلى نوعين من الفساد وهما الفساد الحيوي والفساد غير الحيوي حيث يمكن أن يفسد عن طريق فعل الإنزيمات والأحياء الدقيقة الملوثة له، أما الدهن المتواجد على اللحم فهو معرض للفساد الغير حيوي مثل التزنخ والأكسدة، التغيرات التي تحدث نتيجة فعل الإنزيمات يطلق عليها تحلل ذاتي Autolysis وتؤدي إلى تليين اللحم مما يساعد على نمو الأحياء الدقيقة نتيجة تكون مركبات نيتروجينية بسيطة لازمة لنموها لأن أغلبها لا يستطيع استخدام أو تحليل البروتين، كما أن اللحوم بشكل عام تعتبر بيئة مناسبة لنمو كثير من الميكروبات لما تحتويه من مغذيات ورطوبة وأس هيدروجيني مناسب لنمو أغلب الميكروبات.

1.9 اللحوم الطازجة

بعد الذبح والسلخ تحتوي ذبائح الحيوانات Carcasses (السقيطة) والطيور على أنواع عديدة من الأحياء الدقيقة وهي في الغالب بكتيريا مصادرها الجلد والشعر والريش والقناة الهضمية وما إلى ذلك. قد تلوث الذبائح من ميكروبات آتية من الماء والتربة والسماد في حقول التسمين والمراعي والعاملين والمعدات والهواء في مرافق الذبح بأعداد إضافية من الأحياء الدقيقة، تحتوي الذبائح طبيعياً في المتوسط على 10^{3-1} خلية بكتيرية لكل بوصة مربعة.

اللحوم الطازجة من الحيوانات والطيور تحتوي على أعداد كبيرة من بكتيريا الفساد والتي تشمل: أنواع من *Pseudomonas* و *Acinetobacter* و *Moraxella*

و *Shewanella* و *Aeromonas* و *Escherichia* و *Serratia* و *Hafnia* و *Proteus* و *Brochothrix* و *Micrococcus* و *Enterococcus* و *Lactobacillus* و *Leuconostoc* و *Carnobacterium* و *Clostridium* وكذلك الخمائر والفطريات.

إن الأحياء الدقيقة المتواجدة طبيعياً والسائدة في اللحوم تُحدد من خلال توافر المغذيات ووفرة الأكسجين ودرجة حرارة التخزين والأس الهيدروجيني وفترة تخزين المنتج والزمن الجيلي للأحياء الدقيقة الموجودة في اللحوم.

اللحوم المذبوحة حديثاً تكون غنية بالمركبات النيتروجينية الغير بروتينية (حوالي 13 مجم/جم؛ أحماض أمينية وكرياتينين) والببتيدات والبروتينات ولكنها تحتوي على تراكيز منخفضة من الكربوهيدرات (حوالي 1.3 مجم/جم جلايكوجين وجلوكوز وجلوكوز – 6 – فوسفات) مع أس هيدروجيني يصل إلى 5.5 ونشاط مائي أكثر من 0.97.

مسببات الأمراض المعوية المختلفة *Salmonella servars* و*Yersinia enterocolitica* و*Campylopacter jejuni* و*Escherichia coli* و*Clostidium perfringens* و*Staphylococcus aureus* سواءً من الحيوانات أو الطيور والعاملين يمكن أن تكون متواجدة ولكن عادة عند مستوى منخفض، عموماً ذبائح الطيور بالمقارنة مع الحيوانات الأخرى لديها أعلى معدل للتلوث بالسالمونيلا *Salmonella* الآتية من البراز، بعد إزالة العظم اللحوم المبردة والمفرومة تحتوي على أحياء دقيقة مصدرها الذبائح وكذلك من المعدات المختلفة المستخدمة أثناء التصنيع ومن العاملين ومن الهواء والماء، وبعض

المعدات المستخدمة يمكن أن تكون مصدراً هاماً للأحياء الدقيقة مثل والمفارم وماكينات التقطيع.

اللحوم المبردة تحتوي على البكتيريا المحبة لدرجة الحرارة المعتدلة (mesophiles) مثل: *Mcrcoccus* و*Enterococcus* و*Staphylococcus* و*Bacillus* و*Clostridium* و*Lactobacillus* و*Coliforms* وغيرها من أجناس عائلة *Enterobacteriaceae* بما في ذلك الأحياء الدقيقة المعوية الممرضة. ومع ذلك ولأن اللحوم تُخزن في درجة حرارة منخفضة (-1 إلى 5° م) فإن البكتيريا المحبة للبرودة psychrotrophs هي المسؤولة على الفساد في هذه المنتجات.

1.1.9 العوامل المؤثرة على فساد اللحوم

أ. الحالة الفسيولوجية للحيوان قبل الذبح

يجب عدم ذبح الحيوان وهو مُجهد لأن ذلك يؤدي إلى استهلاك كمية كبيرة من الجليكوجين Glycogen المتواجد بالعضلات والذي يعتبر هاماً حيث يتحول بعد الذبح ونتيجة للعمليات الحيوية إلى حامض لاكتيك Lactic acid والذى بدوره يخفض الأس الهيدروجيني من 7.2 إلى 5.7 وبالتالي يساعد على حفظ اللحوم حيث تعيق هذه الحموضة نمو بعض الأحياء الدقيقة في اللحم، كما أن الحيوان المجهد لا ينزف كل دمه أثناء الذبح وبقاء كمية من الدم في اللحم تساهم في نشر البكتيريا، كما يؤدي هياج الحيوان إلى زيادة

التنفس الذي يؤدي إلى المساعدة على فصل السوائل الموجودة بين الخلايا والتي تعتبر بيئة صالحة لنمو الأحياء الدقيقة، بالإضافة إلى أن هيجان الحيوان يرفع من درجة حرارة اللحم ويُحدث تغيرات كيميائية تساعد على نمو الأحياء الدقيقة المفسدة في اللحوم.

ب. طريقة ذبح الحيوان

إتباع طريقة ذبح جيدة وسريعة تؤدي إلى نزف الدم من جسم الحيوان بشكل كامل لأنه كلما كانت كمية الدم قليلة في جسم الحيوان المذبوح كلما طالت مدة تخزينه وقل تعرضه للفساد.

ج. تبريد اللحم

سرعة التبريد بعد الذبح مباشرة تقلل فرص الفساد حيث يُنصح بتبريد اللحم إلى درجة الصفر المئوي أو اقل (0 إلى –1 م°) خلال مدة لا تتجاوز 24 ساعة بعد الذبح.

د. كمية الأحياء الدقيقة في أحشاء الحيوان

كلما زادت أعداد الأحياء الدقيقة في أحشاء الحيوان زاد احتمال فساد اللحم، ومن المعروف أن عضلات الحيوان السليم تكون معقمة وقد تصل الميكروبات لعضلات الحيوان أثناء الذبح وفصل الأحشاء ولذلك يفضل عدم إعطاء أكل للحيوان لمدة أربع وعشرين ساعة قبل ذبحه لخفض عدد الأحياء الدقيقة في أحشاء الحيوان مما يقلل من تلوث اللحم من الأحشاء.

هـ. نوع وعدد الأحياء الدقيقة الملوثة للحوم

اللحوم التي تحتوي على أعداد ابتدائية كبيرة من البكتيريا المحبة للبرودة Psychrophiles مثل بكتيريا *Pseudomonas* وبكتيريا *Achromobacter* تكون عرضة للفساد أسرع عند حفظها في المبردات من اللحوم الغير ملوثة بهذه الميكروبات.

و. الصفات الطبيعية للحم

إن صفات اللحم الكيميائية والفيزيائية تؤثر على نمو الأحياء الدقيقة فيه فكلما زادت المساحة السطحية للحم كلما زادت فرص تلوثه، وجود طبقة دهنية سميكة على سطح اللحم تحد من نمو الميكروبات لأنها تحمي اللحم من هجوم الأحياء الدقيقة، كما أن درجة حرارة اللحم ورطوبته ودرجة الحموضة فيه وتركيبه الكيميائي كلها عوامل تؤثر على نمو الميكروبات في اللحوم، مثلاً احتواء اللحوم على كمية كبيرة من البروتين تجعله عرضة لمهاجمة الميكروبات المحللة للبروتين في حين لا تتعرض اللحوم لمهاجمة الميكروبات المخمرة للسكريات نظراً لاحتوائها على نسبة بسيطة من الكربوهيدرات، الرطوبة من أهم العوامل المؤثرة في فساد اللحوم والجفاف السطحي على اللحوم يقلل من نمو الميكروبات ولذلك يجب تجفيف سطح اللحوم أثناء تخزينها.

2.1.9 فساد اللحوم الطازجة

يمكن تقسيم فساد اللحوم حسب ما إذا كان الفساد تحت ظروف هوائية أو غير هوائية.

1.2.1.9 فساد اللحوم تحت الظروف الهوائية

تحت ظروف التخزين الهوائية عند درجة حرارة منخفضة نمو البكتيريا الهوائية واللاهوائية الاختيارية المقاومة للبرودة psychrotolerant يكون هو السائد.

أولاً: اللحوم المقطعة

في اللحوم المقطعة تنمو بسرعة بكتيريا .*Psedomonas* spp بسبب قصر الزمن الجيلي لها مستخدمةً الجلوكوز كبداية ومن ثَمَّ الأحماض الأمينية ويكون أيض الأحماض الأمينية مصحوباً بإنتاج كبريتيد الميثايل methyl sulfides ذي الرائحة السيئة والإستيرات esters والأحماض.

أما في اللحوم المرتفعة الأس الهيدروجيني أو منخفضة المحتوى من الجلوكوز أو الإثنين معاً فإن بكتيريا *Acinetobacter* و*Morexella* والتي تفضل أيض الأحماض الأمينية بدلاً من الجلوكوز يمكن أن تنمو بسرعة منتجة روائح غير مرغوبة، إن الفساد بواسطة هذه البكتيريا الهوائية الإجبارية والتي على هيئة رائحة كريهة off-odor يمكن ملاحظته عندما يصل العدد الكلي إلى حوالي 10^{7-8} خلية/سم^2 في اللحوم وتكوين مادة لزجة عندما يصل العدد إلى 10^{8-9} خلية/سم^2.

إن اللون الأحمر المؤكسد للميوغلوبين يخضع لعملية الأكسدة لينتج ميتمايوغلوبين ذو اللون الرمادي أو البني. اللحوم القاتمة والمتماسكة والجافة تتلف بسرعة أكبر نظراً لقدرة

البكتيريا على الاستفادة من الأحماض الأمينية مباشرة بسبب غياب الكربوهيدرات. ومن أهم مظاهر الفساد تحت الظروف الهوائية ما يلي:

أ. تكوين طبقة سطحية لزجة Surface slime

ويحدث هذا الفساد نتيجة لنمو أجناس كثيرة من البكتيريا على سطح اللحوم والتي تفرز مواد لزجة مخاطية على سطح اللحم، وتتكون هذه الطبقة عادةً عندما تصل أعداد البكتيريا إلى 10^{8-9} خلية/سم^2 من سطح اللحم، وأهم البكتيريا التي تسبب هذه اللزوجة هي التابعة للأجناس *Pseudomonas* و *Achromobacter* و *Streptococcus* و *Leuconostoc* و *Lactobacillus* و *Bacillus* و *Micrococcus*.

ب. تبقع اللحوم Surface colours

قد تحدث تغيرات لونية على سطح اللحوم وتتكون بقع ذات ألوان مختلفة فالبقع الحمراء تحدث نتيجة نمو *Pseudomonas* و *Syncyanea* و *Serratia*, و *Marcescens* واللون الأصفر يحدث نتيجة نمو بكتيريا *Flavobacterium*, و *Micrococcus* واللون الأخضر المشوب بالزرقة يرجع إلى نمو *Chromobacterium lividum* كما أن تزنخ الدهن وتكون البيروكسيدات يؤدي إلى تلون الدهن باللون الأصفر ثم الأخضر والبنفسجي.

ج. أكسدة الدهن Oxidation of Fat

في الظروف الهوائية قد تحدث أكسدة للدهون غير المشبعة المتواجدة في اللحم وهناك أنواع كثيرة من البكتيريا مثل أجناس *Pseudomonas* و *Achromobacter* تسبب تزنخ Rancidity الدهن حيث تملك إنزيمات الليبيز lipase التي تحلل دهن اللحم إلى أحماض دهنية وجليسرول وينتج عن هذا التحلل تكون أحماض وألديهيدات وكيتونات ذات روائح كريهة.

د. ظهور روائح كريهة وطعوم رديئة off-odor and taste

قد تظهر روائح وطعوم غير مرغوبة نتيجة لنمو البكتيريا على سطح اللحم وإنتاجها أحماض عضوية وغازات تؤدي لتكون روائح وطعوم كريه في اللحم ويطلق على هذا اللحم "اللحم الحامضي" وذلك لتكون الأحماض الطيارة مثل البيوتريك والفيوماريك والخليك والبربيونيك ويمكن أن تسبب بعض الخمائر هذا النوع من الفساد. كما أن بكتيريا الـ *Actinomycetes* مسؤولة عن إعطاء اللحم طعم التربة.

وتحت الظروف الهوائية يمكن أن تسبب الخمائر فساد اللحوم مثل اللزوجة وتحلل الدهن كما قد تسبب ظهور روائح وطعوم غير مقبولة، وكذلك قد تغير الخمائر لون اللحم إلى اللون الأحمر أو البني وذلك يرجع إلى الصبغات المصاحبة لنمو الخميرة، أما الفطريات فإنها قد تسبب بعض مظاهر الفساد في اللحم تتلخص في الجدول رقم (1.9).

جدول (1.9) أجناس الفطريات المفسدة للحوم الحمراء

الفساد	نوع الأعفان **Molds**
تكون اللزوجة على سطح اللحم Stickiness	أغلب أنواع الفطريات
هدم الدهونDecomposition	أغلب أنواع الفطريات
ظهور الروائح والنكهة غير المرغوبة	*Thamnidium taint*
ظهور بقع سوداء black spots	*Cladosporium herbarum*
ظهور بقع بيضاء white spots	فطر *Sporotrichum carnis*
البقع الخضراء green patches	*Penicillium* spp
النمو الوبري أو الزغبي على اللحوم المبردة Whiskers	أجناس *Thamnidium, Mucor, Rhizopus*

ثانياً: فساد اللحوم المفرومة

يمكن أن يحتوي اللحم المفروم على 10^{5-4} خلية/جرام من الأحياء الدقيقة كما يمكن أن تتواجد بكتيريا السالمونيلا *Salmonella* بمقدار 1 خلية/25 جرام، تكرار تواجد السالمونيلا في لحوم الدجاج هو أعلي منه في اللحوم الحمراء. إذا حفظت المنتجات تحت ظروف هوائية فإن البكتيريا الهوائية والمحبة للبرودة تنمو بسرعة خصوصا العصيات السالبة لصبغة جرام مثل *Pseudomonas* و *Proteus* و *Alteromonas* و *Alcaligenes* وكذلك الخمائر، وعادةً اللحوم المفرومة أكثر أنواع اللحم عرضة للفساد السريع وتحتوي على أعداد من البكتيريا أعلى مما هو في القطع الكبيرة ويرجع ذلك للأسباب التالية:

أ. اللحم المفروم ذو مساحة سطحية أكبر من قطعة اللحم الكاملة كما يوجد في اللحم المفروم مسامات هوائية كثيرة توفر الأكسجين لنمو الميكروبات الهوائية.

ب. إن استخدام المفرمة أو سكاكين التقطيع قد تضيف أعداداً من البكتيريا إلى اللحم. كما

أن عملية الفرم تعمل على نشر الأحياء الدقيقة إلى جميع أجزاء اللحم.

ج. قد تجهز اللحوم المفرومة من بقايا اللحوم وكما قد تضاف لها أحياناً أجزاء من الأمعاء وبعض أعضاء الحيوانات كالكبد والرئة والطحال وهي تحتوي في العادة على أعداد كبيرة من الميكروبات كما أن الأس الهيدروجيني (pH) لها أعلى من بقية اللحم مما يساعد على سرعة نمو ونشاط الأحياء الدقيقة.

د. الفرم يسمح بانتشار وتماس الميكروبات بعصارة اللحم مما يهيئ مناخ أفضل لنمو الميكروبات، في اللحم المفروم وتحت الظروف الهوائية تنمو البكتيريا الهوائية (خاصة أنواع *Pseudomonas*) وتؤدي إلى تغيرات في الرائحة والقوام واللون وتكون قوام لزج.

2.2.1.9 فساد اللحوم تحت الظروف اللاهوائية Anaerobic meat spoilage

يمكن أن تحفظ اللحوم تحت ظروف لاهوائية وفي جو معدل مع التبريد لإطالة مدة صلاحيتها:

أ. اللحوم المبردة المعبئة بالتفريغ vacuum-packaged meat

تحت الظروف اللاهوائية الأس الهيدروجيني للحوم (والذي هو منخفض في لحوم البقر: 5.6 ولكن مرتفع في الطيور 6.0) والنسبة العالية من البروتين وانخفاض مستوى الكربوهيدرات جنباً إلى جنب مع الظروف البيئة تحدد أي نوع من الأنواع سيسود أثناء التخزين.

الميكروبات الهوائية واللاهوائية الاختيارية المحبة للبرودة يمكنها النمو في اللحوم المعبئة بالتفريغ لتنتج أنواعاً مختلفة من الفساد، تعمل كل من *Lactobacillus curvatus* و *Lb. sake* على أيض الجلوكوز لتنتج حمض اللاكتيك lactic acid والأحماض الأمينية الليوسين والفالين إلى أحماض الأيزوفاليريك والأيزوبيوتريك، هذه الأحماض الدهنية المتطايرة تمنح رائحة تشبه الجبن للحوم المحتوية على أعداد ميكروبية تصل إلى أكثر من 10^{7-8} خلية/سم^2 وبعد فتح العبوة فإن الرائحة تختفي، وعندما تقوم هذه البكتيريا بأيض السيستيين cysteine وتنتج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S يصبح المنتج ذو رائحة ولون غير مرغوب فيهما. من جهة أخرى تنتج *Leuconostoc carnosum* و *L. gelidum* المختلطة التخمر غاز ثاني أكسيد الكربون وحمض اللاكتيك متسببة في تراكم غاز وسائل في العبوة.

Shewanella putrefacience والتي يمكنها النمو تحت كلا من الظروف الهوائية واللاهوائية تحول الأحماض الأمينية (خاصة السيستيين) إلى كبريتيد الميثايل methylsulfides وغاز كبريتيد الهيدروجين بكميات كبيرة متزامناً مع الروائح الكريهة وتؤثر سلباً على اللون الطبيعي للحوم، كبريتيد الهيدروجين يؤكسد الميوغلوبين ليكون ميتميوغلوبين متسببا في اخضرار اللحم.

إن أنواع البكتيريا اللاهوائية الاختيارية *Enterobacter* و *Serratia* و *Proteus* و *Hafnia* تعمل على أيض الأحماض الأمينية بينما تنمو في اللحم لتنتج الأمينات والأمونيا وكبرتيد الميثايل وميركابتان mercaptans وتسبب التعفن، بعض السلالات تنتج غاز كبريتيد

الهيدروجين بكميات قليلة وتسبب اخضرار اللحم، ونتيجة لإنتاج الأمينات والأمونيا يتغير الأس الهيدروجيني للحم عادةً إلى المدى القلوي ويتغير لون اللحم من الوردي إلى الأحمر.

أنواع بكتيريا الـ *Clostridium* المحبة للبرودة مثل: *Clostridium laramie* وجد أنها تسبب فساد مرتبط بتحلل البروتين وفقدان قوام اللحم وتراكم السوائل داخل العبوة وتكون رائحة كريهة مع انتشار لرائحة غاز كبريتيد الهيدروجين. لون اللحم يصبح في البداية أحمر بشكل غير طبيعي ومن ثم يتغير للون الأخضر (نتيجة لتأكسد الميوغلوبيين بواسطة غاز كبريتيد الهيدروجين).

بعض أنواع *Clostridium* ومن المحتمل أيضا *Enterococcus* يمكن أن تسبب فساد شرائح لحم البقر عميقاً بالقرب من العظم ويشار إليها بالعظم العفن أو العظم الفاسد.

ب. اللحوم المبردة والمحفوظة في جو معدل

Refrigerated modified atmosphere

اللحوم المبردة في جو معدل باستخدام خليط من ثاني أكسيد الكربون والأكسجين تشجع نمو البكتيريا اللاهوائية الاختيارية *Bronchothrix thermophacta* خاصة مع أس هيدروجيني 6.0 أو أعلى، تعمل هذه البكتيريا على تحويل الجلوكوز إلى حمض الخليك والأسيتوين كما تحول الليوسين leucine والفالين valine إلى أحماض الأيزوفاليريك

isovaleric والأيزوبيوتريك isobutyric منتجة رائحة كريهة (رائحة تشبه الجبن)، كما يمكنها تحت الظروف اللاهوائية تخمير الجلوكوز لتنتج كميات قليلة من حمض الاكتيك والذي لا يعتبر سبباً للفساد.

2.9 منتجات اللحوم المصنعة

منتجات اللحوم الحمراء المصنعة المعرضة لمعاملة حرارية منخفضة تشمل المنتجات المعالجة وغير المعالجة القابلة للتلف التي تعرضت لمعاملة حرارية 160 ف° (70م°) والمعبأة تحت ظروف هوائية أو لاهوائية والمخزنة على درجة حرارة التبريد وتشمل منتجات مثل فرانكس وبولونيا ولانشات وهذه المنتجات خاصة تلك المعبأة لاهوائيا والمعالجة متوقع أن تكون فترة التخزين لها طويلة (50 يوم أو أكثر). المعاملة الحرارية وخصوصا عند وصول درجة الحرارة الداخلية إلى 160 ف° (70م°) أو أعلى تقتل أكثر الأحياء الدقيقة باستثناء بعض الأحياء المحبة لدرجة الحرارة العالية والتي تشمل *Micrococcus* وبعض *Enterococcus* وبعض *Lactobacillus* وجراثيم الـ *Bacillus* و*Clostridium*.

الأعداد الميكروبية يمكن أن تتراوح من 10 إلى 100 / جرام غير إنه عند التخزين تحت تبريد يمكن أن تنمو الأنواع المحبة للبرودة psychrophilic الهوائية الاختيارية واللاهوائية الإجبارية (*Lactobacillus* و*Leuconostoc* بعض الـ Coliforms و *Serratia* و *Listeria* وأنواع الـ *Clostridium*).

أثناء التخزين لمدة طويلة تحت تفريغ vacuum أو التعبأة في جو معدل modified-air packages, إذا تواجدت أعداد أولية منخفضة فإن البكتيريا يمكن أن تنمو وترتفع أعدادها وتؤثر سلباً على سلامة وصلاحية المنتجات.

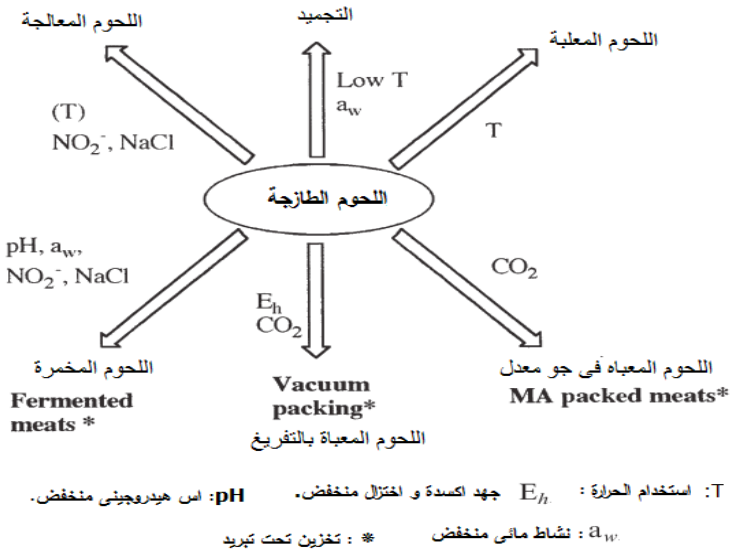
بالنسبة للحوم المصنعة كالمقانق Sausage والبسطرمة والهامبورجر يكون محتواها من الأحياء الدقيقة عالي جداً ذلك لاحتكاكها بأيدي وملابس العمال أثناء التصنيع وكثرة لمسها باليد واستعمال أدوات كثيرة وإضافة مواد ثانوية لها مما يزيد من حملها الميكروبي.

3.9 التحكم في فساد اللحوم

لتقليل فساد اللحوم الطازجة يجب خفض مستوى أعداد الميكروبات الأولية. بالإضافة إلى سرعة التخزين عند درجة الحرارة المنخفضة (بالقرب من 0 إلى −1م°)، كما يمكن تعبئة اللحوم في جو معدل أو التعبئة تحت تفريغ لزيادة مدة حفظها.

العديد من الطرق الأخرى لتقليل الحمل الميكروبي أو تقليل معدل نمو البكتيريا العصوية السالبة لجرام يمكن أن تُطبق وهذه تشمل إضافة كميات صغيرة من الأحماض العضوية لتقلل الأس الهيدروجيني للحم وتجفيف أسطح اللحوم (لتقلل النشاط المائي) ويمكن تجميع للعوامل السابقة مع استخدام درجة حرارة منخفضة، شكل (1.9) يوضح المعاملات التي تجرى على اللحوم الطازجة لحفظها من فعل الأحياء الدقيقة، ووضعت كثير من الدول مواصفات بكتريولوجية قياسية للحوم ففي الولايات المتحدة الأمريكية تنص هذه المواصفات

على أنه يجب أن لا يزيد العدد الكلي للميكروبات في الجرام الواحد من اللحم عن 1 إلى 5 مليون وأن لا يزيد عدد بكتيريا *E. coli* عن 10 إلى 50 خلية في الجرام الواحد (FRAZIER, 1968; RAY, 2004, ADAMS & MOSS, 2008).



شكل (1.9): المعاملات التي تجري على اللحم الطازج لحفظه من فعل الأحياء الدقيقة

المصدر: **ADAM & MOSS, 2008**

الفصل العاشر

الأحياء الدقيقة في لحوم الدواجن والبيض

Microbiology of poultry and eggs

تزايد استخدام لحوم الدواجن في غذاء الإنسان حيث يعتبر لحم الدجاج مصدر جيد للبروتين وللفيتامينات والمعادن، نمو على هذه الأنواع من اللحوم البكتيريا المحللة للبروتينات حيث تأخذ احتياجاتها من النيتروجين والكربون من البروتينات حيث أن لحم الدجاج لا يحتوي على كربوهيدرات.

1.10 الأحياء الدقيقة في لحم الدواجن

غالباً الأحياء الدقيقة المتواجدة في لحوم الدواجن ومصادر التلوث لا تختلف عنها في اللحوم الأخرى، لحوم الدواجن يمكن أن تتلوث بمختلف أنواع الميكروبات من محتويات أمعاء الحيوان والمياه والعلف والغبار والتربة والتي تنتقل إليها أثناء عمليات الذبح ونزع الريش والتداول ومن العاملين، استخدام الماء الحار لإزالة الريش ثم الغسل يزيل أعداد كبيرة من الميكروبات من على جلد الدواجن، ولكن البكتيريا المتبقية كافية لإحداث تلف لحوم الدواجن خاصة إذا كان التلوث كبير، ولقد وجد أن العدد الكلي للبكتيريا على جلد الدواجن تحت الظروف الصحية الجيدة يتراوح ما بين 100 إلى 1000/ سم^2 بينما يصل العدد إلى 10^6/ سم^2 أو اكثر تحت الظروف الصحية السيئة، البكتيريا التي تنتشر في لحوم الدواجن هي التابعة للأجناس التالية:

Pseudomonas و *Flavobacterium* و *Achromobacter* و *Micrococcus* و *Alcaligenes* و Coliforms ، كما تتواجد بعض أنواع الخمائر التابعة للأجناس: *Torulopsis* و *Candida* و *Rhodotorula* وتفسد لحوم الدواجن المبردة عند درجة حرارة

أقل من 10 مْ نتيجة نمو ونشاط بكتيريا *Pseudomonas* و *chromobacter* وخمائر *Candida* و *Rhodotorula* تفسد لحوم الدواجن بفعل المكورات *Micrococcus* وبدرجة أقل بواسطة *Achromobacter* و *lavobacterium* عند تخزينها على أعلى من 10 مْ.

قد تتكون طبقة لزجة على سطح لحم الدواجن بسبب بكتيريا *Alcaligenes* أو ظهور صبغة مضيئة تسمى *Pyoverdin* نتيجة نمو *Pseudomonas fluorescens* ، وتظهر روائح كريهة إذا وصل العدد البكتيري الكلي إلى أكثر من 2×10^6/ سم^2، تستعمل المضادات الحيوية لحفظ لحوم الدواجن لكن هناك سلالات من البكتيريا والخمائر تقاوم المضادات المستخدمة وتتمكن من إفساد لحوم الدواجن.

2.10 الفساد الميكروبي للبيض ومنتجاته Eggs and eggs products

الميكروبات المتواجدة على البيض تكون عادةً من الأنواع المحبة للبرودة Psychrophiles ذلك لأن البيض يخزن مبرداً بعد وضعه مباشرة. ومن أجناس البكتيريا المهمة التي تنتشر على قشرة البيض هي: *Pseudomonas* و *Flavobacterium* و *Achromobacter* و *Micrococcus* و *Alcaligenes* و *Streptococcus* و *proteus* و *Micrococcus* و *Bacillus* كذلك تتواجد على البيض بكتيريا القولون والأعفان كما أن ماء الغسيل القذر يضيف أنواعاً أخرى من البكتيريا إلى البيض.

وتعزل بكتيريا السالمونيلا *Samonella* بكثرة من البيض الطازج والمجفف والمجمد ويعتبر تلوث البيض بهذه البكتيريا من المشاكل الكبيرة التي تواجه المنتجين ومسؤولي الرقابة

الصحية لما فيه من خطر على صحة المستهلكين.

1.2.10 قشرة البيض

تعتبر قشرة البيض الخارجية مانعاً لنفاذ كثير من الميكروبات، وتفرز الدجاجة مادة الكيوتكيل وهي عبارة عن مادة بروتينية تتواجد على سطح القشرة لسد المسام ومنع نفاذ الميكروبات إلى داخل البيضة، وهذه المادة قابلة للذوبان بالرطوبة وتزول بالتشقق، وتزداد المسام المتواجدة على القشرة اتساعاً خلال فترة التخزين وتصبح المسام الموجودة في قشرة البيض والغشاء الداخلي للبيض منفذة للبكتيريا والفطريات، كما أن وجود الرطوبة أيضا يحفز دخول البكتيريا.

عند وضع البيض من قبل الطيور تكون المحتويات الداخلية للبيض خالية من الميكروبات ولكن ما يلبث هذا البيض أن يتلوث من عدة مصادر مثل براز الطير المتواجد على البيض ومن العش ومياه الغسيل والأرضية ومن أيدي العاملين ومن الصناديق التي يعبأ فيها، اعتماداً على مستوى التلوث يمكن أن تحتوي قشرة البيض على 10^7 بكتيريا.

ويمكن لقشرة البيض أن تأوي أنواع مختلفة من البكتيريا وهي *Pseudomonas* و *Alcaligenes* و *Proteus* و *Citrobacter* و *E. coli* و *Enterobacter* و *Enterococcus* و *Micrococcus* و *Bacillus*. وتتمكن الأعفان والبكتيريا التي تأتي من هذه المصادر من النمو على القشرة في حالة توفر الرطوبة الكافية ثم تنفذ خلال ثقوب القشرة إلى البياض والصفار وتنمو فيها وذلك لوفرة الماء فيهما والمادة البروتينية والمواد الأخرى

المشجعة على النمو بالرغم من قلة الكربوهيدرات، الألبومين (بياض البيض) وصفار البيض تحتوي على ما بين 0.5 إلى 1.0% من الكربوهيدرات ويعتبر عالي المحتوى من البروتين ولكنه منخفض في كمية النيتروجين غير البروتيني، وخلال عملية التخزين يميل الأس الهيدروجيني إلى القلوية (الأس الهيدروجين من 9 إلى 10).

2.2.10 المثبطات الطبيعية للنمو الميكروبي في البيض

يحتوي زلال البيض على مثبطات طبيعية للنمو الميكروبي وهي:

أ. الإنزيمات المحللة مثل إنزيم لايسوزيم lysozyme والذى يسبب تحللاً في الببتيدات المخاطية mucopeptide للجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام.

ب. البيومين كونالبومين conalbumin يمنع الأحياء الدقيقة خاصة بكتيريا *Pseudomonas* من الحصول على الحديد اللازم لنموها كما يرتبط أيضا مع النحاس والزنك.

جـ. ترتبط البروتينات المضادة للفيتامينات antivitamin proteins آفدين Avidin مع بيوتين Biotin (الرايبوفلافين B_2) ليجعله غير متاح للأحياء الدقيقة التي تحتاج هذا الفيتامين كما يتحد الريبوفلافين مع الأيونات الموجبة مما يمنع نمو بعض الأحياء الدقيقة.

إن أكثر أنواع الفساد الذي يلحق بقشرة البيض هو ذلك الذي تسببه العصويات المتحركة السالبة لجرام المنضوية تحت العديد من الأجناس والتي تشمل:
Pseudomonas و *Proteus* و *Alcaligenes* ومجموعة القولون Coliform.

3.2.10 فساد البيض "بالأعفان

- العفن الأخضر والتي يتسبب في اخضرار الألبومين نتيجة نمو بكتيريا *Pseudomonas fluorescens*.

- العفن الأسود والذي يتسبب في انعدام لون صفار البيض ويعطيه مظهراً موحلاً وذلك نتيجة إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين بواسطة بكتيريا *Proteus vulgaris*.

ج. العفن الأحمر بواسطة بكتيريا *S. mercescens* والتي تتسبب في إنتاج صبغة حمراء، في بعض الأحيان الفطريات من أجناس *Penicillium* و *Alternaria* و *Mucor* تستطيع النمو داخل البيض.

4.2.10 غسل البيض

لا ينصح بغسل البيض قبل تخزينه وذلك بسبب زيادة تلوث قشرة البيض ونشر الميكروبات عليه بالإضافة إلى أن الغسيل يزيل طبقة الكيوتكل (وهي طبقة بروتينية تفرزها الدجاجة على سطح القشرة لسد الثغرات على القشرة ومنع الميكروبات من النفاذ إلى داخل البيضة) مما يزيد من احتمال الفساد، يمكن غسل البيض غير المكسور باستعمال ماء عند 32,2 - 60 مْ مع منظف مثل مركب الهيبوكلوريت، يساعد الغسل في تقليل المستوى البكتيري إلى حد كبير.

5.2.10 الاستقرار الحراري للبيض

يمكن للبسترة أن تحد من أعداد البكتيريا إلى 10^3 بكتيريا/مل، البكتيريا وخاصة السالبة لصبغة جرام المتحركة يمكن أن تدخل من خلال مسام قشر البيض وخاصة إذا كانت قشرة البيض رطبة، وقد تتعرض البيضة لمعاملة حرارية عند 54.4 مْ (130 فْ) لمدة 15 دقيقة وذلك بهدف:

أ. سلب حيوية البيض الملقح حتى لا يحدث نمو للجنين.

ب. تأخير تغيير سُمك البياض إلى بياض رقيق.

ج. المعاملة الحرارية تقتل العديد من الأحياء الدقيقة المفسدة المتواجدة على قشرة البيضة.

6.2.10 تخزين البيض

يبرد البيض عند -1.1 مْ (-33.98 فْ) ونسبة الرطوبة تكون من 80 إلى 85% فإذا زادت الرطوبة عن هذا الحد تسبب نمو الأعفان وإذا قلت تسبب الجفاف، ويجب تجنب التغيرات في درجة الحرارة لمنع الرطوبة من التكثف على القشرة.

7.2.10 منتجات البيض

البيض السائل المتكون من بياض البيض أو صفاره أو كليهما معاً عادةً ما يتم بسترته أو تجميده أو الاثنين معاً وذلك لمنع نمو الميكروبات، ذا تم حفظ البيض السائل في

درجة حرارة الغرفة بعد تكسير البيض وقبل عملية البسترة فإن البكتيريا المفسدة يمكن أن تنمو وتسبب رائحة ونكهة كريهتين (نتنة) أو حموضة أو نكهة السمك (نتيجة تكوُّن مركب ثلاثي ميثيل الأمين).

البيض المبستر المحفوظ في درجة حرارة التبريد له فترة صلاحية محدودة ما لم تضاف إليه مواد حافظة، البكتيريا السائدة في المنتجات المبسترة تضم بعض البكتيريا الموجبة لجرام والتي تتحمل عملية البسترة ولكن تلف هذا النوع من الأغذية يحدث أساساً بواسطة البكتيريا السالبة لجرام المحبة للبرودة والتي تصل إليه بعد المعاملة الحرارية، البيض المجفف غير معرض للتلف الميكروبي وذلك لانخفاض النشاط المائي (a_W) فيه (FRAZIEK, AYRES et al. 1980).

الفصل الحادي عشر

الفساد الميكروبي للأسماك والقشريات والرخويات

Fish microbiology

تشمل هذه المجموعة الأسماك والقشريات (الجمبري وجراد البحر وسرطان البحر) والرخويات (المحار الصدفي والمحار والإسكالوب) التي تحصد من البيئات المائية (البحرية والمياه العذبة)، الأسماك والمحار يُحصد من المصادر الطبيعية (مثل البحار والأنهار) ومن المزارع المائية.

بصفة عامة هذه المنتجات غنية بالبروتين والمركبات النيتروجينية الغير بروتينية ونسبة الدهون تختلف باختلاف النوع والموسم. وباستثناء الرخويات فهي منخفضة جداً في الكربوهيدرات والرخويات تحتوي على حوالي 3% من الجليكوجين.

الحمل الميكروبي في هذه المنتجات يختلف باختلاف مستوى التلوث ودرجة حرارة الماء مجموعات عديدة من البكتيريا وكذلك الفيروسات والطفيليات والبروتوزوا يمكن أن تتواجد بهذه المنتجات الخام. عضلات الأسماك والمحار معقمة ولكن القشور والخياشيم والأمعاء تأوي أحياء دقيقة الأسماك والقشريات يمكن أن تحمل 10^{3-8} خلية بكتيرية لكل جرام، بعد الاصطياد يمكن للأحياء الدقيقة أن تنمو بسرعة في الأسماك والقشريات بسبب ارتفاع النشاط المائي والأس الهيدروجيني العالي في الأنسجة وتوافر كميات كبيرة من المركبات النيتروجينية الغير بروتينية، وحيث أن العديد من الأنواع البكتيرية هي محبة للبرودة يمكن أن تنمو في درجة حرارة التبريد، كما يمكن للأحياء الدقيقة الممرضة أن تبقى نشطة لفترة طويلة أثناء التخزين.

1.11 الأسماك Fish

السمك الذي تم اصطياده سواءً من المياه العذبة أو المالحة معرض للفساد من خلال نشاط إنزيمات التحلل الذاتي وأكسدة الأحماض الدهنية الغير مشبعة والنمو الميكروبي. وفي

الغالب يكون الفساد بواسطة العوامل الثلاثة مجتمعة.

أنسجة الأسماك تحتوي على مستويات مرتفعة من المركبات النيتروجينية غير البروتينية (أحماض أمينية حرة، وأكسيد ثلاثي ميثايل الأمين والكرياتينين) والببتيدات والبروتينات ولكنها لا تحتوي تقريباً على الكربوهيدرات وعادةً ما يكون الأس الهيدروجيني حوالي 6.0 .

وتفسد الأسماك أسرع من اللحوم الحمراء بسبب تركيز أيون الهيدروجين القريب من التعادل والذي يعجل من الفساد الإنزيمي والميكروبي، كما أن دهن السمك أكثر قابلية للأكسدة من دهن اللحوم الأخرى وأكسدة الأحماض الدهنية الغير مشبعة تكون عالية في الأسماك الدهنية، وعادةً فساد السمك يبدأ بعد مرحلة ما يسمى بالتيبس الرمي Rogor mortis أي بعد انفصال وخروج السائل الخلوي من الخلايا والذي يعتبر بيئة مناسب لنمو الميكروبات وبناءً على ذلك كلما تأخر التيبس الرمي كلما زادت مدة حفظ السمك دون فساد. أما التلف الميكروبي فيحدده أنواع الأحياء الدقيقة وأعدادها وبيئة السمك وطريقة الصيد والمعاملة بعد الاصطياد، وتتراوح أعداد البكتيريا على سطح السمك من 10^2 إلى 10^7 وحدة تكوين مستعمرات لكل سنتميتر مربع (و. ت. م./ سم^2) ومن 10^3 إلى 10^9 و. ت. م./ جم في الخياشيم والأمعاء.

1.1.11 مصادر تلوث الأسماك

تلوث الأسماك يأتي من مصادر أهمها الماء الذي تعيش فيه الأسماك فقد يكون هذا الماء ملوثاً بمخلفات المجاري وبذلك الأسماك والمحار المصطادة من المياه الملوثة بفضلات

الإنسان والحيوان قد تحتوي على *Salmonella* و *Shigella* و *Cl. perfringens* و *Vibrio Cholera* وفيروسات التهاب الكبد الوبائي hepatitis A و Norwalk-like. يمكن أن تحتوي أيضا على مسببات الأمراض الانتهازية مثل *Aeromonas hydrophila* و *Plesiomonas shigelloides*.

وتنتقل هذه البكتيريا خلال الجلد أو بواسطة الخياشيم إلى لحم السمك، وقد يأتي التلوث من أدوات الصيد مثل شبكات الصيد وأرضيات القوارب والصناديق التي توضع فيها الأسماك أو من الثلج المصنع من ماء ملوث أو من أحشاء السمك، بالإضافة إلى التلوث الحاصل نتيجة لتسويق الأسماك وطريقة البيع الغير صحية والتي يتم فيها نزع أحشاء الأسماك قرب الأسماك الأخرى مما يؤدي لتلويثها أو قد يوضع السمك كله في حوض ماء واحد مما يؤدي لانتشار التلوث بين الأسماك، كما أن العاملين في صيد وتسويق الأسماك يمكن أن يشكلوا مصدراً لتلوث الأسماك بالبكتيريا الممرضة مثل *Staphlococcus aureus* نتيجة لوجود الدمامل والبثرات على جلودهم بالإضافة إلى احتمال تلوث الأسماك ببكتيريا مرضية مثل *Salmonella* و*Shigella* من العاملين المصابين والحاملين لهذه البكتيريا، الجدول (1.11) يوضح بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المنقولة عن طريق الأسماك.

جدول (1.11): الأحياء الدقيقة المرضية المرتبطة بالأسماك

Vibrio cholerae	
Vibrio parahaemolyticus	
Vibrio vulnificus	
Clostridium botulinum Type E	
Enteric viruses	الفيروسات المعوية

المصدر: مختصر عن ADAMS & MOSS (2008)

2.1.11 فساد الأسماك

الميكروبات المتواجدة على جلد الأسماك وفي خياشيمها وأحشائها يكون مصدرها الماء. وبعد الصيد قد تتعرض الأسماك للتلوث ببكتيريا المياه العذبة للثلج في مخازن التبريد بالثلج وتسيطر بكتيريا المياه العذبة على بكتيريا مياه البحر المالحة بسبب انخفاض الملح في الثلج المستخدم في التبريد.

العصويات الهوائية السالبة لصبغة جرام مثل: *Pseudomonas* spp. و *Acinetobacter* و *Moraxella* و *Flavobacterium* والعصويات اللاهوائية الاختيارية مثل: *Shewanella* و *Alcaligenes* و *Vibrio* و *Coliforms* هي بكتيريا الفساد الرئيسية. وبالرغم من ذلك وبسبب القصر النسبي للزمن الجيلي germination time فإن الفساد الناتج بواسطة *Pseudomonas* spp. المحبة للبرودة يسود تحت ظروف التخزين الهوائية في كل من درجة حرارة التبريد أو درجات الحرارة الأعلى بقليل.

بكتيريا *Pseudomonas perolens* تفسد السمك وتكون رائحة الفاكهة

Fruity odor بينما تنطلق روائح عفنة Putrid odor نتيجة نمو *Pseudomonas fragi* وتسبب بكتيريا *Pseudomonas putrefaciens* التعفن Putrefaction نظرا لقدرتها العالية على تحليل البروتين.

العصويات السالبة لجرام تقوم بدايةً بتحليل(الأكسدة) المركبات النيتروجينية غير البروتينية متبوعاً بتعفن لينتج عنها أنواع مختلفة من المركبات المتطايرة مثل الأمونيا وثلاثي ميثايل الأمين (الناتج من اختزال أكسيد ثلاثي ميثايل الأمين) والهستامين histamine (من الهستدين ويسبب التسمم السمكي) والبيوترسين putrescine، والكاديفارين cadaverine والأندول وكبريتيد الهيدروجين وميركابتنز mercaptans وكبريتيد ثنائي الميثايل dimethyl sulfide خاصة بواسطة بكتيريا *Shewanella putrefaciens* والأحماض الدهنية المتطايرة (حمض الخليك وحمض أيزوبيوتريك acid isobutyric وحمض أيزوفاليريك isovaleric acid).

أنواع البكتيريا المحللة للبروتين المشار إليها سابقاً تنتج إنزيمات البروتينيز proteinases الخارجية التي تحلل بروتينات السمك وبالتالي تنتج الببتيدات والأحماض الأمينية والتي بدورها تتعرض لعمليات أيض أخرى بواسطة البكتيريا المفسدة، تنتج المركبات المتطايرة أنواعاً مختلفة من الروائح الكريهة أي بمعنى أنها تشبه رائحة البول وتشبه السمك المتعفن (نتيجة لثلاثي ميثايل الأمين)، إن نمو البكتيريا أيضا يرتبط بإنتاج مادة لزجة وانعدام لون الخياشيم والعيون (في الأسماك الكاملة) وفقدان قوام العضلات نتيجة للتحلل البروتيني، الجدول (2.11) يوضح الأجناس البكتيرية والأعفان والخمائر السائدة في الأسماك الطازجة والفاسدة والأغذية البحرية الأخرى.

3.1.11 العوامل المؤثرة على فساد الأسماك

أ. نوع الأسماك

وجد أن أغلب الأسماك المسطحة Flat fish قابليتها للفساد أسرع من الأسماك المدورة وذلك بسبب حدوث حالة التيبس الرمي في الأولى أسرع من الثانية. كذلك تختلف الأسماك عن بعضها في نسبة الدهن فنجد أن الأسماك ذات المحتوى العالي من الدهن تفسد أسرع من غيرها كما أن احتواء الأسماك على Trimethyl amine oxide يجعلها أسرع فساداً حيث يتحول إلى Trimethyl amine ذو الرائحة النتنة.

ب. حالة السمك عند صيده

حركة السمكة الكثيرة قبل موتها وإجهادها أو عند عدم توفر الأكسجين وارتفاع درجة الحرارة يؤدي إلى الإسراع في ظهور حالة التيبس الرمي، كذلك السمكة التي تكون أحشاؤها مليئة بالغذاء تفسد أسرع كما أن السمكة المجهدة قبل صيدها تتعرض لاستهلاك كميات كبيرة من الجليكوجين المتواجد في العضلات مما يتسبب في سرعة فسادها نظراً لعدم تكون كميات كافية من حامض اللاكتيك لخفض قيمة الأس الهيدروجيني والتحكم في نمو الأحياء الدقيقة.

ج. عدد وأنواع الميكروبات

أسماك المياه العذبة تحتوي على أعداد وأنواع من البكتيريا أكثر من الأسماك البحرية وذلك بسبب ملوحة مياه البحر التي لا تلائم نمو كثير من الميكروبات. وتنتشر عادة على الأسماك البحرية البكتيريا المولدة للضوء Photogenic مثل:

Photo bacterium Phosphorous و *Photo bacterium fisheri* وكذلك جنس *Vibrio* المحب للملوحة وبعض الأجناس الأخرى مثل *Pseudomonas* و *Alteromonas* و *Flavobacterium* و *Enterococcus* و *Micrococcus* وبكتيريا القولون coliforms والممرضات مثل *V. vulnificus* و *V. parahaemolyticus* و *Cl. botulinum* كما أن أنواع البكتيريا تختلف باختلاف حرارة المياه التي تعيش فيها هذه الأسماك مثلاً أسماك بحار الشمال الباردة (درجة الحرارة: –2 إلى 12م°) تسود فيها البكتيريا المقاومة psychrotolerant أو المحبة للبرودة psychrophilic، وكلما كانت أعداد الأحياء الدقيقة عالية ومتنوعة في الأسماك كلما كان الفساد أسرع. ولوحظ أن احتواء الأسماك على أعداد كبيرة من البكتيريا التابعة لجنس *Pseudomonas* يعجّل من فسادها لأن هذه البكتيريا لها قدرة عالية على تحليل بروتين ودهن السمك، الأسماك من المياه العذبة بصفة عامة تحمل*Pseudomonas* و *Flavobacterium* و *Enterococcus* و *Micrococcus* و *Bacillus* وبكتيريا القولون.

د. درجة الحرارة

لتأخير فساد الأسماك يجب تبريدها مباشرة بعد صيدها عند درجة حرارة الصفر أو أكثر قليلاً(1م°) وتفسد الأسماك خلال ساعات عند تركها مخزنة تحت الظروف العادية، وكلما انخفضت درجة حرارة التخزين زادت مدة حفظ الأسماك.

جدول (2.11): الأجناس البكتيرية والأعفان والخمائر السائدة في الأسماك الطازجة والفاسدة والأغذية البحرية الأخرى

البكتيريا		الخمائر		الفطريات	
Acinetobacter	X	*Candida*	XX	*Aspergillus*	X
Aeromonas	XX	*Cryptococcus*	XX	*Aureobasidium*	XX
Alcaligenes	X	*Debaryomyces*	X	*Penicillium*	X
Bacillus	X	*Hansenula*	X	*Scopulariopsis*	X
Corynebacterium	X	*Pichia*	X		
Enterobacter	X	*Rhodotorula*	XX		
Enterococcus	X	*Sporobolomyces*	X		
Escherichia	X	*Trichosporon*	X		
Flavobacterium	X				
Lactobacillus	X				
Listeria	X				
Microbacterium	X				
Moraxella	X				
Photobacterium	X				
Pseudomonas	XX				
Psychrobacter	X				
Shewanella	XX				
Vibrio	XX				
Weissella	X				
Pseudoalteromonas	X				

X منتشرة XX اكثر انتشارا و تواجدا

المصدر: عن JAY *et al.*, (2005)

4.1.11 الأحياء الدقيقة للأسماك المحفوظة والمصنعة

هناك بعض المعاملات تجرى على الأسماك لغرض حفظها مثل التجميد والتجفيف والتمليح والتدخين (شكل 1.11) وإضافة المواد الحافظة والمضادات الحيوية كما يمكن تعليب الأسماك وإجراء معاملة بدرجات حرارة عالية لحفظها.

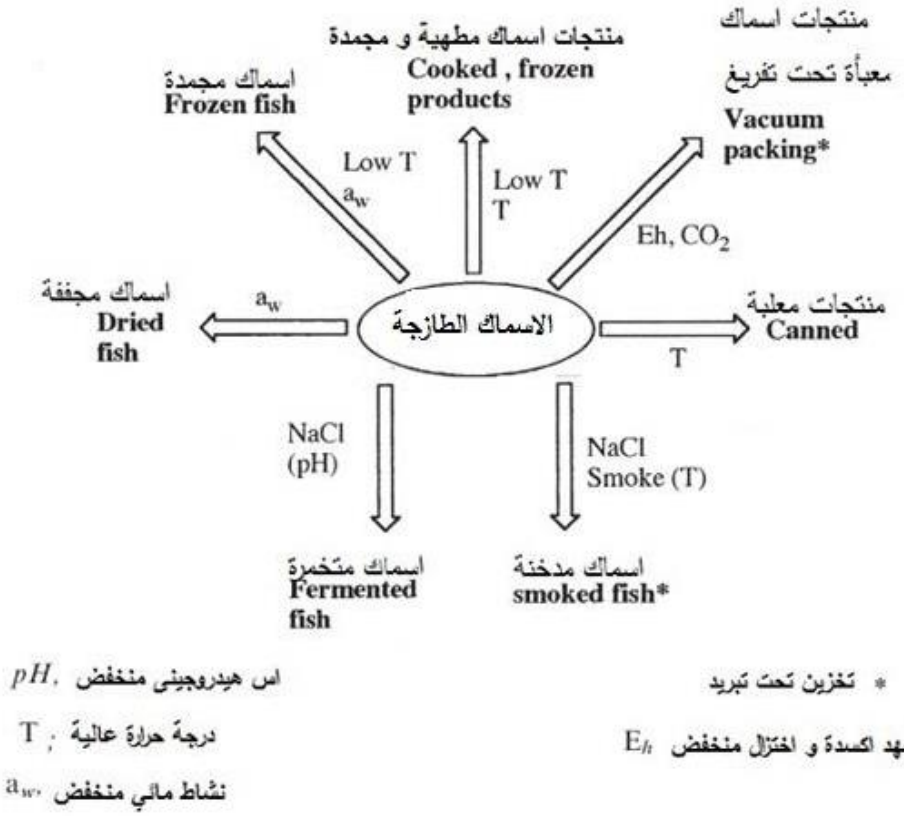
أ. تخزين الأسماك بواسطة التعبئة تحت تفريغ vacuum أو في وجود ثاني أكسيد الكربون يثبط نمو بكتيريا الفساد الهوائية. وبالرغم من ذلك تستطيع البكتيريا اللاهوائية واللاهوائية الاختيارية النمو بما فيها بكتيريا حمض اللاكتيك، أما تحت عملية التبريد فإن هذه المنتجات تمتلك فترة صلاحية طويلة نتيجة لبطء نمو البكتيريا المفسدة.

ب. الأسماك المملحة خاصة الأسماك المملحة قليلاً تكون معرضةً للتلف بواسطة البكتيريا المحبة للملوحة *Halophiles* مثل: *Vibrio* (عند درجات الحرارة المنخفضة) و *Micrococcus* (عند درجات الحرارة المرتفعة) و *Halobacterium* وكذلك بعض أفراد أجناس *Bacillus* و *Achromobacter Serratia* و *Pseudomonas* و *Halococcus* وبعض أنواع بكتيريا حامض اللاكتيك Lactic acid bacteria وبعض الخمائر.

ج. معظم أنواع البكتيريا تُثبط في الأسماك المدخنة خاصة التي لها نشاط مائي منخفض غير أن للفطريات قدرة على النمو على سطح المنتجات المملحة، أما الأسماك المخللة لا تفسد إلا نادراً نظراً لارتفاع الحموضة وقد تتعرض للفساد إذا قلت الحموضة فيها إلى الحد الملائم لنمو بكتيريا حامض اللاكتيك.

د. الأسماك المشوية والمجففة وبسبب قلة الرطوبة فيها فهي عرضة للفساد عادة بنمو بعض الأعفان المقاومة للجفاف مثل *Aspergillus fischeri*.

هـ. الأسماك المعلبة (التونة والسلمون والسردين) يتم تعريضها لمعاملة حرارية عالية للحصول على منتجات معقمة تجارياً غير أن المنتجات المعلبة يمكن أن تتلف بواسطة البكتيريا المكونة للجراثيم المحبة للحرارة مثل البكتيريا التابعة لأجناس *Bacillus* و *Clostridium* ما لم يتم التخزين في ظروف جيدة.



شكل (1.11): طرق حفظ الأسماك

المصدر: مختصر عن **ADAMS & MOSS (2008)**

2.11 القشريات *Crustaceans*

الفساد الميكروبي للقريدس "الروبيان" shrimps هو أكثر شيوعاً من تلف السرطانcrabs أو الكركند lobsters. بينما السرطان والكركند تبقى حية لحين معاملتها فإن الروبيان تموت خلال صيدها، لحم القشريات غني بالمركبات النيتروجينية غير البروتينية (الأحماض الأمينية خاصة الأرجنين وأكسيد ثلاثي ميثايل الأمين) تحتوي على حوالي 0.5 %

جلايكوجين ولها أس هيدروجيني فوق 6.0 البكتيريا السائدة طبيعياً هي الـ *Pseudomonas* والعديد من العصويات السالبة الجرام، وإذا العوامل الضرورية الأخرى وجدت فإن طبيعة التلف ستشبه كثيراً تلك الحادثة للأسماك الطازجة.

إن التلف الميكروبي للقريدس يتميز بتغيرات في الرائحة نتيجة لإنتاج المواد الأيضية للمركبات النيتروجينية الغير بروتينية (بسبب تحللها وتعفنها) تكوين قوام لزج وفقدان القوام واللون، إذا تم معاملة القريدس بالتجميد بشكل سريع فإن ذلك يقلل من الفساد، وبما أن الكركند يتم تجميده بعد معاملته مباشرةً أو يتم بيعه حيّا بالتالي لا يكون معرضاً لظروف التلف.

السرطان والكركند والقريدس يمكن أيضا طهوها وتمديد فترة صلاحيتها وبالرغم من ذلك فإنها تكون معرضة للتلوث بعد المعاملة الحرارية ومن ثم يتم تخزينها تحت درجات حرارة منخفضة (مبردة أو مجمدة). السرطانات الزرقاء يتم طبخها بالبخار تحت الضغط ويتم تنقيتها وتباع كلحم سرطان طازج، ولتمديد صلاحيتها تعرض للمعاملة الحرارية (85 م^{o} لمدة 1 دقيقة) وتخزن عند درجة حرارة التبريد، وتكون فترة صلاحيتها محدودة تحت ظروف التبريد بسبب نمو البكتيريا المقاومة للمعاملة الحرارية وملوثات ما بعد المعاملة الحرارية.

3.11 الرخويات Mollusks

بالمقارنة مع الأسماك والقشريات فإن لحم المحار oyster والبطلينوس clam والأسقلوب scallop أقل في محتوها من المركبات النيتروجينية غير البروتينية ولكنها أعلى في الكربوهيدرات (الجلايكوجين من 3.5 إلى 5.5%) مع أس هيدروجيني عادةً فوق 6.0 أثناء

التغذية الرخويات ترشح كميات كبيرة من الماء وبالتالي يمكن أن يحدث تركيز للبكتيريا والفيروسات في أجسامها، الرخويات يتم حفظها حية لحين معاملتها (تقشيرها) لذلك التلف الميكروبي يحدث فقط بعد المعاملات.

البكتيريا المتوطنة طبيعياً والسائدة هي الـ *Pseudomonas* والعديد من العصويات السالبة لصبغة جرام. خلال عملية التخزين بالتبريد فإن الأحياء الدقيقة تعمل على استخدام المركبات النيتروجينية الغير بروتينية والكربوهيدرات، يمكن أن يتم تخمير الكربوهيدرات لتنتج أحماضاً عضوية بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك (*Lactobacillus* spp.) و *Enterococci* و *Coliforms* وبالتالي تخفض من الأس الهيدروجيني. إن تحطيم المركبات النيتروجينية بواسطة *Pseudomonas* و *Vibrio* خاصةً عند درجة حرارة التبريد يؤدي إلى إنتاج الأمونيا والأمينات والأحماض الدهنية المتطايرة (RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الثاني عشر

الفساد الميكروبي للحليب ومنتجاته

1.12 الحليب الخام Raw milk

يعتبر الحليب وسطاً غذائياً جيد لنمو الأحياء الدقيقة ولأنه يمر بمراحل عدة أثناء الإنتاج يمكن أن يتعرض للتلوث بأعداد متنوعة من الأحياء الدقيقة، يحتوي التركيب المتوسط لحليب البقر على 3.2 % بروتين و 4.8 % كربوهيدرات و 3.9 % دهون و 0.9 % أملاح. وبجانب الكازين واللاكتوألبومين يحتوي الحليب على أحماض أمينية حرة والتي يمكن أن تمنح الأحياء الدقيقة مصدراً نيتروجياً جيداً (وبعض من مصادر الكربون عند الضرورة)، الأنواع السائدة من داخل الضرع للحيوان السليم هي *Micrococcus* و *Streptococcus* و *Corynebacterium* عادة، يحتوي الحليب الخام على أقل من 10^3 خلية /مل.

إذا كانت الأبقار مصابة بالتهاب الضرع فإن *streptococcus agalactiae* و *S. aureus* وبكتيريا القولون *coliforms* و *Pseudomonas* يمكن أن تكون موجودة بأعداد مرتفعة نسبياً في الحليب.

الحليب الخام المحلوب للتو من ضرع الحيوان السليم يحتوي على أعداد قليلة من البكتيريا (5000 و. ت. م/مل) والتي مصدرها في الغالب ضرع الحيوان أو معدات الحلب ولا تستطيع هذه الأعداد القليلة أن تنمو تحت ظروف تداول الحليب الجيدة. هذا التلوث المحدود تعكسه سيادة بكتيريا Micrococci التي لا تقاوم الحرارة العالية وسيادة بكتيريا Lactococci و Streptococci كما هو موضح في جدول (1.12)، وعندما يزداد الحمل الميكروبي في الحليب تتغير هذه النسب ويزداد في هذه الحالة عدد البكتيريا العصوية السالبة

لصبغة جرام على حساب بكتيريا *Micrococci*.

بما أن المصدر الرئيسي للكربوهيدرات هو اللاكتوز "سكر اللبن" فإن الأحياء الدقيقة التي تمتلك إنزيمات محللة للاكتوز (فوسفو – بيتا – جلاكتوسايديز أو بيتا – جلاكتوسايديز) تصبح هي السائدة على تلك الغير قادرة على أيض الجلوكوز. أما دهن الحليب فيمكن أن تحلله الميكروبات بواسطة إنزيم الليبيز lipases مع تحرير أحماض دهنية متطايرة ومنخفضة الوزن الجزيئي (حمض البيوتاريك butyric وحمض الكابريك capric وحمض الكابرويك caproic).

وقد يحتوي الحليب الخام على أنواع عديدة من الأحياء الدقيقة التي انتقلت إليه من مصادر تلوث متعددة خاصة وإنه يعتبر بيئة مناسبة لنمو العديد من الأحياء الدقيقة المفسدة والممرضة للإنسان.

جدول (1.12): نسب المجاميع الميكروبية الرئيسية المتواجدة في الحليب الخام ذي العدد الميكروبي القليل

المجموعة	نسبة وجودها (%)
Micrococci	99 - 30
Lactococci & Streptococci	صفر - 50
البكتيريا العصوية الموجبة لجرام غير المتجرثمة	10 >
البكتيريا العصوية السالبة لجرام (بما فيها بكتيريا القولون)	10 >
جراثيم بكتيريا *Bacillus*	10 >
ميكروبات أخرى	10 >

المصدر: معدل عن Robinson, (1981)

1.1.12 مصادر تلوث الحليب الخام

الأنابيب المستخدمة في الحلب والأدوات والمعدات المستخدمة في تجميع الحليب خاصة إذا لم يتم تنظيفها وتعقيمها بشكل سليم يمكن أن تضيف للحليب أعداد كبيرة من البكتيريا غير المرغوب فيها والتي لها قدرة على النمو السريع في الحليب مثل *Strepococci* و *Micrococci* و *Pseudomonas* و Coliform، ويمكن للمعدات أن تكون مصدراً رئيسياً للعصويات السالبة لصبغة جرام مثل *Pseudomonas,* و *Alcaligenes* و *Flavobacterium* و *Enterococcus* ومجموعة بكتيريا القولون وكذلك البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مثل *Micrococcus.*

أ. **العمال:** العمال غير الأصحاء وغير المدربين والذين يتداولون الحليب قد يضيفون بكتيريا مرضية للحليب مثل *Salmonella typhi* وبكتيريا *Shigella dysenteriae* و*Streptococcus pyogenes* المسببة للحمى القرمزية وبكتيريا *Staphylococcus aureus* بالإضافة إلى البكتيريا التي تعجّلْ من الفساد.

ب. **الحيوان:** يمكن أن تنتقل عدة أمراض للإنسان من الحيوان الحلوب مثل *Mycobacterium tuberculosis* والتي تسبب السل للإنسان وبكتيريا *Brucella abortus* التي تسبب الإجهاض المعدي في الأبقار أما في الإنسان فإنها تسبب ما يعرف بالحمى المتموجة وكذلك الركتيسيا *Coxiella burnetti* التي تنتقل إلى الحليب وتسبب حمى كيو Q ولذلك يجب استبعاد حليب الحيوان المريض وعزله عن باقي الحيوانات، كما يمكن أن يتلوث

الحليب بأنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة من روث وحوافر وشعر الحيوان مما يسّرع من فساد الحليب.

ج. مصادر أخرى: مثل الحشرات والتربة والغبار وأرضيات الحظائر والعلف ولذلك يجب الحرص على نظافة الحظائر وعدم إثارة الغبار أو إعطاء العلف أثناء الحلب لمنع التلوث بمزيد من البكتيريا والفطريات والخمائر، الملوثات من الحيوانات والأعلاف والتربة والمياه غالباً البكتيريا المنتجة لحمض اللبنيك Lactic acid bacteria وبكتيريا القولون coliforms و*Micrococcus* و *Staphylococcus* و *Bacillus* و*Enterococcus* وجراثيم بكتيريا *Clostridium* والعصويات السالبة لصبغة جرام. وممرضات مثل و *Y. enterocolitica* و*L. monocytogenes* و *Salmonella* و *C. Jejuni* والتي يمكن أن تأتي من بعض هذه المصادر.

2.1.12 فساد الحليب الخام

إن الفساد الميكروبي للحليب الخام يمكن أن يحدث نتيجة أيض اللاكتوز والمركبات البروتينية والأحماض الدهنية (الغير مشبعة) وتحليل الدهون الثلاثية.

– إذا تم حفظ الحليب بالتبريد مباشرة بعد حلبه وخزّن لأيام فإن الفساد سيحدث بسبب العصويات السالبة لصبغة جرام المحبة للبرودة مثل: *Pseudomonas* spp. و .*Alcaligenes* spp و. *Flavobacterium* spp وبعض أنواع بكتيريا *Coliforms*.

إن بكتيريا *Pseudomonas* والأنواع المتعلقة بها لا تخمر اللاكتوز ولكنها تعمل على أيض المركبات البروتينية لتغير النكهة الطبيعية للحليب إلى الطعم المر أو طعم الفاكهه أو الطعم غير النظيف. كما أنها تنتج إنزيمات الليبيز Lipase والبروتينيز proteinases المقاومة للحرارة.

– إن نمو بكتيريا الـ Coliforms المخمرة للاكتوز ينتج عنه تكون حمض اللبنيك وحمض الخليك وحمض الفورميك وثاني أكسيد الكربون والهيدروجين (بواسطة عملية التخمير الحمضي الغير متجانس) وينتج عن ذلك زيادة في حموضة الحليب.

– تستطيع بعض أنواع *Alcaligenes* spp. (*A. faecalis*) و Coliforms أن تكون مادة لزجة ropiness من عديد السكريات viscous exopolysaccharides.

– وإذا لم يتم تبريد الحليب بسرعة فإن البكتيريا المحبة للحرارة المعتدلة تنمو مثل: أنواع *Lactococcus* و *Lactobacillus* و *Enterococcus* و *Micrococcus* و *Bacillus* و *Clostridium* و *Coliforms*، بالإضافة إلى *Pseudomonas* و *Proteus* وباقي البكتيريا السائدة. ولكن الأنواع المحللة للاكتوز مثل: *Lactococcus* spp. و*Lactobacillus* spp. عادةً ما تسود منتجة كمية كافية من الحمض لخفض الأس الهيدروجيني بشكل ملحوظ يمنع أو يقلل من نمو الميكروبات الأخرى، وفي مثل هذه الحالات تخثر الحليب وتكون نكهة حمضية هو الفساد السائد وإذا استطاعت الأحياء الأخرى النمو أيضا يحدث تراكم للغازات وتحلل للبروتينات والدهون.

– يمكن للممرضات المحبة للبرودة (*Y. enterocolitica* و *L. monocytogenes*) أن تتكاثر في الحليب الخام المبرد أثناء التخزين.

– من جهة أخرى فإنه وتحت الظروف الاعتيادية لا يُتوقع أي نمو للخمائر والفطريات.

والجدول رقم (2.12) يوضح أهم المجموعات الميكروبية الهامة في فساد الحليب الخام ومصادرها ومظاهر الفساد المختلفة.

خلال تبريد الحليب (في مزارع الألبان والمصانع) البكتيريا المحبة للبرودة هي فقط التي تنمو في الحليب الخام والتي تشمل *Pseudomonas* و *Flavobacterium* و *Alcaligenes* وبعض بكتيريا القولون coliforms وأنواع بكتيريا *Bacillus* ويمكن أن تؤثر على جودة ومدى قبول الحليب الخام (على سبيل المثال من خلال جعل نكهة وقوام الحليب غير مرغوبة).

الجودة الميكروبيولوجية Microbiological quality للحليب الخام والمبستر تراقب في العديد من البلدان عن طريق الهيئات التنظيمية. في الولايات المتحدة العدد الكلي للبكتيريا Total count of bacteria للحليب الخام المباع في الأسواق market milk هو: $1 - 3 \times (10)^5$ /مل وللاستخدام في تصنيع المنتج: $0.5 - 1 \times (10)^6$ /مل.

جدول (2.12): التغيرات التي تسببها الأحياء الدقيقة في الحليب الخام

الكائنات الدقيقة	المصدر	مظاهر الفساد
بكتيريا حامض اللاكتيك *Streptococcus lactis , S. thermophilus,* *Lactobacillus casei , L. bulgaricus, L. acidophilus*	الحيوان نظيفة – العلف وفضلات الغير أواني ومعدات الحليب	إنتاج حموضة وتجبن حامضي
بكتيريا القولون Coliforms	الروث – أواني ومعدات الحليب – المياه الملوثة – التربة – النبات	إنتاج الغازات والحموضة والروائح العفنة وتخثر الحليب
بكتيريا *Micrococci*	توجد طبيعياً على ضرع الحيوان وفي أواني ومعدات الحليب	حموضة قليلة في الحليب
الأحياء الدقيقة المحللة للبروتين : Proteolytic aerobes مثل *Bacillus subtilis , Psudomonas* *Bacillus cereus putrefaciens,*	الغبار والماء	التجبن الحلو – تحليل البروتين مع طعم مر
البكتيريا اللاهوائية Anaerobes : *Clostridium* مثل *Cl. butyricum*	الروث والتربة	إنتاج غازات وروائح عفنة
الخمائر والأعفان :Molds and yeasts مثل *Candida pseudotropicalis ،Torulopsis sphaerica*	العلف والتربة	إنتاج كمية كبيرة من الغازات– تحليل البروتين أو تلون الحليب
الأحياء الدقيقة المحللة للدهن Lipolytic مثل *P. fluorescens, A. lipolyticum P. fragi , Candida*	– الماء – العلف الغبار	روائح حادة وطعم التزنخ

2.12 الحليب المبستر Pasteurized milk

يبستر الحليب الخام عادة قبل بيعه واستهلاكه كحليب سائل، الأحياء الدقيقة الموجودة في الحليب المبستر هي تلك التي نجت بعد عملية بسترة الحليب الخام (مثل البكتيريا المحبة لدرجة الحرارة العالية) وتلك التي يمكن أن تلوث الحليب بعد المعاملة الحرارية.

البكتيريا المقاومة للحرارة Thermodurics مثل *Micrococcus* و *Enterococcus* وبعض *Lactobacillus* و *Streptococcus* و *Corynebacterium* و *Bacillus* و *Clostridium* تستطيع البقاء حية خلال عملية البسترة، بالإضافة إلى ذلك بكتيريا القولون Coliforms و *Pseudomonas* و *Alcaligenes* و *Flavobacterium* والأنواع المشابهة لها يمكن أن تتواجد كملوثات بعد عملية البسترة.

1.2.12 فساد الحليب المبستر

إن الحليب المبستر وتحت التخزين بالتبريد لديه فترة صلاحية محدودة وذلك نتيجة نمو الميكروبات الملوثة المحبة للبرودة. هذا النوع من الفساد يشابه الفساد الحادث للحليب الخام. وتظهر عيوب في النكهة نتيجة نمو هذه البكتيريا ويكون هذا ملحوظاً عندما تصل أعدادها إلى أكثر من أو تساوي 10^6 خلية / مل.

أ. إن نمو *Bacillus spp.* المحبة للبرودة مثل: *Bacillus cereus* تؤدي إلى فساد الحليب المبستر المبرد خاصة عندما يكون مستوى الملوثات ما بعد البسترة منخفض.

ب. جراثيم بكتيريا .*Bacillus* spp المحبة للبرودة والتي نجت من عملية البسترة، تنشط وتتكاثر لتسبب عيب يطلق عليه تحبب القشطة bitty cream حيث تقوم هذه البكتيريا بإنتاج إنزيم ليسيثينيز lecithinase الذي يحلل الدهون الفسفورية لكريات الدهن الموجودة على الغشاء مما يؤدي إلى تجمع كريات الدهن والتي تلتصق على سطح العبوة.

ج. إن إنتاج إنزيمات شبيهة بإنزيم الرنين بواسطة .*Bacillus* spp المحبة للبرودة وغيرها يؤدي إلى تخثر للحليب عند أس هيدروجيني أعلى من اللازم للتخثر الحمضي. كما يمكن أن يتعرض الحليب المبستر للتلوث بالبكتيريا الممرضة بعد المعاملة الحرارية. الحليب المبستر الدرجة أ (A) له عدد ميكروبي كلي من 20000/مل وأقل من أو يساوي 10 من بكتيريا القولون/مل.

3.12 الحليب المعامل بالحرارية الفائقة (UHT)

المعاملة بالحرارية الفائقة Ultra-high temperature (UHT) للحليب (150°م لدقائق قليلة) تؤدي إلى إنتاج حليباً معقماً تجارياً والذي يحتوي فقط على جراثيم لبعض البكتيريا المحبة للحرارة العالية، الحليب المعامل بالحرارة الفائقة غير معرض للفساد في درجة الحرارة العادية ولكنه يفسد إذا تعرض للحرارة العالية (40°م أو أكثر)، والجدول رقم (3.12) يوضح المعاملات الحرارية التي تجرى على الحليب السائل لإطالة مدة حفظه ومنع الفساد الميكروبي فيه.

جدول (3.12): المعاملات الحرارية للحليب السائل

البسترة العادية	Low Temperature Holding (LTH)	62.8 م° لمدة 30 دقيقة
البسترة السريعة	Temperature Short Time (HTST) High	71.1 م° لمدة 15 ثانية
المعاملة الحرارية فائقة الإرتفاع	Ultra-High Temperature (UHT)	135 م° لمدة ثانية
التعقيم	Sterilization	أكثر من 100م° لمدة 20 إلى 40 دقيقة

المصدر: عن ADAMS & MOSS (2008)

4.12 منتجات الحليب المركز Concentrated Liquid Products

يعتبر كل من الحليب المبخر Evaporated milk والحليب المكثف والحليب المكثف المحلى هي الأنواع الرئيسية لمنتجات الألبان المركزة والتي تتعرض لفساد ميكروبي محدود خلال عملية التخزين. كل هذه المنتجات تتعرض لمعاملة حرارية كافية لقتل الأحياء الدقيقة النشطة وكذلك جراثيم الفطريات وبعض البكتيريا.

1.4.12 الحليب المبخر Evaporated Milk

وهو عبارة عن حليب كامل الدسم مكثف يحتوي على 7.5% من دهن الحليب و 25% من المواد الصلبة ويعبأ في عبوات محكمة الإغلاق ويسخن ليصل إلى درجة التعقيم التجاري (250 ف° لعدة دقائق). وتحت ظروف التصنيع الجيدة فإن جراثيم البكتيريا المسبب للفساد المحبة للحرارة هي الوحيدة القادرة على البقاء حية وعند التعرض لدرجة حرارة تخزين مرتفعة (43 م أو أعلى) يمكن أن تنشط وتنمو، تحت تلك الظروف أنواع من بكتيريا *Bacillus* مثل: *B. Coagulans* يمكن أن تسبب تخثر الحليب.

2.4.12 الحليب المكثف Condensed milk

الحليب المكثف عبارة عن حليب كامل الدسم مكثف ويحتوي على 10 إلى 12% دهن و 36% مواد صلبة، ويتم عادتةً تحضير هذا الحليب من حليب خام درجة أولى حيث يتعرض الحليب بداية لمعاملة بالحرارة المنخفضة قريبة من درجة حرارة البسترة ومن ثم يتعرض للتبخير تحت التفريغ الجزئي (عند 50° م)، لذلك يمكن أن يحتوي على بكتيريا مقاومة للحرارة والتي يمكن أن تنمو وتسبب الفساد. الأحياء الدقيقة الأخرى يمكن أن تلوث المنتج خلال عملية التكثيف، عند درجة حرارة التبريد هذا المنتج لدية مدى صلاحية محدود تشبه صلاحية الحليب المبستر.

3.4.12 الحليب المكثف المحلى Sweetened condensed milk

يحتوي على 8.5% دهن و28% مواد صلبة و42% سكروز. الحليب الكامل الدسم يسخن بدايةً إلى درجات حرارة مرتفعة (80 إلى 100° م) ومن ثمّ يكثف عند 60 °م تحت التفرغ ويعبأ. ونتيجة انخفاض النشاط المائي فهو معرض للفساد نتيجة لنمو الخمائر المحبة للضغط الأسموزي (مثل: *Torula spp*) متسببة في إنتاج غاز، وإذا احتوت العبوة على مساحة علوية كافية وتوفر الأكسجين فإن الفطريات مثل: *Penicillium* و *Aspergillus* يمكنها النمو على السطح.

5.12 الأجبان

الفساد الميكروبي للأجبان يتأثر بشدة بنشاطها المائي وأسها الهيدروجيني، جبن القريش "cottage cheese" الغير ناضج الذي يتميز بإرتفاع الرطوبة وانخفاض حموضته معرض للفساد بواسطة البكتيريا السالبة لجرام والعصويات السائدة المحبة للبرودة والخمائر والفطريات. أنواع بكتيريا *Alcaligenes* و *Pseudomonas* عادةً ما تتواجد وتكون قوام لزج ونكهة متعفنة.

تكون الغازات في بعض أنواع الجبن المرتفعة الأس الهيدروجيني والمنخفضة الملوحة والمرتفعة النشاط المائي نسبياً (مثل: غودا "جبن هولندي أصفر"، والإليمنتالير والبروفولون) يمكن أن يحدث نتيجة نمو بعض أنواع الـ *Clostridium* مثل: *Cl. tyrobutyrium*. جراثيم هذه البكتيريا تستطيع النجاة خلال عملية بسترة الحليب وتتكاثر وتنمو في بيئة لاهوائية منتجة غاز ثاني أكسيد الكربون والهيدروجين والبيوتاريت butyrate كنتيجة لأيض اللاكتات lactate.

الأجبان القاسية الناضجة Hard-ripened cheese مثل جبن الشيدر يمكن أن تمتلك مذاقاً مُراَ نتيجة الإنتاج السريع للببتيدات المرة خلال فترة النضوج بسبب بكتيريا *Lactococcus lactis* السريعة في إنتاج الحمض والمستخدمة كبادئات في صناعة هذا النوع من الجبن وعادةً ما تكون مرتبطة مع هذا العيب.

أما الأجبان الشديدة النضج فإنها تمتلك كميات كبيرة جداً من الأمينات النشطة بيولوجياً (مثل: الهستامين والتايرامين) المتكونة من عملية نزع مجموعة الكربوكسيل للأحماض الأمينية الخاصة بواسطة إنزيم داي كربوكسيليز decarboxylase، هذه الإنزيمات يمكن أن تتواجد في بعض سلالات البادئات البكتيرية أو من البكتيريا الأخرى الملوثة للأجبان مثل *Enterococcus* وبكتيريا القولون Coliforms. موت وتحلل الخلايا يحرر الإنزيمات خلال عملية النضج متسببة في نزع مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية وتراكم هذه الأمينات. الجبن القاسي Hard cheeses وشبه القاسي semi hard cheeses عادةً ما يكون معرض للفساد نتيجة لنمو الفطريات على السطح مما يؤدي لتكون لون غير مرغوب به وعيوب في النكهة. ولذلك فإن عملية التعبئة اللاهوائية تقلل كثيراً من هذه المشكلة. والجدول (4.12) يوضح بعض مظاهر الفساد الميكروبي في الجبن وأسبابه.

6.12 الزبدة Butter

يصنع الزبد من الحليب المبستر المتخثر طبيعياً أو صناعياً وتحتوي الزبدة على 80% من دهن الحليب ويمكن أن تصنع مالحة أو غير مالحة. وتعتمد الجودة الميكروبية للزبدة على جودة الحليب المصنعة منه والظروف الصحية المستخدمة خلال عملية التصنيع. الطعم المميز للزبدة يتطلب تكون حامض اللاكتيك من تخمير اللاكتوز ووصول الأس الهيدروجيني إلى درجة يمكن أن تتكون عندها مركبات النكهة وهي الداي اسيتايل Diacetyl والأستايل ميثايل كربانول Actyl methyl carbinol من حمض الستريك أثناء تكون حمض اللاكتيك

وعادتةً تستخدم بكتيريا *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* و *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* لإنتاج حامض اللاكتيك بينما بكتيريا *Lactococcus Lactis ssp*. *Lactis biovar diacetylactis* و *Leuconostoc* species (*L. mesenteroides subsp*. *cremoris* & *L. lactis*) هي المسؤولة عن إنتاج مركبات النكهة في الزبدة. ويحدث الفساد الميكروبي للزبد نتيجة نمو الأحياء الدقيقة المتواجدة في الحليب والتي قاومت عملية البسترة أو من الميكروبات التي لوثت الحليب بعد البسترة.

إن نمو بكتيريا (*Pseudomonas* spp.) والخمائر (*Candida* spp.) والفطريات (*Geotrichum candidum*) على السطح يتسبب في عيوب في النكهة مثل التعفن أو التزنخ أو تكوين نكهة تشبه السمك وفقد اللون.

جدول (4.12): بعض مظاهر الفساد الميكروبي في الجبن

مرحلة الإنتاج	مظاهر الفساد	الكائن المسبب
أثناء التخمير	– ثقوب في الخثرة	– بكتيريا القولون
	ثقوب في الخثرة ونكهة مرة وتعفن	الخمائر المخمرة للاكتوز و.*Clostridium* spp
	ثقوب في الخثرة	- *Leuconostoc* spp
أثناء النضج	إنتاج حمض البيوتريك وطعم ردئ	- *Clostridium* spp
	تلون أصفر أو وردى أو أسمر	بكتيريا حمض البروبينيك
	غازات وروائح غير مرغوبة	بكتيريا القولون
	طعم مر	- *Micrococcus* spp
	أحماض وغازات	- *Lactobacillus plantarum*
	طعم خميري	خمائر
الجبن الناضج		**فطريات**
	تلون سطحي وطعم ردئ	*Geotrichum lactis*
	لون أحمر	*Geotrichum crustaces*
	لون أخضر داكن	*Clodosporium puberutum*
	لون أصفر مسمر	*Clodosporium casei*
	لون أسود	*Monilia niger*
	تكون لزوجة على السطح وطعم ردئ	*Pseudomonas* spp. و *proteus* spp.
	طعوم رديئة نتيجة تحلل البروتين	البكتيريا المحللة للبروتين *Proteolytic bacteria*

المصدر: مختصر عن NICKERSON & SINSKEY (1972)

ويعتبر التزنخ الناتج عن نمو بكتيريا .*Pseudomonas* spp (مثل: *P. fragi* و. *fluorescence*) *P*التي تمتلك إنزيم اللايبيز من أهم مشاكل الزبدة في الزبدة الغير مملحة، بكتيريا القولون Coliforms و*Entrococcus* و*Pseudomonas* تفضل أن تنمو في الطور السائل (والذي يمتلك مغذيات من الحليب) وينتج عنها عيوب في النكهة.

7.12 منتجات الألبان المتخمرة

اللبن المتخمر المستنبت صناعياً Cultured buttermilk والزبادي yogurt والجبن تعتبر أمثلة من منتجات الألبان المخمرة والتي بصفة عامة يتم إنتاجها بإضافة بادئات بكتيرية معينة bacteria specific starter-culture للحليب المبستر (على حوالي 82.2 م° لمدة 30 دقيقة)، وتختلف هذه المنتجات في حموضتها ونشاطها المائي وثباتها عند التخزين، اللبن المتخمر عادةً يحتوي على 0.8% حمض اللاكتيك وأسه الهيدروجيني 4.8 وتستطيع الخمائر النمو والتسبب في فساده بواسطة إنتاج غاز، بعض سلالات البادئات تستطيع إنتاج مركبات من سكريات عديدة خارجية exopolysaccharides لتعطي قوام لزج (والتي تعتبر مرغوبةً في بعض المنتجات)، يمتلك الزبادي العادي عادة أس هيدروجيني من 5.4 أو أقل (حوالي 1% من حمض اللاكتيك) ولا يمكن فساده بواسطة البكتيريا الغير مرغوبة. بالرغم من ذلك يمكن أن يطور المنتج نكهة مرّة نتيجة إنتاج ببتيدات مرة بواسطة بعض سلالات *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus* والمستخدمة كبادئ خلال عملية التخزين بكتيريا البادئ تستطيع الاستمرار في إنتاج حمض اللاكتيك متسببةً في مذاق حامضي حاد غير مرغوب، وبكتيريا بادئ الزبادي لها القدرة على إنتاج سكريات عديدة خارجية مما يؤدي إلى تكون قوام لزج للمنتج، الخمائر (خاصة في الزبادي المضاف إليه فواكه) تنمو في البيئة الحمضية وتنتج غاز ثاني أكسيد الكربون ونكهة الخمائر ونكهة فاكهية كريهة (AYRES et al. 1980; RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الثالث عشر

الأحياء الدقيقة للخضروات والفواكه

Microbiology of vegetables & fruits

1.13 الخضروات

الخضروات تشمل المكونات النباتية الصالحة للأكل مثل الأوراق والسيقان والجذور والدرنات والأبصال والزهور، بشكل عام فهي عالية نسبيا في الكربوهيدرات مع أس هيدروجيني 5.0 حتى 7.0 وهكذا يمكن لأنواع مختلفة من البكتيريا والخمائر والأعفان أن تنمو إذا كانت الظروف الأخرى مناسبة، الفواكه تحتوي على نسبة عالية من الكربوهيدرات ويكون الأس الهيدروجيني من 4.5 أو أقل بسبب وجود الأحماض العضوية وبعضها أيضا يحتوي على زيوت مضادة للميكروبات.

الخضروات غنية إلى حد ما بالكربوهيدرات (5% أو أكثر) وقليلة البروتينات (ما بين 1 إلى 2%) وتمتاز فيما عدا الطماطم بأُس هيدروجيني مرتفع، يعتقد أن حوالي 20% من الفواكه والخضروات المنتجة لغرض الاستهلاك الطازج تفقد بواسطة الفساد االناتج عن الأحياء الدقيقة. الخضروات الطازجة تحتوي على أحياء دقيقة مصدرها التربة أو الهواء أو المصادر البيئية الأخرى كما يمكن أن تضم بعض الممرضات النباتية، وعوامل الفساد في الخضروات والفواكه المعروفة هي البكتريا والخمائر والفطريات والفيروسات وبعض أنواع الركتسيا.

وقد يبدأ فساد الخضروات والفواكه في الحقل أو عند جنيها وجمعها ونقلها نتيجة خدشها مما يزيد من فرص تلوثها، وقد تتلوث بالأحياء الدقيقة المرضية إذا ما استخدمت أسمدة حيوانية أو مياه مجاري غير معالجة وبذلك تكون الميكروبات في الفواكه والخضر متنوعة

وعديدة وتشمل الأحياء الدقيقة التي مصدرها التربة ومياه الري والهواء. وأهم الأجناس التي تتواجد على سطح الخضر والفاكهة هي *Streptococcus* و *Achromobacter* و *Micrococcus* و *Entobacter* و *Lactobacillus* و *Alcaligenes* و *Pseudomonas* و *Sarcina* و *Leuconostoc* و *Bacillus* و *Chromobacterium* و *Staphylococcus* كما توجد البكتيريا الممرضة للنبات مثل *Xanthomonas* و *Erwinia* وبعض الخمائر والأعفان.

1.1.13 العوامل المساعدة على فساد الخضروات والفواكه

فساد الخضر والفاكهة أما أن يكون لأسباب طبيعية أو فيزيائية أو ميكروبية أو نتيجة لأي تغير في طبيعة المادة يؤدي إلى تهيئة الظروف لزيادة فعل الإنزيمات والنشاط الميكروبي وإحداث الفساد للخضر أو الفاكهة، ومن أهم العوامل التي تساعد على فساد الخضروات والفاكهة ما يلي:

النشاط الإنزيمي

معدل ونسبة الفساد للخضروات والفواكه يَعتمدانِ على التفاعلاتِ بين التغييراتِ الفسيولوجيةِ التي تَحْدثُ في الأنسجة بعد الحصاد والَتغيّرُ في النشاط المكروبي، عملية الحَصاد نفسها تنتج إجهاد على النبات كنتيجة لخسارةِ الماء والذبول، الفساد الرخو Softening يعتبر من أكثر أنواع الفساد شيوعاً هو نتيجة نشاط تحليل البكتين Pectinolytic activity

للأحياء الدقيقة.

النشاط الإنزيمي في الخضر والفاكهة يستمر بعد عملية الحصاد حيث تستمر خلايا النبات في التنفس طالما توفر الأكسجين وأداء وظائفها الحيوية ومثال على ذلك تحول لون قشرة الموز من اللون الأخضر إلى الأصفر ثم إلى الأسود نتيجة فعل الإنزيمات.

العوامل الفيزيائية

إصابة والتسويق الفاكهة والخضروات بعطب أو تلف بسبب مهاجمتها من الحيوانات والطيور والحشرات أو نتيجة الرياح أو الجفاف أو أشعة الشمس يساعد على تلوثها بالميكروبات مما يسرع من فسادها خلال النقل والتخزين.

الظروف المحيطة

مثل ارتفاع الرطوبة النسبية ودرجة الحرارة وخلال فترة التخزين ووجود الهواء يزيد من فرص حدوث الفساد.

يتأثر فساد الفاكهة والخضر بعوامل كثيرة أخرى منها التركيب الكيميائي لكل منها وأعداد وأنواع الأحياء الدقيقة الموجودة على السطح الخارجي ونوع الغلاف المحيط بالثمرة والأس الهيدروجيني للثمار حيث نجد أن الفاكهة لها أس هيدروجيني منخفض (pH:4.5) مقارنة بالخضروات (pH:7) ولذلك تعتبر الأعفان والخمائر مسؤولة عن فساد الفاكهة وذلك لأن الأعفان والخمائر لها قدرة على النمو عند أس هيدروجيني منخفض (حموضة عالية) وفي

تركيز عالي من السكر بينما ترتبط البكتيريا بفساد الخضروات، كما تنمو الأحياء الدقيقة بسرعة أكبر في الخضروات المقطعة والمعطوبة مقارنة بالسليمة حيث أن تقطيع الخضر أو الفاكهة قد يسبب انطلاق المواد المغذّيةَ من النبات مما يشجع النمو الميكروبي.

2.1.13 الفساد الميكروبي للخضروات

الأحياء الدقيقة في الخضروات يمكن أن تأتي من مصادر عدة مثل المياه والتربة والهواء والحيوانات والحشرات والطيور أو المعدات وتختلف على حسب نوع الخضار، الخضروات الورقية تحمل كائنات حية دقيقة كثيرة من الهواء في حين أن الدرنات تحمل كائنات حية دقيقة من التربة، مستويات وأنواع الميكروبات في هذه المنتجات يختلف أيضا إلى حد كبير وهذا يتوقف على الظروف البيئية وظروف الزراعة والحصاد عموما الخضروات تحتوي على 10^{5-3} كائن دقيق/ سم^2 أو 10^{7-4} كائن دقيق/ جرام.

بعض أنواع البكتيريا السائدة هي بكتيريا حمض اللاكتيك lactic acid bacteria و *Corynebacterium* و *Enterobacter* و *Proteus* و *Pseudomonas* و *Micrococcus* و *Enterococcus* والبكتيريا المكونة للجراثيم لديها أيضا أنواع مختلفة من الأعفان مثل *Alternaria* و *Fusarium* و *Aspergillus*، الخضروات يمكن أن تتلوث بالممرضات المعوية خاصة إذا استخدمت المخلفات الحيوانية والبشرية والمياه الملوثة لتخصيب التربة والري، وهي تشمل *L. monocytogenes* و *Salmonella* و *Shigella* و *Campylobacter* و *Cl. botulinum* و *Cl. Perfringens* ، كما يمكن أن تحتوي أيضا

على البروتوزوا الممرضة والطفيليات.

في العموم أكثر أنواع الفساد شيوعاً في الخضروات هو ذلك الذي تسببه أنواع مختلفة من الفطريات والتي منها *Penicillium* و *Phytopthora* و *Alternaria* و *Aspergillus* وكذلك بعض أنواع البكتيريا من الأجناس *Pseudomonas* و *Erwinia* و *Bacillus* و *Clostridium*.

عادةً ما يوصف الفساد الميكروبي للخضروات بالمصطلح الشائع "العفن rot" مصحوباً بتغيراته المظهرية مثل: العفن الأسود والعفن الرمادي والعفن الوردي والعفن الناعم وغيرها بالإضافة للتغيرات في اللون يتسبب العفن في تكوين نكهة كريهة وفقدان للقوام، ويبدو ذلك جلياً في السلطات المقطعة الجاهزة للأكل وفي شرائح الخضروات والفواكه المبردة لفترة طويلة (3 إلى 4 أسابيع) والتي أُسيء تخزينها حرارياً Temperature abused.

التبريد والتعبئة تحت تفريغ Vaccuum package أو في جو معدل Modified atmosphere والتجميد والتجفيف والمعالجة الحرارية والمواد الحافظة الكيميائية تستخدم لتقليل الفساد الميكروبي للخضروات، فساد الخضروات المعلبة أو عصائر الخضروات أو الخضروات المخمرة سيتم مناقشتها لاحقاً في هذا الفصل.

2.13 الفواكه

تعتبر الفواكه الطازجة غنية بالكربوهيدرات (عادة 10% أو أكثر) وقليلة جداً

بمحتواها البروتيني (أقل من أو يساوي 1%) وتمتلك أس هيدروجيني يصل إلى 4.5 أو أقل، لذلك فإن الفساد الميكروبي للفواكه ومنتجات الفواكه يقتصر على الفطريات والخمائر والبكتيريا المحبة للحموضة (بكتيريا حمض اللاكتيك و *Acetobacter* و *Gluconobacter*) كما هو الحال في الخضروات الطازجة.

تعتبر الفواكه الطازجة معرضة للعفن بواسطة أنواع شتى من الفطريات من أجناس *Penicillium* و *Aspergillus* و *Alternaria* و*Botrytis* و*Rhizopus* وأنواع أخرى. وعلى حسب التغيرات المظهرية تم تصنيف التلف الفطري مثل: العفن الأسود والعفن الرمادي والعفن الناعم والعفن البني ... الخ.

الخمائر من أجناس *Saccharomyces* و *Candida* و *Torulopsis* و *Hansenula* لها ارتباط وثيق مع عملية التخمر لبعض الفواكه مثل: التفاح والفراولة والحمضيات والتمور. أما التلف البكتيري فيتميز بتكون حموضة في الفواكه الكرزية والتين ويرجع ذلك لنمو بكتيريا حمض اللاكتيك وبكتيريا حمض الخليك، وبصفة عامة العدد الميكروبي للفواكه 10^{6-3} لكل جرام. الحصاد والتعامل مع هذه المنتجات بشكل غير صحيح يمكن أن يؤدى للتلوث بالأحياء الدقيقة الممرضة التي لها قدرة على البقاء حية والنمو وتسبب الأمراض للأنسان. الأعفان والخمائر والبكتيريا يمكن أن تسبب أنواع مختلفة من التلف. كما أن الكائنات الحية الدقيقة الغير ضارة الموجودة طبيعياً وخاصة الخمائر في الفواكه يمكن أن يكون لها دوراً مهماً في تخمير الكحول. لتقليل الفساد يجب حفظ الفواكه ومنتجات الفواكه

بواسطة التبريد أو التجميد أو التجفيف أو تقليل المحتوى المائي أو المعالجة الحرارية والجدول (1.13) يوضح أهم أنواع الأحياء الدقيقة في الفواكه والخضروات ومظاهر الفساد لكل منها.

جدول (13.1): مظاهر الفساد في الخضر والفواكه والأحياء الدقيقة المسؤولة

نوع الفساد	الكائن المسبب ومظاهر الفساد
التعفن البكتيري الطري Bacterial soft rot	*Eewinia carotorora* تحلل البكتين وتعمل على نعومة وطراوة الخضر وتعطي رائحة ومظهراً مائياً أحيانا
التعفن المائي الرخو Watery soft rot	*Geotrichum , candidum*، منتشر بكثرة ويسببه في الخضروات
التعفن الرمادي Gray mold rot	*Botrytis cinerea* ينمو الفطر في الجروح على هيئة نمو رمادي اللون
عفن الخبز والتعفن الرخو *Rhizopus* soft *rot*	*Rhizopus stolonifera* يكون الفطر طبقة وبرية على الخضروات ويظهر حامل الجراثيم باللون الأسود
التعفن الأزرق(خاصة في الموالح) Blue mold rot	*Penicillium digitatum*
التعفن الأسود Black mold rot	*& Xanthomonas campestris Aspergillus niger*
التعفن الوردي Pink mold rot	*Trichothecium roseum*
التعفن البني Brown rot	*Sclerotinia spp & Phytophthora* spp.
التعفن بالألترناريا Alternaria rot	*Alternaria* sp اللون يتحول من البني إلى الأسود
التعفن الحامضي	*Geotrichum candidum*
حموضة أو لزوجة Souring or sliminess	نتيجة نمو بكتريا من الجنس *Lactobacillus*، *Pseudomonas*، Coliforms
التعفن الرمادي	*Botrytis cinerea*
التعفن الجاف dry rot في البطاطس	*Fusarium coeruleum*
يحدث تخمر كحولي Alcoholic fermentation	نمو الخمائر yeasts
تخمر الفواكه	*Saccharomyces Candida, Torulopsis* و *Hansenula*

المصدر: مختصر ومعدل عن (2000) JAY

3.13 الخضروات والفواكه الجاهزة للأكل Ready - To - Use Produce

وهي عبارة عن سلطات من الخضروات أو الفواكه مقطعة ومعبأة في أكياس وجاهزة للاستهلاك وهي ما تعرف بالسلطات الجاهزة للأكل حيث تجرى عليها معاملات تصنيعية

محدودة (Minimally processed) تشمل تقطيع الخضار مثل الخس والجزر والفواكه مثل الشمام والبطيخ إلى شرائح بعد غسلها وتعبئتها في أكياس شفافة ويتم تخزينها في درجات حرارة التبريد بحيث تكون جاهزة للاستهلاك مباشرة، وعادةً تعبأ هذه المنتجات في أكياس عالية النفاذية للأكسجين مما يؤثر على جودة المنتج من ناحية التلون البني الإنزيمي في حالة المنتجات ذات الألوان الفاتحة، وعند التعبئة في أكياس منخفضة النفاذية للأكسجين والتخزين على مدى طويل فإن الخطر يكون في إمكانية وجود ونمو الميكروبات المرضية مثل *Cl. botulinum* و *L. monocytogenes* حيث مصدر الأولى هو التربة بينما يعتبر النبات أحد أهم مصادر الثانية.

4.13 فساد الفواكه والخضر المجففة Spoilage of dried vegetables & fruits

تتعرض الفواكه والخضر المجففة للفساد بواسطة أنواع من الفطريات المحبة للجفاف Xerophilic molds التي يناسبها ظروف التجفيف مثل الفطر *Aspergillus glaucus* الذي ينمو عند نشاط مائي 0.70 كذلك تنمو بعض الخمائر المحبة لتراكيز السكر العالية Osmophilic مثل خميرة *Saccharoyces rouxii* وخمائر نوع *Zygosaccharomysces* ولجنس *Hunsenianspora* والتي تعزل من التمر والتين المجفف حيث تنمو فيها وتسبب إنتاج حموضة، أما التمور الناضجة والجافة طبيعيا تُهاجم من النوع *Zygosaccharomysces* cararae و *Hunsenianspora vaibyansis* المسببان لحموضة التمر، كما وجد أن تجفيف التمور إلى 23% رطوبة يمنع فساد وحموضة التمور.

5.13 فساد الفواكه والخضر المجمدة Spoilage of frozen vegetables& fruits

تفسد الفواكه والخضر المجمدة أحياناً نتيجة نمو بعض الفطريات والخمائر التي تنمو على درجة حرارة التجميد مثل الفطريات *Penicillium* و *Geotrichum* و *Cladosporium* و *Mucor* والخمائر مثل *Rhodotorula* و *Saccharomyces* و *Candida* و *Torulopsis* و *Debaryomyces*، الخمائر يمكنها أن تنمو بدرجة حرارة أقل من الفطريات، تموت هذه الخمائر أسرع في حالة التجميد السريع مقارنة بالتجميد البطيء حيث لا يمنحها التجميد السريع فرصة للنمو نظراً لانخفاض النشاط المائي السريع نتيجة التجميد.

6.13 الفواكه والخضر المخللة Spoilage of pickled vegetables & fruits

العديد من أنواع الخضروات يتم تخميرها ويعتبر الخيار والفلفل والكرنب الصغير هي الأكثر إنتاجاً. وتُخلل بعض الخضر والفواكه وذلك بإضافة ملح الطعام بنسب تتراوح ما بين 2–5% أو 8 إلى 15% على حسب نوع الخضار أو الفواكه المراد تخليلها، وتحدث تخمرات في المخللات أهمها التخمر اللاكتيكي الذي يعتبر أساسي في عملية التخليل وتقوم به بكتيريا حمض اللاكتيك مثل النوع *Leuconostoc mesentroides* غير المتجانسة التخمر Homofermintative والتي تُخّمر السكر الموجود في المادة المراد تخليلها إلى حامض لاكتيك وحمض خليك وإيثانول وثاني أكسيد الكربون حيث تصل الحموضة إلى 1% (حمض لاكتيك) مما يهيئ الظروف لنمو ونشط بكتيريا حمض اللاكتيك التي تتحمل

الحموضة العالية مثل بكتيريا *Lactobacillus brevis* و *Lactobacillus plantarum* والتي يمكنها أن تتحمل أيضا تركيز عالي من الملح وتنتج هذه البكتيريا كمية كبيرة من حمض اللاكتيك تصل إلى 2 أو 3% وهذه الحموضة تحمي المخللات من الفساد وخصوصاً من أنواع البكتيريا المكونة للجراثيم، عندما تكون كمية الملح المضافة قليلة تنمو وتنشط بعض الأجناس من البكتيريا غير المرغوبة والتي يكون مصدرها النبات نفسه أو الماء أو التربة مثل الأجناس *Bacillus* و *Psudomonas* و *Entrobacter* و *Flavobacterium* حيث تنتج هذه البكتيريا غازات ومواد غير مرغوبة.

7.13 فساد المخللات

من أهم مظاهر فساد المخللات ما يلي:

أ. قد تتكون مواد لزجة في المخللات نتيجة لنمو أنواع من البكتيريا مثل *Lactobacillus plantarum*.

ب. نمو *Bacillus subtilis* يؤدي إلى ظهور اسوداد في المخللات نتيجة تكوين كبريتيد الهيدروجين.

ج. تكوين أحماض متنوعة وغازات مختلفة نتيجة نمو البكتيريا المكونة للجراثيم التابعة للأجناس *Clostridium* و *Bacillus*.

د. الخمائر الغشائية أو الخمائر المؤكسدة Oxidative or top film yeasts ومن أمثلة هذه

الخمائر هي *Debaromyces* وجنس *Candida* تنمو هذه الخمائر على سطح المخللات وتقوم بأكسدة حامض اللاكتيك إلى ثاني أكسيد كربون وماء وبذلك تقلل من الحموضة وتهيئ الظروف لنمو البكتيريا غير المرغوبة مثل البكتيريا التعفنية والتي تسبب فساد المخللات، مخلل الكرنب Sauerkraut يمكن أن يفسد نتيجة نمو الخمائر والأعفان إذ لم يتم التخلص من الهواء.

هـ. الخمائر المخمرة أو الخمائر القاعية Fermentative or bottom yeasts

تنمو هذه الخمائر داخل المخللات وتكون كمية كبيرة من الغازات مما يؤدي لطفو المخللات لأعلى خاصة النوع *Torulopsis caroliniana* الذي يعزل دائما من المخللات، كما أن أجناس مثل *Torulopsis* و *Torulaspora* و *Brettanommyces* و *Hansenula* تستطيع إحداث هذا العيب.

و. قد يحدث تهتك لأنسجة المخللات نتيجة فعل الأنزيمات المحللة للبكتين التي تنتجها بعض أجناس البكتريا مثل *Achromobacter* و *Bacillus* وبعض الأعفان مثل *Penicillium* و *Alernaria* و *Fusarium* وكذلك بعض الخمائر مثل *Rhodotorula* spp. ومثال على ذلك ليونة قوام الزيتون المخلل لمدة طويلة.

ز. إنتاج نكهة كريهة وعيوب في اللون والقوام نتيجة نمو بكتيريا الـ Coliforms والبكتيريا السالبة الجرام الأخرى نظراً لفشل بكتيريا حمض اللاكتيك في النمو وإنتاج كمية منخفضة

من الحمض. أما المخللات الحلوة والمرة المحفوظة بالسكر والخل يمكن أن تتلف من بسبب نمو الخمائر وبكتيريا حمض اللاكتيك خاصة إذا لم يكن مستوى الحموضة كافي.

8.13 الخضروات والفواكه المعلبة

في الخضر والفواكه المعلبة لا تحدث مشاكل ميكروبية إلا في حالة عدم كفاءة المعاملة الحرارية أو حدوث عيوب في العلبة حيث من المفترض أن تقضي الحرارة العالية مثل معاملة البسترة (62 م° لمدة 30 دقيقة) على معظم البكتيريا والخمائر والأعفان كما أن الظروف غير الهوائية داخل العلبة تمنعها من النمو، هناك بعض الخمائر المقاومة لحرارة البسترة والتي تستطيع أن تفسد منتجات الخضر والفواكه المعلبة مثل عصير الفواكه والخضر حيث تقاوم هذه الخمائر درجة حرارة من 70 إلى 80 م° لمدة 5 دقائق مثل *Saccharomyces cerevisiae*، ومن الفطريات المقاومة للحرارة *Byssochlamys fulva* و *Aspergillus fisheri*.

9.13 الفساد الميكروبي لعصائر ومركزات الفواكه وعصائر الخضروات والمشروبات المحلاة

عصائر الفواكه Fruit juices وعصائر ومشروبات الفواكه المحفوظة والمركزة Concentrated and preserved fruit juices والمشروبات المحلاة الغازية Carbonated drinks وغير الغازية Noncarbonated soft drinks وهي منتجات منخفضة الأس الهيدروجيني (بين 2.5 و 4.0)، المحتوى الكربوهيدراتي (السكروز والجلوكوز والفركتوز) لها

يكون ما بين 5 و15% في العصائر والمشروبات ولكنها تصل ما بين 40 و 60% في العصائر المركزة والمحفوظة، في العصائر المركزة المحتوى العالي من السكريات يقلل النشاط المائي لهذه المنتجات والذي يصل في العصائر المركزة والمحفوظة إلى 0.9. وتتمتع المشروبات الغازية زيادة عن ذلك بجهد أكسدة واختزال منخفض، الأحياء الدقيقة المحتمل تواجدها في هذه المنتجات هي الفطريات والخمائر والبكتيريا المحبة للحموضة (*Lactobacillus* و *Leuconostoc* و *Acetobacter*) والتي يمكن أن تسبب حدوث الفساد في حالة عدم استخدام وسائل الحفظ المناسبة.

1.9.13 عصائر الفواكه Fruit juices

عصائر الفواكه تحتوي على كمية من السكر تتراوح ما بين 2% (عصير الليمون) و17% (عصير العنب) وهي نسبة في الغالب لا تمنع النمو الميكروبي، ويتراوح الأس الهيدروجيني من 4.2 (عصير الليمون) إلى 2.4 (عصير الطماطم) وأكثر في بعض العصائر الأخرى، ولذلك تكون عصائر الفواكه معرضة للتلف بواسطة الفطريات والخمائر والبكتيريا مثل أنواع *Lactobacillus* و *Leuconostoc* و *Acetobacter*، وكل نوع من العصائر ربما يكون معرض للتلف بواسطة نوع أو آخر من الأحياء الدقيقة، الفطريات و *Acetobacter* تستطيع النمو لو توافرت كمية كافية من الأكسجين الذائب.

تنمو الأعفان على سطح العصائر لأنها هوائية وبحاجة للأكسجين وكذلك الخمائر، أما البكتيريا فتنمو في العصائر ذات الحموضة والسكر القليل، الخمائر يمكن أن تتسبب في الأكسدة (إنتاج CO_2 والماء) والتخمر (إنتاج الكحول و CO_2) لهذا المنتج، أما بكتيريا

Acetobacter فيمكن أن تستخدم الكحول الناتج لتكوين حمض الخليك، بكتيريا حامض اللاكتيك مختلطة التخمر مثل *Leu. fermentum* و *Leu. mesenteroides* تستطيع تخمير الكربوهيدرات إلى حمض اللاكتيك والإيثانول وثاني أكسيد الكربون وثنائي الأسيتايل والأسيتون acetoin بالإضافة إلى ذلك بكتيريا *Leuconostoc mesesnteroides* وبعض سلالات *Lactobacillus plantarum* تعمل على تكوين مادة لزجة نتيجة إنتاج الدكستران والسكريات العديدة الخارجية الأخرى.

2.9.13 مشروبات الفواكه Fruit drinks

في عصائر الفواكه تحول أنواع بكتيريا *Lactobacillus* و *Leuconostoc* أحماض الستريك والماليك (مواد حافظة مضافة) إلى حمضي اللاكتيك والخليك منتجة عيوب في النكهة.

مشروبات الفواكه المركزة والمحفوظة تكون عرضة لنمو الخمائر وهي الوحيدة القادرة على النمو في نشاط مائي منخفض (0.9)، الفطريات تستطيع أيضا النمو في حال توافر كمية مناسبة من الأكسجين الذائب، أنواع جديدة من بكتيريا *Alicyclobacillus* مثل: *Alicyclobacillus acidoterrestris* تم التعرف عليها مؤخراً والتي يعتقد أن لها القدرة على إحداث الفساد لعصائر الفواكه والخضروات المنخفضة الأس الهيدروجيني.

بعض البكتيريا الممرضة (مثل السالمونيلا التي تتحمل الأحماض وسلالة الـ *E. coli*

O157:H7. في عصير البرتقال والتفاح) وجدت حية لفترة طويلة (30 يوم أو أكثر) في المنتجات الحامضية، عصائر الخضروات يمكن أن تفسد بواسطة الأعفان والخمائر وبكتيريا حمض اللاكتيك، عصير الطماطم له أس هيدروجيني يصل إلى 4.3 وعادةً يتعرّض لمعاملة حرارية لقتل الأحياء الدقيقة النشطة ما عدا جراثيم البكتيريا، قد يحدث الفساد الحامضي المسطح Flat sour لعصير الطماطم نتيجة لتكاثر ونمو بكتيريا *Bacillus coagulans*، معظم عصائر الخضروات الأخرى لها أس هيدروجيني بين 5.0 و5.8 وتشجع نمو بكتيريا حمض اللاكتيك، هذه المنتجات معرضة للفساد بسبب نمو العديد من أنواع الأحياء الدقيقة، لمنع نمو الأحياء الدقيقة المسببة للفساد تستخدم وسائل حفظ إضافية متعددة في هذه المنتجات والتي تتضمن المعاملة الحرارية والتبريد ولتجميد وإضافة مواد حافظة كيميائية معينة.

3.9.13 المشروبات الغازية Carbonated drinks

المشروبات الغازية هي مشروبات غير كحولية تحتوي على مياه ومحليات وأحماض ونكهات ومواد ملونة وعوامل استحلاب ومواد حافظة. قد تحتوي بعضها على عصائر الفواكه ويمكن أن تكون غازية أو غير غازية مع أس الهيدروجيني من 2.5 إلى 4 .

يمكن أن تحتوي المشروبات الغازية على أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة ولكن فقط الأحياء الدقيقة المحبة للحموضة يمكن أن تنمو مثل الأعفان والخمائر وبكتيريا حمض اللاكتيك وبكتيريا حمض الخليك. بعض أنواع الخمائر من أجناس *Torulopsis* و *Candida* و *Pichia* و *Hansenula* و *Saccharomycines* تستطيع النمو وتسبب عكارة في المنتج،

كذلك بعض أنواع بكتيريا *Lactobacillus* و*Leuconostoc* قد تنمو وتكون عكارة وتستطيع بكتيريا *Leuconostoc* أن تكون سائل دبق أو لزج (نتيجة تكون الدكسترينات) في هذه المنتجات.

4.9.13 المشروبات غير الغازية Noncarbonated soft drinks

المشروبات غير الغازية يمكن أن يحدث فيها الفساد بنفس الطريقة بواسطة الخمائر وبكتيريا *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*، بالإضافة إلى ذلك لو توافرت كمية مناسبة من الأكسجين الذائب فإن فطريات مثل *Geotrichum* و *Penicillium* و *Aspergillus* و *Mucor* و *Fusarium* وبكتيريا *Gluconobacter* و *Acetobacter* تستطيع النمو وتنتج الأخيرة حمض الخليك الذي يغير نكهة المنتج إلى نكهة تشبه الخل.

10.13 المربيات والعسل والدبس

تصنع المربيات من بعض الفواكه والخضر وذلك بإضافة السكر والبكتين والحامض وبعد المعاملة الحرارية تعبأ المربى وتحفظ لفترة طويلة دون فساد ميكروبي، وتحتوي المربيات على تركيز عال من السكر (70%) كما أن عملية البسترة عند درجة حرارة 80 – 90 م° لعدة دقائق تعمل على منع نمو كثير من الميكروبات لكن أي عيب في لحام العلب أو عدم كفاءة المعاملة الحرارية تهيئ الظروف لنمو بعض الأعفان والخمائر التي تخمر السكريات وتنتج

الأحماض والغازات التي تؤدي إلى انتفاخ العلبة ومن أمثلة الأعفان التي تنمو في المربيات *Aspergillus* و *Penicillium* والتي تنمو على الطبقة السطحية لحاجتها للرطوبة والهواء، كما وجد أن العفن *Byssochlamys fulva* يمكن أن بسبب فساد المربيات نتيجة تحمله حرارة البسترة المستخدمة في المربيات.

11.13 العسل

تعتبر أمعاء النحلة من أحد أهم مصادر تلوث العسل بالميكروبات حيث يمكن أن يتلوث العسل بالبكتيريا والخمائر من أمعاء النحل كما تعتبر الأزهار التي يمتص النحل الرحيق منها أحد مصادر التلوث بالإضافة إلى أن العسل قد يتلوث أثناء عمليات الجني والتنقية والتعبئة، ويحتوي العسل على رطوبة لا تتعدى 25% وتركيز سكر عالي (70- 80%) كما يمتلك أس هيدروجيني منخفض (pH=3.4) ولهذا تنمو فيه الميكروبات المحبة لتركيز السكر العالي Osmophiles خاصة الخمائر التابعة لجنس *Zygosaccharomyces* مثل: *Z. mellis* و *Z. richten* و *Z. rouxii* والخميرة من نوع *Torula mellis* و *Torulopsis holmii* معظم الأعفان لا تنمو على العسل لكن بعض أنواع جنس *Mucor* و *Penicillum* يمكنها أن تنمو فيه ببطء، الأعفان والخمائر تنمو في الغالب على سطح العسل نظراً لامتصاص الطبقة السطحية لرطوبة الجو وينخفض تركيز السكر كنتيجة لذلك مما يوفر الرطوبة اللازمة لنمو الأحياء الدقيقة ثم تدريجياً تتأقلم هذه الأحياء على التركيز العالي للسكر، وتقوم هذه الخمائر بالتخمير البطيء لسكر العسل وتكون ثاني أكسيد

الكربون وكحول وأحماضاً طيارة تعطي نكهة غير مرغوبة للعسل وبلورة العسل واسوداده.

أما الدبس (الرب) فإنه يحتوي على تركيز عالي من السكر (70-80%) ولذلك نادراً ما يفسد كما أن معاملته بالحرارة على درجة 80 مْ لعدة دقائق أثناء تعليبه تؤدي إلى القضاء على غالبية الميكروبات، عدم كفاءة المعاملة الحرارية أو حدوث عيوب في العلبة قد يؤدي إلى فساد للدبس ويكون ناتج عن نمو الخمائر المحبة للتركيز العالي من السكر مثل *Zygosaccharomyces rouxii* و *Torulopsis holmii* وتكوين أحماض وكحول وغازات مما يؤدي إلى انتفاخ العلبة.

12.13 التوابل والبهارات

البهارات هي منتجات نباتية (بذور – زهرة – ورقة – اللحاء والجذور) تستخدم كلياً أو مطحونة منفردة أو مختلطة، التوابل هي البهارات المخلوطة مع مكونات أخرى. يتم استخدامها بكميات صغيرة نسبيا للنكهة واللون، بعض البهارات إذا لم يتم معاملتها بالمضادات الميكروبية قد تحتوي على أحياء دقيقة تصل إلى $(10)^{7-6}$ لكل جرام أهمها جراثيم الفطريات وجراثيم بكتيريا *Bacillus* و *Clostridium* spp وأيضاً بكتيريا مثل micrococci وenterococci والخمائر ومسببات الأمراض مثل *Salmonella* spp. و *S.aureus* و *B.cereus* يمكن أن تتواجد فيها كما يمكن أن تحتوي أيضا على السموم الفطرية، ورغم أنها تستخدم بكميات صغيرة فإنها يمكن أن تكون مصدراً للأحياء الدقيقة المسببة للأمراض وفساد الأغذية، وبعض التوابل مثل القرنفل والثوم والفلفل لديها خصائص مضادة

للميكروبات.

13.13 الفساد الميكروبي للمايونيز وصلصات السلطة

هذه المنتجات هي مستحلبات الماء – في – الزيت Water - in - oil تتكون من الزيت والمياه والخل (حوالي 0.25% حامض الخليك) أو عصير الليمون والسكر والملح والنشا والصمغ والبيض والتوابل وقطع الخضروات، المايونيز عادةً يحتوي على حوالي 65% أو أكثر من الزيت القابل للأكل وحوالي 5.0% من حمض الخليك ويمتلك نشاطاً مائياً يقدر بـ 0.92 وأُس هيدروجيني يصل إلى ما بين 3.6 إلى 4 في حين عادة ما تحتوي صلصات السلطات على 30% أو أكثر من الزيت القابل للأكل و 9.0 إلى 2.1% من حمض الخليك، ونشاط مائي يقدر بـ 0.92 وأُس هيدروجيني ما بين 3.2 و 3.9، قد تتلوث هذه المنتجات من خلال المعدات والمكونات الداخلة في أعدادها والهواء، ومع ذلك وباستثناء الكائنات الدقيقة المحبة للحموضة تموت معظم الميكروبات الأخرى ولا سيما عند تخزينها لمدة طويلة في درجة حرارة الغرفة.

إن العوامل الرئيسية المتحكمة في النمو الميكروبي في هذه المنتجات هي حمض الخليك وانخفاض الأس الهيدروجيني والنشاط المائي المنخفض نسبياً، على أي حال بعض الأحياء الدقيقة المحبة للحموضة (الأعفان: *Aspergillus* spp. *Geotrichum* والخمائر: *Saccharomyces* spp.) والعديد من أنواع الـ *Lactobacillus* (*Lb. fructivorans*, *Lb. Brevis*) تستطيع تحليل اللاكتوز وإنتاج غاز CO_2، الفطريات

فقط تستطيع النمو على السطح الخارجي المعرض للهواء وتستطيع بعض الخمائر المحبة لكمية أكسجين قليلة (Microaerophilic) والاختيارية اللاهوائية وأنواع بكتيريا حامض اللاكتيك المختلطة التخمر مثل *Lactobacillus* (خاصة تلك التي تنمو عند نشاط مائي يصل إلى 0.92) النمو مكوّنةً غاز ثاني أكسيد الكربون في حين تحلل *Labctobacillus fructivorans* السكروز الموجود في هذه المنتجات مؤديةً لإنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون خاصة من الأيض السريع للفركتوز المتحرر من السكروز، سلالات خميرة *Saccharomyces bailii* أيضا تم ربطها بحدوث الفساد الغازي (ثاني أكسيد الكربون والكحول) لهذه المنتجات، بعض أنواع *Bacillus* (*Bacillus subtilis* و *B .mesentericus*) أيضا تم عزلها من هذه المنتجات طبيعياً لا يجب أن تتجاوز أعدادها 10 خلية / جرام.

إذا تلوثت هذه المنتجات بالممرضات (مثل *Salmonella* عن طريق البيض) فمن المتوقع أن تموت بسرعة إلا أنها قد تعيش لفترة أطول في المنتجات عالية الأس الهيدروجيني (منخفضة الحموضة) والتي تحفظ بالتبريد، صلصات السلطات المنخفضة السعرات الحرارية والتي يضاف إليها تراكيز زيت وحمض الخليك أقل بكثير من المعتاد تمتلك أُس هيدروجيني ونشاطاً مائي مرتفع، العديد من الأحياء الدقيقة تتمكن من النمو في هذه المنتجات، ولزيادة فترة صلاحية هذه المنتجات وسلامتها يوصى على الدوام بتخزينها بالتبريد.

الخمائر وأنواع *Lactobacillus* spp. وأنواع *Leuconostoc* spp. تتسبب في

حدوث فساد غازي للكتشب والصلصات والكستردا المجهزة، بعض أنواع *Bacillus* spp. تسبب الفساد الغازي في بعض مستحضرات الكستردا، وللتحكم في نمو الأحياء الدقيقة المفسدة عادة ما تستخدم وسائل حفظ إضافية مثل المواد الحافظة الكيميائية (ADAMS & MOSS, 2008, JAY et al, 2005).

الفصل الرابع عشر

الفساد الميكروبي في الحبوب ومنتجاتها

Microbiology of grains and its products

1.14 مقدمة

الحبوب والبذور عادةً ما تحتوي رطوبة ما بين 10 إلى 20% مما يقلل من النشاط المائي لها ليصل إلى أقل من أو يساوي 0.6 ($\leq$ 0.6) وبالتالي يثبط النمو الميكروبي، وتحتوي الحبوب المحصودة حديثاً على آلاف أو ملايين من الأحياء الدقيقة في الجرام الواحد والتي جاءت عن طريق تلوث الحبوب من التربة أو المياه أو الغبار أثناء وجودها على النبات أو/و عند عملية الحصاد والتصنيع والتخزين، كما تحتوي على عدة آلاف من الفطريات في الجرام الواحد من الحبوب، تتعرض الحبوب لعمليات تنظيف بغربلتها وتنقيتها والغسيل والتقشير والتبييض للطحين بإضافة مواد كيميائية مؤكسدة مثل أكسيد النيتروجين أو الكلورين أوكلوريد النيتروسيلا وتراي كلوريد نيتروجين أو بيروكسيد البنزويل تقلل أعداد وأنواع الأحياء الدقيقة في الطحين ولكن قد يتعرض الدقيق إلى تلوث أثناء العمليات التالية مثل التصنيع والتداول وقبل عمليات الخبز، قد تحتوي الحبوب الكاملة على مستويات عالية من البكتيريا الهوائية تصل لحوالي 10^4/جرام وبكتيريا القولون 10^2/جرام الخمائر والأعفان 10^3/جرام، وقد تحتوي أيضاً على السموم الفطرية التي تنتجها الأعفان المنتجة للسموم.

منتجات الحبوب المصنعة قد تحتوي أيضا على أنواع مختلفة من الخمائر والأعفان والبكتيريا، قد يحتوي الدقيق والنشويات أعداداً ميكروبية عالية ومماثلة لتلك المتواجد في الحبوب الكاملة في حين أن المنتجات المصنعة (مثل حبوب الإفطار والمعكرونة) قد تحتوي على أعداد ميكروبية هوائية تصل إلى 10^{3-2}/جرام والقولون أقل من 10^{2-1}/جرام والخمائر

والأعفان أقل من 10^{1-2} /جرام، كما يمكن أن تحتوي على جراثيم بكتيرية والبكتيريا المحبة للبرودة.

2.14 فساد الحبوب والدقيق

بعض فطريات التخزين من أجناس *Aspergillus* و *Penicillium* و *Rhizopus* تستطيع إحداث التلف للحبوب المحتوية على رطوبة عالية. والجدول (1.14) يوضح أنواع الفطريات المرتبطة بالحبوب سواءً في الحقل أو في المخازن ويلاحظ أن فطريات المخازن تتكيف مع ظروف الحبوب وتستطيع في العموم النمو عند نشاط مائي أقل، ومن أهم مجاميع البكتيريا التي تتواجد على الحبوب وفي الدقيق هي *Alcaligenes*, و *Bacillus* و *Achromobacter* و *Serratia* و *Sarcina* و *Serratia* و *Pseudomonas* و *Flavobacterium* و *Lactobacillus* و *Clostridium* و *Micrococous* و *Coliforms* وكذلك قد تتواجد جراثيم فطرية مثل جراثيم *Aspergillus* و*Penicilliun* و*Caldosporoim*و*Alternaria*. الدقيق الذى طُحن للتو تتراوح أعداد البكتيريا فيه من 8×10^3 إلى 12×10^3 و. ت. م/جم وتتناقص الأعداد بزيادة مدة التخزين، ورغم وجود هذه الميكروبات إلا أن الحبوب والطحين نادراً ما يتعرضان للفساد نظراً لانخفاض نسبة الرطوبة لكل منهما (أقل من 13% : النشاط المائي 0.6) ولكن أذا ازدادت نسبة الرطوبة للحد الذي يسمح بنمو الفطريات (15%) فإن بعض الفطريات والخمائر تتمكن من النمو في الحبوب خاصة وإنها تحتوي على مغذيات جيدة لنموها، بزيادة الرطوبة إلى أكثر من

17% تنمو البكتيريا ويبدأ التخمر الحامضي بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك وبكتيريا القولون يليه التخمر الكحولي بواسطة الخمائر ثم تخمر بواسطة بكتيريا حمض الخليك *Acetobacter aceti* وتحدث تغيرات غير مرغوبة في الدقيق. أذا لم تتواجد بكتيريا حامض اللاكتيك تنمو بكتيريا .*Micrococous* spp والعصويات الهوائية مما يؤدي إلى إنتاج أحماض وكحول وغازات تعطي رائحة حامضية للدقيق.

جدول (1.14): الحد الأدنى من النشاط المائي اللازم لنمو فطريات الحقل والمخازن المتعلقة بفساد الحبوب

الأنواع	الحد الأدنى للنشاط المائي
فطريات الحقل Field Fungi	
Fusarium culmorum	0.89
Fusarium graminearum	0.89
Alternaria alternate	0.88
Cladosporium herbarum	0.85
فطريات التخزين Storage fungi	
Penicillium aurantiogriseum	0.82
Penicillium brevicompactum	0.80
Aspergillus flavus	0.78
Aspergillus candidus	0.75
Eurotium amstelodami	0.71
Wallemia sebi	0.69

المصدر: عن ADAMS & MOSS (2008)

3.14 فساد الخبز Microbial Spoilage of Bread

تحدث تغيرات عديدة في العجين والتخمر الذي يحدث عادة في العجين هو الذي تقوم به بكتيريا حامض اللاكتيك Lactic acid bacteria وبكتيريا القولون والخمائر والتي تتواجد في الدقيق غير المنخول ونتيجة لذلك تتكون أحماض في العجين ومع الوقت تزداد

حموضته والخبز المنتج منه يكون ذو طعم حامضي غير مقبول. البكتيريا المحللة للبروتين تفرز إنزيمات البروتينيز Proteinases المحللة للبروتين في العجين مما يقلل من قدرة العجين على الاحتفاظ بالغازات وتقل بالتالي مرونة العجين مع زيادة لزوجته مما يجعل عملية خبزه صعبة، أثناء عملية الخبز أغلب الميكروبات التي كانت متواجدة في العجين تموت لأنها لا تستطيع مقاومة درجة حرارة الفرن ويكون الخبز شبة خالي من الميكروبات إلا من بعض الجراثيم البكتيرية التي قاومت حرارة الفرن لكن سرعان ما يتلوث الخبز بالفطريات والبكتيريا أثناء إنتاجه وتداوله والتي قد تؤدي إلى فساده.

1.3.14 فساد الخبز بالفطريات Moldiness

إن النشاط المائي للخبز عادةً منخفض كفاية (0.75 إلى 0.9) ليمنع نمو البكتيريا. وبالرغم من ذلك بعض الفطريات (فطر الخبز: *Rhizopus stolonifer*) يمكن أن تنمو خاصة عندما تتحرر الرطوبة نتيجة تبلور النشا خلال عملية التخزين، الفطريات عادة ما تموت خلال عملية الخبز بالرغم من ذلك الجراثيم الفطرية تستطيع الوصول إليه من الهواء أو من أيدي العمال أو من الأدوات المستخدمة بعد عملية الخبز ويعرض جدول (2.14) أهم الفطريات التي تسبب فساد الخبز.

1.1.3.14 العوامل التي تشجع نمو الفطريات على الخبز

أ. تقطيع الخبز إلى قطع صغيرة مما يساعد على وصول الأكسجين الضروري لنمو الفطريات

كما أن تغليف الخبز الساخن أو حفظه في إناء محكم يؤدي إلى زيادة الرطوبة مما يشجع نمو الفطريات.

ب. شدة تلوث الخبز بجراثيم الفطريات نتيجة عدم إتباع الاشتراطات الصحية من قبل العاملين في تداول الخبز مما يعرضه للتلوث وكذلك تركه فترة طويلة ليبرد في الظروف الطبيعية.

2.1.3.14 وقاية الخبز من الفساد الفطري

لمنع الفساد الفطري للخبز يجب إتباع الآتي:

أ. التأكيد على نظافة العمال والمخابز والقضاء على التلوث داخلها باستخدام مرشحات لتنقية الهواء أو بتعقيم جو المخابز بواسطة الأشعة فوق البنفسجية.

ب. استخدام التشعيع للقضاء على الفطريات التي قد تتواجد على سطح الخبز.

ج. الإسراع في تبريد الخبز بعد خروجه من الفرن وتخزينه في مكان بارد وجاف لحين الاستهلاك.

د. تبريد الخبز لإبطاء نمو الفطريات أو تجميد الخبز لمنع النمو الفطري على الخبز.

هـ. إضافة مواد مضادة للنمو الفطر مثل بروبيونات الصوديوم للعجين بنسبة 0.1 إلى 0.3 % من وزن العجين أو إضافة حامض السوربيك بنسبة 0.3 %.

جدول (2.14) أهم الفطريات المسببة لفساد الخبز

اسم الفطر	علامات الفساد
Rhizopus stolonifer	عفن الخبز: نمو قطني أبيض يتميز بوجود أكياس جرثومية سوداء تعطي المظهر الأسود للخبز
Aspergillus niger	نمو بني– أسود – أخضر وأرجواني
Monilia citophila Serratia mercences	نمو أحمر أو وردي على الخبز (الخبز الدموي) Red or bloody bread
Penicillium expansum	نمو أخضر
Mucor spp.	نمو زغبي أبيض Fizzy growth
Endomycopsis fibuliger Trichosporon variable	الخبز الطباشيري Chalky bread

2.3.14 لزوجة الخبز (المطاطية Ropiness)

عند تخزين الخبز في مكان رطب ودافئ يحدث نوع من الفساد يتّصف بكتلة بنية خيطية دبقة وهشّة داخل الخبز مع رائحة كريهة تشبه رائحة البطيخ المتعفن، والبكتيريا المسببة لهذا الفساد هي بكتيريا *Bacillus subtilis* التي تستطيع جراثيمها المتواجدة في العجين أن تتحمل درجة الحرارة داخل الرغيف أثناء الخبز والتي تصل إلى 100م° حيث تبقى هذه الجراثيم حية وتنمو عند توفر الظروف الملائمة. تكون هذه البكتيريا مواد لزجة نتيجة التحلل المائي لبروتين الطحين Gluten بواسطة الأنزيمات المحللة للبروتين التي تفرزها البكتيريا وكذلك التحليل المائي للنشا بواسطة أنزيمات Amylases وتكوين رطوبة وسكريات تشجع نمو البكتيريا وإنتاج المواد اللزجة.

ويزداد حدوث هذا الفساد في الحالات التالية:

أ. تلوث الطحين والعجين بجراثيم البكتيريا المسؤولة عن هذا الفساد نتيجة تلوث المضافات

مثل الملح والخميرة.

ب. التبريد البطيء للخبز وتخزينه في مكان رطب وحار.

ج. تلوث المعدات المستخدمة في تصنيع الخبز.

د. عدم انخفاض الحموضة في العجين والخبز لتمنع نمو هذه البكتيريا حيث يتوقف نموها عند أس هيدروجيني 5.

ولمنع هذا العيب يجب استعمال دقيق قليل التلوث ومعدات نظيفة لمنع التلوث وتبريد الخبز بسرعة تخزينه في مكان بارد وجاف وزيادة الحموضة في العجين بإضافة حامض الخليك أو الستريك أو اللاكتيك لتصل إلى أس هيدروجيني 5، كذلك إضافة مواد حافظة مثل حامض السوربيك أو بروبينات الصوديوم إلى الطحين بنسبة (0.1 - 0.3 %) لمنع نمو هذه البكتيريا وبنفس الوقت منع نمو الفطريات.

4.14 العجائن المبردة

العجائن الجاهزة والمبردة (المستخدمة في الكعك واللفائف والبيتزا) تكون معرضة للفساد (تكوين غازات) بسبب نمو أنواع من بكتيريا حمض اللاكتيك المختلطة التخمر المحبة للبرودة مثل الأنواع التابعة للأجناس *Lactobacillus* و *Leuconostoc*، الإنتاج السريع لغاز ثاني أكسيد الكربون يمكن أن يتسبب بانتفاخ العبوة خاصةً عندما تزداد درجة حرارة التخزين لتصل إلى 10°م أو أكثر.

المعكرونة تتعرض للفساد من قبل الأحياء الدقيقة قبل عملية التجفيف نتيجة ممارسات الصناعة الخاطئة، المعكرونة الجافة لا تشجع نمو الجراثيم في حين يمكن للمعكرونة اللينة أن تتعرض للتلف بواسطة البكتيريا والخمائر والفطريات، إن التغليف اللاهوائي والتخزين المبرد يمكن أن يمنع نمو الفطريات ويخفض من سرعة نمو الخمائر والبكتيريا اللاهوائية بشقيها المحبة للبرودة والاختيارية، ويمكن إضافة مواد حافظة مناسبة لمنع نمو هذه الجراثيم، بالنسبة للمعجنات مثل الكيك تكون الأعفان هي المسبب الرئيسي لفسادها ويمكن منع هذا الفساد بإضافة المواد الحافظة (البروبيونات وحامض السوربيك) (FRAZIER, 1968; RAY, 2004).

الفصل الخامس عشر

الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة

Spoilage of Canned Foods

1.15 مقدمة

نشأت صناعة التعليب للحفاظ على خصائص الأغذية وحفظها دون الحاجة إلى التبريد وذلك لغرض توفير الغذاء لعدد كبير من الناس وخاصة في الحرب تحت ظروف المعارك. بالإضافة إلى أن التطور الذي حدث في المجتمع ومساهمة النساء بالعمل وقضاء وقت طويل خارج البيت مما قلص الوقت اللازم لتحضير الأغذية وزاد الطلب على الأغذية المعلبة. ولذلك كان من الضروري التأكيد على سلامة الأغذية المعلبة وصلاحيتها من النواحي البكتريولوجية والكيميائية للاستهلاك البشري لأنها تُحضر بكميات كبيرة جداً لتستهلك من قبل عدد كبير من الناس، هذه المجموعة من الأغذية تتضمن تلك الأغذية المعبأة في عبوات مغلقة بإحكام ومعاملة بالحرارة العالية.

يتم معاملة منتجات الأغذية ذات الرقم الهيدروجيني من 4.6 أو أعلى بدرجة حرارة 100 درجة مئوية، الأغذية المعلبة تعد وتجهز للتعقيم التجاري ويمكن أن تحتوي على جراثيم البكتيريا المفسدة والمحبة لدرجة الحرارة العالية وهي *Cl. Thermosaccharolyticum* و *Bacillus stearothermophilus* و *Desulfotomaculum nigrificans*. المصادر الرئيسية لهذه البكتيريا في المنتجات هي التربة والمياه وكذلك ماء السلق والسكر والنشويات التي قد تستخدم كإضافات للأغذية. وهناك نوعان من الفساد يحدثان في الأغذية المعلبة: فساد يحدث بسبب نمو ونشاط الأحياء الدقيقة فيها ويطلق عليه الفساد البيولوجي Biological spoilage وفساد يحدث بسبب التفاعلات الكيميائية التي تجري داخل الغذاء

أو بين الغذاء ومعدن العلبة ويسمى الفساد الكيميائي Chemical spoilage.

2.15 الفساد الكيميائي Chemical spoilage

ويحدث نتيجة التفاعلات الكيميائية داخل العلبة وأهم أنواع هذا الفساد:

أ. الفساد الهيدروجيني Hydrogen swelling وهو فساد كيميائي يؤدي إلى انتفاخ العلبة بسبب تكون كميات كبيرة من غاز الهدروجين الذي ينتج من تفاعل الأحماض المتواجدة بالغذاء مع معدن العلبة في حالة عدم طلائها جيداً بطبقة الأنمل، ويحدث هذا الفساد عادةً في الأغذية الحامضية عند تخزينها على درجات حرارة عالية، ويمكن تمييزه عن الفساد الميكروبي أنه عند ثقب العلبة وتعريض الغاز المنطلق من العلبة لعود ثقاب يستمر مشتعلاً بينما في حالة الفساد الميكروبي ينطفئ العود بسبب تواجد ثاني أكسيد الكربون مع الهيدروجين.

ب. تغير لون المادة الغذائية Discoloration وتكون عكارة Turbidity بسبب تفاعل المادة الغذائية مع الأكسجين كما في حالة عدم إجراء عملية التفريغ بكفاءة أو في حالة تآكل معدن العلبة وتلون جدرانها الداخلية الغذائية نتيجة تفاعل المادة الغذائية مع معدن العلبة مما يؤدي إلى تلون الغذاء ولذلك يتم التسخين الابتدائي للعلب لطرد الهواء قبل القفل.

ج. تلون للمادة الغذائية نتيجة تفاعل مكونات الغذاء فيما بينها حيث تحتوي على مركبات تحتوي مجاميع حرة نشطة Free active radicals مثل مجاميع الكيتونات والألدهيدات

والكاربوكسل، وقد يسودّ لون الغذاء نتيجة تفاعل بين السكريات في الأغذية السكرية ويؤدي إلى تفاعل الكرملة Carmalization الذي يؤدي إلى اسوداد لون الغذاء كما هو الحال في معلبات المشمش والجزر.

د. قد يحدث تفاعل بين السكريات الأحادية والأحماض الأمينية القاعدية في الغذاء ويؤدي إلى تلوين المادة الغذائية باللون البني Browning reactions كما في حالة البطاطا والمشمش.

3.15 الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة

تعامل الأغذية المعلبة بالحرارة لقتل الأحياء الدقيقة الموجودة ومدى هذه المعالجة يعتمد دوماً على الأس الهيدروجيني للغذاء. الأغذية عالية الأس الهيدروجيني (6.4 أو أكثر وتسمى أيضا قليلة الحموضة) تسخن لقتل معظم جراثيم البكتيريا الممرضة *Cl. botulinum* المقاومة للحرارة للتأكد من أن المنتج خالي من الممرضات. وبالرغم من ذلك قد تتواجد جراثيم بعض البكتيريا المفسدة التي تمتلك مقاومة أكبر ضد الحرارة من تلك التي تستطيع جراثيم *Cl. botulinum* احتمالها، لذلك هذه المنتجات تسمى أغذية معقمة تجارياً (بدلا من معقمة والتي تعني خالية من أي كائن حي).

إن الجراثيم الأكثر مقاومة من بكتيريا *Cl botulinum* والتي تستطيع البقاء حية خلال المعاملة هي الجراثيم المحبة للحرارة والتي تستطيع التكاثر عند 43° م أو أكثر، وتستطيع

أن تنمو بكثافة حتى عند درجة حرارة منخفضة تصل إلى 30م°.

مجموعة الأغذية الأخرى المتميزة بانخفاض الأس الهيدروجيني أو عالية الحموضة حيث يصل الأس الهيدروجيني إلى 4.6 أو أقل تعامل حرارياً لقتل كل الخلايا الخضرية وبعض الجراثيم. وبالرغم من أن انخفاض الأس الهيدروجيني يثبط تنشيط الجراثيم وبالتالي نمو *Cl. botulinum* تتمكن جراثيم بعض البكتيريا الحامضية المفسدة والمحبة للحرارة من النشاط والنمو وذلك عند تخزين هذه المنتجات في درجات حرارة أعلى حتى وإن كان لفترة قصيرة من الزمن.

إن بعض الجراثيم البكتيرية المفسدة والمقاومة للحرارة والمحبة للحرارة المعتدلة (شاملةً البكتيريا الممرضة) يمكن أن تبقى حية خلال عملية التسخين لهذه المنتجات ولكن يمكن تثبيط نشاطها بانخفاض الأس الهيدروجيني، سموم الـ *S. aureus* إذا كانت موجودة في المنتجات الخام لا تدمر بواسطة المعاملة الحرارية وبالتالي يمكن أن تسبب التسمم الغذائي بعد استهلاك المنتجات المعلبة.

1.3.15 أسباب الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة

الفساد الميكروبي للأغذية المعلبة يحدث نتيجة ثلاثة أسباب:

أ. التبريد الغير كاف بعد المعاملة الحرارية أو التخزين عند درجة حرارة مرتفعة مما يسمح للبكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة المكونة للجراثيم أن تنشط وتنمو.

ب. عدم كفاءة المعاملة الحرارية مما يؤدي لإبقاء الأحياء الدقيقة المحبة للحرارة المعتدلة (الخلايا الخضرية والجراثيم) حية حيث تنمو عند توفر الظروف المناسبة.

ج. حدوث تسرب في العلب يسمح بحدوث التلوث الميكروبي بعد المعاملة الحرارية حيث يمكن للأحياء الدقيقة الدخول إلى العلب والنمو وإحداث الفساد. وهذا العيب (التنفيس: Leakage) قد يحدث نتيجة للضغط العالي المتكون داخل العلبة الناتج عن التسخين الشديد والذي يضغط على اللحام المزدوج للعلبة ويفتحه قليلاً أو بسبب رداءة عملية اللحام، هذا التنفيس يؤدي إلى فقدان التفريغ Vacuum داخل العلبة ودخول الهواء الذي يشجع نمو الأحياء الدقيقة ويشجع التفاعلات الكيميائية داخل العلب.

2.3.15 الفساد الناتج عن البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة العالية والمكونة للجراثيم

Spoilage by thermophilic spore forming bacteria

البكتيريا المكونة للجراثيم المحبة للحرارة المرتفعة يمكن أن تتسبب في ثلاث أنواع من الفساد للأغذية منخفضة الحموضة(عالية الأس الهيدروجيني) مثل الذرة والبقوليات والبازيلاء وذلك عند تعرض العلب لدرجة حرارة تصل إلى 43° م أو أكثر حتي وإن كان لفترة قصيرة. وأنواع الفساد هي:

1.2.3.15 الفساد الحامضي المسطح Sour Spoilage Flat

في هذا النوع من الفساد تبدو العلب ذات مظهر خارجي عادي ولا تنتفخ ولكن

الغذاء بالداخل يصبح حامضي نتيجة نشاط ونمو بكتيريا *Bacillus stearothermophilus* اللاهوائية الاختيارية، التنشيط يحدث عند ارتفاع درجة الحرارة (43° م أو أكثر) لكن النمو يمكن أن يحدث عند درجة حرارة 30°م أو أكثر، هذه البكتيريا تخمر الكربوهيدرات لتنتج أحماض بدون غاز ولكن مع بعض النكهة الكريه off-flavor والعكارة. ويحدث هذا الفساد عادة في الأغذية قليلة الحموضة Low acid foods مثل الذرة والبازلاء والبقوليات. وقد يحدث هذا الفساد في الأغذية الحامضية أيضا مثل عصير الطماطم الذي تسببه بكتيريا *Bacillus coagulans* وهي بكتيريا محبة لدرجات الحرارة العالية اختيارياً Facultative thermophiles التي تستطيع النمو في العلب المخزنة عند درجة الحرارة العادية في حين البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة العالية إجباراً لا تسبب فساد المعلبات إلا عند التخزين على درجات الحرارة العالية أو عند التبريد البطيء بعد عملية التعقيم.

2.2.3.15 الفساد بالبكتيريا اللاهوائية المحبة للحرارة العالية

Thermophilic anaerobic spoilage (TA spoilage)

هذا الفساد يحدث بسبب نمو بكتيريا *Clostridium thermosaccharolyticum* اللاهوائية مع إنتاج كميات كبيرة من غاز الهيدروجين وغاز ثاني أكسيد الكربون وانتفاخ العلب وتكون حموضة ورائحة الجبنة، وتحدث عملية النشاط والإنبات للجراثيم على درجة حرارة مرتفعة (43° م أو أكثر) تستطيع الخلايا بعد ذلك النمو في درجات حرارة أقل (30° م أو أكثر)، هذه البكتيريا محللة للسكريات كما يتضح من أسمها وتكون أحماض

وغازات (ثاني أكسيد الكربون والهيدروجين) خاصة في الأغذية قليلة ومتوسط الحموضة Low and medium acid foods وتنتج هذه البكتيريا أحماض أثناء نموها مثل حامض الخليك والبيوتريك الكريهة الطعم، إذا زاد الضغط داخل العلبة نتيجة تكون الغازات تمر العلبة بمجموعة من المراحل هي:

أ. الانتفاخ المستتر Flipper

في هذه الحالة مظهر العلبة يكون تقريبا طبيعياً وسطحاً العلبة مقعران قليلاً وعندما تطرق العلبة على سطح صلب يزول هذا التقعر من أحد الطرفين وينتفخ الطرف الآخر على حساب زيادة تقعير الطرف الثاني وذلك بسبب تجمع الغاز في أحد طرفي العلبة.

ب. الانتفاخ اللولبي Springer

وفى هذه الحالة يظهر أحد الطرفين محدب والآخر مقعر ويمكن أن يعود الطرف المحدب إلى حالته الطبيعية عند الضغط عليه ويتحدب الطرف الآخر لعدم وجود غاز كافي لانتفاخ الطرفين، قد يحدث الانتفاخ المستتر واللولبي بسبب عوامل فيزيائية أثناء عملية التعليب هي:

1. الملء الزائد للعلبة بالمادة الغذائية.

2. عدم كفاءة عملية الخلخلة أو التفريغ.

3. ارتفاع درجات الحرارة أثناء تخزين العلب الصفيح.

4. حدوث تغير مفاجئ في درجات الحرارة وفي العموم فإن حدوث هذين الانتفاخيين قد يكون بسبب النشاط الميكروبي أو التفاعلات الكيمائية أو نتيجة السببين معاً.

ج. الانتفاخ اللين Soft swell

في هذه الحالة ينتفخ طرفا العلبة لكن بالضغط على أحد الأطراف بالإصبع يرجع إلى حالته الطبيعية وعندم يزول الضغط يعود التحدب من جديد نتيجة عدم تكون كمية كافية من الغاز لمقاومة ضغط الإصبع.

د. انتفاخ صلب Hard swell

ويحدث هذا النوع عندما يزداد الغاز بدرجة كبيرة تجعل طرفي العلبة محدبان وعند الضغط بالإصبع على أحد الطرفين لا يتغير التحدب بسبب ضغط الغاز المتكون، قد يحدث انبعاج لمنطقة اللحام الجانبي للعلبة وقد يحدث تنفيس في العلبة Leak يسمح بدخول الهواء والميكروبات إلى داخل العلبة.

3.2.3.15 الفساد الكبريتي النتن Sulfide Stinker Spoilage

يحدث هذا الفساد في الأغذية قليلة الحموضة مثل البازلاء والذرة المعلبة، ويحدث بسبب بكتيريا *Desulfotomaculum nigrificans* اللاهوائية السالبة لصبغة جرام والمكونة

للجراثيم المحبة للحرارة العالية إجباراً. الفساد يتميز بأن العبوة تكون مسطحة ولكن المنتج يصبح قاتماً مع رائحة البيض المتعفن نتيجة لتكون غاز كبريتيد الهيدروجين المنتج من قبل هذا النوع من البكتيريا. يُنتج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S من الأحماض الأمينية المحتوية على الكبريت ويذوب الغاز في السائل ويتفاعل مع الحديد ليكون لون أسود من كبريتيد الحديديك، أن النمو والنشاط لهذه البكتيريا على حد سواءً يحدث عند درجة حرارة عالية (43 م° أو أكثر) لهذا يحدث هذا الفساد عند تبريدها ببطء بعد التعقيم أو عند تخزين العلب على درجات حرارة عالية.

3.3.15 الفساد الناتج عن البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المعتدلة والمكونة للجراثيم Spoilage by mesophilic spore forming bacteria

1.3.3.15 الفساد نتيجة الحرارة غير الكافية

المعاملة الحرارية غير الكافية تتسبب في نجاة جراثيم بكتيريا *Clostridium* بشكل رئيسي وبعض أنواع بكتيريا .*Bacillus* spp بعد عملية التصنيع حيث يمكنها النشاط والنمو لتسبب الفساد. إن نمو *Clostridium botulinium* وهي بكتيريا لاهوائية إجبارية يشكل خطراً نتيجة إنتاج سموم قد تؤدي إلى الموت، الفساد يمكن أن يكون إما بسبب تحليل الكربوهيدرات أو البروتين. العديد من بكتيريا .*Clostridium* spp *: Cl. Butyrium.* و *Cl. pasteurianum* يمكنها أن تخمر الكربوهيدرات لتنتج أحماض متطايرة وغاز الهيدروجين وغاز ثاني أكسيد الكربون مسببة بالتالي انتفاخ العلب، أما الأنواع المحللة للبروتين

من الكلوستيريديا مثل *Cl. sporogenes* و *Cl. putrefacience* (وكذلك *Cl. botulinum* المحللة للبروتين) تعمل على أيض البروتينات وتنتج رائحة كريهة من تكون كبريتيد الهيدروجين H_2S وميركابتانات Mercaptans والإندول Indole والسكاتول Skatole والأمونيا وكذلك ثاني أكسيد الكربون والهيدروجين (مسببة انتفاخ العلبة). أما جراثيم بكتيريا *Bacillus* spp. الهوائية الناجية من التسخين الغير كاف لا تنمو في العلب لأن معظمها هوائية كما أن جراثيمها لا تتحمل الحرارة مثل بكتيريا *Clostridium*، درجة حرارة 100م° لفترة قصيرة تقضي عليها إلا قليل منها قد يقاوم هذه الحرارة، وبالرغم من ذلك جراثيم بعض من *Bacillus* spp. اللاهوائية الاختيارية مثل *B. subtilis* و *B. coagulans*، تنمو ويصاحب ذلك إنتاج حمض وغاز (ثاني أكسيد الكربون)، يحدث هذا الفساد في العلب غير تامة التفريغ وفي الأغذية قليلة الحموضة مثل اللحوم والأسماك وأهم الأنواع المسببة لهذا الفساد هي *Bacillus subtilis* و *Bacillus mesentericus* كما أن بكتيريا *Bacillus polymyxa* و *Bacillus macerans* يمكن أن تسبب فساد معلبات الطماطم والسبانخ والبازلاء.

4.3.15 الفساد نتيجة تسرب في العبوة Spoilage Due to Container Leakage

العبوات المحطمة وتلك التي تحتوي على تسرب تسمح لمختلف الأنواع من الأحياء الدقيقة لتصل إلى داخل العلبة بعد المعاملة الحرارية، وجود بكتيريا غير مكونة للجراثيم في الأغذية المعلبة يعتبر دليلاً على أن هناك تنفيس نتيجة عيب في لحام العلبة أو أن المعاملة الحرارية غير كافية لأن غالبية الخلايا الخضرية للبكتريا تموت عند درجة حرارة البسترة ما عدا

الأنواع التي يطلق عليها المقاومة للحرارة Thermoduric مثل بكتيريا *Streptococcus thermophilus* وبعض أنواع من بكتيريا *Microbacterium* و *Lactobacillus* و *Micrococcus* تنمو في الأغذية المعلبة (معلبات الطماطم والكمثرى) التي لم تعامل حرارياً بدرجة كافية مما يؤدي إلى تكوين أحماض وغازات تسبب في انتفاخ العلب.

قد يسبب تنفيس العلب دخول أنواع من البكتيريا التي قد تتواجد أصلاً في الماء الذي تبرد فيه هذه العلب بعد المعاملة الحرارية مثل بكتيريا القولون وبكتيريا *Proteus* و *Flavobacterium* و *Micrococcus* و *Achromobacter* و *Pseudomonas* وغيرها والتي يمكن أن تحدث فساد للغذاء المعلب، تنفيس العلب أو عدم كفاءة المعاملة الحرارية قد يؤدي إلى تلوث الأغذية بالخمائر والفطريات مما يؤدي إلى فسادها، معلبات الفواكه والمربيات والعصائر والحليب المركز المحلي قد تفسد نتيجة نمو الخمائر المخمرة Fermentation yeasts حيث تسبب التخمر الكحولي وإنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون الذي يؤدي إلى انتفاخ العلب، هناك بعض الفطريات تقاوم درجة الحرارة العالية مثل *Byssochlamys fulva* كما وجدت فطريات *Penicillium* و *Aspergillus* في المربيات والجيلي والفواكه المعلبة (FRAZIER, 1968; RAY, 2004 ; JAY et al., 2005).

الفصل السادس عشر

فساد الأغذية بالأنزيمات الميكروبية

الكائنات الدقيقة تقوم باستهلاك مكونات الأغذية مثل الكربوهيدرات والدهون والمواد البروتينية مما يؤدي إلى إنتاج نواتج أيضية تقلل درجة قبول وجودة الأغذية. ويعتبر الغذاء فاسداً عندما تصل أعداد الأحياء الدقيقة إلى حوالى 10^{9-7}/ مل أو جرام أو سم^2 وتحدث هذه التغيرات بواسطة الفعل التحفيزي Catalytic actions لأعداد كبيرة من الأنزيمات الميكروبية المتواجدة أما داخل الخلايا أو خارجها.

1.16 دور الأنزيمات في إفساد الأغذية

يمكن تلخيص دور الإنزيمات في إفساد الأغذية كالتالي:

أ. الأنزيمات الداخلية enzymes Intracellular وهي أنزيمات تعمل على المغذيات التي يمكن أن تنتقل إلى داخل الخلايا عبر عدة ميكانيكيات، معظم الأنزيمات الميكروبية داخلية وتقوم بأيض المغذيات ذات الجزيئات الصغيرة كما أن هناك عدة أنزيمات داخلية تستطيع العمل على الجزيئات الكبيرة مثل الأنزيمات المحللة للأحماض النووية (Endonucleases) ومحللات الروابط الببتيدية والسكرية (Mucopeptidase) والأنزيمات المحللة للدهون (Lipases) والمحللة للبروتين (Proteinases).

ب. الأنزيمات الخارجية Extracellular enzymes والتي بعد تخليقها أما أن تبقى مرتبطة بسطح الخلية أو تفرز في البيئة الغذائية وتقوم بتحليل الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والدهون والكربوهيدرات إلى مركبات صغيرة ثم نقلها إلى داخل الخلايا.

ج. بعد موت الخلايا طبيعياً أو بواسطة تأثير المعاملات الغير حرارية فإن الأنزيمات الداخلية والخارجية لا يحدث لها تثبيط أو تحطم وبذلك تستطيع إفساد الأغذية رغم أن هذه الأغذية لا تحتوي على خلايا بكتيرية حية.

الكثير من خلايا البكتيريا المتواجدة في الأغذية التي تعرضت للتجميد (ثم تم إسالتها) أو للتجفيف (ثم تم ترطيبها) أو الأغذية المخزنة في جو معدل Modified atmosphere أو تم تغليفها تحت تفريغ Vacuum packaging أو تم تبريدها أو حفظت بالضغط الهيدروستاتيكي العالي High hydrostatic pressure أو بطريقة النبضات الكهربائية Electric pulse field أو حفظت بطريقة High-intensity light أو تم إضافة مواد حافظة لها فإن الخلايا يمكن أن تموت وتتحلل وتنطلق منها الأنزيمات الداخلية فإذا خزنت هذه الأغذية لمدة طويلة وتحت ظروف تحفز نشاط واحد أو اكثر من هذه الأنزيمات فإنها تتعرض للفساد.

د. إذا كانت أعداد البكتيريا الأولية في الأغذية قليلة فإن فساد الأغذية بالأنزيمات دون نمو البكتيريا ليس ذو أهمية ولكن إذا كان الغذاء ملوث بأعداد كبيرة من البكتيريا وتعرض لمعاملة أدت إلى قتل البكتيريا ولم تثبط الأنزيمات فإن الغذاء يمكن أن يتعرض للفساد بفعل الأنزيمات.

هـ. في الأغذية المعاملة حرارياً يمكن أن تحتوي الأغذية على عدة أنزيمات ثابتة حرارياً Heat-stable enzymes والتي تحتفظ بنشاطها بعد موت الكائنات الدقيقة وعند تخزين هذه

الأغذية تحت ظروف مناسبة تقوم هذه الأنزيمات بتحليل مكونات الأغذية مسببة الفساد. من بين الأنزيمات الثابتة حرارياً بعض أنزيمات البروتتيز الخارجية extracellular proteinases واللايبيز Lipases والفسفولايبيز Phospholipases الخاصة بعدة أنواع من البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrotrophic bacteria حيث قد تتواجد أنزيماتها في الأغذية المعاملة حرارياً وتسبب فسادها.

2.16 البكتيريا المقاومة للبرودة في الحليب Psychrotrophic bacteria

بعد خضوع الحليب الخام للتبريد بفترة تصبح البكتيريا السالبة المقاومة للبرودة هي السائدة في الحليب وتعرف على أنها البكتيريا القادرة على النمو عند درجات الحرارة قريبة من الصفر المئوي وتشمل بكتيريا سالبة لصبغة جرام *Pseudomonas* و *Achromobacter* و *Aeromonas* و *Serratia* و *Alcaligenes* و *Chromobacterium* و *Flavobacterium* spp. وبكتيريا موجبة لجرام مثل *Bacillus* و *Clostridium* و *Corynebacterium* و *Streptococcus* و *Lactobacillus* و *Microbacterium* وكنتيجة لذلك فإن اختبارات تقدير الجودة الميكروبية مثل اختبار اختزال أزرق الميثلين تصبح غير مجدية وكذلك اختبار تقدير كفاءة البسترة المعتمدة على قياس النشاط الإنزيمي للأنزيمات المقاومة للحرارة مثل الفوسفاتيز القلوي Alkaline phosphatase يصبح بلا معنى لأن البكتيريا المقاومة للبرودة تنتج أنزيم الفوسفاتيز المقاوم للحرارة، ومن المعروف أن الحليب الطازج لا تمثل أنواع الجنس *Pseudomonas* فيه أكثر 10% ولكن تصبح سائدة في الحليب

الخام المبرد والمبستر الفاسد حيث أن لأنواع هذا الجنس أقصر زمن جيلي على درجات حرارة من 0 إلى 7 م° وتستطيع النمو حتى −10 م° وعند تخزين الحليب على 4 م° تستطيع عدة سلالات منها أن تنتج كميات كافية من البروتينيز Proteinases الذى يحلل الكازين إلى ببتيدات Peptides كما أن هذا الجنس له قدرة عالية على تحليل الدهن، وحيث أن منتجات الألبان في معظم الدول يتم تصنيعها من الألبان المخزنة بالتبريد فإن المشاكل الأساسية في فساد هذه المنتجات تكون بسبب البكتيريا المقاومة للبرودة وأنزيماتها، الجدول رقم (1.16) يوضح أهم مظاهر تأثير البكتيريا أو أنزيماتها بعد المعاملة الحرارية على منتجات الألبان المختلقة.

وحظيت البكتيريا المقاومة للبرودة باهتمام كبير نظراً لدورها البارز في فساد الأغذية المبردة وقدرتها على تحليل الدهن والبروتين في الأغذية وقدرة هذه الأنزيمات على مقاومة المعاملات الحرارية. ففي دراسة أجريت على عينات من الحليب الخام المأخوذة من خزانات لبن خام من أحد المزارع في إسكتلندا ومن أحد مصانع الزبد أوضحت النتائج أن البكتيريا السالبة لصبغة جرام شكلت حوالي 90% من العزلات البكتيرية وأن البكتيريا السائدة هي من جنس *Pseudomonas* وخاصة النوع *P. fluorescens* والذي رغم أنه ينمو على درجة من 25 إلى 30م° إلا أنها قادرة على النمو عند درجة حرارة فوق الصفر بقليل كما أن أكثر من 70% من عزلات هذا النوع تمتلك أنزيمات محللة للدهن وأخرى محللة للبروتين.

جدول (1.16): تأثير البكتيريا المقاومة للبرودة وأنزيماتها على جودة منتجات الألبان نتيجة نموها في الحليب قبل المعاملة الحرارية

نوع المنتج	العدد الكلي للبكتيريا المقاومة للبرودة في الحليب الخام لو.و.ت.م/ مل	التأثير على الجودة
الحليب المعامل بحرارة فائقة الارتفاع	5.9	تخثر بعد حوالي 20 أسبوع
	6.9 – 7.2	تكون قوام الجلي بعد 2 إلى 10 أسابيع تدهور الطزاجة وتكون العكارة وظهور الطعم المر
الحليب المخفف	7.0 – 6.3	انخفاض الثبات الحراري وزيادة سعة تكوين الرغاوى في الحليب المسترجع
الحليب المبستر	5.5	تكون طعم سيء مقارنة بطعم الحليب المبستر من الحليب الطازج
	8 - 7	قصر فترة الصلاحية
الجبن الصلب	7.5 – 6.5	تزنخ
	8.3 -7.7	تزنخ وطعم صابوني، انخفاض إنتاجية الجبن
جبن الكوتج	8.7 – 5	ظهور الطعم المر
اليوغرت	7.8 – 7.6	المرارة وطعم الفاكهة

المصدر: مختصر عن SORHAUG & STEPANIAK (1997)

1.2.16 خصائص الأنزيمات الثابتة حرارياً للبكتيريا المقاومة للبرودة

البكتيريا المقاومة للبرودة يمكن أن تلوث الأغذية من مصادر أهمها المياه معدات الأغذية والبيئة المحيطة. اللبن الخام المحتوي على أعداد ابتدائية عالية من البكتيريا المقاومة للبرودة المخزن على أقل من 7م° يشهد زيادة أعدادها واعتماداً على الأنواع ودرجة حرارة التخزين فأن البكتيريا يمكن أن تنتج كمية كافية من الأنزيمات الخارجية الثابتة حرارياً، ومع أن هذا اللبن يبدو غير فاسد فإن المنتجات المصنعة منه يمكن أن تفسد بعد المعاملة الحرارية مثل البسترة أو معاملة الحرارة فائقة الارتفاع Ultrahigh Heat Treatments (UHT) حيث تقتل البكتيريا وتبقى أنزيماتها الثابتة حرارياً، وجود هذه الأنزيمات يعتبر من أهم عوامل

الخسائر الاقتصادية في مجال الألبان.

من أهم البكتيريا المنتجة لهذه الأنزيمات هي الأنواع التابعة للأجناس *Flavobacterium* و (*Alteromona*) *Shewanella* و *(Pseudomonas fluorescens,* *Pseudomonas (P. fragi)* و *Aeromonas* و *Serratia* و *Acinetobacter*، وتنتج أنزيمات البروتينز الخارجية الثابتة حرارياً Heat-stable extracellular proteinases، وبكتيريا *Serratia* و *Acinetobacter* و *Shewanella* و *Pseudomonas* و *Alcaligenes* تنتج أنزيم اللابيز الثابت حرارياً Heat-stable lipases، العديد من هذه الأجناس يمكن أن تتواجد في أغذية أخرى مثل اللحوم والأسماك وغيرها.

الأنزيمات يمكن أن تفرز في اللبن الخام المبرد (1–7 مْ) بكميات كافية لتحليل البروتين والدهن بمستويات ملحوظة خلال 3 إلى 7 أيام، نشاط أنزيم البروتينيز يكون أعلى عند أس هيدروجيني ما بين 0.6 - 0.7 ومدى نشاط ما بين 0.5 إلى 0.9 عملية البسترة للحليب (63 مْ لمدة 30 دقيقة أو 71 مْ لمدة 15 ثانية) تؤدي إلى فقد من 6 - 36 % من أنزيم البروتينيز، التسخين على 121 مْ لمدة 10 دقيقة لا يقضى على هذا الأنزيم كذلك المعاملة الحرارة فائقة الارتفاع (UHT) (140 إلى 150 مْ لمدة 1 إلى 5 ثانية) فشلت في القضاء نهائياً على أنزيم البروتينيز المنتج من بعض الأنواع والسلالات من بكتيريا *Pseudomonas* وغيره من البكتيريا المقاومة للبرودة، أما أنزيم اللاييز فإنه يثبط جزئياً فقط بواسطة البسترة أو بواسطة تسخين الكريم على 90° م لمدة دقيقتين، ومن أهم خصائص

الأنزيمات الثابتة حرارياً:

أ. وجد أن قدرة الأنزيمات الناتجة من البكتيريا المقاومة للبرودة على مقاومة المعاملات الحرارية لا تتوقف على مرحلة النمو أو ظروف نمو البكتيريا المنتجة لها أو درجة حرارة النمو، فمثلاً سُجل اختلاف بسيط في قدرة أنزيم Protease الخارجي المنتج بواسطة البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrotrophs على الثبات حرارياً وذلك عندما نميت البكتيريا على 2 أو 30مْ ولذلك فإن بكتيريا الفساد المتواجدة في الحليب الخام لها قدرة على إنتاج هذه الأنزيمات بغض النظر عن ظروف النمو.

ب. أنزيمات البروتينيز Proteinases والليبيز Lipase الفوسفاتيز phosphatase المنتجة من بكتيريا *Pseudomonas* spp عند التبريد تفرز عند نهاية مرحلة النمو اللوغاريتمي، هذه البكتيريا لها مرحلة خمول قصيرة على درجات حرارة التبريد ومرحلة طويلة للنمو الثبات وبذلك تستطيع أن تنمو لمدة طويلة في متبقيات الحليب.

ج. معظم بكتيريا *Pseudomonas* spp تنتج نوع واحد من البروتييز وهي أنزيمات تكون نشطة عند الحرارة المنخفضة.

د. أنزيم البروتينيز وجد في الحليب المخفف إلى 5000 مرة وبذلك يستطيع أن يتراكم في خطوط الأنابيب وتنكات تخزين الحليب غير النظيفة أو غير المطهرة جيداً.

هـ. البروتينيز واللايبيز المنتج من البكتيريا المقاومة للبرودة حساسان لدرجة الحرارة من 50 إلى

60 م° أكثر من حساسيتهما لدرجات الحرارة العالية التي تصل إلى أكثر من 100م°.

و. أنزيمات البروتييز يمكن أن تستعيد نشاطها جزئياً بعد المعاملة الحرارية.

الجدول (2.16) يوضح نتائج أحد الدراسات والتي أجريت لتقييم تأثير المعاملات الحرارية المختلقة على نشاط الأنزيمات المتواجدة في مستخلصات البكتيريا (المأخوذة من 46 عزلة من البكتيريا) الخالية من الخلايا والتي عوملت بالبسترة أو الحرارة فائقة الارتفاع (UHT)، ويلاحظ أن البروتينيز أكثرها ثباتاً عند المعاملات الحرارية بينما Phospholipase C أقلها ثباتاً، وأن المعاملة بالحرارة فائقة الارتفاع أكثر فعالية من البسترة.

جدول (2.16): النسبة المئوية لنشاط متبقيات الأنزيمات للمستخلصات البكتيرية بعد المعاملات الحرارية

النشاط الإنزيمي%		
نوع الإنزيم	البسترة	الحرارة فائقة الارتفاع UHT 140م لمدة 5 ثواني
البروتينيز Proteinase	66	41
اللايز Lipase	59	31
تحلل الدهون المفسفرة Phospholipids (phospholipase C)	30	21

المصدر: معدل من KILCAST & SUBRAMAMIAM (2000)

كما وجد في نفس الدراسة أن نسبة نشاط هذه الأنزيمات لبكتيريا *Acinetobacter* و *Aeromonas* و *Bacillus* كانت الأقل حيث انخفضت إلى ما تحت 10%، أما بكتيريا *Pseudomonads fluorescent* السائدة في الحليب المبرد وبعد المعاملة الحرارة الفائقة الارتفاع كان لها نشاط أنزيمي تراوح من 14 إلى 51%.

أنزيمات البروتييز الثابتة حرارياً الناتجة من البكتيريا المقاومة للبرودة تختلف في مادة

التفاعل ومعدل تحللها، البروتييز من *Pseudomonas* spp يفضل العمل على كازين اللبن، هناك سلالات من هذه البكتيريا تحلل البيتا كازين β-casein وأخرى تفضل العمل على الكابا كازين k-casein أنواع وسلالات من بكتيريا *Flavobacterium* و*Aeromonas* و *Serratia* أظهرت اختلاف مبدئي في تحليلها للكابا والبيتا كازين بينما آخر من يُحلل هو ألفا كازين.

أنزيم الليبيز من الأنواع المختلفة من البكتيريا المقاومة للبرودة يختلف في تخصصه للدهون فمثلاً الليبيز من سلالة بكتيريا *P. fragi* يحلل الأحماض الدهنية من المواقع 1 للجليسيدات الثلاثية بينما أنزيمات من سلالات أخرى تحلل الجليسيدات الثلاثية فقط من الموقع 1، وجد في السنوات الأخيرة أن بعض منتجات اللحوم والدواجن الخام والتي خزنت بالتبريد على درجة من 0 إلى −1 م° لمدة 28 يوم أو على التجميد إلى −20 م° لمدة 90 يوم قد أظهرت عيوب في الرائحة والطعم قبل أن تصل إلى نهاية صلاحيتها، التحليل الميكروبي للمنتجات الخام التي طرأ عليها العيوب رجح إن هذه المنتجات قد فسدت نتيجة فعل الأنزيمات البكتيرية عند درجات حرارة التخزين وأن هذه الأنزيمات قد تم إفرازها من البكتيريا في المنتجات الطازجة قبل التخزين وطول مدة التخزين أدت إلى فسادها بهذه الأنزيمات. التخزين على درجات حرارة منخفضة يمكن أن يؤدي إلى موت الخلايا البكتيرية أن وجدت وتحلل الخلايا الميتة يؤدي إلى تحرر الأنزيمات الداخلية وبعض هذه الأنزيمات يمكنه أن يكون نشط تحت ظروف التخزين لمدة طويلة على درجات الحرارة المنخفضة وبالتالي يسبب فساد هذه الأغذية.

3. 16 فساد الأغذية بالأنزيمات الثابتة حرارياً

1.3.16 الحليب المبستر

أنزيمات البروتييز واللايبيز الثابتة حرارياً لا تتأثر بالبسترة مما يؤدي إلى تحليل بروتين ودهن اللبن وظهور العيوب في الحليب المبستر المخزن على التبريد، لا تظهر هذه العيوب إلا بعد التخزين لمدة طويلة للمنتج، قد يحدث تلوث للحليب بعد البسترة بالبكتيريا المقاومة للبرودة مما يؤدي إلى تكاثرها في الحليب المبستر أثناء التخزين لمدة طويلة وإحداث الفساد مما يصعّب من عملية نسب الفساد إلى الأنزيمات أو البكتيريا، وكقاعدة عامة لا يجب تصنيع منتج من لبن خام يحتوي على عدد كلي للبكتيريا يزيد عن 10^6 وحدة مكونة للمستعمرة/ مل (و.ت.م/مل).

2.3.16 الحليب المعامل بالحرارة فائقة الارتفاع

Ultrahigh temperature treatments (UHT)

الحليب المعامل بهذه المعاملة (140 – 150 م° لمدة 1 – 5 ثواني) يعتبر معقماً تجارياً وله مدة حفظ تصل إلى ثلاثة اشهر على20 م°، ومظاهر فساد هذا المنتج بفعل الأنزيمات الثابتة حرارياً تتمثل في تكون طعم مر وترسبات وتكون جل نتيجة لفعل أنزيمات البروتييز وكذلك قد تتكون رائحة التزنخ Rancid flavor نتيجة لنشاط أنزيم اللايبيز.

زمن فساد هذا النوع من الحليب بواسطة أنزيمات البروتييز يعتمد على أعداد

وأجناس بكتيريا .*Pseudomonas* spp النامية في الحليب قبل المعاملة الحرارية، إذا وجد أنزيم الفوسفلابيز Phospholipases في الحليب فإنه يسرّع من عمل اللايبيز نتيجة أن الأول يحلل الفسفوليبيدات المتواجدة في غشاء حبيبات الدهن معرضاً الدهن أكثر لفعل أنزيم اللايبيز.

3.3.16 الجبن

وجود هذه الأنزيمات في اللبن المعد لصناعة الجبن يؤدي إلى تحليل بروتين اللبن بواسطة أنزيمات البروتييز الثابتة حرارياً مما يؤدي إلى تقليل إنتاجية الجبن وزيادة المركبات النيتروجينية في الشرش. الخسائر في إنتاجية الجبن قد تصل إلى 5% ويتوقف هذا على مستوى تحلل الكازين، هذه الأنزيمات ترتبط بعدة مشاكل في النكهة وفي القوام لجبن الشيدر، وجد أن روائح نابّجة عن التزنخ قد ظهرت في جبن الشيدر بعد 16 أسبوع من التخزين عندما صنع من حليب خام كانت أعداد البكتيريا المقاومة للبرودة فيه وصلت من 2 إلى 8×10^6 و. ت. م /مل.

4.3.16 منتجات الألبان المتخمرة

اللبن المتخمر واليوغورت المصنع من حليب ملوث بالبكتيريا المقاومة للبرودة قبل المعاملة الحرارية في العموم له قوام ضعيف وسرعة تكون للروائح غير المرغوبة فيه أثناء التخزين رغم أن له أس هيدروجيني منخفض ومخزن على درجة حرارة منخفضة، هذه المشاكل ترجع إلى وجود البروتييز الثابت حرارياً.

5.3.16 الكريم والزبد

الكريم والزبد حساسان لأنزيم اللابيز الثابت حرارياً وهو المسؤول عن عيوب النكهة والروائح غير المرغوبة Off-flavor، أنزيمات اللابيز الخارجية المفرزة من البكتيريا المقاومة للبرودة تركيزها في الكريم يزداد مما يؤدي إلى ظهور نكهات غير مرغوبة في الكريم. الزبد المحتوي على بقايا من اللايبيز الثابت حرارياً يتعرض للتحلل بسرعة حتى بالتخزين عند – 10م°.

6.3.16 الحليب المجفف

الأنزيمات الثابتة حرارياً المتواجدة في اللبن الخام لا تثبط أثناء عملية تجفيف الحليب. النشاط المائي المنخفض للحليب المجفف يمنع هذه الأنزيمات من تحليل البروتين أو الدهن في الحليب المجفف، الحليب المجفف يستخدم كأحد المكونات الداخلة في تصنيع الكثير من المنتجات مثل المخبوزات والحلويات والمثلجات اللبنية والشوكولاتة وغيرها فإذا احتوى الحليب المجفف على هذه الأنزيمات فإن هذه المنتجات يمكن أن تظهر نكهات غير مرغوبة وعيوب في القوام نتيجة نشاط هذه الأنزيمات أثناء التخزين.

الأنزيمات البكتيرية يمكن أن تكون مقاومة للمعاملات الفيزيائية والكيميائية التي تجرى على الأغذية وتستطيع أن تبقى نشطة تحت ظروف التخزين لمدة طويلة وحيث أن فعل هذه الأنزيمات يمكن أن يسبب خسائر اقتصادية كبيرة فإن هناك حاجة ماسة للكشف عن

وجود الخلايا الحية إلى جانب الكشف عن وجود أنزيماتها للتنبؤ بمدة صلاحية الأغذية المختلفة.

4.16 خفض تأثير الأنزيمات الثابتة حرارياً

للقضاء على التأثير السلبي للأنزيمات الثابتة حرارياً الذى يقلل من جودة المنتجات الغذائية ويقلل من مدة صلاحيته يجب اتخاذ الإجراءات التالية:

أ. المعاملة الحرارية عند 55م° لمدة ساعة أحدثت انخفاضاً ملحوظاً في نشاط إنزيم البروتتيز في الألبان ولكن المعاملة الأكثر فعالية هي استخدام معاملة الحرارة فائقة الارتفاع (140–150 م° لمدة 1–5 ثواني) متبوعة باستخدام درجة حرارة منخفضة 55 م° لمدة ساعة حيث تخفض هذه المعاملة نشاط أنزيم البروتييز واللابيز إلى 17 و 3 % على التوالي.

ب. في صناعة الزبد وبعد المعاملة الحرارية للكريم يجب أن يكون العدد الكلي للبكتيريا أقل من 10^3و.ت.م/مل وأن يخزن الزبد الناتج على –25 م°.

ج. في صناعة الحليب المجفف يجب أن لا يزيد العدد الكلي للبكتيريا في الحليب الخام عن 2×10^6 و.ت.م/مل حتى لا يبدأ نشاط الأنزيمات الخارجية للبكتيريا المقاومة للبرودة.

وعلى العموم عندما تتواجد أنزيمات بكتيرية نشطة في المنتج فإنه من الصعب تثبيط نشاطها كاملاً ولذلك يجب التركيز على قياس قدرتها على التحليل Degradative ability.

5.16 التحكم في البكتيريا المقاومة للبرودة وأنزيماتها

للتحكم في ضرر الأنزيمات البكتيرية المقاومة للبرودة لابد من اتخاذ عدة تدابير وهي:

أ. تطبيق الممارسات الصحية الجيدة في مصانع الأغذية وتطبيق نظام الهاسب HACCP System الذي يضمن إنتاج الحليب تحت ظروف صحية كاملة وحفظة مباشرة على 4م° أو أقل.

ب. التخلص من البكتيريا أو تقليل أعدادها باستخدام أحد الطرق المعروفة وتشمل البسترة أو المعاملة بالحرارة فائقة الارتفاع أو الترشيح أو الطرد المركزي.

ج. يمكن أن يضاف للحليب فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide والثيوسيانيد Thiocyanate وذلك لتحفيز وتنشيط نظام اللاكتوبيروكسيديز Lactoperoxidase system المضاد للميكروبات والمتواجد طبيعياً في الحليب.

د. إضافة سلالات معينة من البكتيريا المنتجة للبكتيريوسين Bacteriocin- producing strains مثل Lactococci أو Thermophilic Lactobacilliو التي لا تنمو في المبردات ولكن لها تأثير مضاد عند درجات الحرارة المنخفضة لنمو البكتيريا المقاومة للبرودة.

هـ. معاملة الحليب بثاني أكسيد الكربون أو النيتروجين تقلل من إفراز البروتينيز Proteinases عند درجات الحرارة المنخفضة.

الجمع ما بين تطبيق الحرارة فائقة الارتفاع والمعاملة بالحرارة المنخفضة أدى إلى زيادة مدة صلاحية الحليب. يعامل الحليب بدرجة حرارة فائقة وهي 140م° لمدة 5 ثواني ثم يبرد إلى 60 م° لمدة 5 دقائق وتؤدي هذه الطريقة لتثبيط أنزيمات البروتتيز واللايبيز في الحليب المحتوي على بكتيريا *Pseudomonas* spp وغيرها من البكتيريا المقاومة للبرودة. ووجد أن هذه الطريقة زادت مدة صلاحية الحليب الرديء (6×10^6 خلية/ مل) المعامل بالحرارة الفائقة من 3 أسابيع إلى 8 أسابيع (مقاسة بتطور النشاط الإنزيمي المحلل للبروتين) ومن 10 إلى 80 أسبوع (مقاسة بتطور النشاط الإنزيمي المحلل للدهن).

.(BUCKY et al. 1988; RAY, 2004; SPECK & ADAMS, 1976)

الفصل السابع عشر

التسمم الغذائي

Food Poisoning

1.17 مقدمة

التسمم الغذائي عبارة عن مجموعة من الأمراض الناتجة عن تناول الغذاء أو الماء وقد يكون التسمم مصحوباً بأعراض خفيفة أو ظهور أعراض مرضية واضحة. قد تكون الأمراض المنقولة بالأغذية مميتة أو تسبب المعاناة وقله الراحة والوهن بين الناجين بالإضافة إلى أنها قد تؤدي لحدوث خسائر اقتصادية مثل تكاليف العلاج الطبي والدعاوى القضائية ونقص في الأجور والإنتاج وفقدان العمل وتدمير المنتجات كما أن التحقيق في وقوع تفشيات قد يكون مكلف جداً. ففي الولايات المتحدة مثلا التكلفة السنوية للأمراض المنقولة بالأغذية تقدر بحوالي 20 مليار دولار.

في عام 1992 عرّفت وزارة الصحة البريطانية التسمم الغذائي على أنه "أي مرض سواءً كان ذا طبيعة سامة أو من طراز العدوى قد يحدث بسبب تناول الغذاء أو الماء وتظهر أعراضه سريعاً" وقد أقرّت منظمة الصحة العالمية (WHO) هذا التعريف، ويحدث التسمم الغذائي للإنسان عن طريق تناول الغذاء والذي يحتوي أحد مسببات المرض التالية:

أ. استهلاك المواد الغذائية والمياه التي تحتوي على الأحياء الدقيقة المسببة للأمراض أو سمومها.

ب. ابتلاع الطحالب المسببة للأمراض والطفيليات وسمومها عن طريق الغذاء.

ج. أسباب أخرى غير الأحياء الدقيقة الممرضة وسمومها مثل: السموم الموجودة طبيعياً في كثير من الأغذية وجود المعادن الثقيلة وبعض المبيدات في الأغذية والحساسية لبعض المكونات الطبيعية مثل الحساسية لماده الجلوتين الموجودة في الحبوب مما يؤدي إلى اضطرابات الجهاز الهضمي عند استهلاك الغذاء المحتوي على الجلوتين أو عدم القدرة على هضم اللاكتوز بسبب عدم إنتاج إنزيم اللاكتيز مما يؤدي إلي اضطرابات في الجهاز الهضمي (عدم تحمل اللاكتوز).

2.17 الأمراض الميكروبية المنتقلة عن طريق الأغذية Microbial foodborn Disease

الأمراض الميكروبية المنتقلة عن طريق الأغذية هي الأمراض التي تصيب الإنسان والناجمة عن استهلاك الأغذية الملوثة بعوامل أخرى غير العوامل الكيميائية أو السمية وتعرف على أنها: حالة مرضية حادة تظهر في الغالب في صورة اضطرابات معوية معدية gastrointestinal disorders مثل القيء والإسهال وآلام البطن وتظهر هذه الأعراض خلال وقت قصير (عادة ساعات أو أيام قليلة) نتيجة تناول أغذية أو مياه تحتوي على الميكروب الممرض أو سمومه وفي الغالب يحدث نمو سريع لهذه الميكروبات (ماعدا الفيروسات والطفيليات) في الغذاء.

ولم يفهم دور الأحياء الدقيقة في الأمراض المنقولة بالأغذية ألا بعد أن اكتشف باستير دور هذه الأحياء في الغذاء وهذا ساعد كثيراً في البحث عن وعزل العامل الممرض من الأغذية

المسببة للتسمم باستعمال تقنيات مناسبة، وقبل القرن العشرين تم عزل السالمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية من الغذاء وذلك بسبب ارتفاع معدل التسمم بشكل كبير من هذه الأنواع من البكتيريا كما تم عزل البكتيريا *Clostridium botulinum* بسبب معدل الوفيات المرتفع من التسمم الغذائي Botulism الناتج من هذه البكتيريا.

في وقت لاحق تم التعرف على عدد كبير من البكتيريا المسببة للأمراض والفطريات المنتجة للسموم والفيروسات الممرضة وتم تعريفها كعوامل ممرضه تنقل الأمراض عن طريق الأغذية كما اكتشف مؤخراً عدد قليل من البكتيريا والفيروسات الجديدة المسببة للأمراض.

التطورات في إنتاج الأغذية وتصنيعها وتسويقها والتغيرات في استهلاك الغذاء بالإضافة إلى معرفة خصائص هذه الأحياء الدقيقة وتطور التقنيات الفعالة للكشف عنها كل ذلك ساعد في التعرف على دور بعض العوامل الممرضة الجديدة في الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية، وعلى أي حال سيكون هناك دائما ممرضات جديدة وبالتالي هناك سعي لتطوير طرق للسيطرة على مسببات الأمراض الموجودة حتى يتم الانتباه لأي ممرضات جديدة.

1.2.17 أنواع الأمراض الميكروبية المنقولة بالأغذية

تنتج الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية في الإنسان من استهلاك الغذاء والماء الملوث بالخلايا البكتيرية الممرضة (أو الجراثيم في حالة التسمم البوتشليني في الأطفال:

infant botulism) أو الأغذية التي تحتوي على السموم التي تنتجها البكتيريا والأعفان، بالاعتماد على أساس النمط الإمراضي يمكن تقسيم الأمراض الميكروبية إلى ثلاث مجموعات:

أولاً: التسمم Intoxication

ويحدث هذا النوع من التسمم بعد تناول الأغذية التي تحتوي سماً (Toxin) سبق وأن أفرزته بعض أنواع البكتيريا أو الفطريات في الغذاء قبل تناوله، وعند استهلاك المواد الغذائية لا يتم الاحتياج للخلايا الحية لحدوث المرض، واهم الأمثلة المعروفة على هذا النوع من التسمم هو التسمم البوتيوليني Botulism الذي تسببه بكتيريا *Clostridium botulinum* والتسمم الغذائي العنقودي الستافيللي *Staphylococci* الذي تسببه البكتيريا المرضية *Staphylococcus aureus* والتسمم بسم الافلاتوكسين Aflatoxin أحد اهم أنواع السموم الفطرية Mycotxins والذي تفرزه أنواع من فطر *Aspergillus flavus* وفطر *Penicillium expansum*.

ثانياً: العدوى Infection

يحدث المرض في هذه الحالة نتيجة لاستهلاك الغذاء والمياه الملوثة بالبكتيريا المعوية الممرضة أو الفيروسات حيث انه من الضروري أن تكون خلايا البكتيريا المعوية الممرضة حية في الغذاء أو الماء خلال استهلاكه، حتى أن الخلايا الحية إذا وجدت بأعداد صغيرة لديها القدرة على النمو والتكاثر في الجهاز الهضمي لتسبب المرض كما في حالة عدوى السالمونيلا

Salmonellosis والالتهاب الكبدي A (Hepatitis A).

ثالثاً: العدوى السامة Toxic infection

في هذه الحالة يحدث المرض من تناول عدد كبير من الخلايا الحية لبعض البكتيريا الممرضة عن طريق الغذاء والماء الملوث. عموما الخلايا البكتيرية سواء كانت متجرثمة أو كانت ميتة تفرز السموم لإنتاج الأعراض مثل الالتهاب المعوي gastroenteritis الناتج عن بكتيريا *Cl. perfringens* بالإضافة إلى الأحياء الدقيقة الممرضة المشتركة في تكوين الأمراض المنقولة عن طريق الغذاء فأن بعض الأنواع البكتيرية وسلالاتها والتي طبيعيا تعتبر غير ممرضه nonpathogenic ولكنها لها القدرة على أن تسبب التهابات في القناة الهضمية وخاصة في الأشخاص الأكثر حساسية للإصابة وتم تصنيفها كممرضات انتهازية opportunistic pathogens وهي عادة تحتاج إلى أن تكون حية وتتواجد بأعداد كبيرة عند استهلاكها في الغذاء الملوث.

استهلاك غذاء ملوث بالفيروس يؤدي إلى عدوى فيروسية أما بالنسبة للعامل الممرض البكتيري أو الفطر المنتج للسم فأن الغذاء الملوث في هذه الحالة يدعم النمو الميكروبي ويتعرض لفترة معينة من الزمن إلى درجه الحرارة المناسبة لتمكين الممرضات من النمو، ومع ذلك في بعض العوامل الممرضة مثل *E.coli* O157: H7 لا يكون النمو ضروري لكي يسبب العدوى نمو بعض الممرضات قد لا يغير لون ونكهة ورائحة الغذاء (مثل *S.aureus*) وبالتالي قد يستهلك

الأشخاص الغذاء بدون المعرفة بوجود ممرضات به ومن ثم تظهر عليهم أعراض الأمراض المنقولة بالغذاء.

بالنسبة للتسمم Intoxication ينبغي النمو أن يصل إلى مستوى كاف لإنتاج المادة السامة بكمية كفاية بحيث عند استهلاك الغذاء الملوث تظهر الأعراض على الشخص.

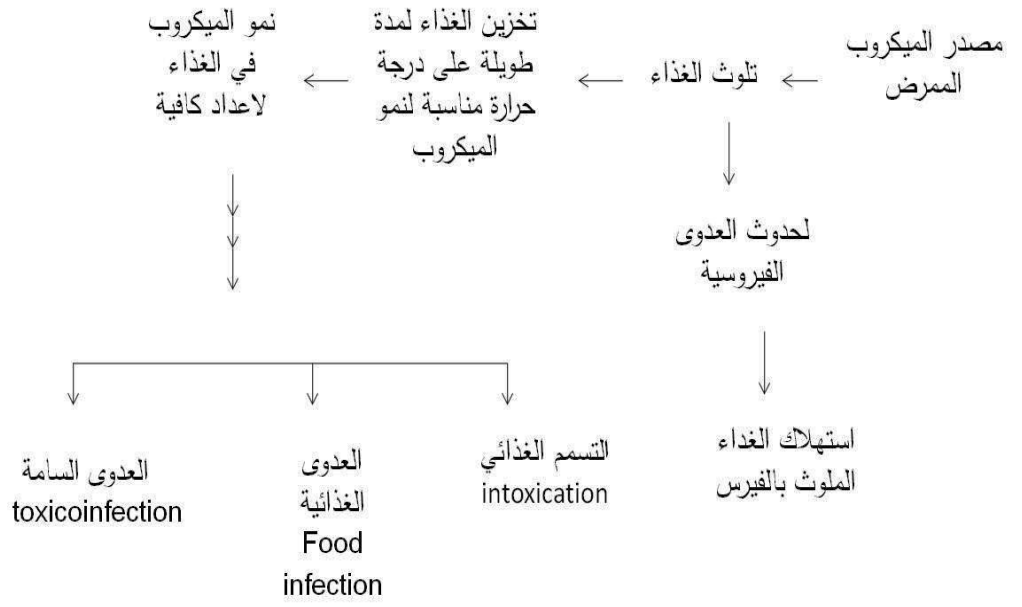
بالنسبة للعدوى البكتيرية فإن الخلايا الحية للعامل الممرض يجب أن تستهلك بأعداد كافية لكي تظهر الأعراض على الشخص.

بالنسبة للعدوى السامة toxic infection الخلايا الحيه ينبغي أن تستهلك بأعداد كبيرة جداً (وذلك للميكروب الذي لا يمكن أن يتكاثر في الجهاز الهضمي مثل *Cl. perfringes* أو بأعداد معقولة (لتلك التي يمكن أن تضاعف في الجهاز الهضمي مثل *Vibrio cholera*) وبالتالي السموم التي يتم إفرازها في الجهاز الهضمي هي التي تسبب ظهور الأعراض، والشكل (1.17) يوضح تسلسل مراحل حدوث الأمراض المنقولة بالأغذية بواسطة البكتيريا المرضية والفيروسات.

3.17 العوامل البشرية في أعراض الأمراض المنقولة بالغذاء

عندما تستهلك مجموعة من الأشخاص غذاء ملوث بخلايا حية من العامل الممرض أو سمومه بعض هؤلاء الأشخاص لا تظهر عليهم أعراض المرض ولكن البعض الأخر تظهر عليهم

الأعراض وقد لا تظهر عليهم نفس الأعراض بنفس شدتها، وهذا عادة يختلف على حسب مقاومة الأشخاص بالإضافة إلى أن أحد العوامل المهمة في تطور الأعراض من استهلاك غذاء ملوث عند بعض الأشخاص هو الحساسية الزائدة للمرض عند هؤلاء الأشخاص، بشكل عام الرضع وكبار السن والمرضى والأشخاص ذوي المناعة المنخفضة لديهم قابليه أكثر للمرض مقارنة بالأشخاص الطبيعيين والأصحاء، فرصة زيادة أعراض المرض لها علاقة بشكل مباشر بكمية المواد الغذائية الملوثة المتناولة. وهذا يرتبط بعدد الخلايا الحية للعامل الممرض أو كمية السم التي يستهلكها الفرد حيث أن شده السمية للعامل الممرض أو السم المستهلك من خلال الغذاء يحدد أيضا ظهور المرض وشدة الأعراض.



شكل (1.17): تسلسل المراحل المؤدية لحدوث الأمراض المنقولة بالأغذية بواسطة البكتيريا المرضية والفيروسات

المصدر: Ray, (2004)

بعض الممرضات عالية السمية مثل *E.coli* O157 : H7 واستهلاك كميه قليلة تصل إلى 10 خلايا حية يمكن أن يسبب المرض في الرضع على خلاف بعض الممرضات مثل *Yersinia enterocolitica* والتي استهلاكها بكميه كبيرة قد تصل إلى مليون أو أكثر شرط لظهور أعراض المرض.

4.17 التسمم الغذائي الميكروبي Foodborne intoxication

يحدث التسمم الغذائي الناتج من مصادر ميكروبية عن طريق تناول أغذية محتويه على مواد سامة، هناك بعض الخصائص العامة للتسمم الغذائي:

أ. يتم إنتاج المادة السامة من قبل العامل الممرض في حين أن النمو يكون في الغذاء.

ب. السم قد يكون حساس للحرارة أو ثابت حرارياً.

ج. يحدث التسمم الغذائي من خلال تناول الأغذية التي تحتوي على السم (باستثناء تسمم الرضع infant botulism حيث لحدوث مثل هذا النوع من السم ينبغي وجود الجراثيم).

د. تحدث أعراض التسمم الغذائي عادة بسرعه وفي 30 دقيقة بعد الأكل.

هـ. تختلف الأعراض على حسب نوع السم حيث أن السموم المعوية enterotoxins تنتج أعراض معوية والعصبية neurotoxins تنتج أعراض عصبية وأعراض الحمى عاده غير موجودة.

ومن الملاحظ أن حالات التسمم الغذائي ارتفعت على مستوى العالم في الآونة الأخيرة ويرجع ذلك إلى الزيادة في عدد السكان وتطور عوامل الإنتاج والخدمات العامة ومشاركة المرأة للرجل في العمل خارج المنزل بالإضافة إلى تغيير الأنماط الاستهلاكية للغذاء والذي أدى إلى أن

هناك فئة كبيرة من الناس تتناول عدد أكبر من الوجبات الغذائية خارج المنزل في المطاعم ومحلات إعداد الأطعمة بأنواعها وظهور ظاهرة ما يسمى بالتغذية الجماعية، ففي الولايات المتحدة تقدر حالات الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية foodborne illnesses بحوالي 76 مليون حالة سنويا وأكثر من 5,000 حالة وفاة، وطبقا لمنظمة الصحة العالمية (WHO) تسبب الأمراض المنقولة بالمياه حوالى 1.7 مليون وفاة حول العالم كلّ سنة، أغلب هذه الوفيّات من حالات الإسهال خصوصا بين الأطفال في الدول النامية، ويمثل التسمم الغذائي البكتيري أغلب حالات التسمم المسجلة حيث يمثل اكثر من 70% من حالات التفشي واكثر من 90% من الإصابات المرضية من إجمالي حالات التسمم الغذائي، وتدل الإحصائيات على أن اهم العوامل المسببة للتسمم الغذائي البكتيري هي *Salmonella* spp يليها *Staphylococcus aureus* و *Clostridium botulinum* وذلك في أوروبا وأميركا بينما في الهند العامل الأول المسبب للتسمم هو *Staphylococcus aureus*. كما أن هناك عوامل مسببة للتسمم الغذائي البكتيري تعتبر حديثة نسبيا مثل:

Vibrio parahaemolyticus و *Yersinia enterocolitica* و *Campylobacter jejuni* و *Listeria monocytogenes*.

في هذا الجزء سيناقش نوعين من التسمم الغذائي من أصل بكتيري وهما التسمم

الاستافيللي (العنقودي) Staphylococcal intoxication والتسمم البوتشليني Botulism والتسمم الفطري المنشأ mycotoxicosis حيث سيتم في هذا الفصل مناقشة أهميه المرض وخصائص الأحياء الدقيقة ذات الصلة والأنواع السائد من الغذاء وطبيعة السموم والأعراض والإجراءات الوقائية [54,28,1].

1.4.17 التسمم بالبكتيريا العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

التسمم الغذائي (التهاب المعدة والأمعاء :staphylococcal gastroenteritis بالبكتيريا العنقودية، التسمم بالعنقوديات التسمم الغذائي بالمكورات العنقودية) والناتج من سم المكورات العنقودية الذهبية يعتبر من الأمراض المنقولة بالغذاء الأكثر شيوعا في العالم، في الولايات المتحدة وقبل عام 1980 لوحظ تفشي عدد كبير من الحالات. ومع ذلك في السنوات الأخيرة انخفض عدد التفشيات outbreaks الناتجة من التسمم الغذائي بالبكتيريا العنقودية وهذا الانخفاض عادةً يعكس الاستخدام الأفضل لحراره التبريد في تخزين الغذاء وتحسن الممارسات الصحية مما يؤدي للتحكم في نمو *S.aures*. ومع ذلك عدد التفشيات وعدد حالات التهاب المعدة والأمعاء بالبكتيريا العنقودية لازالت هي الأعلى مقارنة بتفشيات العديد من الأمراض المنقولة بالغذاء بواسطة الميكروبات الأخرى.

1.1.4.17 خصائص المكورات العنقودية الذهبية

بكتيريا *S. aureus* هي مكورات cocci موجبه لصبغه جرام وغير متحركة وعديمة الغلاف no capsular وغير متجرثمة، معظم السلالات تخمر المانيتول وتنتج أنزيم coagulase الذي يخثر بلازما الدم ,thermonuclease، hemolysin ومنتجة لإنزيم الكاتليز catalase وسالبة لاختبار الاوكسديز oxidase ولكنها تختلف في حساسيتها للبكتيريوفاج Bacteriophages تموت البكتيريا عند درجة حرارة 66 م^0 عند تعرضها لمدة 12 دقيقة وعند 72م^0 لمدة 15 ثانية كما أن *S.aureus* هي بكتيريا لاهوائية اختيارية ولكن تنمو بسرعة في الظروف الهوائية كما أنها تعمل على تخمر الكربوهيدرات ويمكن أن تسبب أيضاً تحلل البروتين بواسطه الإنزيمات المحللة للبروتين المفرزة خارج الخلايا extracellular proteolytic enzymes. تعيش *S. aureus*. في درجه حراره متوسطة مع مدى حراري من 7 إلى 48 م^0 مع النمو السريع نسبيا بين 20 و37 م^o ، كما تستطيع النمو عند نشاط مائي منخفض نسبيا (0.86) وعند أس هيدروجيني منخفض pH (4.8) كما تعيش في تركيزات عالية من السكر والملح تصل إلى 15% وفي وجود ثاني أكسيد النيتروجين NO_2.

بكتيريا *S.aureus* منافس ضعيف للعديد من الميكروبات المتواجدة في الغذاء ولكن قدرتها على النمو تحت ظروف قاسيه يعطيها ميزة في النمو في كثير من الأغذية التي لا تستطيع

باقي الميكروبات النمو فيها. توجد بكتيريا *S. aureus* طبيعيا في الأنف والحلق والجلد والشعر للإنسان والحيوانات والطيور. *S. aureus* يمكن أن تتواجد أيضاً في جروح الجلد والخراجات في الإنسان والحيوانات والطيور وجروح اليدين وحب الشباب في الوجه عند الإنسان ويحدث تلوث الأغذية بشكل عام من هذه المصادر.

2.1.4.17 إنتاج السم

لكي ينتج السم يجب أن تتكاثر البكتيريا في الغذاء لأنها تتواجد بأعداد قليلة في الغذاء وان يدعم الغذاء نموها وتحت الظروف المناسبة تنمو البكتيريا وتنتج سموم كافية لإحداث التسمم إذا ترك الغذاء على درجة حرارة الغرفة لمدة 4 ساعات وقد لوحظ أن هذه السموم تنتج في مدى أضيق من الظروف اللازمة للنمو، سلالات السموم المعوية لبكتيريا *S. aureus* تنتج سبعة سموم مختلفة (enterotoxins A، B،C1، C2، C3، D،E) والتي تسمى أيضا باسم SEA، SEB ... الخ، وهذه السموم صنفت مصلياً كبروتينات مقاومه للحرارة (تتحمل الغليان لمدة 30 دقيقة) ومقاومة لفعل الإنزيمات المحللة للبروتين وذات وزن جزيئي من 26 إلى 30 كيلو دالتون وتختلف في سميتها وفي ثباتها للحرارة ويعتبر SEB أكثر استقرارا من SEA كما يعتبر التفشي من النوع SEA الأكثر شيوعاً، إن معدل إفراز السموم من البكتيريا له علاقة مباشرة بمعدل نمو وتركيز الخلايا حيث أن أقصي نمو يحدث عند درجة حرارة من 37 إلى 40 $م^0$.

عند الظروف المثلى لنمو البكتيريا يمكن الكشف عن السموم عندما يصل عدد الخلايا بضعة ملايين لكل غرام أو ملليلتر من الغذاء وبشكل عام في خلال 4 ساعات، أقل ظروف بيئية لإنتاج السموم هي 10م^{0} واس هيدروجيني 5.0 ونشاط مائي 0.86 جدول (1.17) يوضح العوامل المؤثرة على نمو وإنتاج السم بواسطة *Staphylococcus aureus*، إن الحرارة والوقت المستخدم في عملية الطبخ العادية للأغذية لا يحطم السموم.

جدول (1.17): العوامل المؤثرة في نمو وإنتاج السم بواسطة بكتيريا *Staphylococcus aureus*

النمو			إنتاج السم	
العامل	الحدود المثلى	المدى	الحدود المثلى	المدى
درجة الحرارة (م٥)	35– 37	7– 48	35–45	10– 40
الأس الهيدروجيني	6.0 – 7.0	4.0 – 9.8	السم A:5.3 – 6.8 السموم الأخرى: 6 - 7	4.8 – 9.0
كلوريد الصوديوم	0.5– % 4.0	0– %20	%0.5	0– % 20
النشاط المائي	0.98 - > 0.99	0.83 - >0.99	0.99 >	0.86 - >0.99
الجو المحيط	هوائي	هوائي – لا هوائي	CO2 %20 – 5	هوائي – لا هوائي
جهد الأكسدة والاختزال	200 + > ملي فولت	200 - > إلى 200 + > ملي فولت	200 + > ملي فولت	-

المصدر: Adams and Moss (2008)

3.1.4.17 المرض والأعراض

سموم بكتيريا *S.aureus* هي سموم معوية enteric toxins تسبب التهاب القناه الهضمية gastroenteritis وذلك عند استهلاك الشخص البالغ السليم 30 جرام أو مل من الأغذية التي تحتوي على 100 إلى 200 نانو غرام من السموم المنتجة بواسطة 10 $^{6-7}$ خليه / جم أو مل.

الرضع وكبار السن والمرضى يتأثرون عند استهلاك كميه أقل من ذلك تحدث الأعراض في خلال 2 إلى 4 ساعات مع مدى من 30 دقيقة إلى 8 ساعات وذلك يعتمد بطريقة مباشرة على قوة وكميه السموم المبتلعة ويعتمد على مقاومة الشخص. تستمر أعراض المرض لمدة يوم إلى يومين ونادراً ما تكون قاتلة. الأعراض الأولية التي قد تحدث من خلال تحفيز الجهاز العصبي اللاإرادي بواسطة السموم هي:

إفراز اللعاب وغثيان وقيء وتشنجات في البطن والإسهال وبعض الأعراض الثانوية مثل التعرق والرعشة والصداع والجفاف ومع ذلك فإن الأعراض وشدتها تختلف بين الأشخاص الذين تعرضوا للتسمم.

وجد أن سموم هذه البكتيريا لا تعتبر سموم معوية تقليدية حيث أنها لا تعمل مباشرة على خلايا الأمعاء ولكن تعمل على مستقبلات في الأمعاء فتسبب تأثير ينتقل إلى مركز القيء في المخ عبر العصب الرئوي المعدي ولذلك يمكن اعتبارها سموم عصبية.

4.1.4.17 الأغذية ذات العلاقة

يوجد العديد من الأغذية التي تورطت في التسمم Staphylococcal foodborne "outbreak"، عموما هذه البكتيريا تنمو في الغذاء وتنتج السموم بدون تأثير سلبي على جودة الغذاء وقابليته، تساهم العديد من الأغذية في حدوث التهاب المعدة والأمعاء مثل: الأغذية

الغنية بالبروتين والأغذية التي يتم تداولها على نطاق واسع والأغذية التي تنمو فيها باقي البكتيريا ببطء والأغذية التي تعرضت لسوء المعاملة الحرارية، بعض أصناف الأغذية التي تتكرر فيها هذه البكتيريا هي لحم البقر واللحوم المشوية والسلطات والمنتجات المعلبة التي تحتوي على الكريم والصلصات والجبن.

جدول (2.17) يوضح التكرار النسبي لمختلف الأغذية المتورطة في التسمم الغذائي بالعنقوديات في الولايات المتحدة بين عامي 1973 و 1987 مثل لحم الخنزير ومنتجات الخبيز ولحم البقر والديك الرومي والدجاج والبيض جميعها مشتركه في حدوث نسبه عالية من التفشيات بالإضافة إلى أنواع مختلفة من السلطات وذلك لأنها أكثر عرضه للتعامل بالأيدي وسوء المعاملة بالحرارة، كل ذلك لوحظ بأعداد كبيره في التسمم الغذائي بالمكورات.

ثلاثة عوامل رئيسية ساهمت في حالات التفشي هذه من عام 1983 حتى 1987 وهي: درجة حرارة حفظ الغذاء غير ملائمه (51.6%) وسوء النظافة الشخصية (23.4%) والمعدات الملوثة (17.2%).

جدول (2.17): التكرار النسبي لمختلف الأغذية المشاركة في التسمم الغذائي بالعنقوديات في الولايات المتحدة بين عامي 1973 و 1987

نوع الغذاء	حالات التفشي %
لحم الخنزير	16.2
منتجات الخبيز	7.1
لحم البقر	6.0
الديك الرومي	5.5
لحم الدواجن	3.8
البيض	2.5
السمك	1.3
منتجات الألبان	1.7
الخضر و الفواكه	1.1
أغذية أخرى	37.2

المصدر: مختصر عن Ray 2004

5.1.4.17 الوقاية من التسمم

تواجد بكتيريا *S. aureus* طبيعياً في المواد الغذائية الأولية وانتشارها عبر الأشخاص القائمين بتحضير الغذاء والعديد من بيئات الأغذية يجعل من المستحيل إنتاج أغذية غير معقمة خالية من هذه البكتيريا وبالتالي قد تحتوي الكثير من الأغذية على *S. aureus* واستهلاك غذاء يحتوي على 100 أو 500 خلية / جم أو / مل) لن يؤدي إلى حدوث تسمم للإنسان ما لم يكن الغذاء يحتوي على نسبه عالية من السموم، للتقليل من حدوث التسمم الغذائي بالعنقوديات يجب مراعاة ما يلي:

أ. التقليل من الحمل الأولى "initial load" لـ *S.aureus* في الغذاء وذلك عن طريق الاختيار المناسب لجودة المواد الخام والحرص على صحة بيئة الغذاء والنظافة الشخصية السليمة بين القائمين بتجهيز الغذاء.

ب. يجب أن لا يسمح للأشخاص المصابين بأمراض الجهاز التنفسي والمصابين بحب الشباب في الوجه والطفح الجلدي والجروح في الأيدي بالتعامل مع الغذاء.

ج. يجب أن تعامل المنتجات بالحرارة لضمان قتل الخلايا الحية بعد ذلك يجب تجنب إعادة تلوث المنتج.

د. تبريد المنتجات المصنعة والجاهزة للأكل عند حرارة أقل من أو تساوي 5 م^0 بسرعة، حيث يفضل وصول حرارة التبريد إلى داخل الغذاء وليس على السطح فقط في خلال ساعه.

هـ. يمكن استخدام مواد حافظة مناسبة لقتل أو تثبيط نمو البكتيريا.

و. عدم تعريض المواد الغذائية لسوء التخزين بحيث تحفظ عند درجات حرارة مناسبة لنمو البكتيريا ويجب ألا تخزن لفترة طويلة من الزمن قبل الأكل، في حاله تكون السموم الثابتة حرارياً في الغذاء فان عملية التسخين قبل الاستهلاك لا تضمن سلامته.

2.4.17 التسمم البوتشليني ببكتيريا *Cl. botulinum*

ينتح التسمم الغذائي البوتشليني "Botulism" من تناول غذاء يحتوي على سم بكتيريا *Cl. botulinum.* وهو عباره عن سم عصبي"neurotoxin" وينتج أعراض عصبية مع أعراض معويه وإذا لم يعالج سريعا فقد يؤدي إلى الوفاة، ويعتبر هذا التسمم اخطر أنواع التسمم الغذائي الميكروبي ولكنة الأقل انتشارا ويسمى هذا التسمم بتسمم البوتيولسم "Botulism" نسبة إلى اسم الميكروب وفي نفس الوقت مأخوذ عن اسم السجق botulus ويحدث هذا التسمم للرضع "Infant botulism" أيضاً عندما يتناول الرضيع جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* التي تنمو وتنتج السموم في الجهاز الهضمي وتسبب أعراض خاصه وفي الولايات المتحدة متوسط عدد حالات التفشي حوالي 15 إلى 16 سنويا وحتى مع توفر التسهيلات المتاحة يتسبب التسمم الغذائي البوتشليني بحوالي 19% من إجمالي حالات الوفيات للأمراض المنقولة بالغذاء الجدول (3.17) يوضح حالات تسمم البوتشليني التي تم رصدها والناتجة من أغذية ملوثة بالسم في عدة دول.

1.2.4.17 خصائص البكتيريا

Cl. botulinum هي بكتيريا عصوية موجبه لصبغه الجرام تتواجد بشكل خلايا مفردة أو في شكل سلاسل صغيرة متحركة لاهوائية إجبارية وتكون جراثيم طرفية "single terminal spore" وهي خلايا حساسة للانخفاض في الأس الهيدروجيني

(أقل من 4.6) والنشاط المائي المنخفض (0.93) وحساسة للارتفاع في الملح (5.5%)، لا تنبت الجراثيم في وجود النتريت (250 جزء في المليون) كما أن الجراثيم مقاومه للحرارة بشكل كبير (تموت عند 115 م^0) ولكن الخلايا تموت عند درجه حراره متوسطة (مثل البسترة) ومعظم السلالات تنمو جيدا على 30 م^0 كما أن بعض السلالات يمكن أن تنمو وتنتج السم عند 4 م^0 و أس هيدروجيني 4. إضافة إلى ذلك فإن سلالات هذه البكتيريا قد تكون محللة للبروتين Proteolytic أو غير محللة للبروتين non proteolytic تم تصنيف سلالات *Cl. botulinum* على أساس نوع السم الناتج، إلى ستة أنواع:

A، B، C ، D، E، F. حيث أن A، B، E، F لها علاقه بالأمراض السمية المنقولة عن طريق الغذاء للإنسان، حيث أن نوع السلالة A هي محللة للبروتين ونوع السلالة E هي غير محللة للبروتين ولكن أنواع السلالات F & B تكون أما غير محللة أو محللة للبروتين، السلالات المحللة للبروتين لها مدى للنمو بين 10 و 48 م^0 ودرجة الحرارة المثلى للنمو35 ^{0}م، أما السلالات الغير محللة للبروتين تنمو عند درجة الحرارة مثلى 30 م^0 ولها مدى حراري من 3.3 إلى 45 م^0 وكلما توفرت الظروف اللاهوائية الملائمة لنمو البكتيريا كلما كان هذا أفضل لإنتاج السم. وتؤثر الظروف التي تمنع نمو الخلايا مثل الأس الهيدروجيني 4.6 ونشاط مائي 0.93 أو 5.5% كلوريد الصوديوم سلباً على إنبات الجراثيم.

تتواجد جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* على نطاق واسع في التربة والمجاري والطين

والرواسب من المستنقعات والبحيرات والمياه الساحلية والنباتات ومحتويات الأمعاء للحيوانات والأسماك، إضافة إلى أن الفواكه والخضروات قد تتلوث بجراثيم البكتيريا عن طريق التربة، وتصل إلى الأسماك من خلال المياه والرواسب كما تتلوث الأنواع المختلفة من الأغذية من هذه المصادر المذكورة، الجراثيم من نوع A و B هي أكثر انتشارا في التربة والصرف الصحي وبراز الحيوانات بينما الجراثيم من نوع E تم عزلها من البيئات البحرية.

جدول (3.17): التسمم البوتشليني الناتج من أغذية ملوثة بالسم في عدة دول

الدولة	السنة	عدد حالات التفشي	عدد الإصابات	عدد الوفيات
بولندا	1987 - 1984	1301	1971	46
الولايات المتحدة الأمريكية	1992 - 1971	338	795	75
فرنسا	1992 – 1978	235	406	10
ألمانيا	1989 - 1983	96	206	10
كندا	1989 – 1971	79	202	28
بلجيكا	1989 - 1982	11	25	1
المملكة المتحدة	1992 - 1978	3	32	3

المصدر: Eley, (1996)

2.2.4.17 السموم وإنتاجها

سموم بكتيريا *Cl. botulinum* هي عبارة عن بروتينات سمية عصبية Neurotoxic proteins، وبشكل عام السموم المساهمة في تكوين إصابة البشر بالتسمم الغذائي أنواع (A، B، E، F) هي قوية للغاية وكمية صغيرة من السم قادره على إحداث التسمم وقد تسبب الوفاة، السموم الناتجة بواسطه السلالات الغير محللة للبروتين no proteolytic ليست

نشيطة بالكامل ولكن أنزيم التربسين (المتواجد في القناة الهضمية) يعتبر هام لتفعيلها.

السم يعتبر ثابت بالحرارة ويمكن تدميره في الغذاء الملوث من خلال معاملة حرارية عالية وثابته مثل 90 م^0 لمدة 15 دقيقة أو الغليان لمدة 5 دقائق وكذلك تعرضه للأشعة من 5 إلى 7 ميللي راد قادره على إتلافه، ويعتبر نمو الخلايا هام لإنتاج السموم عند درجة الحرارة المثلى للنمو حيث تنتج السموم بكمية كبيرة ومع ذلك فإن السموم يمكن أن تنتج تحت الظروف الدنيا للنمو بكمية كافية وقادره على التسبب بالتسمم والموت.

3.2.4.17 المرض والأعراض

يحدث التسمم الغذائي بسبب تناول السموم المؤثرة على الأعصاب Neurotoxin التي تتكون في الغذاء حيث يتم امتصاص السموم من الأمعاء ثم تنتشر إلى الأعصاب الطرفية ومن ثم تمنع نقل الإشارات العصبية، ومع ذلك في المرحلة الأولية (تحدث عادة من 12 إلى 36 ساعة ولكن في بعض الأحيان قد تحدث في ساعتين) قد تحدث بعض الاضطرابات في الجهاز الهضمي مثل الغثيان والتقيؤ والإسهال والإمساك، الأعراض العصبية قد تحدث في غضون فترة زمنية قصيرة وخاصة إذا كانت كميه السم المستهلكة عالية، نظراً لكونها سموم قوية للغاية فكمية صغيرة جدا (1 نانو غرام/كيلوغرام من وزن الجسم) كفيله بتكوين أعراض حاده قد تؤدي للموت، بشكل عام تشمل الأعراض العصبية ضبابية أو ازدواجية في الرؤية وصعوبة في البلع والتنفس والكلام

وجفاف الفم وشلل في العضلات اللاإرادية المختلفة والذي ينتشر في الحجاب الحاجز والرئتين والقلب وأيضاً قد يحدث الموت من الفشل الرئوي.

السموم هي مستضدات Antigenic وبالتالي يمكن اخذ مضادات السموم Antitoxins مباشرة بعد وقت قصير من بداية الأعراض خاصة اذا كانت كمية السم المستهلكة منخفضة حيث يمكن التحكم في المرض ومعالجه الشخص المصاب ويتم أخذ مضادات السموم ثلاثي التكافؤ ضد جراثيم (A، B، E)، ولكن في بعض الحالات المتقدمة وخاصة إذا تأخر التشخيص فإن العلاج بمضادات السموم لا يكون ناجحاً أحيانا يتم بلع الجراثيم المحتوية على بكتيريا *Cl .botulinum* بواسطه الأطفال الرضع عن طريق الأغذية مثل العسل والبيئة المحيطة وبذلك تستطيع التكاثر في الأمعاء وتنتج السم ومنها تسبب تسمم للأطفال Infant botulism تفشل الجراثيم في إنتاج نفس المرض عند الأشخاص الأكبر من عام وبذلك نظرا لقدرة الأشخاص الطبيعيين على إنتاج البكتيريا الطبيعية في الأمعاء التي تثبط نمو هذه الجراثيم وتثبط تضاعف خلايا بكتيريا *Cl.botulinum*. النوعين A & B مسؤولان عن حالات تسمم الرضع" وتشمل الأعراض: ضعف عام وعدم القدرة على الامتصاص وفقدان ردود الفعل وإمساك.

4.2.4.17 الأغذية ذات العلاقة

لكي يحدث التسمم الغذائي البوتيولوني لابد أن يكون الغذاء ملوث بجراثيم بكتيريا

Cl .botulinum ونجاة الجراثيم أثناء المعاملة الحرارية وقدرة الجراثيم على النمو وقدرة الخلايا البكتيرية على التضاعف إذا أسيء حفظ للمنتج بالتعرض لدرجة حرارة مناسبة لنمو الجراثيم.

أكبر عدد من حالات التفشي كانت متعلقة بالفواكه والخضروات وبالأخص الخضروات قليلة الحموضة (مثل الفاصوليا الخضراء والذرة والسبانخ والفلفل والفطر) والفواكه مثل التين والخوخ ثم تليها من المنتجات الأكثر تسبباً في حالات التفشي هو السمك (السمك المخمر والسمك الغير مطهو جيدا والسمك المدخن وبيض السمك)، في الغالب الصنف E شائع الحدوث في السمك والصنف A & B يحدث غالباً في الخضروات، ووجد أن السبب الرئيسي لحالات التفشي هو سوء التعليب المنزلي للمنتجات الملوثة.

ما بين عامي 1983 و 1987 في الولايات المتحدة كان من بين 231 حاله من تفشي التسمم البوتشليني Botulism 56 حالة منهم حدثت في المنازل، حدوث التسمم الغذائي البوتشليني Botulism من استهلاك اللحوم والدجاج ومشتقات الألبان منخفض وذلك لأنها تطهي وتؤكل بسرعه، كما سجلت بعض التفشيات من الأغذية مثل البصل المقلي والبطاطس المعلبة ولكن في الأغلب تحدث في الأغذية التي تعرضت للتسخين في درجه حرارة منخفضه ولفتره طويله، تشترك بعض التوابل مثل الفلفل الحار والصلصة في العديد من التفشيات الخاصة بهذا التسمم.

تنمو سلالات البكتيريا المحللة للبروتين في اللحوم وفي الخضروات عالية البروتين وقليله الحموضة وتسبب روائح كريهة وغاز ولكن لا تحدث هذه التغيرات في الخضروات قليله البروتين. السلالات الغير محللة للبروتين لا تسبب أي روائح كريهة عند نموها سواء في اللحوم أو الأسماك وغيرها من الأغذية الغنية بالبروتين. وحيث أن السموم هي حساسة للحرارة فإن تسخين الغذاء (90م^0 لمدة 15 دقيقة أو الغلي لمدة 5 دقائق) المشكوك فيه يجعل الغذاء آمن من الناحية النظرية، ونظراً لأن كميه قليله من السم كافيه لتسبب المرض فينصح بعدم تناول أي غذاء مشتبه به.

5.2.4.17 الوقاية من بكتيريا *Cl. Botulinum*

للوقاية من التسمم البوتشيليني يجب إتباع الإجراءات التالية:

أ. تحطيم جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* عن طريق إجراء معاملة حرارية مناسبة في صناعة تعليب الأغذية منخفضة الحموضة ويتم ذلك بمعاملة حرارية تكافئ 12D.

ب. تحطيم سموم هذه البكتيريا في الأغذية وذلك بالغلي لمدة محددة حيث يجب غلي الأغذية المعلبة المشتبه فيها لمدة 5 إلى 15 دقيقة قبل تناولها وكما يجب تفادى تناول أغذية معلبة تظهر عيوب واضحة عليها مثل الانتفاخ والروائح غير المرغوبة ووجود عكارة في السائل المعبأ فيه الغذاء. كما يعتبر من الخطر جداً تذوق كميه صغيرة من الغذاء المشكوك فيه بدون أي معاملة أو تسخين.

ج. إعاقة نمو البكتيريا وإنتاج السم عن طريق إجراء معاملات للتحكم في عامل أو أكثر من العوامل المؤثرة على نمو البكتيريا مثل التجفيف أو إضافة الملح و خفض درجة حرارة التخزين (عند 3 م° أو أقل) إضافة مواد حافظة (أملاح النيتريت).

5.17 الممرضات الانتهازية Opportunistic Pathogens

بجانب البكتيريا الممرضة التي سبق تناولها في هذا الفصل فإن هناك العديد من الأنواع البكتيرية التي يمكن أن تنقل للإنسان عن طريق الأغذية والمياه وتسبب المرض للإنسان تسمى بالممرضات الانتهازية وعادةً لا تكون هذه الأنواع ممرضة للإنسان في الحالات العادية ولكن بعض سلالاتها لها القدرة على إنتاج سموم وإحداث المرض للإنسان خاصة أذا تم استهلاك أعداد كبيرة منها مع الغذاء أو أن المستهلكين من الأطفال أو كبار السن أو ممن يعانون من مشاكل في الجهاز المناعي أو انهم تحت ظروف بدنية غير طبيعية not normal physical conditions ولذلك سميت بالممرضات الانتهازية، من اهم الأمثلة على هذه الممرضات:

1.5.17 بكتيريا *Aeromonas hydrophila*

وهي بكتيريا عصوية مستقيمة سالبة لصبغة جرام غير مكونة للجراثيم لاهوائية اختيارية موجبة لاختباري الكاتليز والاوكسديز، متحركة بسوط قطبي ودرجة الحرارة المثلى لنمو السلالات المختلفة تتراوح من 15 إلى 20م° والمدى الحرارى للنمو من 3 إلى 42 م° (108ف°) غير إن

القليل من السلالات تستطيع أن تنمو عند 1م° تتواجد هذه البكتيريا في المياه القليلة الملوحة والعذبة وفى أمعاء الإنسان والحيوان، لاهوائية اختيارية لكنها تنمو جيداً في الظروف الهوائية تموت بالبسترة والعوامل مثل انخفاض الأس الهيدروجيني (تحت 4.5) وكلوريد الصوديوم (فوق 4%) وانخفاض درجة الحرارة (أقل من 3م°) كلها تقلل من نمو هذه البكتيريا.

أ. الأغذية ذات العلاقة بالبكتيريا

هذه البكتيريا تتواجد في العديد من الأغذية خاصة ذات المصدر الحيواني وعزلت من العديد من الأغذية مثل الحيوانات الصدفية المائية الجمبري والكابوريا واللحوم والأسماك واللحوم الحمراء والدواجن والحليب الخام والخضروات النيئة ومن مياه المجاري غير المعالجة، هذه البكتيريا تسبب فساد الأغذية التي تنمو عليها نظراً لقدرتها على تحمل البرودة psychrotrophic وتنمو في الأغذية المبردة حتى لو كانت الأعداد الأولية لها قليلة لتصبح أعدادها هائلة مع طول فترة التخزين.

ب. أعراض العدوى ببكتيريا *A. hydrophila*

تدخل البكتيريا لأمعاء الإنسان عند تناول أغذية ملوثة بالبكتيريا وتتراوح فترة الحضانة من 18-24 ساعة وتسبب التهاب معوي gastroenteritis يصيب خاصة الأطفال وكبار السن والأشخاص الذين يعانون من مشاكل مناعية، ويوجد نوعان من الأمراض المعوية التي تسببها

هذه البكتيريا الأول: وهو اكثر انتشارا أو يشبه مرض الكوليرا ويتميز بان المريض يعانى من إسهال مائي وحمى متوسطة، أما النوع الثاني والأقل شيوعاً يشبه مرض الدوسنتاريا ويتميز بإسهال مختلط بدم ومخاط، وقد يزول الإسهال في غضون 1 إلى 7 أيام تلقائياً بدون معالجة طبية ولكن اذا كانت الأعراض شديدة فان المريض يحتاج معالجة للجفاف و/أو المعاملة بالمضادات الحيوية.

ج. مدى تفشى وحالات حدوث المرض

في العموم لم تحدث حالات تفشى كبيرة ناتجة عن *A. hydrophila* حتى الآن حيث نتج عنها حالات مرضية محدودة ربما بسبب عدم الاهتمام باعتبار هذه البكتيريا سبباً للتسمم في حالات التفشي التي تسجل على إنها غير معروفة السبب. في عام 1988 سجلت 219 حالة عدوى بهذه البكتيريا في كاليفورنيا كما أنها تسبب أمراضاً للأسماك، ويشتبه في تسبب العديد من سلالات *A. hydrophila* في النزلات المعوية gastroenteritis في الإنسان خاصة اذا تناول أعداداً كبيرة منها أو أن المستهلك ضعيف صحياً. تم رصد عدة حالات من العدوى الناتجة عن تناول أغذية ومياه ملوثة بهذه البكتيريا.

وجد أن عدة سلالات من بكتيريا *A. hydrophila* خاصة المعزولة من الأغذية تنتج هيموليسينات hemolysins تحلل خلايا الدم الحمراء وسموم cytotoxins لها تأثير سام على

الخلايا بكتيريا *A. hydrophila* تعتبر مقاومة للبرودة وتتواجد في العديدة من الأغذية وبذلك يمكن أن تصل لأعداد ضخمة في الأغذية المبردة ولكنها غير مقاومة للحرارة ولذلك فان افضل الطرق للسيطرة على العدوى بهذه البكتيريا هي طبخ الأغذية مثل الأسماك والمحار جيداً قبل تناولها وتجنب تناول الحيوانات الصدفية المائية نيئة أو غير المطبوخة جيداً ومنع تلوث الغذاء بعد المعاملة الحرارية وتطبيق واحد أو اكثر من العوامل المحددة للنمو مثل الأس الهيدروجيني والنشاط المائي.

2.5.17 بكتيريا *Plesiomonas shigelloides*

وهي بكتيريا عصوية سالبة لصبغة جرام غير مكونة للجراثيم لاهوائية اختيارية موجبة لاختبار الأوكسديز وتشبه في خصائصها بكتيريا *Aeromonas* وكانت سابقاً تصنف على أنها احد أنواع الجنس *Aeromonas* (*A. shigelloides*).*Plesiomonas shigelloides* أكثر مقاومة للحرارة من بكتيريا *Salmonella* و *Campylobacter* متحركة عزلت من أمعاء الإنسان والحيوانات ذوات الدم الحار والبارد كما تتواجد في المياه العذبة وقليلة الملوحة وعزلت من الأسماك والمحار، معظم السلالات تنمو ما بين 8 و 45 م° ودرجة الحرارة المثلى من 25 إلى 35 م°، تموت بالبسترة. انخفاض الأس الهيدروجيني (تحت 4.5) وكلوريد الصوديوم (فوق 5%) وانخفاض درجة الحرارة (اقل من 10م°) كلها مجتمعة تقلل من نمو هذه البكتيريا.

أ. الأغذية ذات العلاقة بالبكتيريا

تتواجد سلالات هذه البكتيريا في الأغذية مثل الأسماك والقشريات كما تتواجد بأعداد اعلى في المحار الذى يجمع في الأشهر الدافئة، وبسبب التلوث البرازي يمكن أن تتواجد أيضاً في الأغذية الخام ذات الأصل النباتي أو الحيواني أو من الطيور. اذا تواجدت في الأغذية المعاملة حرارياً فان ذلك يعنى عدم كفاءة المعاملة الحرارية أو حدوث تلوث بعد المعاملة الحرارية أو كلاهما، تستطيع البكتيريا أن تنمو بسرعة في الأغذية المخزنة تحت الظروف المثلى لنموها غير أنها لا تنمو في الأغذية المبردة على 3-4 م° أو اقل.

ب. مدى تفشى وحالات حدوث المرض

وجد أن هذه البكتيريا متورطة في كثير من حالات النزلات المعوية الناتجة عن شرب مياه ملوثة بها حيث تم عزل الميكروب من مياه الشرب وبراز الأشخاص المصابين، تتلخص أعراض المرض في حدوث إسهال وغثيان وآلام في البطن والكثير من المصابين يعانون من قيء وحمى ونوبات برد، فترة الحضانة تتراوح من 24 إلى 50 ساعة والأعراض تستمر من 1 إلى 9 أيام. عدة حالات تفشى للمرض رصدت نتيجة استهلاك اسماك وسرطان بحر ومحار ملوث وفى بعض الحالات المرضية عزل الميكروب من الغذاء المسبب للتسمم وبراز المريض كما وجد أن سبب التسمم هو تناول الأغذية بدون طهى أو نتيجة الطهى غير الكافي أو التخزين غير الصحيح للأغذية، عزلت

P. Shigelloides من براز الأصحاء وبراز الأشخاص الذين يعانون من النزلات المعوية ولذلك اعتبرت سلالات هذه البكتيريا من الممرضات الانتهازية التي تؤثر على الأشخاص الأقل مقاومة مثل الأطفال والشيوخ والمرضى كما وجد أن عدة سلالات من *P. Shigelloides* تنتج سموم ثابتة حرارياً heat-stable لها خصائص السموم المعوية Enterotoxin.

3.5.17 بكتيريا الباسيلس المسمَمة المحبة للبرودة

Toxigenic Psychrotrophic*Bacillus* spp

خلايا وجراثيم بكتيريا *Bacillus* species المقاومة للبرودة يمكن أن تتواجد في الأغذية غير المعاملة حرارياً، وأيضا معظم الأغذية المعاملة حرارياً قد تحتوى على جراثيم هذه البكتيريا، في الأغذية المبردة تنمو هذه الجراثيم لتعطى خلايا خضرية والتي يزداد أعدادها مع الوقت وتسبب فساد الأغذية المبردة مثل الحليب المبستر المبرد، وجد أن أنواع بكتيريا *Bacillus* المقاومة للبرودة تشمل سلالات لبكتيريا *Bacillus cereus* و *B. mycoides* و *B. circulans* و *B.lentus* و *B.polymyxa* و *B. pumilus* إن معظم هذه الأنواع تفرز سموم ولكن مقدرة هذه الأنواع على إحداث المرض لم تدرس بعد، بعض أنواع بكتيريا *Bacillus* مثل سلالات من *B. licheniformis* المحبة للحرارة المتوسطة تستطيع إنتاج سموم ممرضة للإنسان خاصة اذا حفظت الأغذية على درجات حرارة غير مناسبة ($\geq$ 10 م^{o}) .

4.5.17 بكتيريا القولون من غير *Escherichia coli*

تتضمن مجموعة بكتيريا القولون Coliform أنواعاً من الأجناس *Escherichia* و *Klebsiella* و *Enterobacter* و *Citrobacter* والجميع يعود إلى العائلة *Enterobacteriaceae* ولذلك تشترك في بعض الخصائص.

سابقاً كانت يعتقد بأن سلالات *Esherichia coli* (كلا من الغير ممرضة والممرضة) تستوطن بشكل رئيسي القناة المعوية intestinal tract للإنسان والحيوانات ذوات الدم الحار والطيور ومعظم الأنواع التابعة للأجناس الثلاثة الأخرى يعتقد بأنها كانت بشكل رئيسي من الأصل غير المعوي، غير أن الدراسات أوضحت بأن هناك أنواع وسلالات من الـ *Klebsiella* و *Enterobacter* و *Citrobacter* (التي تسمى بكتيريا القولون من غير *E. coli*) يمكن أن تستوطن أمعاء الإنسان وتنتج سموم معوية enterotoxins فعّالة، في عدة حالات حادة ومزمنة من الإسهال تم عزلها من البراز والقناة المعوية، بعض العزلات من *Enterobacter cloacae* و *Klebsiella pneumonia* وأنواع *Citrobacter* وجد أنها تنتج سمومٍ معوية تشبه السموم غير المقاومة للحرارة heat-labile أَو السموم الثابتة حراريا heat-stable التي تنتجها *E. coli* المنتجة للسموم enter toxigenic بكتيريا القولون من غير *E. coli* عادةً موجودة في الأغذية الخام بالإضافة إلى تواجدها في بعض الأغذية المبسترة بسبب التلوث بعد البسترة، تستطيع هذه

البكتيريا أَنْ تنمو في العديد من الأغذية إذا توافرت الظروف المناسبة، بَعْض السلالات يمكن أَنْ تنمو في درجة حرارة التبريد، سوء تخزين الأغذية Temperature abuse (تخزينها على درجة حرارة غير مناسبة) يمكن أن يسهل النمو السريع لهذه البكتيريا في الغذاء.

6.17 التسمم الفطري Mycotoxicosis

عندما تتوفر البيئة الملائمة للعديد من الفطريات (بما فيها بيئة الغذاء) تنتج مركبات سامه تسبب حالات مرضية تختلف حدتها باختلاف السم والعائل تسمى سموم فطرية "mycotoxins"، والسموم الفطرية هي عباره عن نواتج أيضية ثانويه secondary metabolites ذات وزن جزيئي منخفض تنتج بواسطة الأعفان والعديد منها تسبب السرطان في الأنسجة المختلفة من جسم الإنسان عند تناولها بكميات قليلة كما تصيب الحيوانات والطيور. تناول غذاء محتوي على السموم الفطرية يسبب تسمم فطري Mycotoxicosis وهو مرض غير معدي أي أن التسمم لا يحدث إلا في الأشخاص المتعرضين له مباشرة فقط. والشكل (2.17) يوضح الصيغ البنائية لبعض السموم الفطرية.

وترجع حالات التسمم الفطري إلى زمن بعيد غير انه لم يعرف دور السموم في إحداث المرض إلا حديثاً، من اشهر حالات التسمم الفطري في الإنسان هو التسمم الأرغوني "ergotism" والذي نتج من استهلاك الخبز المصنوع من الشعير الملوث بفطر

Claviceps purpurea في أوروبا بين القرن 14 و 16 ولم يعرف العلاقة ما بين استهلاك الحبوب المحتوية على السموم الفطرية المعروفة باسم قلويدات الاورجت ergot alkaloids وحدوث أعراض التسمم إلا في أواخر القرن العشرين، كذلك مرض الأرز الأصفر في اليابان خلال القرن 17 والناتج من استهلاك الأرز الملوث بسلالات toxigenic strain لبعض أنواع فطر البنسيليوم *Penicillium*. أيضاً مرض alimentary toxic aleukia الناتج من تناول حبوب ملوثة بسلالات أنواع من فطر الفيوزاريوم "*Fusarium* species" في روسيا في أوائل القرن العشرين. في سنة 1960 سجلت عده حالات إصابة في الحيوانات والطيور والتي شملت وفاة الآلاف من الديوك الرومية من نخر الكبد في إنكلترا بعد تناول الطيور علف يحتوي في تركيبة الفول السوداني الملوث بسموم الأفلاتوكسين الناتجة من نمو فطر *Aspergillus flavus* عليه، ولم تسجل حالات حدوث تسمم فطري للإنسان في العديد من الدول المتقدمة مؤخراً وذلك بسبب تطبيق التشريعات الصارمة والتقييم الدقيق لهذه السموم في الغذاء بينما حالياً سجلت العديد من حالات التسمم الفطري في بعض البلدان النامية، جدول (4.17) يعرض بعض حالات التسمم الفطري بسموم الافلاتوكسين في بعض الدول.

أ. الفطريات المنتجة للسموم الفطرية

من المعروف أن السلالات السامه للفطريات هي التي تنتج السموم الفطرية mycotoxins بعض

هذه السلالات السامة والسموم التي تنتجها تشمل *A. flavus*, و *A. parasiticus* وكلاهما ينتج سموم الأفلاتوكسين aflatoxins بينما فطر *A. nidulans* و *A. virsicolor* وينتجان سم السترقماتوسيستن sterigmatocystin وفطر *Penicillium viridicatum* وينتج السم الفطري اوكراتوكسين (Ochratoxin) وفطر *P.patulum* ينتج سم الباشلين (patulin) وفطر *P. roquefortii* ينتج سم الروكوفورتين (roquefortin) وفطر *Cl. Purpurea* ينتج السم الأرغوني (ergotoxin) لا يمكن الاعتماد على الشكل فقط للتمييز بين السلالات السامه عن غير السامه بل من الضروري تنميه السلالة تحت ظروف ملائمه ومن ثم اختبار وجود أو عدم وجود السموم الفطرية، وهذا يعتبر مهم جداً في تمييز أنواع الفطريات المستخدمة في إنتاج الغذاء.

ب. خصائص الفطريات

أن الظروف التي تؤثر على نمو الأعفان هي ذاتها التي تؤثر على أنتاج السم، تنمو الفطريات بشكل أفضل في البيئة الرطبة والحارة حيث تعتبر الأعفان هوائية وبالتالي تحتاج إلى الهواء لنموها. تستطيع الأعفان النمو ببطء عند نشاط مائي منخفض جداً (0.65) وعند درجات الحرارة المنخفضة (حرارة الثلاجة) وعند الأس الهيدروجيني المنخفض (pH:3.5) وغالباً ما تستخدم هذه الظروف لتمديد العمر الافتراضي للكثير من الأغذية، وتستطيع الأعفان النمو في الغذاء وإنتاج سمومها فيه ما لم تستعمل طرق أخري لحمايتها مثل التعبئة تحت تفريغ "vacuum packaging"،

تتواجد الجراثيم الفطرية غالباً في التربة والغبار والبيئة ويمكن أن تحتوي العديد من الأغذية على الجراثيم أو الفطر mycelia خصوصا قبل معاملتها بالحرارة.

جدول (4.17): بعض حالات التسمم الفطري بسموم الافلاتوكسين في بعض الدول

الغذاء	الدولة (السنة)	حالات التسمم %
الذرة	الأرجنتين (1996)	20
الفول السوداني	الهند (1996)	45
الفستق البرازيل	هولاند (1996)	59
القمح	الأرجواي (1996)	20
الذرة	الهند (1997)	45
الأرز	الإكوادور (1997)	9

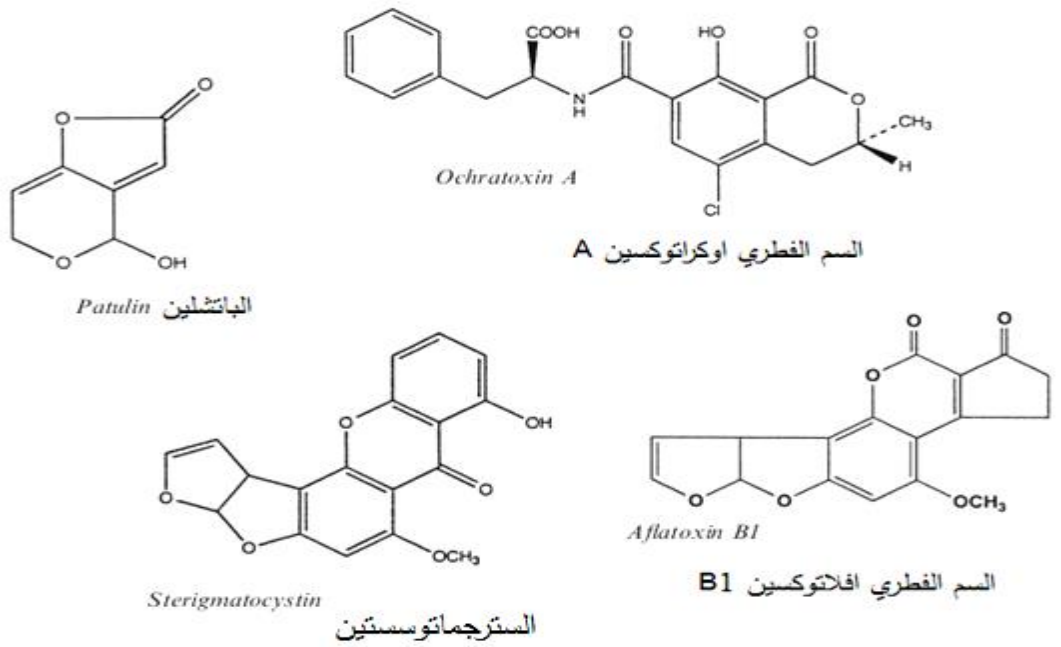
المصدر: مختصر عن Adams and Moss (2008)

ج. السموم وإنتاجها

السموم الفطرية تشمل عددا كبيراً من السموم الناتجة من مختلف الأنواع والسلالات السامه من الفطريات والعديد منها لم تعرف بعد، هذه السموم هي مركبات عضويه صغيرة الوزن الجزيئي حلقية غير متجانسة وبعضها لها أكثر من نوع كيميائي واحد.

ومثال عليها الأفلاتوكسين التي تحتوي على نوعين أساسيين B1 و G1 وكل واحده منها تحتوي على أنواع عديده، حيث يعتبر الأفلاتوكسين B1 الأكثر وفرة، ويتم إنتاج السموم الفطرية من سلالات العفن كمركبات ثانوية حيث أن إنتاج السموم بشكل عام له علاقه مباشرة مع

معدل نمو سلالة العفن، في الوسط الميكروبيولوجي المناسب لنمو الأعفان مثل سلالات *A. flavus* تنتج أعلى معدل للأفلاتوكسين عند درجة حرارة 33م^0 وعند أس الهيدروجيني 5 ونشاط مائي 0.99.



شكل (2.17): الصيغ البنائية لبعض السموم الفطرية.

المصدر: Adams and Moss , 2008

د. الأغذية المرتبطة بسموم الفطريات

تم تحديد نمو سلالات العفن وسمومه في العديد من الأغذية مثل: الذرة والقمح والشعير والأرز والفاصوليا والبازلاء والفول السوداني والجبن والخبز والنقانق الجافه والتوابل وشراب التفاح والحبوب والعجينة وبذور القطن، تناول غذاء ملوث بالسموم الفطرية يسبب mycotoxicosis في الأنسان وتناول الحيوانات والطيور للمنتجات المحتوية على الأعفان يؤدي إلى تلوث الأغذية ذات المصدر الحيواني بالسموم الفطرية (مثل الحليب والبيض)، وحيث أن العديد من السموم الفطرية مقاومه للحرارة المستعملة في تجهيز العديد من الأغذية لا تستعمل الحرارة لأزالتها من الغذاء.

منظمة الصحة العالمية ومنظمة الأغذية والزراعة وضعت حدا اعلى لتواجد سموم الافلاتوكسين في الأغذية المخصصة للاستهلاك البشري لا يزيد عن 30 ميكروجرام/كيلو جرام من وزن الجسم، في الولايات المتحدة وضعت الوكالات التنظيمية حدود للأفلاتوكسين في زبدة الفول السوداني (20 جزء من البليون) وفي الحليب (2 جزء من البليون).

هـ. الوقاية من التسمم الفطري

من أجل منع حدوث التسمم الفطري في الإنسان يجب تقليل تلوث الغذاء بسموم الأعفان وهذا يعتبر صعب نسبيا ولكن يمكن استخدام التعبئة والتغليف المناسب للحد من حدوث الإصابة قد تساعد المعاملة بالحرارة على التقليل من النمو وذلك بقتل الأعفان وجراثيم الفطريات بأنواعها،

منع نمو الأعفان يجب أن يؤخذ في عين الاعتبار للتقليل من حدوث التسمم الفطري للإنسان وذلك من خلال تطبيق تغليف لاهوائي والتقليل من النشاط المائي قدر الإمكان إلى 0.6 أو أقل والتجميد كما قد تستعمل مواد حافظة ضد نمو الأعفان يجب ألا يستعمل المنتج المحتوى على الأعفان. كما أُستعملت مؤخراً كيماويات مناسبة لتثبيط نمو السموم الفطرية مثل الأمونيا Ammonia وبيروكسيد peroxide وهيبوكلوريت الصوديوم Sodium hypochlorite. (BANWART 1989; RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008)

الفصل الثامن عشر

العدوى الغذائية

Foodborne Infection

العدوى المنقولة عن طريق الغذاء تنتج من تناول الأغذية أو شرب مياه ملوثة بالكائن الممرض سواءً كان بعض أنواع البكتيريا المعوية أو بعض الفيروسات، ولكي يحدث المرض لابد أن تكون أعداد البكتيريا المسببة للعدوى الغذائية كبيرة في الغذاء (10^5–10^7 خلية/ جم من الغذاء)، وهذا يحدث أما بتعرض الغذاء لتلوث شديد أو أن الغذاء خزن تحت ظروف تسمح بنمو وتكاثر البكتيريا كما يمكن لهذه البكتيريا المسببة للعدوى أن تحدث المرض عند أعداد أقل (10^2 خلية/ جم) مما يؤكد على ضرورة إتباع الاشتراطات الصحية في إنتاج الغذاء لتجنب حدوث العدوى الغذائية، في هذا الفصل سيتم تقديم الأحياء الدقيقة المسببة للعدوى من حيث الأهمية وخصائص وطبيعة السم ونوع الغذاء المسؤول عن نقلها وكيفية الوقاية من العدوى.

1.18 خصائص العدوى الغذائية Foodborne infections

أ. الخلايا الحية للكائن الممرض (بكتريا أو فيروس) يجب أن تدخل الجسم عن طريق الغذاء أو المياه.

ب. الخلايا التي تستطيع التغلب على الظروف الصعبة في القناة الهضمية Gastric environment تخترق جدار الخلايا الطلائية المبطنة للأمعاء وتتكاثر داخلها وتفرز سمومها.

ج. الجرعة المسببة للإصابة مختلفة جداً ولكن نظرياً قد تكون خلية واحدة كافية لإحداث

الإصابة. وأثبتت الدراسات أن تناول حوالي 10 خلايا (للأنواع السامة جداً مثل O157:H7 *Escheritia coli*) إلى 10^5 خلية أو أكثر (للأنواع الأقل سمية مثل *Yersinia enterocolitica*) ضرورية لحدوث المرض.

د. الأعراض تظهر بعد حوالي 24 ساعة من تناول الغذاء الملوث وهي مرتبطة بالجهاز الهضمي.

الأعراض المعوية تكون موضعية نتيجة لتأثير السموم وإصابة الأمعاء، وتشمل هذه الأعراض آلام بالبطن وإسهال (قد يكون مصحوب بدم) وغثيان وقيء وارتفاع في درجة الحرارة مثل الإصابة ببكتيريا القولون المعوية المخترقة (EIEC) *E. Coli* و *Salmonella* و *Campylobacter jejuni* و *Shigella* و *Y. enerocolitica* و *Vibrio parahaemolyticus*، والأعراض الغير معوية (مصاحبة للإعراض المعوية) تحدث عند دخول الأحياء الممرضة أو سمومها إلى الأنسجة والأعضاء الداخلية الأخرى عبر الجهاز الهضمي. وتعتمد الأعراض على العضو المصاب إلا أنها تكون مصحوبة بالحمى مثل *Listeria monocytogenes* و *Hepatitis A* الوباء الكبدي أ وبكتيريا القولون المعوية النزفية *Enterhemorrhagic E. Coli* (EHEC).

2.18 العدوى بالسالمونيلا (Salmonellosis)

قبل عام 1940 كانت تعتبر كلا من *S. typhi* و *S. paratyphi* المسبب الرئيسي

للأمراض المنقولة عن طريق الغذاء أو الماء للإنسان عالمياً. ولكن استخدام تقنية بسترة الحليب وتطهير المياه بإضافة الكلور أدى إلى انخفاض معدلات الإصابة بحمى التيفود وخاصة في الدول المتقدمة.

اكتشاف طرق عزل جديدة والتعرف على أنماط مصلية جديدة Serovars أظهر أن داء السالمونيلا هو الداء الأكثر انتشاراً في العالم، ومنذ الخمسينات تعتبر السالمونيلا الأكثر انتشاراً وعلى الرغم من التطور ومعرفة الكثير من المعلومات عنها مثل بيئتها وخصائصها والظروف الملائمة لنموها وتطوير طرق لمقاومتها والقضاء عليها ومازالت هي الأكثر انتشاراً وهذا الأمر محير حيث أن طرق الوقاية من السالمونيلا أفادت في التقليل من معدلات الإصابة ببكتيريا أخرى مثل *Cl. Perfringen* و *B. cereus* و *Yersenia enterocolitica* و *Staphylococcus aureus* ولكنها لم تفيد في حالات السالمونيلا فمثلاً في أمريكا ما بين عامي 1969–1976 كان متوسط حالات التفشّي (يقصد بالتفشي: Outbreaks إصابة مرضية واحدة أو 100000 إصابة مرضية) بعدوى السالمونيلا ما يقارب 37 / السنة، ولكن ما بين عامي 1983–1987 متوسط التفشيات كان أكثر من 68 / السنة، واستمرت معدلات الإصابة في الزيادة، ويعزي ذلك لتواجد هذه البكتيريا بكثرة في الأغذية الحيوانية وخاصة الدجاج وكذلك قدرتها على النمو في أغذية متنوعة على مدى واسع من درجات الحرارة بالإضافة لسهولة انتشارها من شخص إلى آخر وطول فترة إفرازها في براز الأشخاص حتى بعد شفائهم. وعزيت أسباب زيادة انتشار عدوى السالمونيلا في الولايات المتحدة إلى أربعة أسباب وهي:

أ. زيادة الأنواع المقاومة من السالمونيلا.

ب. زيادة الأشخاص الذين يعانون من نقص في المناعة وبالتالي هم معرضون جداً للعدوى بالسالمونيلا.

ج. ارتفاع نسبة السالمونيلا في البيض نتيجة زيادة في عدد الدواجن المصابة.

هـ. إنتاج الأغذية في مؤسسات صناعية ضخمة فإذا حدث فيها أي تلوث يؤدي إلى انتشار الوباء بشكل كبير وبالتالي فهم هذه العوامل ومحاولة تطوير طرق للوقاية ضروري للحد من معدلات الإصابة.

ويوجد أكثر من 2000 نمط مصلي من السالمونيلا على أساس إنتاج ثلاثة مستضدات هامة هي المستضد الجسدي Somatic (O) والمستضد السوطي Flagellar (H) والمستضد المحفظي Capsular (K). وحديثاً تم استخدام نظام تسمية جديد حيث تم وضع عدة أنماط مصلية في نوع محدد بدلاً من اعتبار كل سلالة كنوع منفصل.

1.2.18 نظام التسمية الحالي

يتم تصنيف السالمونيلا إلى أنواع حسب تركيب ال DNA، وبناء على ذلك يجب أن يكون هناك نوع واحد للسالمونيلا وهو السالمونيلا إنتريكا (*Salmonella enteric*) و 6 تقسيمات تحت هذا النوع، والجدول (1.18) يوضح هذه الأنواع:

جدول (18.1): السلالات المصلية الستة لبكتيريا *Salmonella*

السلالات المصلية الستة للسالمونيلا
Salmonella enterica subsp. *enterica*
Salmonella enterica subsp. *salamae*
Salmonella enterica subsp. *arizonae*
Salmonella enterica subsp. *diarizonae*
Salmonella enterica subsp. *houtenae*
Salmonella enterica subsp. *bongori*

المصدر: عن (2004) RAY

في إصدارات الكتب الرسمية يطلب كتابة الاسم كامل مثل *Salmonella enteric subsp. enterica* ومن ثم النمط المصلي يمكن أن يكتب مثلا (Typhimurium)، أما في الإصدارات الغير الرسمية فيمكن كتابة النمط المصلي مثل *Salmonella Typhimurium*. وتعتبر الأنواع *S.* Typhimurium و *S.* Enteritidis هي المسؤولة عن الكثير من حالات الإصابة بالعدوى.

2.2.18 الأنواع المسؤولة عن عدوى السالمونيلا

بكتيريا السالمونيلا *Salmonella enterica subsp.enterica* هي النوع المسؤول عن أغلب حالات الإصابة بالعدوى، سلالتان من أصل 2000 هما *S.* typhimurium والسالمونيلا انتيريتيدس *S.* Enteritidis تعتبران من أكثر السلالات المسببة للإصابات. العديد من الحيوانات تكون حاملة للسلالة *S.* Typhimurium بينما السلالة *S.*Enteritidis قد تصيب الدجاج خاصة المبايض ومن ثمة تنقل إلى البيض.

ونتيجة لاستخدام المضادات الحيوية في أعلاف الحيوانات والدواجن ظهر ما يعرف بمقاومة الأدوية المتعددة في السالمونيلا Multidrug-resistant (MDR) strains والمهم في هذا أن السلالة *Salmonella* typhimurium أصبحت مقاومة للعديد من المضادات مثل امبنيسلن والكلورامفينيكول والستبتومايسين والتيتراسيكلين ويعتقد أن هذه الظاهرة تنقل خلال الأجناس المختلفة، وخلال العشر سنوات السابقة معدل الإصابة بداء السلمونيلا الذي تسببه *S*. Enteritidis ازداد أما في الوقت الحاضر معدلات العدوى بي S. typhimurium في ازدياد.

3.2.18 خصائص بكتيريا *Salmonella*

بكتيريا *Salmonella* عصوية سالبة لصبغة جرام وغير متجرثمة، لاهوائية اختيارية ومتحركة، تنتج غازات أثناء نموها على بيئة تحتوي على جلوكوز ولها القدرة على تخمير دولسيتول (Dulcitol) ولا تستطيع تخمير اللاكتوز أو السكروز، هذه البكتيريا تستهلك السترات كمصدر للكربون منتجة غاز كبريتيد الهيدروجين والدي كربوكسلات ليسين Decarboxylate lysine، تنمو عند درجات حرارة معتدلة مع أقصى نمو عند درجة حرارة 35–37م°، ولكن يمكن لها أن تنمو في درجات حرارة تتراوح بين 5 إلى 46 م° يمكن القضاء عليها بالبسترة كما أنها حساسة لدرجات الحرارة المنخفضة (أقل من 4 م°)، لا يمكن لهذه البكتيريا أن تنمو في نشاط مائي 0.94 وأس هيدروجيني 4.5 أو أقل. يمكن لخلاياها أن تنجو من عملية التجميد وكذلك الجفاف لفترات طويلة كما أن نموها في الأغذية لا يغير

شكل الغذاء أو رائحته. البيئة الطبيعية للسالمونيلا هي أمعاء الحيوانات والطيور والحشرات. في الحيوانات والطيور قد تسبب هذه البكتيريا داء السالمونيلا ومن ثم تصبح هذه الحيوانات حاملة لها دون ظهور أعراض الإصابة وتفرز في فضلاتها.

4.2.18 المرض وأعراضه

بعد تناول الغذاء الملوث بالبكتيريا تخترق هذه البكتيريا خلايا الأمعاء وتتكاثر ومن ثم تفرز السم مسببه حساسية وتجمع للسوائل في الأمعاء، اختراقها لجدار الأمعاء وتخريب الخلايا يرجع إلى قدرتها على إفراز سم مقاوم للحرارة (Thermostable cytotoxic factor) وهو المسئول عن تجمع السوائل والأملاح في الأمعاء، قدرة البكتيريا على إنتاج السم المعوي Enterotoxin ترتبط بمعدل نمو الخلايا.

عدوى السالمونيلا تختلف عن الحمى التيفودية والبرا تيفودية اللتان تسببهما كل من *Salmonella typhi* و*Salmonella paratyphi* على التوالي، لكي يصاب الإنسان بعدوى السالمونيلا يجب أن يتناول ما يقارب 10^{5-6} خلية في الغذاء الملوث. ولكن هذا العدد غير ثابت فبعض الأنواع المقاومة للأنزيمات المعوية المعدة تحتاج لعدد أقل من هذا العدد لتسبب المرض أما بعض الأنواع الحساسة للأنزيمات المعوية قد تحتاج إلى عدد أكثر. تبدأ الأعراض بالظهور بعد حوالي 8–42 ساعة ولكن في الأغلب تبدأ في خلال 24–36 ساعة وتستمر لمدة يومين إلى 3 أيام وفي بعض الأحيان قد تستمر أكثر من ذلك. ويبقي الأشخاص حاملين لها حتى بعد تعافيهم لعدة شهور. ليس كل الأشخاص الذين تناولوا الغذاء الملوث

بالميكروب يظهرون الأعراض وكذلك تختلف شدة الأعراض من شخص إلى آخر. وفي العموم تظهر الأعراض في شكل آلام في المعدة وغثيان وإسهال وقيء وارتفاع في حرارة الجسم ويمكن أن تكون قاتلة للرضع والمرضى.

5.2.18 الأغذية المرتبطة بعدوى السالمونيلا Food Association

الأغذية من المنتجات الحيوانية هي الأكثر ارتباط بحالات التفشّي. وهذا يشمل اللحوم والدواجن والبيض والحليب والأغذية المشتقة من هذه المنتجات، الجدول (2.18) الآتي يوضح الأغذية المختلفة المرتبطة بعدوى السالمونيلا.

أغلب هذه الأغذية تكون ملوثة بطريقة مباشرة أو غير مباشرة بفضلات الحامل للبكتيريا ومن ثم أكلت نيئة أو غير مطهية جيداً أو تلوثت عن طريق الخطأ من أدوات التحضير أو الأشخاص.

هناك ما يقارب 2000 نمط مصلي من السالمونيلا ولكن القليل منها مرتبط بالأمراض المنقولة عن طريق الغذاء. ويرجع ذلك إلى التنوع في توزيعها الجغرافي وقدرتها على التسبب بالمرض. في الولايات المتحدة تعتبر *Salmonella* typhimurium هي السبب الرئيسي لعدوى السالمونيلا ومنذ عام 1980 ازداد عدد حالات العدوى التي تسببها *S.* enteritidis ولكن في السنوات الأخيرة أصبح معدل الإصابة بها مساوي لـ *S* .typhimurium والسبب غير معروف.

6.2.18 طرق الوقاية

طرق الوقاية تشمل النظافة والتعقيم في كافة مراحل تداول وتصنيع الأغذية والأعلاف ومياه الشرب كذلك الطهي الجيد للأغذية (درجة الحرارة والمدة) مثلا 71.7 م^{o} لمدة 15 ثانية والحفظ في مكان بارد ومنع تلوث الأغذية الجاهزة للأكل من مصادر أخرى مثل الأوعية والمعدات والأشخاص كذلك تثقيف العاملين عن النظافة الشخصية وعدم السماح للمرضى بالتعامل مع الأغذية وإعادة تسخين الغذاء قبل التقديم. كل هذه الأمور تؤدي إلى التقليل من معدلات الإصابة.

جدول (2.18): حالات تفشي العدوى بالسالمونيلا في الولايات المتحدة الأميركية من 1973 إلى 1987 والأغذية المختلفة المرتبطة بها

الأغذية	عدد حالات تفشي العدوى بالسالمونيلا
اللحم البقري	77
الدجاج	30
الديك الرومي	36
البيض	16
مشتقات الألبان	50
الأسماك	8
المعجنات	12
الخضار والفواكه	9
المشروبات	4
أغذية أخرى	191
غير معروفة	320

المصدر: مختصر عن RAY (2004)

3.18 عدوى بكتيريا *Shigella* (الزحار) Shigellosis

جنس بكتيريا *Shigella* يحتوي على 4 أنواع وهي *Shigella dysenteriae* والشيقلا فلكسنيري *Shigella flexneri* والشيقلا بويدي *S. boydii* والشيقلا سوني *S. sonnei*، وكل نوع ينقسم إلى عدة أنماط مصلية Serovars، بكتيريا *Shigella* عصوية، سالبة لصبغة جرام، غير متحركة، لاهوائية اختيارية، كما أنها موجبة للكتاليز (Catalase) وسالبة للاوكسيديز (Oxidase) واللاكتوز، لها القدرة على تخمير السكر بدون تكوين غازات، تنمو هذه البكتيريا بين درجة حرارة 7 – 46 م° ويصل نموها إلى أسرع ما يمكن عند درجة حرارة 37 م° كما يمكن لخلاياها أن تعيش لعدة أيام تحت ظروف بيئية غير ملائمة مثل التبريد والتجميد وتركيز ملح 5% وأس هيدروجيني 4.5 يمكن القضاء عليها بالبسترة كما يمكن لخلاياها أن تتكاثر في عدة أنواع من الأغذية عند حفظها في درجة حرارة تسمح بنموها.

أمعاء الإنسان Human intestine هي البيئة الوحيدة للبكتيريا حيث أن الإنسان هو المضيف لهذه البكتيريا وبعض أنواع القرود. يحمل الإنسان البكتيريا في الأمعاء ويطرحها في الفضلات وبعد الشفاء يصبح الإنسان حامل لها لعدة أشهر.

يتم نقل البكتيريا مباشرة من الأيدي الملوثة إلى الفم Fecal – oral routes أو بطريقة غير مباشرة وذلك بتلوث الأغذية والمياه بفضلات الإنسان Fecal-contaminated food and water. المياه الملوثة هي السبب الرئيسي لعدوى الشيقلا في الدول النامية.

تحدث العدوى بهذه البكتيريا بكثرة في بعض المناطق مثل أسيا والمكسيك وجنوب أمريكا، كما توجد بكثرة في المناطق الأقل عناية بالصحة العامة، الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 5 سنوات هم الأكثر عرضة لهذه العدوى. في الولايات المتحدة قبل عام 1950 كان النوع السائد هو *Shigella dysenteriae* ولكن في الوقت الحالي النوع *S. sonnei* هو النوع السائد، بين عام 1983 و 1987 حدث ما يقارب 44 حالة تفشي وأثرت في 9971 شخص ورصدت حالتين وفاة من بين المصابين، حدث في عام 1987 تفشي أصيب فيه آلاف الأشخاص بعدوى *Shigella* نتيجة لتناولهم وجبات جاهزة حُضرت بطريقة غير صحية مما أدى إلى تلوثها ببكتيريا *S. sonnei*، في العموم وجد أن المنشأة التي تقدم الأغذية هي السبب الرئيسي لأغلب حالات التفشي نتيجة انخفاض مستوى النظافة الشخصية للعاملين فيها. كما أن عدوى الشيقالا تزداد في أواخر الربيع وبدايات الخريف.

1.3.18 المرض وأعراض العدوى

يعتقد أن أعراض المرض هي نتيجة لقدرة هذه البكتيريا على اختراق الطبقة المخاطية المبطنة للأمعاء الدقيقة والغليظة small and Large intestines وقدرتها على إنتاج سموم معوية خارجية (Exotoxin) له خاصية سامة للخلايا ويسمي هذا السم سم الشيقا (Shiga toxin)، قدرتها على الاختراق تكون نشطة عند درجة حرارة 37مْ ولكن ليس عند 30مْ. البكتيريا النشطة على 30مْ تحتاج عدة ساعات لتزداد أعدادها وتتأقلم قبل اختراقها للخلايا ومن ثم تهاجم الخلايا المبطنة للأمعاء وتقتلها وتهاجم خلايا أخرى مسببة تقرحات

في الأمعاء وقد يكون البراز مختلطا بالدم، أما السم المعوي الشيقا فيقوم بتنشيط إفرازات الأمعاء مما يسبب حدوث الإسهال، وهذا السم عبارة عن بروتينات تنتج بواسطة *Shigella ysenteriae* (والتي تعتبر شديدة العدوى) بكميات كبيرة وهذه السموم غير مقاومة للحرارة أما الأنواع الأخرى من جنس *Shigella* فتنتج السم بكميات أقل.

الجرعة اللازمة لحدوث المرض منخفضة جداً حوالي 10^{1-3} خلية، بعد تناول الغذاء الملوث تظهر الأعراض بعد 12 ساعة إلى 7 أيام ولكن في العموم تظهر في خلال 1-3 أيام وقد تستمر في الحالات البسيطة من 5 إلى 6 أيام وفي الحالات الخطيرة إلى 2–3 أسبوع الأعراض تظهر على شكل آلام في البطن وإسهال مختلط بدم ومخاط وقيح وارتفاع في درجة الحرارة وقشعريرة وصداع وفي العموم الأطفال أكثر عرضة للمرض من كبار السن بعد تلاشي الأعراض يستمر الشخص في طرح البكتيريا في البراز.

2.3.18 الأغذية المرتبطة بالعدوى

هذه البكتيريا لا توجد في الغذاء إلا إذا تلوث من فضلات الإنسان بطريقة مباشرة أو غير مباشرة سواء كان الإنسان مصاباً أم حاملاً للميكروب، والتلوث المباشر يحدث نتيجة عدم الالتزام بالنظافة الشخصية أما التلوث الغير مباشر يحدث نتيجة استخدام مياه ملوثة لغسل الأغذية وتناولها دون طهي. وقد يحدث تلوث بطريقة عرضية للأغذية الجاهزة للأكل، وأغلب حالات الإصابة تحدث من الأغذية التي يكثر تداولها بالأيدي أو الأغذية الجاهزة للأكل. في الدول المتقدمة تحدث الإصابة في الأغلب من أنواع مختلفة من السلطات

(البطاطس – التونة – الجمبري أو الدجاج)، ووجد أن الأغذية التي تُقطع قبل الأكل مثل السلطات تساهم في أغلب حالات التفشي كذلك المحار المصطاد من مياه ملوثة بمياه الصرف ويؤكل دون طهي قد يسبب إصابة، أما في البلاد النامية فإن مياه الشرب تعتبر هي المسؤولة عن العدوى بهذه البكتيريا، الجرعة اللازمة لتسبب الإصابة صغيرة ولذلك فنموها في الغذاء غير ضروري.

3.3.18 الوقاية من عدوى *Shigella*

للوقاية من هذه العدوى يجب منع المرضى من تداول الأغذية ولكن هذا الأمر مستحيل لأنهم قد يكونون حاملين للبكتيريا دون ظهور أي أعراض لذلك تثقيف العاملين عن أهمية النظافة الشخصية وعدم تداول الأغذية في حالة إصابتهم بأي حالة تلبك معوي، استعمال أدق المعايير الصحية لمنع التلوث العرضي Cross-contamination للأغذية الجاهزة للأكل واستعمال ماء معالج بالكلور لغسل الخضار التي ستحضر منها السلطة وحفظ الأغذية في الثلاجة إلى حين تقديمها مهم جداً للتقليل من حالات الإصابة.

4.18 بكتريا القولون المرضية Pathogenic *Escherichia coli*

بكتيريا *E.coli* في العموم تمثل جزءاً من الفلورا الطبيعية المتواجدة في الأمعاء الغليظة للإنسان والحيوان، منذ اكتشافها في عام 1885 اعتبرت بكتيريا القولون البرازية غير ضارة، في أواسط عام 1940 وبعد تجميع معلومات كافية عن هذه البكتيريا وجد أن معظم

السلالات غير ممرضة ولكن هناك بعض السلالات ممرضة للإنسان وتسبب له الإسهال خاصة للأطفال وعرفت ببكتيريا *E. coli* الممرضة Enteropathogenic *E. coli*، أما المعلومات المتوفرة حالياً تثبت وجود أكثر من سلالة ممرضة، و *E.coli* هي بكتيريا عصوية سالبة لصبغة جرام ومتحركة وغير متجرثمة ولاهوائية اختيارية وبيئتها الطبيعية هي أمعاء الإنسان والحيوان والطيور ونظراً لتواجدها بأعداد كبيرة في أمعاء الإنسان (بالملايين /جرام من محتويات الأمعاء الغليظة) لذلك تعتبر منذ وقت طويل كمؤشر Index Organism للتلوث البرازي في الغذاء أو مياه الشرب واحتمال وجود بكتيريا معوية ممرضة، وقسمت السلالات الممرضة إلى عدة مجاميع أهمها:

بكتيريا القولون المعوية الممرضة Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) (بكتيريا القولون المعوية السامة Enterotoxic *E. coli* (ETEC) بكتيريا القولون المجتاحة للأنسجة Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) وبكتيريا القولون النزفية Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) وسيتم تناول كلا منها على حدا.

1.4.18 بكتيريا القولون المعوية الممرضة Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

هذا النوع يسبب الإسهال للرضع في العالم وخاصة في المناطق منخفضة المستوى الصحي. تنقل هذه البكتيريا بطريقة مباشرة أو غير مباشرة من الشخص الحامل للميكروب إلى الغذاء. تسبب العدوى نتيجة لقدرتها على الالتصاق بالخلايا المبطنة للأمعاء مسببة ضرر للخلايا، ولإحداث المرض يجب أن تؤخذ بعدد كبير (10^{6-9} خلية)، أعراضها كأعراض

أي التهاب معوي Gastroenteritis وتشمل إسهال وآلام في البطن وغثيان.

2.4.18 بكتريا القولون المعوية السامة Enterotoxic *E. coli* (ETEC)

هذا النوع يسبب الإسهال للمسافرين Diarrhea in travelers والرضع في الدول النامية، وتفرز هذه البكتيريا عامل يساعدها على اختراق الخلايا (Invasive factor) وسم (Enterotoxin) مقاوم للحرارة أو حساس للحرارة أو كلاهما. مدة الحضانة من 12 إلى 72 ساعة والأعراض كأي التهاب معوي Gastroenteritis (كالكوليرا) تشمل إسهال وآلام في البطن وغثيان ونادراً ما يحدث قيء وقد يستمر المرض من 1 إلى 7 أيام أو قد يستمر لبضعة أسابيع خاصة عند الأطفال.

وتنقل البكتيريا بطريقة مباشرة أو غير مباشرة من الشخص الحامل للبكتيريا إلى الغذاء، ومن الضروري أن يتناول الشخص ما يقارب 10^{8-9} خلية لظهور الأعراض، وقد عزلت هذه البكتيريا من أمعاء الإنسان ومن الأغذية النيئة خاصة الأغذية ذات الأصل الحيواني، وللوقاية من العدوى بهذه البكتيريا يجب منع تلوث الغذاء بالبراز وذلك بإتباع الممارسات والعادات الصحية السليمة، طهو الأغذية جيداً قبل الاستهلاك.

3.4.18 بكتيريا القولون المجتاحة للأنسجة Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

هذا النوع المسبب للزحار مشابه للذي تسببه بكتيريا الشيقلا (*Shigella*) قدرتها على إفراز عامل يساعدها على الاختراق هي السبب في قدرتها على التسبب بالمرض.

الشخص الحامل للبكتيريا هو السبب في نشر المرض. ولكي يصاب الشخص بالأعراض يجب أن يتناول ما يقارب 10^6 خلية، في عام 1971 حدثت حالة تفشي بهذه البكتيريا الولايات المتحدة نتيجة تناول نوع من الجبن المستورد والملوث بسلالة *E. coli* O124:B17.

4.4.18 بكتريا القولون النزفية (*E. coli* EHEC) Enterohemorrhagic

هذا النوع عرف مؤخراً كمسبب لنوع من الإسهال الشديد والذي يكون مصحوب بدم (Hemorrhagic diarrhea) ومتلازمة البول المصحوب بدم (Hemorrhagic uremic syndrome) في الإنسان، المصدر الرئيسي لهذه البكتيريا المواشي مثل الأبقار الحاملة للبكتيريا، وتناول ما يقارب 10 – 100 خلية كافي ليسبب الأعراض في الأشخاص الأكثر حساسية، وسبب العدوى ناتجة لقدرتها على إفراز 3 أنواع من السموم داخل الأمعاء (Verotoxin).

أولاً: الالتهاب المعوي الذي تسببه بكتيريا القولون المجتاحة للأنسجة

Enteroinvasive *E. coli*

هذه البكتيريا تفرز عدة بروتينات Polypeptides وهي سموم تعرف بالعامل المساعد على الاختراق Invasive factors وبالتالي يستطيع الميكروب خرق الخلايا المبطنة للقولون مسبباً عدوى ولم يتم فصل أي سم منها حتى الآن.

أ. المرض وأعراضه

المرض وأعراضه مشابه لداء الشيقلا (Shigellosis)، بعد تناول الغذاء الملوث (10^6 خلية) ومرور فترة الحضانة تظهر الأعراض في شكل آلام في البطن وإسهال شديد وصداع وقشعريرة وارتفاع في درجة الحرارة. ويتم طرح البكتيريا بأعداد كبيرة في البراز، وتختفي الأعراض بعد حوالي 7–12 يوم ولكن يصبح الشخص حاملاً للبكتيريا لمدة طويلة.

ب. الأغذية المرتبطة بالعدوى

الإنسان هو المضيف الوحيد للبكتيريا والأغذية قد تتلوث بطريقة مباشرة أو غير مباشرة من فضلات الإنسان، في عام 1971 حدثت حالة تفشي في الولايات المتحدة من تناول جبن مستورد وبعد التحقيقات ظهر أنه تلوث من معدات المصنع نتيجة لعطل في نظام تصفية المياه، وفي عام 1983 حالة تفشي أخرى حدثت نتيجة تناول سلطة بطاطس ملوثة من الأشخاص العاملين.

هذه البكتيريا غير مقاومة لارتفاع درجات حرارة فيمكن القضاء عليها بالبسترة. ولذلك الطهي الجيد ومنع تلوث الأغذية الجاهزة للأكل وحفظ الأغذية في الثلاجة مباشرة بعد طهوها مهم لمنع الإصابة. بالإضافة إلى ذلك الاهتمام بجميع الطرق الصحية في تحضير الأغذية وتداولها مهم أيضا، كما يجب منع الأشخاص الذين يعتقد أنهم حاملين للميكروب من تداول الأغذية.

ثانيا: الالتهاب المعوي الذي تسببه بكتيريا القولون النزفية

Enterohemorrhagic *E. coli*

عرفت هذه البكتيريا كأحد مسببات الأمراض المنقولة للإنسان عن طريق الأغذية عام 1982 عقب تفشى العدوى بها في الولايات المتحدة الأميركية نتيجة تناول لحم بقري ملوث أدى إلى حدوث إسهال دموي للمصابين. تفرز هذه البكتيريا سموم تسمى بالفيروتوكسين Verotoxins أو سموم شبيهه بسموم تفرزها بكتيريا *Shigella* (Shiga-like toxins).

E. coli O157:H7 هو النوع المسؤول عن التهاب القولون المصحوب بنزيف (Enterohemorrhagic colitis)، كما إن هذا النوع لا يشبه الأنواع الأخرى فهذه البكتيريا لا تخمر السوربيتول (Sorbitol) وليس لديها أنزيم الجلوكورونيديل (Glucoronidase)، تنمو هذه البكتيريا بشكل سريع عند درجة حرارة 30 – 42 م° وأقل عند 44 – 45 م° ولا تنمو عند 10 م° أو أقل من ذلك. هذا النوع مقاوم لانخفاض الأس الهيدروجيني (pH: 4.5 أو أقل) ولذلك قد يتواجد في الأغذية الحامضية كما أنها تستطيع النمو في الأغذية ذات النشاط المائي الذي يصل إلى 0.95 يمكن القضاء عليها بعملية البسترة أو بتسخين الغذاء إلى 64.3 م° لمدة 9.6 ثانية، كما أن لها القدرة على النجاة عند درجة حرارة – 20 م°، تفرز هذه البكتيريا سم يسمي سم الفيرو (Verotoxin) أو سم الشيقا (Shiga toxin) ولذلك يمكن تقسيمها إلى نوعين حسب نوع السم: نوع الفيرو

(verotoxin *E. coli*) ونوع الشيقا (Shiga toxin *E. coli*)، ومن غير معروف أن كانت قادرة على إفراز عامل يساعدها على الاختراق أم لا. ولكن الأمر المحتمل أن خلاياها تستعمر الأمعاء عن طريق الالتصاق بخلايا الأمعاء ومن ثم تفرز السم، قد يمتص السم إلى مجرى الدم ويؤثر على الأوعية الدموية الصغيرة للأمعاء والكلى والدماغ.

أ. المرض وأعراض العدوى

يسبب النوع *E. coli* O157:H7 ثلاثة أعراض وهي التهاب القولون المصحوب بنزيف وتخثر الدم في الأوعية الدموية للكلى (Hemolytic uremic syndrome) وتخثر الدم في الدماغ (Thrombocytopenic purpura thrombotic)، تظهر الأعراض بعد 3 إلى 9 أيام من تناول الغذاء الملوث وتتلاشي بعد 4 أيام، أعراض التهاب القولون تظهر في شكل آلام شديدة في البطن وإسهال (35-75% من الحالات يكون مصحوب بدم) وقيء وقد يكون أحياناً مصحوبا بارتفاع في درجة الحرارة، تأذي الطبقة المبطنة للأمعاء هي سبب النزيف واختلاط الدم بالبراز، كذلك قد تتطور الحالة إلى أن يسبب السم تكسر كريات الدم الحمراء وتجلط الدم في الأوعية الدموية للكلى مما قد يسبب تأذيها أو أحيانا فشلها وهذا سبب العرض الثاني، أما العرض الثالث فهو نتيجة لتجلط أو تخثر الدم في الدماغ مما قد يسبب غيبوبة أو حتى الموت.

ب. الأغذية المرتبطة بالعدوى

الماشية هي المصدر الرئيسي لهذه البكتيريا حيث تتواجد في الأحشاء الداخلية للحيوانات وخاصة الحيوانات الحلوبة وتنتقل منها لتلوث الألبان واللحوم، تعتبر الأغذية من مصدر حيواني خصوصا اللحم المفروم هو المسؤول عن أغلب حالات تفشي هذه العدوى في الولايات المتحدة، وأوروبا وكندا، حيث أن الأشخاص المصابون كانوا قد تناولوا لحم همبرجر غير مطهو جيداً. في عام 1993 حصلت حالة تفشي أثرت في أكثر من 500 شخص وسببت 4 حالات وفاة نتيجة تناول لحم همبرجر ملوث من سلسلة مطاعم في واشنطن، نيفادا وكاليفورنيا وتبين بعد ذلك أن اللحم الملوث لم يطه كفاية لقتل البكتيريا، بالإضافة إلى أن أغذية أخرى مثل اللحم المفروم والحليب الغير مبستر وخل التفاح وبعض الفواكه والنقانق الغير مطهوة والسَّلَطَات قد سببت بعض حالات تفشي العدوى بهذه البكتيريا، كما عُزلت بكتيريا القولون البرازية نوع *E. coli* O175:H7 من الأغذية ذات المصدر الحيواني مثل اللحم البقري والدجاج واللحم المفروم والحليب غير المبستر ولكن بنسبة منخفضة.

إتباع الطرق الصحية والطهي الجيد للأغذية والتخزين على درجة الحرارة المناسبة ومنع التلوث من مصادر أخرى بعد الطهي مهم جداً في الوقاية من الإصابة بهذه العدوى في الأغذية الجاهزة. كذلك استعمال الحليب المبستر وتجميد الأغذية الجاهزة مباشرة بعد شرائها وعدم محاولة إذابة الغذاء عن طريق وضعه في درجة حرارة الغرفة ولمدة تزيد عن ساعتين وغسل الأواني والأدوات التي استعملت في تقطيع اللحم المطهوة أو النيئ ومنع تلوث الأغذية

بفضلات الإنسان عن طريق الحفاظ على النظافة الشخصية يساهم بشكل كبير في منع العدوى بهذه البكتيريا.

5.18 عدوى الليستيريا (Listeriosis)

عدوى الليستيريا التي تسببها بكتيريا *Listeria monocytogenes* معروفة منذ فترة طويلة ولكن اعتبارها كمرض ينقل عن طريق الغذاء عرف مؤخراً، هذه البكتيريا هي بكتيريا انتهازية حيث إنها لا تصيب الأشخاص المعافين، ولكن معدلات الخطورة تكون مرتفعة في الرضع وكبار السن والنساء الحوامل والأشخاص الذين يعانون نقصاً في المناعة مثل مرضى القلب أو السرطان أو الفشل الكلوي أو الإيدز حيث إن معدل الخطورة يصل إلى حوالي 30–40%، بالإضافة إلى ذلك لها القدرة على النمو في درجة حرارة الثلاجة وهذا يسمح لها بالوصول إلى أعداد كبيرة من الأغذية المحفوظة في درجة حرارة الثلاجة، وتعود المستهلك على تناول الأغذية الجاهزة وعدم تسخينها جيداً ساعد على انتشار العدوى بهذه البكتيريا، كذلك قد يحدث تلوث أثناء تحضير الأغذية الجاهزة ومن ثم تنمو البكتيريا في الغذاء عند التخزين.

الكثير من الطرق المعتمدة في تحضير الغذاء قد تسبب في حدوث وانتشار عدوى الليستيريا ولكن معرفة الأغذية التي تساعد في نموها والمراحل التي قد يتلوث عندها الغذاء والأفراد الأكثر عرضة لها ساعد في تطوير طرق أدت إلى تقليل حالات الإصابة ويتم ذلك عن طريق فحص الأغذية الجاهزة لوجود الليستيريا ومنع بيع الأغذية الملوثة وتوعية الأشخاص

الأكثر عرضة عن كيفية اختيار الغذاء والطرق الصحية لكيفية تحضيره لمنع حدوث تلوث، وكنتيجة لذلك انخفضت نسبة الإصابة في الولايات المتحدة من 2000 حالة في عام 1986 إلى 1000 حالة في عام 1991.

1.5.18 خصائص بكتيريا *L. monocytogenes*

L. monocytogenes هي بكتيريا عصوية موجبة لصبغة جرام ومتحركة وتنمو في درجات حرارة منخفضة ولاهوائية اختيارية وغير متجرثمة، وفي المزرعة قد تكون سلاسل قصيرة كما إنها قادرة على تحليل وتخمير الرامنوز (Rhamnose) ولا تخمر الزايلوز (Xylose)، هذه البكتيريا لها القدرة على النمو في مدى حراري يتراوح بين 1 إلى 44 م° مع درجات حرارة مثلى تتراوح بين 35–37 م° بكتيريا مقاومة للبرودة Psychrotroph كما أن نموها سريع عند درجة حرارة 7–10 م° لها القدرة على تخمير الجلوكوز دون تكوين غازات ولها مدى واسع من الأس الهيدروجيني للنمو (5 إلى 9) كما تنمو في بيئات غذائية مختلفة وقادرة على تحمل درجة التجمد والجفاف وتركيز الملح العالي (كلوريد صوديوم :10%) والأس الهيدروجيني 5.0 أو أعلى، لكنها حساسة للبسترة (71.7 م° لمدة 15 ثانية أو 62.8م° لمدة 30 دقيقة)، عزلت هذه البكتيريا من أماكن مختلفة مثل التربة ومياه الصرف الصحي ومياه الشرب ومن فضلات الحيوانات والطيور كذلك اللحوم النيئة والخضار والبيض والأسماك قد تحتوي على هذه البكتيريا، ويمكن عزلها من الأغذية التي تم معاملتها بالحرارة مثل الحليب المبستر والأغذية الجاهزة للأكل، وقد يكون الإنسان حامل لها دون ظهور أي

أعراض.

2.5.18 المرض وأعراضه

جنس *Listeria* يضم العديد من الأنواع ويعتبر نوع *L. monocytogenes* هو النوع الممرض وهذا النوع يحتوي على عدة أنماط مصلية (/2a, 1/2b, 1/2c, 3a,3b,3c,4b1) حيث أن الأنماط 2a1/ و2b1/ هي المسببة لعدوى الليستيريا في أوروبا أما النمط b4 فهو المسبب للعدوى في أمريكا وكندا.

وأحد أسباب قدرتها الإمراضية هي إفرازها نوع محدد من Hemolysin و Listeriolysin O وتفرز هذه العوامل الإمراضية في طور النمو اللوغاريتمي Exponential growth. وتخترق هذه البكتيريا الأنسجة المختلفة للجسم وتتكاثر داخلها مفرزه السم الذي يسبب موت الخلايا.

الأشخاص المعافون قد يظهرون أعراضاً بعد تناولهم الأغذية الملوثة. تظهر الأعراض بعد يوم إلى 7 أيام وهي تشبه أعراض الأنفلونزا بالإضافة إلى آلام في المعدة وإسهال. تختفي الأعراض بعد أيام قليلة ولكن يستمر الشخص المصاب إخراجها في البراز لبعض الوقت، أما في الأشخاص الأكثر حساسية فالأعراض تأخذ شكل آخر، هذه المجموعة تشمل النساء الحوامل والأجنة والرضع وكبار السن الذين يعانون من مرض يسبب نقص في المناعة والأشخاص الذين يتناولون أدوية معينة مثل الستروييد (Steroid).

الأعراض الأولية تكون في شكل غثيان وقيء وآلام في البطن وإسهال مع ارتفاع في درجة الحرارة وصداع، ومن ثم تدخل البكتيريا الدم وتنتشر في الجسم وتصيب أعضاء أخرى مثل الجهاز العصبي، أما في المرأة الحامل فقد تدخل عن طريق المشيمة وتصيب الجنين. وبالتالي تسبب تعفن الدم والتهاباً في غشاء القلب، وقد تسبب التهاب السحايا للرضع نتيجة اختراقها للدم وفي هذه الحالة قد تحدث وفيات بحوالي 30% معدل الخطورة في الأجنة والرضع والأشخاص الذين يعانون من نقص في المناعة يكون مرتفعاً جداً والجرعة البكتيرية اللازمة للتسبب بالمرض تتراوح ما بين 100–1000 خلية.

3.5.18 الأغذية المرتبطة بالعدوى

في الغالب تكون حالات الإصابة متفرقة ومع ذلك تم تسجيل بعض حالات التفشي من تناول بعض الأغذية الملوثة مثل سلطة الملفوف والحليب المبستر والغير المبستر وبعض أنواع الجبن واللحم والديك الرومي ولحم الدواجن، والكثير من الأغذية المطهوة تكون ملوثة نتيجة عدم طهيها جيداً أو تلوثها بعد الطهي. الأغذية الخام من مصدر حيواني أو نباتي قد تكون حاملة للبكتيريا وبالتالي تناولها قد يسبب عدوى الليستيريا، قدرتها على النمو في الأغذية المحفوظة في الثلاجة هو السبب في أغلب حالات الإصابة، هذه البكتيريا يمكن أن تتحمل التجفيف والتجميد أكثر من بكتيريا *Salmonella*.

4.5.18 طرق الوقاية

هذه البكتيريا منتشرة بشكل كبير في البيئة لذلك ومن الصعب وجود غذاء خالي منها ومع هذا كثير من الدول وضعت عدة برامج صارمة للحد من عدوى الليستيريا، ويمكن السيطرة على هذه البكتيريا بإتباع الآتي:

أ. توعية المستهلكين على كيفية طهي الأغذية الحيوانية بشكل جيد.

ب. غسل الخضار جيداً وحفظ اللحم النيئ بشكل مفصول عن الخضار والأغذية المطهوة والأغذية الجاهزة للأكل.

ج. عدم شرب الحليب غير المبستر أو الأغذية المطهوة بحليب غير مبستر وغسل الأيدي والسكاكين ولوح التقطيع بعد استعمالها لتقطيع أو لتجهيز الأغذية النيئة.

د. كما أن هناك نصائح خاصة للأشخاص الأكثر عرضة مثل عدم تناول بعض أنواع الجبن مثل الجبن الأزرق وجبن الريكوتا وفيتا وإعادة تسخين الأغذية الجاهزة أو المحفوظة بالثلاجة قبل أكلها وعدم تناول الأغذية المعلبة (وهذه للنساء الحوامل وكبار السن والذين يعانون نقص في المناعة).

5.5.18 دراسة حالة

في ديسمبر عام 1988 في أوكلاهما، أصيب مريض سرطان بعدوى الليستيريا بعد

تناوله فطيرة ديك رومي جاهزة بعد تسخينها في الميكروويف، تم عزل *L. momocytogenes* نوع 2a1/ من بقايا الفطيرة المفتوحة الموضوعة في الثلاجة ومن الأغذية الأخرى. كذلك عزلت من فطائر أخرى من نفس العلامة التجارية. الجهات المعنية بتقليل معدلات الإصابة تعتقد أن الفطيرة هي السبب والتحقيقات اللاحقة أظهرت أن المصنع لهذه العلامة التجارية يحتوي على نفس النوع السيرولوجي في بيئة العمل.

هذه الحادثة أظهرت واجهة جديد ومهمة لعدوى الليستيريا:

أ. الشخص الذي تأثر بالبكتيريا يعاني نقصاً في المناعة.

ب. الفطيرة الجاهزة هي مصدر البكتيريا.

ج. استخدام الميكروويف لم يقتل البكتيريا.

د. نمت البكتيريا وازداد عددها أثناء تخزينها في الثلاجة.

هـ. الأغذية الأخرى في الثلاجة تلوثت من الفطيرة.

و. وجد نفس النوع الذي كان على الفطيرة في بيئة التصنيع بعد 4 أشهر.

ز. تلوثت الفطيرة بعد طهوها من المعدات الملوثة.

وللوقاية من مثل هذه الحادثة كان يمكن تطبيق طرق وقائية بسيطة في المصنع أما

على مستوى المستهلكين فالتسخين الجيد للمنتج قبل الأكل كان كافي لتفادي الحادثة.

6.18 عدوى الكمبايلوباكتر Campylobaceriosis

توجد عدة أنواع من بكتيريا *Campylobacter* التي قد تسبب هذه العدوى في الإنسان ولكن *C. Jejuni* و *C. coli* هي الأنواع المسببة للعدوى في أغلب دول العالم. في العديد من الدول حالات الإصابة بعدوى الكمبايلوبكتر تفوق عدد حالات عدوى السالمونيلا والشيقلا معاً، والمعلومات الوبائية تؤكد هذا في كل من كندا وبريطانيا وسكوتلاند، وبعد تطوير طرق عزل هذه البكتيريا أتضح أن *C. Jejuni* هي المسبب لعدة حالات من العدوى الغذائية وكانت تسمى سابقاً *Vibrio fetus*، وفي الولايات المتحدة بين عام 1979–1987 سببت هذه البكتيريا ما يقارب من 53 حالة تفشي أثرت في حوالي 1547 شخص وأدت إلى حالتين وفاة وكانت الأغذية المسببة لهذا المرض هي الحليب غير المبستر والدجاج غير المطهو جيداً.

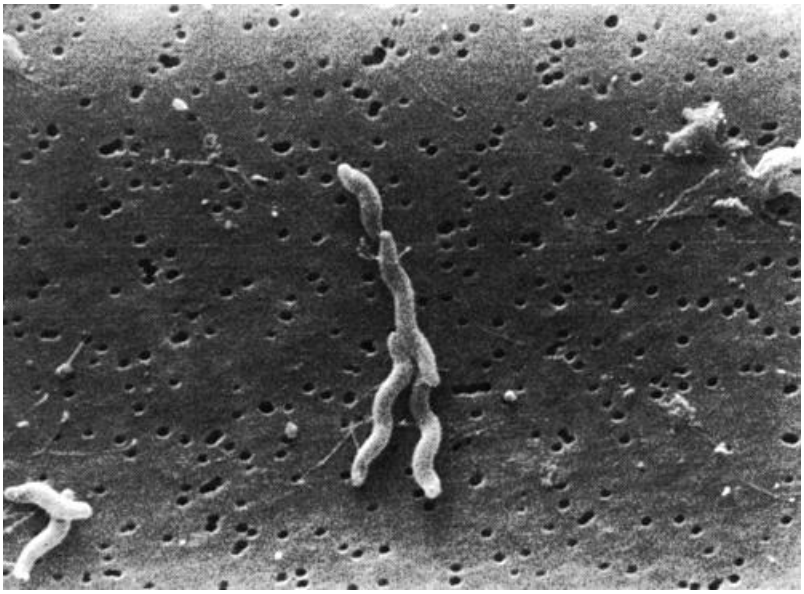
1.6.18 خصائص بكتيريا *Campylobacter*

الجنس *Campylobacter* يضم بكتيريا عصوية أسطوانية الشكل منحنية إلى حلزونية وسالبة لصبغة جرام ، متحركة بشكل لولبي وغير متجرثمة، كما أنها تنمو في نسبة قليلة من الأوكسجين Microaerophilic وموجبة للكاتاليز (Catalase) والاوكسيدايز (Oxidase)، هذا النوع من البكتيريا يحتاج إلى كمية قليلة من الأوكسجين (5%)، ثاني

أكسيد الكربون (8%) ونيتروجين (87%) للنمو، كما أنها تنمو في درجات حرارة تتراوح ما بين 32–45 م° مع درجة حرارة مثلى 42 م°، كذلك تنمو بشكل أفضل في وجود الأحماض الأمينية عنها في الأغذية الغنية بالكربوهيدرات، تعتبر هذه البكتيريا بطيئة النمو ومنافس غير جيد في وجود أنواع أخرى من البكتيريا بالإضافة إلى أنها حساسة لعدة ظروف بيئية مثل وجود أوكسجين، تركيز ملح أعلى من 2.5% والحموضة (pH: أقل من 5.0) درجة حرارة اقل من 30م°، البسترة والجفاف ولكنها تستطيع تحمل درجة حرارة الثلاجة والتجميد لعدة شهور، الشكل (1.18) يوضح شكل الخلايا تحت المجهر الإلكتروني، بكتيريا *C. jejuni* توجد غالباً في القناة المعوية لكثير من الحيوانات مثل الماشية والكلاب والقطط والطيور خاصة الدجاج ولكن وجودها في المياه والخضار والأغذية يكون نتيجة تلوثها بالبراز.

2.6.18 المرض وأعراضه

تفرز هذه البكتيريا سماً معوياً حساساً للحرارة Thermolabile enterotoxin وهو المسؤول عن الأعراض المعوية، بالإضافة إلى ذلك فهي تفرز عامل Invasive factor يساعدها على اختراق الطبقة المبطنة للأمعاء الدقيقة والغليظة. والجرعة اللازمة لحدوث المرض منخفضة وهي حوالي 500 خلية.



شكل (1.18): بكتيريا ***Campylobacter jejuni*** **(تحت المجهر الإلكتروني)**

المصدر: ADAMS &MOSS (2008)

وتظهر الأعراض بعد 2 إلى 5 أيام من تناول الغذاء الملوث وتستمر من 2 إلى 3 أيام. تكون الأعراض في شكل آلام شديدة في البطن وإسهال وغثيان وقيء قليل وارتفاع في درجة الحرارة وصداع وقشعريرة، وفي بعض الحالات قد يختلط الإسهال ببعض الدم والشخص يصبح حامل لها لفترة طويلة.

3.6.18 الأغذية المرتبطة

لأنها موجود وبكثرة في الحيوانات والطيور والبيئة لذلك يمكن لبكتيريا *C. jejuni* أن تتواجد في العديد من الأغذية من مصدر نباتي أو حيواني، وتلوث الأغذية يكون بطريقة

مباشرة من فضلات الحيوانات أو الإنسان أو بطريقة غير مباشرة من مياه الصرف الصحي أو المياه الملوثة، استعمال فضلات الحيوانات كسماد قد يسبب تلوث للخضار، ووجدت *C. jejuni* بكثرة في اللحوم النيئة والحليب والبيض والخضار والفطر والمحار، أما في الأغذية المطهوة فوجودها يكون نتيجة تلوث بطريقة عرضية، وحالات التفشي تحدث نتيجة تناول الحليب غير المبستر والدجاج الغير مطهو جيداً والمعجنات والديك الرومي والأغذية الصينية والبيض وغيرها. ولكن الحليب غير المبستر والدجاج ساهما في العديد من حالات التفشي. وهذه البكتيريا قد لا تنمو بشكل جيد في وجود أنواع بكتيرية أخرى ولكن ينجو منها ما يكفي لإحداث المرض.

وللوقاية من هذه العدوى يجب منع وجود هذه البكتيريا في الأغذية النيئة التي من مصدر حيواني ورغم أن هذا أمر صعب ولكن إتباع الطرق الصحية قد يساعد في تقليل عددها في الغذاء النيئ وكذلك أثناء التحضير وتداول الغذاء، منع تناول الأغذية النيئة من مصدر حيواني ومنع ملامستها للأغذية الجاهزة المعدة للأكل ومنع تلوث الغذاء بعد طهوه مهم جداً لمنع الإصابة من الأغذية الحيوانية. أما الخضار فيمكن منع تلوثه عن طريق عدم استعمال فضلات الحيوانات كسماد وعدم استعمال المياه الملوثة لغسل الخضار، بالإضافة إلى ذلك يجب التأكد من النظافة الشخصية للعاملين وكذلك منع المرضى من العاملين من التعامل مع الأغذية.

7.18 عدوى اليرسينيا *Yersinia enterocolitica*

اكتشفت عدوى اليرسينيا أول مرة في الولايات المتحدة في عام 1976 نتيجة لحدوث حالة تفشي في مدرسة عند شرب شكولاتة ساخنة ملوثة ببكتيريا *Yersinia enterocolitica*، واستمرت حالات الإصابة حتى أوائل عام 1980، وفي عام 1982 حدثت 3 حالات تفشي واحدة من تناول جبن التوفو وحالتين من شرب حليب ملوث، وبعد ذلك لم تسجل حالات تفشي حتى عام 1987، ولكن سجلت حالة تفشي جديدة في عام 1988 وفي الدنمارك تشكل عدوى اليرسينيا أغلب حالات الالتهاب المعوي.

1.7.18 خصائص بكتيريا *Yersinia enterocolitica*

بكتيريا *Yersinia enterocolitica* سالبة لصبغة جرام عصوية وغير متجرثمة ومتحركة عند درجة حرارة أقل من 37 مْ ولاهوائية اختيارية مقاومة للبرودة Psychrotroph. وتتراوح درجة نموها من 0 إلى 44 مْ مع نمو امثل عند 25 إلى 29 مْ، ويحدث النمو في الحليب واللحم النيئ عند 1مْ ولكن بمعدل أقل. كما أنها تستطيع النمو عند تركيز ملح 5%، pH أعلى من 4.6 ولكنها تموت بالبسترة، توجد في أمعاء الحيوانات والطيور والإنسان.

2.7.18 المرض وأعراضه

ليس كل سلالات *Yersinia* ممرضة ولكن النوع الممرض يوجد بكثرة في أحشاء الخنزير. يستطيع كل من النوع الممرض والغير ممرض إفراز سم مقاوم للحرارة

Heat-stable toxin وبالتالي قدرتها على الإمراض غير مرتبطة بقدرتها على إفراز السم، ولكن النوع الممرض يملك عامل اجتياحي Invasive factor يساعدها على اختراق الأمعاء والعقد اللمفاوية من ثم تستعمرها وتفرز السم وتسبب العدوى. الأطفال هم الأكثر عرضه للإصابة بالعدوى، والجرعة اللازمة لحدوث الإصابة حوالي 10^7 خلية، وتظهر الأعراض بعد 24–30 ساعة وتستمر لمدة 2–3 أيام وهي عبارة عن ألم شديد في البطن وإسهال وغثيان وقيء وارتفاع في درجة الحرارة ونادراً ما تحدث حالات وفاة.

3.7.18 الأغذية المرتبطة

عزلت هذه البكتيريا من عدة أغذية مثل الحليب ومشتقات الألبان (حيث عزلت *Yersinia enterocolitica* من 50% من عينات اللبن الخام التي تم تحليلها في دراسة حديثة بالمملكة المتحدة) واللحوم النيئة والخضار والمياه غير المعالجة جيداً بالكلور، وأغلب حالات الإصابة كانت ناتجة من شرب الحليب الخام أو المبستر والمثلجات واللحوم غير المطهوة جيداً، ولأن البكتيريا حساسة للحرارة فإن تواجدها في الأغذية المعاملة حرارياً يدل على حدوث تلوث بعد المعاملة.

يمكن أن يلوث الغذاء أيضاً عن طريق الإنسان الحامل للميكروب Human carrier أو من الحيوانات الأليفة، بالإضافة إلى ذلك قدرتها على النمو في درجة حرارة الثلاجة تسمح لها بالوصول إلى أعداد كبيرة أثناء التخزين، لأن بكتيريا Yersinia enterocolitica تستطيع النمو عند درجة التبريد لا يمكن استعمال الحفظ في الثلاجة كوسيلة للوقاية لذلك إتباع

الطرق الصحية في كل مراحل تحضير الغذاء مهم جداً للتقليل من حالات الإصابة، أيضا يجب منع شرب الحليب غير المبستر وعدم تناول اللحوم غير المطهوة جيداً، والجدول (3.18) يوضح مرحلة الخمول ومعدلات النمو للبكتيريا الممرضة المقاومة للبرودة عند درجات تبريد مختلفة.

8.18 الالتهاب المعوي بعدوى بكتيريا الفيبريو (*Vibrio*)

يوجد 4 أنواع لجنس Vibrio تسبب عدوى غذائية وهي الفيبريو كوليرا (Vibrio cholera) الفيبريو ميكيكس (V. mimicus) والفيبرو باراهيمولتيسك (V. parahemolyticus) والفيبرو فولنيفيكس (V. vulnificus)، لا يوجد قاعدة واضحة للتفرقة بين الأنواع ولكن عدم وجود ارتفاع في درجة الحرارة في العدوى التي يسببها كل من Vibrio cholera الفيبريو كوليرا و V. mimicus الفيبريو ميكيكس هي الفاصل بين هذه الأنواع والاثنين الأخيرين V. cholera و V. mimicus سيتم مناقشتهما في العدوى التسممية Toxicoinfection.

جدول (3.18): تأثير التبريد على نمو ثلاث ممرضات تستطيع النمو على الأغذية المبردة

	مرحلة الخمول (Lag time) (أيام)			الزمن الجيلي / ساعة	
درجة الحرارة (م°)	1 - 0	3 - 2	5	1 - 0	5 - 4
Aeromonas hydrophila	22 <	10 - 6	4 - 3	49 <	14 - 9
Listeria monocytogenes	33 - 3	8 - 2	3 - 1	131 - 62	25 - 13
Yersinia enterocolitica	3	2.4	-	25	20

المصدر: **ADAMS & MOSS (2008)**

أولاً: الالتهاب المعوي ببكتيريا *V. parahemolyticus*

وصفت هذه البكتيريا لأول مرة عام 1951 والالتهاب المعوي الذي تسببه هذه البكتيريا منتشر في اليابان ويشكل 40–70% من حالات العدوى الغذائية، وأغلب حالات الإصابة ناتجة من تناول أغذية بحرية نيئة، تم اكتشاف أول حالة تفشي في الولايات المتحدة عام 1971 وكانت نتيجة تناول لحم سلطعون مدخن تلوث بعد طهوه ثم حدثت عدة تفشيات كبيرة أخرى خلال السبعينات، بعد عام 1980 انخفضت حالات التفشي وعدد الأشخاص المصابين وبين عام 1980–1987 سجل 12 حالة تفشي وأصيب بالعدوى 75 شخص فقط.

أ. خصائص بكتيريا *V. parahemolyticus*

V. parahaemolyticus هي بكتيريا عصوية منجلية سالبة لصبغة جرام غير متجرثمة متحركة وموجبة للكتاليز(Catalase) والأوكسيديز (Oxidase)، تخمر الجلوكوز دون تكوين غازات ولكنها لا تستطيع تخمير اللاكتوز والسكروز، تنمو السلالات في درجات حرارة تتراوح بين 5 – 42 م° مع درجة مثلى للنمو عند 30–37°م. كما أنها تنمو عند تركيز ملح 3–5% ولكنها لا تنمو عند تركيز 10%، يقل نموها عند أس هيدروجيني pH 5.0 أو أقل وأقل نشاط مائي لنموها 0.94، هذه البكتيريا حساسة جداً للجفاف والحرارة والتجميد كما أنها هذه البكتيريا محبة للملوحة Halophilic وتوجد في مياه البحار، كما أن الإصابة بها تزداد فترة الصيف وينتشر هذا التسمم في البلاد التي بها شواطئ دافئة حيث أن درجة الحرارة

المنخفضة تحد من نشاط ونمو هذه البكتيريا.

ب. المرض وأعراضه

ليس كل سلالات *V. parahaemolyticus* ممرضة ولكن الممرض منها له القدرة على إفراز سم مقاوم للحرارة يسمي الهيموليسين (hemolysin) والذي يحلل خلايا الدم الحمراء وتسمى السلالات موجبة كاناقاوا Kanagawa-positive. في الوقت الحاضر يسمى هذا السم Thermostable direct hemolysin. وأغلب السلالات التي عزلت من الطبيعة (من البحار والأسماك والقشريات) كانت سالبة ل كاناقاوا، وقدرتها على إفراز السم مرتبطة بمعدل نموها وعدد الخلايا والأس الهيدروجيني، وإذا تكون السم في الغذاء فلا يمكن القضاء عليه بالتسخين. وهذه البكتيريا حساسة لحموضة المعدة لذلك يلزم تناول 10^{5-7} خلية / جم من السلالة موجبة كاناقاوا لظهور الأعراض، تناول مضادات الحموضة قد يقلل من الجرعة اللازمة لظهور الأعراض، وتظهر الأعراض بعد 10 – 24 ساعة من تناول الغذاء الملوث وتستمر إلى 2–3 أيام، أهم الأعراض هي غثيان وقيء وألم وتشنجات في البطن وإسهال وصداع وارتفاع في درجة الحرارة.

ج. الأغذية المرتبطة

توجد هذه البكتيريا في حيوانات البحر المصطادة من المياه الملوثة وخاصة في فترة الصيف كذلك أغلب حالات التفشي والحالات المتفرقة كانت نتيجة تناول مأكولات بحرية نيئة غير

مطهوة جيداً أو تلوثت بعد الطهي مثل السمك والمحار والسرطان والجمبري، تنمو البكتيريا بشكل سريع وخاصة عند 20-30م° في الأغذية البحرية النيئة غير المبردة والمطهية، في أغلب حالات التفشي في الولايات المتحدة كانت نتيجة لعدم الطهي الجيد للغذاء أو تلوث بعد الطهي متبوعاً بعدم الحفظ في درجة حرارة تمنع نمو الميكروب، وهناك عدة إجراءات يجب اتخاذها للوقاية من الإصابة وهي: جميع الأغذية البحرية المصطادة من مصب الأنهار يجب اعتبارها ملوثة ولذلك يجب منع تناولها دون طهي، إجراء الطهي الجيد لها ومنع التلوث العرضي Cross-contamination للأغذية المطهوة وحفظها في الثلاجة ولكن ليس لفترات طويلة.

ثانياً: التسمم الدموي ببكتيريا *Vibroi vulnificus*

هي بكتيريا موجبة للاكتوز والسيليسين Salicin، بيئتها الطبيعية هي مياه البحر، وتعتبر هذه البكتيريا خطيرة وقاتلة لقدرتها على اختراق مجرى الدم، بعد تناول الغذاء البحري الملوث تخترق الخلايا جدار الأمعاء ويظهر تسمم الدم الابتدائي بعد 20–40 ساعة، وأعراضه هي قشعريرة، وارتفاع في درجة الحرارة قد يكون مصحوب بإسهال وقيء، وفي العديد من الحالات قد تؤدي إلى الموت وتشمل طرق الوقاية نفسها طرق الوقاية من بكتيريا *.V. Parahemolyticus*

9.18 أمراض عدوى أخرى منقولة عن طريق الغذاء

1.9.18 عدوى البروسيلا (Brucellosis)

الأنواع التي تسبب عدوى البروسلا هي *Brucella abortus* و*B.suis* و*B. melitensis*. هذه البكتيريا عصوية سالبة لصبغة جرام غير متحركة وغير متجرثمة وهوائية، هذه البكتيريا تصيب الإنسان والحيوان، والحيوان المصاب يحمل البكتيريا في الرحم وفي الغدد اللبنية ولذلك يمكن أن تفرز البكتيريا في الحليب.

أما الإنسان فيصاب نتيجة للتعامل مع الحيوانات المصابة أو اللحم الملوث أو من شرب الحليب النيئ أو مشتقاته، وفي الولايات المتحدة وبين عام 1983-1987 ظهرت حالة تفشي نتيجة تناول جبن مستورد وأدت إلى إصابة 38 شخص بالعدوى مع حدوث حالة وفاة واحدة، أعراض الإصابة في الإنسان هي حمى غير مستقرة (ارتفاع ثم انخفاض) تعرق وألم في المفاصل وكل أنحاء الجسم وضعف عام وتظهر الأعراض بعد 3-21 يوم وتشمل طرق الوقاية بسترة الحليب وتطبيق الاشتراطات الصحية المناسبة لمنع تلوث الحليب المبستر.

2.9.18 عدوى الستربتو كوكس Streptococcal Infection

بكتيريا *Streptococcus pyogenes* هي بكتيريا موجبة لصبغة جرام وعزلت من الحيوانات الحلوبة المصابة بحمى التهاب الضرع، وهي مرتبطة بالتهاب الحلق عند الإنسان وإعراضها حمى، وقشعريرة وضعف عام وفي بعض الحالات تكون مصحوبة بغثيان وقيء

وإسهال، بعض الأنواع تسبب الحمى القلاعية Scarlet fever، وسجلت عدة إصابات من تناول الحليب غير المبستر أو مشتقاته أو أنواع مختلفة من السلطات تلوثت من العاملين.

وحدثت 7 حالات تفشي في الولايات المتحدة عام 1983 و1987 وأصيب فيها 1019 شخص، وفي عام 1983 حدث حالة تفشي واحدة وأثرت في 553 شخص كانوا قد تناولوا سلطة بطاطس ملوثة. وللوقاية من هذه العدوى يجب عدم تناول الحليب غير المبستر وبسترة الحليب ومنع الأشخاص المصابين من تداول الأغذية الجاهزة للأكل واستعمال الطرق الصحية لتحضير الأغذية وحفظ الأغذية في الثلاجة للتقليل من معدلات الإصابة.

3.9.18 حمى كيو Q Fever

الريكتسيا Rickettsia و Coxiella burnetii هي البكتيريا المسبب لحمى كيو، وتعتبر الحيوانات هي الحامل لهذه البكتيريا، ويصاب الإنسان بها من التعامل مع الحيوان أو مع اللحم الملوث أو شرب الحليب غير المبستر، وتظهر الأعراض بعد 2-4 أسابيع وتستمر إلى أسبوعين، والأعراض تشمل حمى وصداع وفقد الشهية وألم في العضلات، Coxiella burnetii هي أكثر الأنواع مقاومة للحرارة لذلك درجة حرارة البسترة يجب أن تكون 62.8 م° لمدة 30 دقيقة أو 71.1 م° لمدة 15 ثانية للقضاء على بكتيريا Coxiella burnetii.

ونخلص إلى أن أمراض العدوى الغذائية تسببها العديد من أنواع البكتيريا المعوية،

وحيث أن الخلايا الحية تستطيع النجاة في الجهاز الهضمي وتسبب إصابة وتظهر الأعراض المعوية، ولكن البعض منها قادر على إصابة أعضاء أخرى من الجسم، جميع البكتيريا المسببة للعدوى حساسة للمعاملة الحرارية وتموت بالبسترة ولذلك يمكن التقليل من معدلات الإصابة عن طريق الطهي الجيد واستعمال طرق صحية لمنع تلوث الأغذية وحفظها على درجات حرارة منخفضة تصل إلى أقل من 4 م°، بعض الأنواع تستطيع التكاثر ببطء عند درجة حرارة 1 م° ويمكن التغلب على هذا بعدم التخزين لفترة طويلة وإعادة تسخينها جيداً قبل التقديم (JAY, 2000; RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل التاسع عشر

بكتيريا التسمم والعدوى الغذائية

Foodborne Toxic infections

تشمل هذه المجموعة بكتيريا موجبة لصبغة جرام وقادرة على تكوين جراثيم وبكتيريا سالبة لصبغة جرام وعصوية، فعند تناول أغذية تحتوي على الجراثيم فإنها تتحول إلى خلية خضرية وتتكاثر في الأمعاء مفرزه السم أما النوع الآخر (الغير قادرة على تكوين الجراثيم) فإن البكتيريا تتكاثر ثم تموت داخل الأمعاء مفرزه السم. أعراض السم هي أعراض معوية وتحتاج إلى تواجد البكتيريا بأعداد كبيرة لتسبب المرض، في هذا الفصل سيتم دراسة الالتهاب المعوي الذي تسببه بكتيريا *Bacillus cereus* و *Clostridium prefrinfens* (موجبة لصبغة جرام ومتجرثمة في الظروف الغير الملائمة) و *Vibrio cholerea* و *Escherichia coli* (بكتيريا عصوية سالبة لصبغة لجرام) حيث سيتم التعرض لأهمية وخصائص وطبيعة السم ونوع الغذاء المسؤول عن نقلها وكيفية الوقاية منها، ومن أهم خصائص التسمم الغذائي من نوع العدوى السامة Toxicoinfections التي تسببها هذه الأنواع من البكتيريا:

أ. البكتيريا القادرة على تكوين جراثيم يجب أن تدخل إلى الجسم في شكل خلية خضرية وبأعداد كبيرة.

ب. عندما تدخل هذه الخلية إلى القناة الهضمية فإنها لا تتكاثر بل إنها تتحول إلى جرثومة وتبدأ بإفراز السم.

ج. أما النوع الآخر (الغير قادرة على تكوين الجراثيم) فإنها تدخل الجهاز الهضمي بأعداد بسيطة وتتكاثر داخله وتبدأ الخلايا المتكاثرة والميتة بإفراز السم.

1.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا *Clostridium perfringens*

هذا النوع مسؤول عن عدة حالات من التسمم ففي الولايات المتحدة عام 1960 و 1970 كان يشكل حوالي 7% من مجمل حالات التسمم وأكثر من 10% من العدد الكلي للحالات. وفي عام 1980 انخفض معدل الإصابة إلى 3% من مجمل حالات التسمم و5% من العدد الكلي للحالات التفشي. وعموماً هذا النوع من الالتهابات مرتبط بالأغذية التي تحضر في وقت مسبق وتحفظ دافئة لفترة طويلة حتى التقديم كما هو الحال في المطاعم وكافتيريا المدارس والجامعات، وفي أميركا بين عام 1983 و 1987 حدثت 12 حالة تفشي للبكتيريا في هذه المؤسسات من 24 حالة تسمم وسجل حدوث حالة واحدة من طعام حضر منزلياً. ولأن أعراض هذا التسمم بسيطة وطفيفة فإنه لا يتم التبليغ عن أغلب الحالات وتظل هذه النسب تقريبية.

1.1.19 خصائص بكتيريا *Clostridium perfringens*

بكتيريا *Cl. perfringens* عصوية لا هوائية موجبة لصبغة جرام ومتحركة وتكون جراثيم في الظروف الغير ملائمة وكذلك يمكن للخلايا أن تلتصق ببعضها البعض مكونة سلاسل قصيرة. الخلية الخضرية لهذه البكتيريا غير مقاومة لأي ارتفاع في درجات حرارة ولكن جراثيمها لها قدرة على تحمل الغليان لعدة ساعات. درجة الحرارة المثالية لنموها وتكاثرها هي 45 مْ. تعيش في مدى حراري من 10 إلى 50 مْ، تحتاج الخلية البكتيرية إلى عدة أنواع من الأحماض الأمينية للنمو لذلك تنمو بصورة جيدة في الأغذية الغنية بالبروتين، لا يمكن

للخلايا أن تتكاثر في الظروف التالية:

أس هيدروجيني (pH) أقل من 5 أو إذ كان تركيز الملح NaCl أكثر من 5% أو نشاط الماء أقل من 0.93 أو نسبة النترات حوالي 500 جزء من المليون، وتوجد هذه البكتيريا في التربة وأمعاء الحيوانات والطيور والإنسان ومياه الصرف الصحي. وكذلك توجد في الأغذية الملوثة من هذه المصادر.

2.1.19 المرض وأعراضه

يوجد 5 أنواع من بكتيريا *Cl. Perfringens* و النوع A هو النوع المسؤول عن حالات التسمم، فالسم المعوي النوع Enterotoxin A عبارة عن بروتين Intracellular protein يتلف بسرعة بارتفاع درجة الحرارة وهذا السم يتكون داخل الخلية أثناء تجرثمها في الأمعاء ومن ثم يفرز، وبما أن هذا السم يفرز من الجراثيم فإن الكمية التي يتم إفرازها تتناسب مع الظروف التي تساعدها على التجرثم وقد ذكرت بعض التقارير أنه قد يحدث تجرثم ومن ثم إفراز السم في الغذاء قبل تناوله، وتسبب هذه البكتيريا التهاب معوي Gastroenteritis حيث أن الأعراض تظهر بعد 8 إلى 24 ساعة من تناول وجبة تحتوي على ما يقارب أو يزيد عن 5×10^5 خلية / جم، أهم أعراض هذا النوع من الالتهاب المعوي هي إسهال وآلام بالبطن وقيء وارتفاع في درجات الحرارة، وتختفي هذه الأعراض بعد حوالي 24 ساعة حيث أن هذا المرض غير قاتل إلا إذ أصاب صغار السن أو كبار السن.

3.1.19 الأغذية المرتبطة بالعدوى

لحوم الحيوانات والطيور يمكن أن تتلوث بهذه البكتيريا من محتويات القناة الهضمية بينما النباتات يمكن أن تتلوث من التربة. ولأن البكتيريا تحتاج الأحماض الأمينية للنمو فالحوم والأغذية التي تحتوي لحوم توفر بيئة جيدة لنموها وبذلك فإن أغلب حالات التسمم تحدث نتيجة تناول أغذية تحتوي على اللحوم مثل الشوربات والمعجنات المحتوية على اللحوم والصلصات، والجدول (1.19) يوضح أنواع الأغذية المسؤولة عن هذا النوع من التسمم في الولايات المتحدة ما بين عام 1973 و 1987.

جدول (1.19): الأغذية المسئولة عن التسمم ببكتيريا *Cl. Perfringens* في الولايات المتحدة ما بين عام 1973 و1987

وع الغذاء	عدد حالات التفشي (Outbreaks)	%
لحم البقر	51	26.3
الديك الرومي	19	9.8
الدجاج	9	4.6
لحم الخنزير	8	4.1
السمك	3	1.6
القشريات	2	1
الخضروات	1	0.5
أغذية أخرى	46	23.8
غير معروفة	28	14.4

المصدر: RAY (2004)

ومن خلال هذا الجدول يمكننا أن نلاحظ أن الأغذية الغنية بالبروتين سببت أعلى نسبة حالات من التسمم وتوجد ثلاث عوامل مسؤولة عن التسمم بهذا النوع من البكتيريا وهي:

أ. أدوات الطهي الملوثة.

ب. الطهي غير الكافي.

ج. عدم حفظ الأغذية في درجة حرارة مناسبة.

ويعتبر طهي الأغذية ذات الكميات الكبيرة قبل تقديمها بفترة طويلة السبب الرئيسي لهذا النوع من التسمم، وذلك لأن الطهي يقتل الخلايا الخضرية فقط وبالتالي تنجو الجراثيم وعندما يترك الغذاء لفترة قبل التقديم فإن هذه الجراثيم تتحول إلى خلايا خضرية وتبدأ بالتكاثر إلى أن تصل إلى أعداد كبيرة دون التأثير في جودة الغذاء. وجود هذه البكتيريا هو أمر شائع ولكن يجب أن تكون بإعداد كبيرة حتى تسبب التسمم، وللوقاية من هذه العدوى يجب اتخاذ الإجراءات التالية:

أ. خفض أعدادها في الغذاء عن طريق طهي الغذاء لدرجات حرارة مرتفعة حتى يتم قتل جميع الخلايا الخضرية ومعظم الجراثيم.

ب. يجب أن يبرد الغذاء بطريقة سريعة ومنظمة في أوعية غير عميقة.

ج. إذ حفظ الغذاء لفترة طويلة يجب إعادة تسخينه بشكل سريع وموحد.

د. يجب حفظ الغذاء المطهو عند درجة حرارة أعلى من 60 م^{o} أثناء التقديم.

2.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا *Bacillus cereus*: (Emetic and enteric)

معدل الإصابة بهذا النوع من الالتهاب المعوي منتشر وبشكل عالي نسبياً في الدول الأوربية وعلى عكس الولايات المتحدة التي تعد الإصابة فيها منخفضة جداً. وبين عام 1973 و1987 حدثت حوالي 58 حادثة تفشي من بينها 1123 حالة التهاب المعوي بسبب بكتيريا *Bacillus cereus*. وبالتالي يعتبر معدل التفشي وعدد الحالات منخفض بالإضافة إلى أن أعراضه غير خطيرة وتتلاشى بعد 12 ساعة.

1.2.19 خصائص البكتيريا

هذه البكتيريا عصوية موجبة لصبغة جرام بالإضافة إلى أنها متحركة ومكونة للجراثيم. والخلية الخضرية حساسة جداً إلى أي ارتفاع في درجات الحرارة وتموت بالبسترة على عكس الجراثيم التي لها القدرة على مقاومة درجات الحرارة المرتفعة، هذه البكتيريا هوائية ولكن تستطيع تحمل بعض الظروف اللاهوائية كما يمكن للخلايا أن تتكاثر في درجات حرارة تتراوح بين 4 إلى 50 مْ علماً بأن درجة الحرارة المثالية تتراوح بين 35 إلى 40 مْ، أما المعايير الأخرى الملائمة للنمو هي الأس الهيدروجيني من 4.9 إلى 9.3 والنشاط المائي حوالي 0.95 أو أكثر وتركيز الملح (NaCl) أقل من 10%.

تتواجد جراثيم وخلايا *B. cereus* في التربة والغبار كما أنه يمكن عزلها بأعداد قليلة من عدة أغذية خام ومصنعة، كما أنها توجد في الجهاز الهضمي لحوالي 10% من

الأشخاص الأصحاء.

2.2.19 المرض وأعراضه

تفرز هذه البكتيريا نوعين من السم معوي / مسبب للقيء (Enteric & Emetic) وكل نوع مسؤول عن أعراض معينة، ويتم إنتاج السم أثناء النمو ويتم تخزينه داخل الخلية ويطلق عند تحللها في الأمعاء وقد يحدث أن تتحلل الخلية في الغذاء وفي هذه الحالة يكون التسمم مشابهة لحالات التسمم ببكتيريا *Staphylococcus*، ولكي يحدث التهاب معوي يجب استهلاك عدد كبير من الخلايا حوالي 10^{6-8} خلية/جم، وهذه البكتيريا تفرز نوعان من السموم كل منها مسؤول عن مجموعة أعراض. النوع الأول يسمى السم المعوي وهو الذي يسبب الإسهال Diarrheal form. وهذا السم حساس لأي ارتفاع في درجات الحرارة. أما النوع الثاني فهو مسؤول عن القيء Emetic form وهو ثابت حرارياً وأعراضه مشابه لأعراض العدوى ببكتيريا *Cl. perfringens*.

وفي حالات السم المعوي الأعراض تظهر بعد 6-12 ساعة من تناول الغذاء الملوث في شكل غثيان وإسهال حاد جداً وألم بالمعدة ولا تسبب حمى للمريض وتختفي هذه الأعراض تدرجياً خلال 24 ساعة.

أما في حالات السم المسبب للقيء تظهر الأعراض بعد تناول الغذاء الملوث بحوالي 1–5 ساعات في شكل غثيان وألم في المعدة وقيء وربما يحدث إسهال وتتلاشى الأعراض

خلال 24 ساعة.

3.2.19 الأغذية المرتبطة بالمرض

هذه البكتيريا توجد في عدة أنواع من الأغذية بأعداد قليلة ولكن عدم الاهتمام بكيفية إعداد الغذاء وحفظه بشكل غير جيد يؤدي إلى تتكاثر هذه البكتيريا إلى أن تصل إلى أعداد كبيرة قادرة على أن تسبب التهاب معوي، في حالات التفشي الناتجة عن السم من النوع المسبب للإسهال تكون الخضروات والسلطات واللحوم والشوربات مسؤولة عن أغلب حالات التسمم وذلك لعدم حفظها بمكان بارد، أما في حالات تفشي السم من النوع المسبب للقيء يكون الأرز والأغذية النشوية هي المسؤولة عن حالات التسمم وذلك لعدم حفظها بمكان بارد مما يساعد على تحول الجراثيم إلى خلايا خضرية والتي تتكاثر بدورها إلى أن تصل لأعداد كبيرة قبل تناول الغذاء. الجدول (2.19) يوضح الأغذية المسؤولة عن حالات التفشي لـ *B. cereus* في الولايات المتحدة ما بين 1973–1989.

أهم العوامل المسؤولة عن انتشار هذا النوع من الالتهاب المعوي هي إهمال الحفظ في درجات حرارة منخفضة والأوعية الملوثة والطهي الغير الجيد وانعدام النظافة الشخصية، فالطهي الغير الجيد قد يقتل الخلايا الخضرية ولكن تنجو الجراثيم ومن ثم تتحول الجراثيم إلى خلايا خضرية عند عدم حفظ الأغذية على درجات حرارة منخفضة مما يؤدي إلى تكاثرها إلى أن تصل إلى أعداد كبيرة، وبالتالي أهم طريقة للوقاية هي منع تحول الجراثيم إلى خلايا خضرية عن طريق التبريد السريع في أواني غير عميقة (عمقها 5–6 سم) إلى درجة حرارة

5-4 مْ أو حفظها عند درجة 60 مْ، بالإضافة إلى ذلك يجب عدم طهي الغذاء بفترة قبل التقديم وذلك لان هذه البكتيريا لها قدرة على النمو عند درجة حرارة 4 مْ قد يحدث تلوث الغذاء من الأدوات الغير نظيفة أو من العاملين ولذلك يجب تطبيق قوانين صارمة في مصانع الأغذية لمنع هذا التلوث، وأخيراً يجب إعادة تسخين الغذاء إلى 72مْ عند التقديم لقتل الخلايا الخضرية لأنها ضرورية لحدوث المرض.

الجدول (2.19) الأغذية المسئولة عن حالات التفشي لـ *B. cereus* في الولايات المتحدة ما بين 1973-1989

نوع الغذاء	عدد حالات التفشي	%
الأطعمة الصينية	24	41.5
الأطعمة المكسيكية	5	8.6
اللحم ألبقري	3	5.2
الدجاج	1	1.7
الديك الرومي	1	1.7
الخضار	3	5.2
الأسماك	1	1.7
القشريات	2	3.4
المثلجات	1	1.7
الأغذية الأخرى	8	13.8
غير معروفة	28	14.4

المصدر: RAY (2004)

3.19 الكوليرا Cholera

تعتبر الكوليرا التي تسببها 01 *V. cholera* غير معدية، Noncontagious ولكن قد تتسبب بانتشار وباء بمعدل وفيات مرتفع. في القرن 19 تم تسجيل أول حالة كوليرا في

الولايات المتحدة. في عام 1911 كان يعتقد أنه قد تم القضاء عليها وأغلب الحالات في القرن العشرين سجلت في آسيا ومع ذلك في عام 1973 تم تسجيل حالات إصابة في تكساس. بين عام 1973 و1987 حدثت 6 حالات تفشي في الولايات المتحدة شملت 916 حالة وحوالي 12 حالة وفاة سجلت وكان السبب المأكولات البحرية الملوثة، في عام 1991 و1992 حدث وباء كبير في البيرو وأنتشر حتى وصل إلى جنوب أميركا وأصاب ما يقارب 640000 شخص وتوفي حوالي 5600، في عام 1992 سببت سلالتان هما non-01 serotype و non-0139 حالات وبائية كبيرة في بنجلاديش والهند والتي كان يعتقد أنهما غير قادرتين على إحداث أوبئة كبيرة.

1.3.19 خصائص *V. cholera*

خلايا البكتيريا منحنية وسالبة لصبغة جرام ومتحركة، وسلالة 01 هي السلالة المسؤولة عن حالات الأوبئة، وهذا الطراز المصلي (Serotype) يقسم إلى طراز إحيائي (Biotype) وطراز سيرولوجي Serotype، السلالة المسئولة عن وباء الكوليرا هي الطراز الإحيائي TEl Tor أو سيرولوجي Inaba أو Ogawa. كل من النوع 01 و non01 غير مقاومة للمضادات الحيوية التالية: التريميثوبريم وسولفاميثوكزازول Trimethoprim-Sulfamethoxazole وفورازوليدون Furazolidone وحساسة لارتفاع درجات الحرارة حيث يمكن القضاء عليها بدرجة حرارة الطهي العادية، والطهي غير الجيد ولفترة قصيرة قد يكون غير كافي لقتل البكتيريا، درجة الحرارة المثالية لنموها هي 30 إلى 35 مْ، يعتبر معدل نموها

سريع جداً حتى عند درجة حرارة الغرفة. والخلايا البكتيرية لا تتكاثر في الأسماك والقشريات الحية ولكن تتكاثر فيها بعد طهوها ويكون معدل التكاثر أسرع ما يكون عند درجة حرارة 25– 35م^{o} . الكوليرا هي مرض يصيب الإنسان من تناول الأغذية والمياه الملوثة بفضلات الشخص المصاب، وجود حامل للميكروب مزمن أمر غير شائع وغير مهم في الأوبئة ولكن البيئة البحرية يمكن أن تعمل كاحتياطي طويل الأمد.

2.3.19 المرض وأعراضه

السم الذي ينتجه النوع السيرولوجي 01 هو عبارة عن بروتين سام للخلايا (Cytotoxin) غير مقاوم للحرارة يتكون من وحدتين، الوحدة A هي الوحدة النشطة والمسؤولة عن تنشيط أنزيم ادينايل سيكليز (Adenyl cyclase) في خلايا الأمعاء مسبباً إفرازاً للماء مع الكلور والبوتاسيوم والبيكربونات إلى داخل الأمعاء، أما النوع الثاني non 01 ينتج نوعان من السموم (السم القاتل للخلايا والسم المحلل emolysin)، فبعد تناول الغذاء الملوث تستعمر هذه البكتيريا الأمعاء وتتكاثر مسببة موت وتحلل الخلايا، ومرض الكوليرا يعتبر مرض غير معدي ولكي يُصاب الإنسان يجب أن يتناول غذاء أو ماء ملوث بكمية كبير من الـ *V. cholera*.، كما إن إصابة شخص من الشخص الحامل للميكروب أمر ممكن من خلال تلوث الغذاء بفضلات الشخص المصاب. الجرعة الممرضة للكوليرا حوالي 10^{6} خلية حية/شخص ولكن هذه الجرعة تختلف باختلاف العمر والحالة الصحية.

فترة الحضانة تتراوح من ساعة إلى 5 ساعات وفي الأغلب تظهر بعد ساعتين.

وأعراضها عبارة عن إسهال شديد وقيء مما ينتج عنة حالات جفاف، وفي بعض الحالات الحادة قد يعاني المريض من تقلصات عضلية مؤلمة وهذيان ومع ذلك العديد من الحالات قد لا تعاني أي أعراض أو إسهال بسيط، بالإضافة إلى الإسهال النوع non01 يسبب إصابة لأعضاء أخرى في الجسم وتسمّم الدمّ Septicemia، العلاج يتطلب تعويض السوائل والمعادن المفقودة بالإضافة إلى إعطاء المضاد الحيوي المناسب.

3.3.19 الأغذية المرتبطة بهذا المرض

الأغذية التي تعمل كمصدر للمرض تكون قد تلوثت بفضلات شخص مصاب أو بمياه ملوثة. بالإضافة إلى ذلك الأغذية المحضرة من الشخص الحامل للميكروب أو المخزن الطبيعي لهذه البكتيريا قد يكون مصدر مهم في انتشارها، والمخزن الطبيعي لها هي البيئة البحرية والمياه المالحة، والسبب الرئيسي للإصابة بالكوليرا هو تناول المأكولات البحرية النيئة أو غير المطهية جيداً، ولمنع أو تقليل معدل الإصابة يجب إتباع الطرق الصحية المناسبة وهذا يشمل:

أ. القضاء على البكتيريا في المياه المستخدمة عن طريق غليها أو المعالجة الكيميائية والتخلص من مياه الصرف.

ب. الأشخاص غير المعرضين للمرض يمكن وقايتهم عن طريق التلقيح ضد المرض.

ج. يجب عدم تناول الأطعمة البحرية النيئة من المياه الملوثة.

د. الطهي لدرجة حرارة معينة ولفترة محدودة مهم جداً مثلا السرطان يجب أن يطهى على درجة حرارة 100 م° لمدة 8–10 دقائق وهذا ضروري لضمان القضاء على الميكروب، أما الشخص المصاَب فيجب علاجه باستخدام المضادات الحيوية وتعويض السوائل التي فقدها الجسم.

4.19 الالتهاب المعوي ببكتيريا *E. coli*

تقسم هذه البكتيريا إلى أربع مجموعات اثنان منها فقط مهمة في الإصابة بالالتهاب المعوي، وهذه الأنواع هي Enteropathogenic *E. coli* EPEC و Enterotoxic *E. coli* ETEC. وأهم أعراضها الإسهال كما أن معدل الإصابة مرتفع في الدول النامية وذلك ناتج عن سوء الشؤون الصحية.

1.4.19 خصائص *E. coli*

هناك العديد من الأنواع داخل هاتين المجموعتين مسؤولة عن إصابة الإنسان بالالتهاب المعوي، هذه البكتيريا عصوية سالبه لصبغة جرام غير متجرثمة ومتحركة (هناك بعض الأنواع غير متحركة). كما أنها لاهوائية اختيارية تنمو بشكل جيد في بيئة بسيطة أو مركبة في درجة حرارة تتراوح ما بين 10 إلى 50 م° مع درجة حرارة مثلى 37 م° بعض الأنواع تنمو عند درجة حرارة أقل من 10م° أهم العوامل التي قد تحد من نموها هي أس هيدروجيني أقل من 5 ونشاط مائي 0.93 وأي ارتفاع في درجات الحرارة مثل عملية البسترة ويعتبر وجود

هذه البكتيريا في الأمعاء أمر طبيعي (للإنسان والحيوان)، ويمكن لحامل البكتيريا أن يطرحها في الفضلات وتصل للغذاء والمياه بطريقة مباشرة أو غير مباشرة.

2.4.19 المرض وأعراضه

السلالة الأولى (ETEC) تكون نوعان من السموم داخل الأمعاء والأول غير مقاوم للحرارة (LT) والثاني مقاوم للحرارة (ST). السم الغير مقاوم للحرارة هو عبارة عن بروتين غريب عن الجسم كما أنه يشبه بشكل كبيرة طريقة عمل سم الكوليرا الذي تفرزه بكتيريا *V. cholera* حيث أنه يحفز إفراز السوائل من الخلايا المبطنة للأمعاء، أما النوع الثاني (المقاوم للحرارة) له وزن أقل من غير المقاوم للحرارة ونفس طريقة عمله ولكن بديناميكية مختلفة، أما السلالة الثانية (EPEC) فكان يعتقد إنها غير قادرة على إفراز السم ولكن بعض الدراسات الحديثة أثبتت أن بعض أنواع هذه السلالة تفرز سم مقاوم للحرارة والبعض الأخر تنتج سماً غير مقاوم للحرارة. بالإضافة إلى السموم، السلالة الأولى قادرة على إنتاج عوامل أخرى تمكنها من استعمار الأمعاء والتكاثر وإحداث العدوى.

هناك عدة عوامل تتحكم بقدرة هذه البكتيريا على إفراز السم وهي مكونات بيئة النمو وعمر الخلايا، أفضل أس هيدروجيني لإنتاج السم هو 8.5 يمكن الكشف عن وجود السم في بيئة النمو خلال 24 ساعة عند درجة حرارة 35م^{o} . مع ذلك يمكن للبكتريا إنتاج السم في درجة حرارة تتراوح بين 25–40 م$^{\circ}$ ويعتقد أن السلالة الممرضة لبكتيريا *E. coli* (EPEC) هي المسبب الرئيسي للإسهال عند الرضع في المناطق الاستوائية والدول النامية،

مؤدية إلى معدل وفيات عالية. أما السلالة السامة (ETEC) فهي المسببة للإسهال لدى المسافرين traveler's diarrhea كما أنها غير مميتة، ويجب تناول ما يقارب 10^{6-9} خلية حية لحدوث المرض وتبدأ الأعراض بالظهور بعد 24–72 ساعة من تناول الطعام الملوث وهي عبارة عن إسهال وفي الحالات الحادة قد يحدث جفافاً حاداً مما يسبب الوفاة وبعد الشفاء قد يستمر الشخص في طرح البكتيريا في البراز.

3.4.19 الأغذية المرتبطة

هناك عدة أغذية مرتبطة بهذا النوع من الالتهاب المعوي مثل اللحومو الأسماك والألبان ومشتقاتها والخضروات والمياه، حيث تتلوث هذه الأغذية بطرق مباشرة أو غير مباشرة بالفضلات وبالإضافة إلى ذلك سوء التخزين وعدم الطهي الجيد قد يزيد من معدل الانتشار والإصابة في الدول النامية. أهم عامل في الوقاية من هذا النوع من الالتهاب البكتيري هو منع تلوث الأغذية والمياه بالفضلات، ويتم ذلك بتعزيز النظافة، وتوفر مياه نظيفة ومعالجة مياه الصرف وتعزيز النظافة الشخصية للعاملين في مجال الأغذية وأخيراً الاهتمام بتخزين الأغذية وإعادة تسخينها قبل التقديم للتأكد من منع تكاثر البكتيريا (BANWART 1989; RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل العشرون

الفيروسات

Viruses

1.20 مقدمة

الفيروسات مفردها فيروس (Virus) وتعني فيروس في اليونانية (سُم) وهو عامل ممرض صغير لا يمكنه التكاثر إلا داخل خلايا كائن حي آخر، الفيروسات كائنات لا خلويه صغيرة جدًا ولا يمكن مشاهدتها بالمجهر الضوئي وعموما الفيروسات أصغر من البكتيريا بكثير، معظم الفيروسات يتراوح قطرها ما بين 10 و 300 نانومتر، وتصيب الفيروسات جميع أنواع الكائنات الحية من الحيوانات والنباتات إلى البكتيريا وهي متطفلة إجبارية. وعلى الرغم من أن هناك الملايين من الأنواع المختلفة إلا أنه لم يتم وصف إلا حوالي 5000 من الفيروسات بالتفصيل وذلك منذ الإكتشاف الأولي لفيروس تبرقش التبغ Tobacco Mosaic virus من قبل مارتينوس بيجيرينك عام 1898.

الفيروسات موجودة تقريبا في كل النظم البيئية على الأرض وتعتبر الكيان البيولوجي الأكثر وفرة في الطبيعة ولا يمكن تنميتها في بيئات أو أوساط صناعيه ولا تتأثر بالمضادات الحيوية، وجزيء الفيروس الكامل يعرف باسم فيريون ويتكون من حمض نووي إما أن يكون من نوع DNA أو RNA (Deoxyribonucleic acid) محاط بغلاف واقي بروتيني يسمى القفيصة Capsid وهى مكونة من وحدات بروتينية متماثلة تسمى القسيمات القفيصية، والقفيصة متكونة من البروتينات المشفرة بواسطة الجينوم الفيروسي وشكلها يستعمل كأساس للتمييز المورفولوجي بين الفيروسات، والوحدات البروتينية المشفرة فيروسيا تتجمع ذاتياً لتشكيل القفيصة، والفيروسات يمكن أن يكون لها "غلاف" دهني مستمد من غشاء الخلية

المضيفة، وعموما تختلف أشكال الفيروسات من بسيطة مثل اللولبية وعشرينية الوجوه إلى معقدة مثل البكتيريوفاج.

الفيروسات لا تتحرك ولا تقوم بعمليات أيضية أو تحلل من تلقاء نفسها وتعتبر إحدى أهم المعضلات التي تواجه التصنيف الحيوي فهي لا تمثل كائنات حية لذلك توصف بالجسيمات المعدية لكنها بالمقابل تبدي بعض خصائص الحياة مثل القدرة على التضاعف بالاستعانة بخلايا العائل التي تم السيطرة عليها حيث تقوم الفيروسات بالاستعانة بكل مكونات وآليات إنتاج الطاقة للخلايا عن طريق دس الـ DNA أوRNA الفيروسي ضمن المادة الوراثية للخلايا الحية وبذلك فإنها في منطقة وسطى بين الحياة واللا حياة، في السنوات الأخيرة كان هناك زيادةٌ في حالات الأمراض المنقولة عن طريق الغذاءِ حول العالم حيث تعتبر الفيروساتِ الآن سبباً رئيسياً لهذه الأمراض. إنّ الفيروسات المتورطة في الأمراض المنقولة بالغذاء هي الفيروسات المعوية Enteric viruses والتي تتواجد في أمعاء الإنسان وتفرز في براز الإنسان وتنقل بالمسار البرازي الفموي Fecal-oral route. كل الفيروسات المعوية ما عدا Adenoviruses تحمل RNA بدلاً من DNA.

2.20 الأمراض الفيروسية المنتقلة عن طريق الأغذية

قدرة الغذاء الملوث بالفيروسات على إحداث العدوى للإنسان تتوقف على ثباتية الفيروس في الغذاء ودرجة التلوث الابتدائي بالفيروس وطريقة تصنيع وتخزين الغذاء والجرعة أو عدد الجزيئات المحدثة للعدوى وحساسية العائل للفيروس، أول تورط للفيروسات كمسبب

للعدوى الغذائية في الإنسان كان عام 1914 عندما تفشى مرض شلل الأطفال Poliomyelitis نتيجة استهلاك حليب ملوث بفيروس شلل الأطفال Poliovirus، ولكن التوصل إلى طعم للمرض أدى إلى الحد من انتشاره بشكل كبير، وسجلت حالات من الإصابة بعدوى التهاب الكبد الوبائي A المنقول عن طريق المحاريات لأول مرة في السويد في منتصف الخمسينيات، وتزايدت حالات تفشى الأمراض الفيروسية المنتقلة عن طريق الأغذية Foodborne viral diseases في السنوات الأخيرة حيث تعتبر الفيروسات الآن من الأسباب الرئيسية للعدوى الغذائية في الدول المتقدمة، ففي الولايات المتحدة على سبيل المثال تصل حالات الإصابة بالأمراض الفيروسية المنتقلة عن طريق الأغذية إلى 50% من حالات العدوى الغذائية. ومعظم الفيروسات المتورطة في الأمراض المنتقلة عن طريف الأغذية هي الفيروسات المعوية Enteric viruses والتي تتواجد في أمعاء الإنسان وتفرز بكميات كبيرة في البراز وتنتقل عن طريق الفم من خلال تناول الأغذية والمياه الملوثة بالبراز.

ومن أهم الفيروسات المعوية المتورطة في هذه الأمراض فيروس التهاب الكبد الوبائي A (Hepatitis A Virus) وفيروس التهاب الكبد الوبائي E (Hepatitis E Virus) و Noroviruses و Rotaviruses و Enteroviruses وفى عام 1999 رصد مركز التحكم والوقاية من الأمراض في أميركا أن 80% من الأمراض المنتقلة عن طريق الأغذية سببها فيروسات معوية.

3.20 خصائص الفيروسات التي تنتقل عن طريق الأغذية

من أهم خصائص الفيروسات الممرضة للإنسان والمنتقلة عن طريق الأغذية والمياه ما يلي:

أ. الفيروسات المعوية مقاومة للظروف البيئية السيئة مثل الحرارة والحموضة ومعظمها تقاوم التجميد والتجفيف وهي ثابتة في وجود المذيبات الدهنية.

ب. كما أنه من غير المؤكد أن جميع الفيروسات المعوية تموت بالبسترة Pasteurization عند 60 م° لمدة 30 دقيقة.

ج. العديد منها أظهر مقاومة للضغط الهيدروستاتيكي العالي Ultrahigh - hydrostatic pressure وهي طريقة حديثة تستخدم الآن في معاملة الكثير من الأغذية مثل القشريات والمربيات والجلي ومنتجات الألبان.

د. قادرة على مقاومة حموضة المعدة والقلوية ومقاومة نشاط تحليل البروتين Proteolytic في الأنثى عشر ولذلك تستطيع هذه الفيروسات استيطان القناة الهضمية السفلى Lower digestive tract.

هـ. تقاوم معظم المواد الحافظة.

و. تتأثر بدرجة حرارة الطبخ حيث تؤثر الحرارة على البروتين وتثبط حيوية الفيروس.

ز. لا تنمو في الغذاء ولكن الغذاء وسط ناقل لها وهي بذلك تنجو في الأغذية المجمدة والحامضية والنصف مطهية.

معظم العدوى الفيروسية تحدث بجرعات تتراوح من 10 إلى 100 جزيء أو أقل، والجدول (1.20) يوضح أمثلة لتفشى أمراض فيروسية نتيجة استهلاك المحار الملوث في بعض الدول.

4.20 مصادر تلوث الأغذية بالفيروسات

التلوّث الفيروسي للأغذية يمكن أن يحدث قبل أو بعد الحصاد Pre - or Postharvest أو عند أي مرحلة من مراحل حصاد أو تصنيع أو توزيع الغذاء، من اهم العوامل المؤثرة على خطر تلوث الأغذية الطازجة بالفيروسات هي جودة المياه ومدى نظافة العاملين Worker hygiene بالحقول ونظافة المتعاملين food-Handler hygiene مع الأغذية، وهكذا فإن التلوّث بمياه المجاري والممارسات الصحية السيّئة تلعْب دواراً رئيسياً في عملية تلوث الأغذية بالفيروسات المعوية.

وسنستعرض فيما يلي أهم الفيروسيات الممرضة للإنسان المنتقلة عن طريق الأغذية:

جدول (1.20): أمثلة لتفشي أمراض فيروسية نتيجة استهلاك المحار الملوث في بعض الدول

السنة	الدولة	عدد الحالات	الفيروس المسؤول
1978	أستراليا	2150	NoV
1980-1981	بريطانيا	424	NoV
1982	أميركا	472	NoV
1983	ماليزيا	322	HAV
1986	أميركا	813	NoV
1988	الصين	292,301	HAV
1999	إسبانيا	183	HAV
2000 -96	أميركا	348	NoV
سنويا	أميركا	83,000	HAV

HAV: hepatitis A virus NoV: Norovirus

المصدر: عن GOYAL (2006)

5.20 فيروسات التهاب الكبد Hepatovirus

وهي فيروسات تصيب الكبد وتسبب الضرر لخلاياه ومنها:

1.5.20 فيروس التهاب الكبد الوبائي Hepatitis Virus A

التهاب الكبد الوبائي هو ألتهاب فيروسي ينتقل عن طريق تناول الأغذية والمياه الملوثة بالفيروس ويصيب الكبد. وهو مرض شديد العدوى ولكنه في أغلب الحالات غير مميت، يصيب هذا الفيروس وهو من الفيروسات المعويّة ما يقارب 1.4 مليون إنسان سنوياً على مستوى العالم وتكثر العدوى بين الأطفال وفي التجمعات السكانية الكبيرة والفقيرة وأثناء السفر إلى بلدان ينتشر فيها الفيروس.

هناك عدد من حالات التفشّي الموثّقة مِنْ العدوى بهذا الفيروس نتيجة تناول أسماك صدفيّة ملوثة بالفيروس. في عام 1988 حدث في الصين تفشي هو الأكبر من نوعه عندما أُصيب 300,000 شخص تقريبا بعد استهلاك نوع من الصدفيات Clams ملوث بمياه المجاري ومطبوخ جزئياً. تلوّث الأسماك الصدفيّة بهذا الفيروس ما زال شائعاً في إيطاليا وإسبانيا والبلدان الأوروبية الأخرى. تلوّث الفواكه والخضار مثل الفراولة والتوت والخس والفلفل الأخضر وغيرها يعتبر أيضا شائعاً نتيجة لاستخدام مياه ري ملوثة أو نتيجة لعدم نظافة المتعاملين مع هذه المنتجات، شرب مياه ملوثة أو الثلج من مياه ملوثة أو تناول الأسماك البحرية النيئة والخضراوات والفواكه (التي لم تغسل جيداً) كلها وسائل مهمة للإصابة بالعدوى. في الولايات المتّحدةِ ازدادت نسبة الإصابة بهذا الفيروس بين 1983 و1989 بنسبة 58%، التفشي الأكبر في الولايات المتحدة حدث عام 2003 عندما أصيب 600 شخص بفيروس التهاب الكبد الوبائي A مع حدوث 3 حالات وفاة نتيجة تناول بصل أخضر ملوث في أحد المطاعم.

1.1.5.20 مدة الحضانة وأعراض المرض

ومدة الحضانة تقريباً 28 يوماً ويتضاعف الفيروس في الكبد ويخرج في براز الأشخاص المصابين وتنتشر العدوى عادة عن طريق المسار البرازي الفموي Fecal-oral route أو من شخص إلى شخص عن طريق الأغذية والمياه الملوثة بهذا الفيروس من شخص مصاب به كما تنتقل العدوى عن طريق تناول الطعام غير المطهي كبعض الأطعمة التي تؤكل نيئة مثل

المحار Shellfish والسلطات والخضار والفواكه التي تؤكل بدون تقشير أو بعد الغسل بماء ملوث أو بعد تلوثه من عمال المطاعم المصابين بالفيروس. يصيبُ فيروس التهاب الكبد الوبائي HAV الخلايا الطلائية Epithelial cells للأمعاء الدقيقة وHepatocytes ويسبّب ارتفاع إنزيماتِ الكبدِ والتهاب الكبدِ. ويمر الفيروس من الكبد إلى قناةِ الصفراءَ ومنها للأمعاء ويخرج مع البراز. وأعراض الالتهاب الكبدي الوبائي (A) تشابه في بدايتها تلك الأعراض الملاحظة في الأنفلونزا (حمى وقشعريرة) والإسهال وضعف عام أو إعياء والقيء واليرقان (اصفرار الجلد وبياض العين) Jaundice وصداع. ويفرز الفيروس في براز المصاب بكميات كبيرة (أكثر من 10^6 جزيء/ جرام) ابتداءً من آخر أسبوعين من مدة الحضانة إلى مدة تصل إلى 5 أسابيع. الفيروس مقاوم لعدة أنواع من المواد الحافظة وللمذيبات مثل الفيرون Freon والكلوروفورم Chloroform، ينصح مرضى الالتهاب بتجنب جفاف الجسم ويستحسن الإكثار من السوائل والفاكهة الطازجة (بعد غسلها جيدا بالماء) والشوربة وعصير الفواكه مع أخذ الاحتياطات الوقائية عند ملامسة المريض أو برازه بغسل الأيدي بالماء الساخن والصابون. لا يتحول الالتهاب الكبدي الوبائي (A) إلى مرض مزمن ولكن الشفاء التام منه يكون بطئ وعند الأطفال (أقل من 6 سنوات) الإصابة تكون عادة بدون أعراض واضحة. بالنسبة للبالغين تستمر الأعراض لمدة شهر تقريباً والشفاء التام يستغرق 6 أشهر، ويمكن تجنب الإصابة بالفيروس بواسطة المستضدات المناعية .Immune globulin والتي توفر حماية قصيرة لمدة من 3-5 أشهر أو بواسطة اللقاح الواقي أو التطعيم الذي يوفر حماية تستمر لمدة 4 سنوات تقريباً.

2.5.20 فيروس التهاب الكبد الوبائي E

العدوى بهذا الفيروس تعتبر من الأمراض الوبائية المرتبطة بتلوث المياه، وينتقل هذا الفيروس إلى الإنسان عن طريق الفم بواسطة الأغذية والمياه الملوثة، ويسبب الفيروس التهاب كبدي خطير وشائع في العالم ومستوطن خاصة في آسيا وأميركا اللاتينية. وحيث أن الفيروس يخرج من جسم المصاب عن طريق البراز فعادة يكون سبب العدوى مياه الشرب الملوثة بمياه الصرف الصحي. تتراوح فترة حضانة الفيروس بين 22 إلى 60 يوماً من التعرض، ويسبب الفيروس (E) التهابا كبدياً حاداً يزول تلقائياً. ومن أهم الأعراض قيء وغثيان وحمى وآلام في البطن والمفاصل أيضا دكانة لون البول والضعف العامّ. وعموماً نسبة الوفيات قليلة وتصل إلى أقل من 1% ولكنها قد تصل من 17 – 30% بين المصابين من النساء الحوامل.

6.20 الفيروسات المعوية Viral gastroenteritis

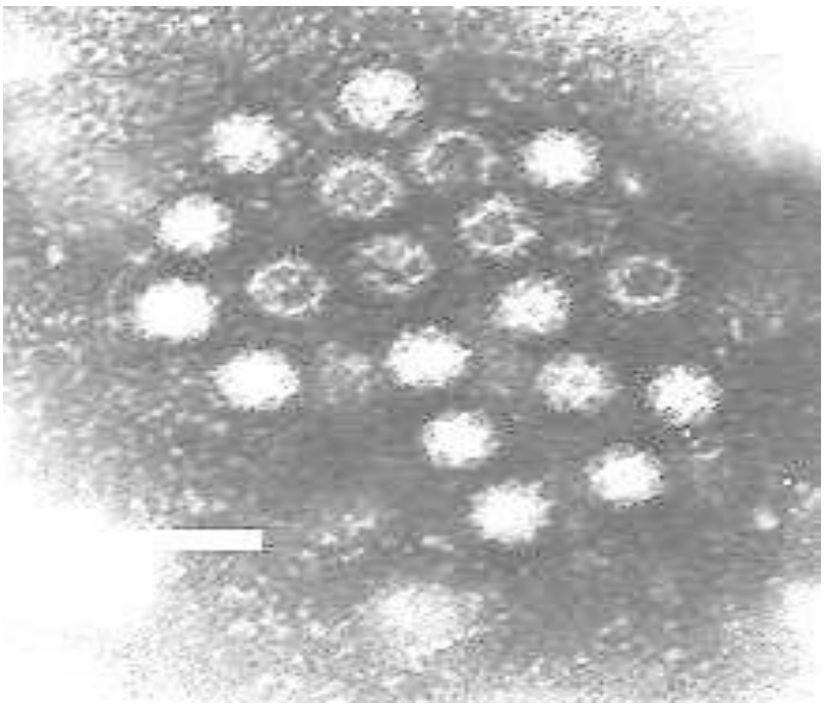
وهي الفيروسات التي تسبب التهابا في المعدة والأمعاء وتنتقل هذه المجموعة المتنوعة بالمسار البرازي الشفهي (الفموي) (Fecal-oral route) ويكون ذلك غالباً عن طريق تناول الغذاء والماء الملوثين.

1.6.20 فيروس النورو Norovirus

فيروس النورو يعتبر من الفيروسات الغير مغلفة On enveloped ذو الحامض النووي RNA أحادي السلسلة شكل (1.20)، لا يتأثر الفيروس بالبسترة ولا بالحموضة كما

يتحمل التبريد والتجميد والتجفيف ويحتاج تركيز عالي من الكلور (10 ميللجرام/لتر) للقضاء عليه، ويسبب اضطرابات معوية حادة للإنسان، الفيروس كان ينتمي لمجموعة تسمى الفيروسات الشبيهة بالنوروالك Norwalk like viruse وذكر Goyal (2006) أن هذا الفيروس أكتشفَ لأول مرة مِن قبل Kapikian عام (1972) بعد تفشّي الالتهاب المعوي في أحد المدارس بمدينة نوروالك Norwalk بولاية أوهايو. وفي الولايات المتحدة الأميركية يعتبر النوروفيرس Norovirus من الأسباب الرئيسية للالتهاب المعوي gastroenteritis وتقدر أعداد الحالات المسجلة بالعدوى بهذا الفيروس بحوالي 23 مليون حالة في السنة. ومعظم حالات العدوى تكون بسبب تناول الأغذية المبردة مثل السلطات والشطائر ومنتجات الخبيز الملوثة من العاملين أو المتداولين للأغذية. المياه الملوثة بالفيروس تعتبر من أهم مصادر العدوى بهذا الفيروس أيضا. ما بين عامي 1995 و2000 غالبية حالات تفشّي الالتهاب المعوي الفيروسيةِ في أوروبا نسبت إلى النورو فيروس حيث وجد أنه مسؤول عن أكثر من 85 % مِنْ حالات تفشّي العدوى الغذائية غير البكتيرية، وينتقل الفيروس عن الطريق المسار الفمي الشرجي بواسطة تناول الأغذية أو المياه الملوثة بالفيروس المفرز في براز المصاب ولا ينتقل عن طريق الهواء، لإحداث العدوى تتراوح الجرعة المعدية Infectious dose من 10 إلى 100 جزيء من الفيروس ويعتمد ذلك على حساسية العائل والسلالة المعدية، مدة الحضانة لهذا الفيروس عادةً ما بين 24 و 48 ساعة ولكن يمكن أن تظهر الأعراض بعد 12 ساعة من التعرض، والأعراض تكون على هيئة إسهال مائي غير دموي وقيء واضطرابات في البطن أحياناً تكون الأعراض مصحوبة بحمى خفيفة ومن أخطر عواقب هذه العدوى هي الجفاف

Dehydration خاصة ما بين الأطفال والمسنين. وتنتهى الأعراض في خلال 24 إلى 72 ساعة. أعداد كبيرة من الفيروس يتم إفرازها في براز المصاب من بداية الحضانة إلى ظهور الأعراض وتستمرُّ لمدة أسبوعين بعد انتهاء العدوى، أهم أسباب الإصابة بالفيروس هي استهلاك الغذاء أَو الماء الملوث بالبراز والمتداولين للأغذية الذين لا يتبعون الاشتراطات الصحية السليمة.

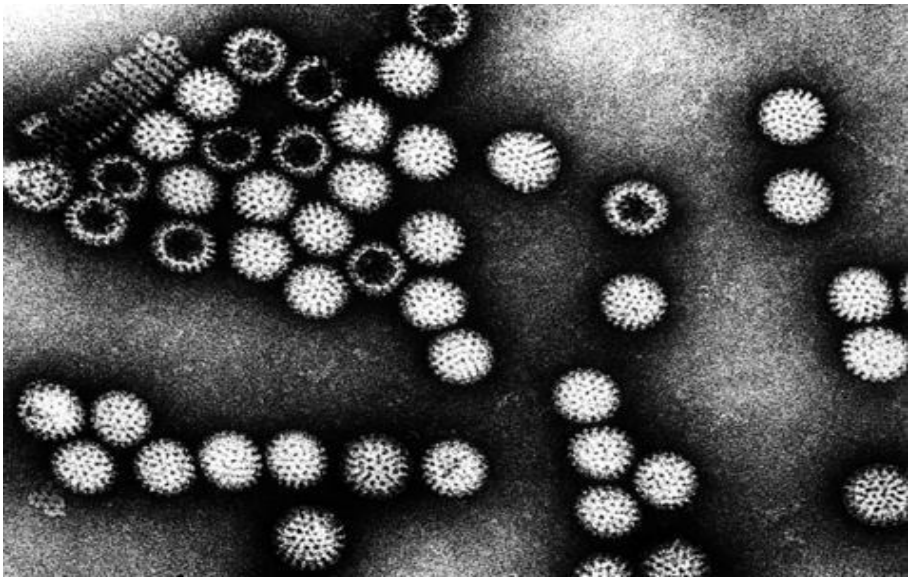


شكل (20.1) فيروس النورو (Norovirus) كما يظهر تحت المجهر الإلكتروني

المصدر: GOYAL I (2006)

7.20 فيروسات الروتا Rotaviruses

يعتبر فيروس الروتا من الأسباب الرئيسية للإسهال الحاد والالتهاب المعوي في الأطفال والرضع. وهو من الفيروسات المعوية غير المغلفة Nonenveloped وله حامض نووي من النوع RNA الثنائي السلسلة Double stranded RNA، شكل (2.20) ينتقل الفيروس عن الطريق المسار الفمي الشرجي بواسطة تناول الأغذية أو المياه الملوثة ومدة الحضانة تتراوح من يوم إلى يومين، يسبب الفيروس التهابات واضطرابات في المعدة والأمعاء عادةً تكون مصحوبة بقيء وحمى وآلام في البطن في الأطفال الذين يعتبرون الأكثر حساسية خاصة من فئة الأعمار ما بين 6 أشهر إلى سنتين، يمكن أن يسبب الفيروس جفاف عند الأطفال الرضع كما أنه مسؤول عن حالات الإسهال الحاد للأطفال الرضع في العالم، يفرز الفيروس مع براز المصاب لمدة 5 إلى 7 أيام، ويسبب هذا الفيروس أكثر من نصف مليون حالة وفاة كل عام ما بين الأطفال الأقل من 5 سنوات في الدول النامية ومسؤول عن حوالي 130 مليون حالة عدوى عبر العالم سنوياً، وفي الولايات المتحدة الأميركية وحدها فيروس الروتا مسؤول عن حوالي 4 مليون حالة عدوى سنوياً وأكثر من 100 حالة وفاة سنوياً. يسبب الفيروس عدوى للحيوانات أيضا مما يؤدي إلى خسائر اقتصادية، ويفرز الفيروس في براز المصاب وينتقل عن طريق تناول الأغذية والمياه الملوثة ببراز المصاب أو من الأشخاص المصابين الذين يتعاملون مع الأغذية.



شكل (2.20) فيروس الروتا (Rotavirus) كما يظهر تحت المجهر الإلكتروني

المصدر: GOYAL (2006)

8.20 فيروس شلل الأطفال Poliovirus

وهو فيروس ذو حامض نووي من النوع RNA (Ribonucleic acid) أحادي السلسلة وهو فيروس غير مغلف واحد وسائل انتقاله النادرة هو الحليب الخام الملوث أو المياه الملوثة ويسبب شلل الأطفال Poliomyelitis. فيروس شلل الأطفال مقاوم للحموضة لكنه يموت بالبسترة. ويتضاعف الفيروس في الجهاز الهضمي للطفل ويخرج مع البراز فيسهل نقل العدوى للآخرين عن طريق الذباب أو الأيادي الملوثة بالبراز.

9.20 التحكم في العدوى بالفيروسات المنتقلة عن طريق الأغذية والمياه

لمنع العدوى بالفيروسات يجب اتباع ما يلي:

أ. التأكيد على إنتاج غذاء صحي خالي من الفيروسات الممرضة للإنسان بإتباع وتطبيق الشروط الصحية أثناء عمليات الإنتاج والتصنيع والتداول حيث أن بعض الفيروسات مثل فيروس النورو تقاوم الظروف البيئية الغير مناسبة مثل التجميد وتقاوم الحرارة التي تصل إلى 60م° حيث وجد الفيروس في المحار المعامل بالبخار، كما أن هذا الفيروس يقاوم تركيز الكلور Chlorine الذي يصل إلى 10 جزيء في المليون.

ب. ضرورة التأكيد على الطهو الجيد للأغذية عند درجات حرارة مناسبة لضمان القضاء على هذه الفيروسات حيث أوصت بعض الدراسات في المملكة المتحدة على ضرورة أن تصل درجة الحرارة الداخلية للأصداف البحرية من 85 إلى 90 م° لضمان القضاء على فيروس التهاب الكبد الوبائي A.

ج. تطهير الأسطح باستخدام الكلور عند تركيز من 1000 إلى 5000 جزئ في المليون.

د. غسل الأيدي جيداً بالماء والصابون قبل تداول الأغذية خاصة المبردة وبعد ملامسة اللحوم والأسماك النيئة.

هـ. توفير المياه النقية والصالحة للشرب والاستخدام الآدمي من قبل الجهات المختصة.

و. الحرص على تطبيق الصرف الصحي ومنع طفح مياه الصرف الصحي في الشوارع لمنع انتشار الأمراض الفيروسية.

ز. عدم استخدام المياه الراكدة في غسل الخضروات والفاكهة أو الذبائح.

ح. تقديم الطعوم vaccine للوقاية من هذه الفيروسات مثل فيروس شلل الأطفال وفيروس الروتا وفيروس النورو وفيروس التهاب الكبد الوبائي **A** أو E.

ط. استخدام ضغط هيدروستاتيكي Hydrostatic pressure أعلى من 300 ميجا باسكال للقضاء عليها في الأغذية.

هناك فيروسات تصيب البكتيريا يطلق عليها ملتهمات البكتيريا Bacteriophages. إصابة البادئات (مثل: بكتيريا S.thermophilus وL. lactis) بالبكتيروفاج تعتبر من أهم المشاكل في صناعة الأغذية المتخمرة حيث تهاجم هذه الفيروسات بكتيريا البادئ وتقضي عليها وتكون النتيجة عدم إنتاج حموضة وإعطاء منتج رديء، وتعتبر بكتيريا بادئ حمض اللاكتيك الكروية والعصوية من أكثر البادئات حساسية وقابلية للإصابة بالبكتيروفاج، ولتجنب هذه المشكلة يجب اتخاذ عدة إجراءات مثل تنمية البادئ تحت ظروف معقمة وإجراء معاملة حرارية للحليب تكون كافية للقضاء على الفيروسات البكتيرية وتطوير سلالات مقاومة للبكتيروفاج (KOOPMANS, 2002; RAY, 2004; GOYAL, 2006; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الواحد والعشرون

السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية

Control of Microbial Growth

1.21 مقدمة

تتسبب الأحياء الدقيقة في إفساد وتخريب الأغذية كما أنها تسبب الأمراض للإنسان والحيوان، وبذلك تؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة ومخاطر هائلة على الصحة العامة، وهذا جعل من المهم السيطرة على الأحياء الدقيقة لمنع انتقال العدوى أو منع التلوث أو لمنع الفساد الغذائي. ويقصد بالسيطرة منع نمو أو قتل أو إزالة الأحياء الدقيقة، ولقد أهتم الإنسان منذ القدم بمشكلة تلف وفساد الأغذية وكيفية السيطرة على مسببات الفساد.

استخدم البابليون والمصريون والرومان وكذلك الصينيون وسائل بدائية في حفظ الأغذية كالتجفيف والتمليح والتدخين والتخمير، وفي مطلع القرن التاسع عشر (1810) قام البرت نيكولاس الفرنسي بحفظ الأغذية بعد طبخها تحت درجات حرارة عالية ووضعها في أواني معدنية وقفلها قفلاً محكماً بمعزل عن المحيط الخارجي وبذلك تعتبر هذه أول محاولة لحفظ الأغذية بالتعليب، وخلال النصف الثاني من القرن التاسع عشر وضع باستير الأسس العلمية لحفظ الأغذية بواسطة استخدام درجات الحرارة العالية وهو من أبتكر بسترة الحليب والجعة بعد أن شخّص الأحياء الدقيقة التي تسبب فسادها، وتُستخدم الآن طرق حديثة وأكثر تطوراً للسيطرة على الأحياء الدقيقة غير المرغوبة في الأغذية وأصبح بالإمكان حفظ الأغذية بنجاح ولمدة طويلة، وسيتم في الفصول التالية استعراض أهم طرق السيطرة على الميكروبات، أما في هذا الفصل سيتم تناول أحد طرق السيطرة وهي منع وصول الميكروبات للأغذية.

2.21 التحكم عن طريق منع وصول الميكروبات للأغذية (التنظيف والتطهير الصحي)

Control of Access (Cleaning and Sanitation)

الأنسجة الداخلية للنباتات والحيوانات تعتبر معقمة تقريبًا ومع ذلك فإن هناك العديد من أنواع الكائنات الدقيقة قادرة على التسبب في فساد الأغذية وإحداث الأمراض المنقولة بالغذاء للإنسان عن طريق الوصول للأغذية من مصادر مختلفة، ومن المستحيل منع وصول الأحياء الدقيقة للأغذية من هذه المصادر ومع ذلك فإنه من الممكن التحكم في وصولها للغذاء وبالتالي التقليل من الفساد الميكروبي والمخاطر الصحية الناجمة عنه، هذا هو هدف الأجهزة الرقابية ومصنعي الأغذية والذي يمكن تحقيقه من خلال التعقيم.

إن النتائج المترتبة على التغيرات في استهلاك الغذاء وطرق الإنتاج خلال أواخر القرن التاسع عشر وبداية القرن العشرين وفهم الأساس العلمي لفساد الأغذية والأمراض المنقولة عن طريق الأغذية قد يكون لها دور في تعزيز إنتاج أغذية صحية.

الأحياء الدقيقة يمكن أن تصل إلى الغذاء من مصادر مختلفة ولكن مع التنظيف والتطهير الصحي الجيد خلال التعامل مع الأغذية تقلل نسبة وصولها للأغذية وإذا وجدت نسبة منخفضة من الميكروبات يمكن معالجتها والحفاظ على الغذاء بشكل أكثر فعالية لضمان الاستقرار وسلامة الأغذية بعكس الأغذية التي تحتوي على نسبه عالية من الميكروبات. وهكذا أصبح التطهير الصحي الجيد جزءا لا يتجزأ من عمليات التصنيع الغذائي.

في مصانع الأغذية يتم التعامل مع أنواع كثيرة من المواد الخام والمنتجات بشكل سريع وهذا بسبب توافر تقنية التصنيع القادرة على التعامل مع هذه الكميات الكبيرة، بعض الأجهزة التي تتعامل مع الأغذية معقدة للغاية وتعمل آلياً وتحتاج طرق خاصة للتنظيف والتطهير الفعال، وعلى الرغم من المعرفة الجيدة لآليات تلوث الأغذية بالأحياء الدقيقة وزيادة وسائل وطرق تجنب ذلك إلا أن حجم الأغذية الفاسدة وحدوث الأمراض المنقولة بالغذاء لا يزال مرتفعاً وهذا يشير إلى الحاجة إلى أساليب أكثر فعالية للتحكم في وصول الميكروبات إلى الأغذية من خلال التطهير الصحي الفعال والجيد.

1.2.21 أهداف عمليات التطهير Sanitation

الهدف الرئيسي من التطهير الصحي هو الحد من وصول الأحياء الدقيقة إلى الغذاء من مصادر مختلفة في جميع مراحل إنتاج الغذاء، ولأن المصادر الميكروبية ومستوى التعامل معها يختلف باختلاف الغذاء إن كان من أصل نباتي أو حيواني فإن أساليب تلوث الأغذية بالأحياء الدقيقة تختلف، التطهير الصحي السليم يساعد في تقليل الحمل الميكروبي للمستويات المطلوبة للأغذية المصنعة، مثال على ذلك هو أن الحمل الميكروبي المنخفض في الحليب الخام المنتج من خلال تطبيق الاشتراطات الصحية السليمة يجعل من السهل استخدامه في إنتاج الحليب المبستر الذي يلبي المعايير الميكروبية، أيضا التعامل والتداول والتخزين السليم للغذاء يساعد على إنتاج أغذية لها صلاحية طويلة، وأخيراً التطهير السليم يساعد على الحد من تفشي الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية.

2.2.21 العوامل المؤثرة في السيطرة على وصول الميكروبات للأغذية

للحد من وصول الأحياء الدقيقة للأغذية يجب الحرص على نظافة بيئة تصنيع الغذاء والأسطح الملامسة للأغذية وكذلك يجب أن تكون المواد المضافة للغذاء ذات جودة ميكروبيولوجية عالية، لتحقيق هذه الأهداف هناك عدة عوامل يجب مراعاتها في هذا الصدد وسيتم مناقشتها باختصار:

أ. تصميم مصنع الأغذية

في المرحلة الأولى من تصميم مصنع الأغذية برنامج التطهير الصحي الفعال والمتكامل يجب أن يطبق من أجل توفير أقصى قدر من الحماية ضد الميكروبات الملوثة للأغذية، وهذا يشمل كلا من داخل وخارج المصنع، وهناك بعض الاعتبارات المحددة لتصميم الأرضية يجب مراعاتها كذلك استخدام المواد المصرح بها في البناء ومراعاة أن تكون هناك إضاءة وتهوية كافية والفصل بين أماكن إنتاج المواد الخام والمواد المصنعة أيضا وجود مساحة كافية للتشغيل والحركة والسباكة، كذلك نظام جيد لإمدادات المياه والصرف الصحي ونظام التخلص منها ومرافق لمعالجة النفايات، وهناك هيئات تنظيمية متخصصة في وضع مواصفات لكثير من هذه المتطلبات يمكن الرجوع إليها عند مرحلة التخطيط لإنشاء مصانع الأغذية.

ب. جودة المياه والمحاليل المستخدمة في تصنيع الأغذية

يتم استخدام المياه كعنصر في كثير من الأغذية ويستخدم أيضا بعد المعاملة الحرارية في بعض المنتجات. الجودة الميكروبيولوجية لهذه المياه وخاصة إذا كانت الأغذية جاهزة للأكل يجب أن تكون عالية فلا ينبغي أن تكون خالية من مسببات الأمراض فقط (كما هو الحال في مياه الشرب) ولكن أيضا أن تكون منخفضة (إن لم تكن خاليه منها) في أعداد البكتيريا المفسدة للأغذية مثل أنواع *Pseudomonas* المحبة للبرودة مما يزيد من مدة صلاحية الأغذية المبردة. الثلج المستخدم لتبريد الأغذية غير المغلفة يجب أن يكون خالي من الميكروبات حتى نضمن عدم تلوث الغذاء بالميكروبات المسببة للأمراض والبكتيريا المفسدة للأغذية، كذلك المياه المستخدمة لتبريد المنتجات مثل الدجاج في المرحلة النهائية من التصنيع يمكن أن تكون مصدراً للتلوث الخلطي Cross-contamination من طائر واحد حامل للبكتيريا المعوية الممرضة قد يلوث عدد كبير من الطيور، وبالمثل يمكن للماء الدافئ المستخدم لإزالة ريش الدجاج أن يكون مصدراً للبكتيريا المقاومة للحرارة thermoduric المحاليل الملحية التي تستخدم في تصنيع بعض أنواع الأغذية يمكن أن تكون مصدراً للتلوث الميكروبي ولذلك يجب أعدادها يومياً واستخدامها طازجة.

ج. جودة الهواء

بعض العمليات التصنيعية للأغذية مثل تجفيف الحليب الخالي من الدهن بالرذاذ تتطلب حجم كبير من الهواء الذي يدخل حيز الاتصال المباشر مع الغذاء، وعلى الرغم من أن

الهواء يسخن إلا أن ذلك لا يقتل جميع الأحياء الدقيقة الموجودة في ذرات الغبار في الهواء وبالتالي يمكن أن تكون مصدراً للتلوث الميكروبي للأغذية. ولذلك يجب تركيب منافذ للهواء تضمن الحصول على هواء جاف مع أقل قدر من الغبار وكذلك ترشيح الهواء مهم للحد من التلوث الميكروبي من هذا المصدر.

د. تدريب العاملين

ينبغي أن يكون لإدارة المصنع برنامج نشط لتعليم العاملين في المصنع أهمية التطهير الصحي والنظافة الشخصية لضمان سلامة المنتجات واستقرارها، البرنامج يجب أن لا يُعلم فقط كيفية تحقيق التطهير الصحي الجيد والنظافة الشخصية ولكن أيضا مراقبة تنفيذ البرنامج. العمال المرضى أو المصابين بعدوى يجب أن يكونوا معزولين تماماً عند التعامل مع المنتجات الغذائية كما يجب أن يكون هناك نوع من الحوافز للعمال لإنجاح هذا البرنامج بشكل فعال.

هـ. المعدات

أهم معيار ميكروبيولوجي والذي ينبغي وضعه في الاعتبار خلال تصميم معدات تصنيع الأغذية هو حماية الغذاء من التلوث الميكروبي، ويمكن تحقيق هذا بمراعاة عدم احتواء المعدات على ما يسمى بالمواقع الميتة dead spots حيث تستوطن الأحياء الدقيقة وتنمو أو التي يمكن أن تكون في أماكن يصعب تنظيفها بسهولة، المعدات مثل مفرمة اللحوم والشفرات وعدة أنواع أخرى من الأنظمة الناقلة والتي لا يتم تنظيفها على نحو فعال تكون بالتالي

مصدراً للتلوث لعدد كبير من المنتجات، هذا مهم بشكل خاص بالنسبة للمنتجات التي تتعامل بشكل مباشر مع أسطح المعدات بعد المعاملة الحرارية وقبل التعليب.

3.2.21 تنظيف المعدات والأدوات المستخدمة في إنتاج الأغذية

يستخدم التنظيف لإزالة الأوساخ والبقايا المرئية وغير المرئية من المحيط ومن معدات تصنيع الأغذية، طبيعة الأوساخ تختلف بشكل كبير من نوع غذاء لآخر ولكن كيميائياً تتكون من الدهون والبروتينات والكربوهيدرات وبعض المعادن، استخدام الماء يزيد من كفاءة التنظيف وتستخدم مواد التنظيف الكيميائية أو المطهرات مع الماء، وبالإضافة إلى ذلك هناك طرق أخرى مثل الرش الحك أو التدفق القوى للسائل turbulent flow يتم استخدامها لتحسين التنظيف، ويتم اختيار أنواع المنظفات طبقاً للحاجة.

فعالية المنظفات لإزالة الأوساخ من السطوح تعتمد على عدة خصائص مثل كفاءة استحلاب الدهون وذوبانية البروتينات وذوبان أو تعليق الكربوهيدرات والمعادن. وبالإضافة إلى ذلك المنظفات يجب أن لا تسبب تآكل وأن تكون آمنة وأن تزال بسهولة بالشطف وأن تكون متجانسة مع المنظفات الكيميائية الأخرى.

المنظفات التي يكثر استخدامها لتنظيف معدات تصنيع الأغذية تكون مصنعة ويمكن أن تحمل شحنة سالبة anionic أو موجبة cationic أو لا تحمل شحنة nonionic ومن بين هذه المنظفات تستخدم الأيونية بشكل كبير، أمثلة على المنظفات الأيونية تشمل

sodium lauryl sulfate كبريتات لوريل الصوديوم ومختلف سلفونات البنزين و alkyl benzene sulfonates وألكايل وسلفونات الألكايل alkyl sulfonates وكل جزيء يحتوي على جزء محب للدهون أو غير محب للماء (غير القطبي) وجزء محب للماء أو كارهه للدهون (قطبي)، قدرة المنظف detergent على إزالة الأوساخ من الأسطح ترجع إلى الجزء الكارهة للماء hydrophobic segment في مادة التنظيف حيث تقوم مواد التنظيف بإذابة المواد الدهنية الموجودة على الأسطح، عدد مرات التنظيف تعتمد على المنتجات التي يجري تصنيعها ومدى التزام الإدارة بالاشتراطات الصحية الجيدة، تنظيف المعدات يتم إما بعد تفكيك المعدات أو عن طريق نظام التنظيف في المكان Cleaning-In-Place (CIP) ويستخدم في هذا النظام محلول التنظيف عند ضغط مرتفع وبسبب كفاءة هذه الطريقة وانخفاض تكلفتها أصبحت الأكثر شيوعاً. محاليل المنظفات يجب أن تحضر عندما يُراد استخدامها (على الأقل ألا تتجاوز 48 ساعة) لأنه يمكن لبعض الأحياء الدقيقة أن تنمو فيها.

4.2.21 تطهير معدات تصنيع الأغذية

Sanitation of Food-Processing Equipment

المنظف الفعال يمكنه إزالة بعض الأحياء الدقيقة مع الأوساخ على الأسطح الملامسة للأغذية ولكن لا يمكن ضمان إزالة كاملة للميكروبات المسببة للأمراض، لتحقيق هذا الهدف يجب تطهير الأسطح الملامسة للأغذية بعد التنظيف، الطريقة المستخدمة لقتل

الأحياء الدقيقة المسببة للأمراض يجب أن تكون فعّاله ضد الميكروبات الممرضة كفاعليتها في خفض الحمل الميكروبي. وتستخدم العديد من الطرق الفيزيائية والكيميائية لتطهير معدات تصنيع الأغذية، الوسائل الفيزيائية المستخدمة في تطهير معدات تصنيع الأغذية تشمل المياه الساخنة والبخار والهواء الساخن والأشعة فوق البنفسجية وتُستخدم الأخيرة لتعقيم الأسطح. ويستخدم الماء الساخن والبخار لتدمير الخلايا الخضرية والفيروسات والجراثيم وعلى الرغم من كفاءتهما وقلة تكلفتهما (خاصة البخار) تستخدمان بشكل محدود.

المطهرات الكيميائية Chemical sanitizers تستخدم أكثر من الوسائل الفيزيائية للتطهير، هناك عدة مجموعات من المطهرات تمت الموافقة عليها للاستخدام في مصانع تصنيع الأغذية، وتختلف المطهرات الكيميائية اختلافاً كبيراً في كفاءتها المضادة للميكروبات، بعض من الخصائص المرغوبة المستخدمة في اختيار المطهرات الكيميائية تكون فعاله للغرض الذي تستخدم من أجلة، غير سامة وغير مسببة للتآكل وليس لها تأثير على جودة الأغذية وسهلة الاستخدام وسهلة الإزالة بالشطف وأن تكون ذات ثباتية وغير مكلفة.

هناك عدة عوامل هامة تؤثر على كفاءة المطهرات الكيميائية هي مدة التعرض ودرجة الحرارة والتركيز المستخدم والأس الهيدروجيني والحمل الميكروبي ومدى ارتباط الميكروبات بالسطح وعسر المياه، ميكانيكية التأثير المضاد للمطهرات على الميكروبات ومزايا وعيوب بعض المطهرات المستخدمة في تجهيز الأغذية سوف تناقش باختصار، وبعض المطهرات الكيميائية صممت لتعمل كمنظفات ومطهرات في نفس الوقت ويمكن

استخدامها كمنتج واحد بدلاً من استخدام المنظفات لإزالة الأوساخ ثم استخدام مطهرات للقضاء على الأحياء الدقيقة.

1.4.2.21 التعقيم باستخدام الكلور Chlorine-Based Sanitizers

بعض من مركبات الكلور المستخدمة كمطهرات هي الكلور السائل، هيبوكلوريتات hypochlorites ومركبات الكلورامين chloramines العضوية أو الغير العضوية وثاني أكسيد الكلورChlorine dioxide، مركبات الكلور فعالة ضد الخلايا الخضرية للبكتيريا والخمائر والفطريات والجراثيم والفيروسات، جراثيم Clostridial أكثر حساسية لمركبات الكلور من جراثيم Bacilli.

تأثير مركبات الكلور كمضادات للميكروبات ويرجع إلى أن الكلور له القدرة على أكسدة مجموعة الكبريت – (SH) الموجودة في تركيبة العديد من الأنزيمات والبروتينات بالإضافة إلى إلحاق أضرار بالغشاء وتعطيل تخليق البروتين وتفاعلات مع الأحماض النووية وعرقلة عمليات الأيض.

التأثير القاتل للكلور السائل والهيبوكلوريت يرجع لتكون حمض الهيبوكلوروز hypochlorous acid (HOCL) الذي من المحتمل أنه يدخل إلى الخلية ويتفاعل مع مجموعة الكبريت (SH).HOCL حمض الكلور مستقر في الوسط الحامضي وأكثر فعالية أما في الوسط القلوي فإنه يتحلل إلى + H أيون الهيدروجين و – OCl (أيون هيبوكلوريت) مما

يقلل من فعاليته كمبيد للجراثيم كما أن هذه المركبات أقل فعالية في وجود المواد العضوية.

الكلورامينات (العضوية أو غير العضوية) مثل الكلورامين T، ينبعث منها غاز الكلور ببطء، ولكنها أقل نشاطاً ضد الجراثيم البكتيرية والفيروسات لكنها فعالة إلى حد ما ضد الخلايا الخضرية في الوسط القلوي، ثاني أكسيد الكلور chlorine dioxide هو أكثر فعالية في الوسط القلوي وفي وجود المواد العضوية، مركبات الكلور فعاله بشكل سريع ضد جميع أنواع الأحياء الدقيقة وأقل تكلفة وسهلة الاستخدام ومع ذلك فهي غير مستقرة (وخاصة عند ارتفاع درجات الحرارة ووجود المواد العضوية) وتتسبب في تآكل المعادن وأكسدة المواد الغذائية (كاللون والدهون) وهي أقل نشاطاً في الماء العسر.

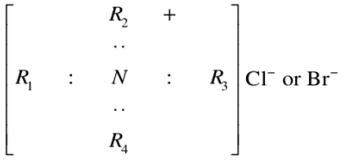
2.4.2.21 ايودوفور Iodophores

هذه المركبات تسمى مولدات اليود ويتم الجمع فيها بين اليود والمركبات النشطة سطحياً surface-active compounds مثل alkylphenoxypolyglycol وبسبب المركبات النشطة سطحيا يصبح نسبيا قابل للذوبان في الماء، Iodophores فعال ضد البكتيريا الموجبة لصبغة جرام (Gram positive) والسالبة لجرام (Gram negative) وجراثيم البكتيرية والفيروسات والفطريات. ترجع خاصية إبادة الجراثيم إلى عنصر اليود (I2) وحمض hypoiodous، الذي يؤكسد مجموعة SH– في البروتينات والأنزيمات الرئيسية، وتعتبر هذه المواد أكثر فعالية في الوسط الحامضي acidic ودرجات الحرارة المرتفعة ولا تفقد فعاليتها في وجود المواد العضوية كما هو الحال مع الكلور ومع ذلك تقل فعاليتها في الماء العسر.

وهذه المركبات سريعة التفاعل وغير مسببة للتآكل noncorrosive وسهلة الاستخدام وغير مُهيجه ومستقرة ومع ذلك فأنها مكلفة وأقل فعالية من الهيبوكلوريتات ضد الجراثيم البكتيرية والفيروسات ويمكن أن تؤثر على نكهة المنتجات الغذائية وتتفاعل مع النشا.

3.4.2.21 مركبات الأمونيوم الرباعية Quaternary Ammonium Compounds

ويمكن استخدام مركبات الأمونيوم الرباعية (QACs) كالمنظفات ومطهرات في آن واحد، ويتم تصنيعها عن طريق تفاعل الأمينات الثلاثية مع هاليدات الألكيل alkyl halides أو كلوريد البنزيل benzyl chloride المجموعة الموجبة للمركب هي كارهة للماء والمجموعة السالبة هي المحبة للماء شكل (1.21)، يمكن لمركبات الألمونيوم الرباعية (QACs) أن تكون قاتلة للبكتيريا bactericide عند تركيزات عالية عند استخدامها كمحلول غير أنها تكون طبقة رقيقة على أسطح المعدات وفي هذه الحالة تستخدم تركيزات منخفضة مما يجعلها مثبطة لنمو البكتيريا bacteriostatic وليست قاتلة لها، هذه المركبات أكثر فعالية ضد البكتيريا الموجبة لجرام من البكتيريا سالبة الجرام والجراثيم البكتيرية والفطريات والفيروسات، تعمل المضادات الميكروبية على دنترة البروتين في الخلايا واضطراب وظيفة غشائها.



حيث: R1, R2, R3, R4 تمثل الألكايل alkyl ومجاميع أخرى

شكل (1.21) مركبات الأمونيوم الرباعية

المصدر: Ray (2004)

هذه المركبات تكون أكثر فعالية ضد الأحياء الدقيقة في الوسط الحامضي وعند درجات الحرارة المرتفعة ولكن تقل فعاليتها في وجود المواد العضوية وفي الماء العسر، ومن مميزات مركبات الأمونيوم الرباعية أنها تعمل كمطهرات لأنها مستقرة إلى حد كبير غير مسببة للتآكل غير سامة وغير مهيجه ولها القدرة على تثبيط البكتيريا كما أن لها تأثير منظف، ومن مساوئ هذه المركبات أنها ذات تكلفة عالية وقليلة التأثير ضد البكتيريا السالبة لجرام والجراثيم والفيروسات كما أنها لا تتوافق مع المنظفات الاصطناعية الأيونية anionic synthetic detergents وتحتاج للشطف من أسطح المعدات لأنها تكون طبقة رقيقة عليها، بعض أنواع البكتيريا السالبة لجرام مثل .*Pseudomonas* spp يمكن أن تنمو في محلول مخفف من مركبات الأمونيوم الرباعية.

4.4.2.21 فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2

وهو مادة مبيدة للجراثيم فعالة جداً وتقتل الخلايا الخضرية والجراثيم والفيروسات،

إدارة الأغذية والأدوية الأميركية U.S. Food and Drug Administration (FDA) وافقت على استخدامه في تعقيم المعدات والعلب المستخدمة في التعبئة وتغليف الأغذية والمشروبات، ويمكن تعقيم أسطح المعدات والعلب في 15 دقيقة باستخدام تركيز 30% إلى 50 % من المحلول يمكن أيضا تقليل وقت المعاملة إذا تم رفع درجة الحرارة من 150 إلى 160 ف° (6.65 7-71 م°)، يمكن استخدام فوق أكسيد الهيدروجين أيضا في شكل بخار ويكون فعال في قتل الأحياء الدقيقة على الأسطح الملامسة للأغذية ويقل تأثيره في وجود المواد العضوية.

3.21 التحكم في الميكروبات بالاستبعاد Control by Physical Removal

هناك وسائل مختلفة يمكن من خلالها التحكم في الأحياء الدقيقة التي تمكنت من الوصول إلى الغذاء واحدة منها إزالتها فيزيائياً، ويمكن تحقيق ذلك بطرق مختلفة يتم مناقشتها في هذا الفصل، وتستخدم بعض منها في الأغذية السائلة ولكن لديها تطبيق محدود، يمكن إزالة الأحياء الدقيقة فيزيائياً من الأغذية الصلبة والسائلة باستخدام العديد من الطرق المختلفة ويمكن لهذه الطرق إزالة الأحياء الدقيقة جزئيًا من الغذاء وبذلك فإنها تقلل من مستوى الميكروبات وتساعد مبيدات الميكروب الأخرى لتصبح أكثر فعالية، ومن أهم الطرق الفيزيائية:

1.3.21 الطرد المركزي Centrifugation

ويستخدم في بعض الأغذية السائلة مثل الحليب وعصائر الفاكهة والمشروبات لإزالة الجزيئات المعلقة الغير المرغوب فيها (كالغبار وكرات الدم البيضاء وجزيئات الغذاء) هذه العملية تكون من خلال تعريض الغذاء إلى قوة طرد مركزي عالية، الجسيمات الثقيلة تتحرك إلى الخارج ويتم فصلها عن كتلة السائل الأخف، ويتم إزالة الأحياء الدقيقة والجراثيم والبكتيريا العصوية الكبيرة والكتل والسلاسل البكتيرية والخمائر والفطريات بسبب ثقل كتلتها، وتحت قوة الطرد المركزي العالية يمكن إزالة حوالي 90% من الأحياء الدقيقة، بعد الطرد المركزي سوف يكون عدد أقل من الأحياء الدقيقة المقاومة للحرارة thermoduric microorganisms (جراثيم البكتيريا) في الأغذية ولكن بإمكانها أن تنجو في درجات الحرارة المعتدلة (مثل بسترة الحليب) وبذلك تزيد من الحمل الميكروبي في المنتجات المبسترة.

2.3.21 الترشيح Filtration

ويستخدم في بعض الأغذية السائلة مثل المشروبات الغازية Soft drinks وعصائر الفاكهة والمياه لإزالة المواد الصلبة والأحياء الدقيقة غير المرغوب فيها وإعطاءها المظهر المتألق النقي، يتم استخدام الترشيح أيضا مع الأغذية التي تحتوي على نكهات طبيعية مثل عصائر الفاكهة ومكونات حساسة للحرارة (مثل فيتامين C في العصائر الحمضية) للحفاظ على تلك النكهات الطبيعية للمنتج، ويمكن لعملية الترشيح أن تستخدم أيضا كخطوة في إنتاج

العصير المركز للحفاظ على أفضل نكهة وأعلى مستوى من الفيتامينات. هناك العديد من أنظمة الترشيح المستخدمة وفي كثير من عمليات الترشيح تستخدم المرشحات الخشنة coarse filters في البداية لإزالة المكونات الكبيرة ويتبع ذلك إجراء الترشيح الفائق Ultrafiltration، وطرق الترشيح الفائق فعالة في إزالة الخمائر والفطريات ومعظم الخلايا البكتيرية والجراثيم من المنتجات السائلة وهذا يعتمد على حجم مسام المرشح (0.45 إلى 0.7 ميكروميتر)، كما يستخدم الترشيح بالهواء في بعض عمليات تصنيع الأغذية مثل تجفيف الحليب بالرذاذ spray drying لإزالة الغبار من الهواء المستخدم لتجفيف الحليب كما يقوم أيضا بإزالة بعض الأحياء الدقيقة مع الغبار وهذا يقلل من مستوى الميكروبات التي يمكن أن تلوث الغذاء من الهواء.

3.3.21 التشذيب Trimming

الفواكه والخضروات هي الأكثر عرضة للضرر (فرصتها أكبر للتلوث الميكروبي) والتلف بشكل عام ولذلك تستخدم هذه الطريقة لإزاله الأوراق الخارجية للملفوف المستخدم في إنتاج مخلل الملفوف بتقليم المناطق شديدة التلوث بالأحياء الدقيقة وهذا يساعد في الحد من الأحياء الدقيقة القادمة من التربة. يستخدم التشذيب أيضا لإزالة النموات الفطرية المرئية على الجبن الصلب والنقانق المخمرة والخبز وبعض المنتجات المنخفضة الحموضة ومع ذلك إذا كانت الفطريات من النوع المنتج للسموم لا يمكن ضمان إزالة السموم من المواد الغذائية المتبقية بواسطة التشذيب، ويستخدم التشذيب بانتظام أيضا لإزالة علامات البراز والزوائد

غير العادية والخراجات أو المناطق الصغيرة الملوثة على أسطح ذبائح الحيوانات والطيور. وعلى الرغم من أن هذا الأسلوب يساعد في إزالة المناطق الملوثة إلا أنه لا يضمن إزالة كاملة للأحياء الدقيقة المسببة للأمراض وهكذا يمكن أن تتعرض ذبيحة لحم البقر للتلوث بالبراز الذي يمكن أن يحتوي على مسببات الأمراض المعوية، إزالة المناطق الملوثة بواسطة التشذيب لا تؤدي إلى إزالة مسببات الأمراض من المناطق المحيطة وهذه العملية مهمه جداً في إنتاج أغذية أكثر أماناً.

4.3.21 الغسل Washing

يتم غسل الفواكه والخضروات بانتظام للتقليل من درجة الحرارة (مما يساعد على تقليل معدل التمثيل الغذائي للمنتج ونمو الميكروبات) وإزالة التربة، الغسل يساعد أيضا على إزالة الأحياء الدقيقة الموجودة وخاصة من التربة، كما انه يستخدم في إزالة المواد البرازية والأوساخ من قشرة البيض، تغسل لحوم الحيوانات مثل لحم البقر ولحم الضأن لإزالة الشعر وجزيئات التربة والأحياء الدقيقة، وخلال معالجة الدجاج والديك الرومي تتعرض الذبيحة للماء عدة مرات، وخلال إزالة الريش defeathering يتعرض الدجاج والديك الرومي للماء الساخن ثم إزالة الأمعاء والغسل بالرذاذ وأخيراً تبرد بالماء البارد. وعلى الرغم من أن هذه المعاملات تقلل من الحمل الميكروبي فإنها يمكن أن تنشر التلوث بالأحياء الدقيقة غير المرغوب فيها والبكتيريا المعوية الممرضة، ووجد أن النسب المئوية للدجاج الملوث بالسالمونيلا عند خروجها من خزان التبريد أعلى من قبل دخولها، وحالياً يتم استخدام الغسل الآلي عند

الضغط المرتفع لإزالة المواد والأحياء الدقيقة غير المرغوب فيها بفعالية من الذبيحة بدلاً من الغسل اليدوي. بالإضافة إلى أن ارتفاع الضغط يستخدم أيضا بفعالية الماء الساخن والبخار والمياه المحتوية على الأوزون ozonated water والمياه التي تحتوي على الكلور وحامض الخليك أو حامض البروبيونيك أو حامض اللاكتيك و tripolyphosphates أو bacteriocins من بكتيريا حمض اللاكتيك لإزالة الأحياء الدقيقة خاصة البكتيريا المعوية الممرضة مثل *Salmonella* spp. و *Campylobacter jejuni* و *Listeria monocytogenes* و *Escherichia coli* O157:H7.

بعض من هذه المعاملات أيضا لها خاصية مضادة للميكروبات ومع ذلك تشير الدراسات إلى أن جميع المعاملات يمكن أن تقلل من التلوث البكتيري على سطح اللحوم إلى مستوى معين ولكن إزالة الأحياء الدقيقة من السطح تكون أفضل بإجراء اثنين أو أكثر من هذه المعاملات. ويجب تحديد مدى ملاءمة هذه المواد عند مزجها مع بعض وتحديد تركيزاتها ومدة تطبيقها ويجب أن يلاحظ أنه ومع مرور الوقت الأحياء الدقيقة يمكن أن تشكل طبقة حيوية biofilm على سطح الذبيحة.

وطبيعة هذه الطبقة الحيوية biofilm تختلف باختلاف الأنواع والسلالات الميكروبية، أيضا مع مرور الوقت تصبح الطبقة الحيوية أكثر استقرارا وتصبح عملية إزالة الأحياء الدقيقة عن طريق الغسيل صعبة نسبياً ويجب أن يؤخذ هذا الجانب في الاعتبار عند تطوير أساليب فعالة لغسل الذبائح (GIBSON et al, 1999; CARBALLO, 2000; RAY, 2004; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الثاني والعشرون

السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية باستخدام الحرارة

تعد هذه الطريقة أول الطرق التي تنبه لها الإنسان وطورها وتعتمد على قتل أو تحطيم الأحياء الدقيقة بالحرارة وتقسم إلى:

1.22 استخدام درجات الحرارة المنخفضة (دون 100م°)

Low-Heat Processing or Pasteurization

يعتبر استخدام درجات الحرارة ما دون 100م° أو البسترة من أكثر الأساليب فعالية وأقلها خطورة، وتهدف هذه المعاملة إلى تحطيم الخلايا الخضرية للبكتيريا المرضية وأكثر من 90% من الكائنات الدقيقة المسببة للفساد مثل الفطريات والفيروسات والخمائر والكثير من أنواع البكتيريا. في بعض الأغذية عملية البسترة تحطم بعض الأنزيمات مثل أنزيم الفوسفاتز في الحليب، درجات الحرارة والزمن اللازم لهذه المعاملات وضعت بأقل مستويات لتحقيق أغراض المعاملة الحرارية دون التأثير على القيمة الغذائية أو الخواص الحسية للغذاء.

وتشمل استخدام درجات حرارة من 60 إلى 100 م° ولفترات تتناقص بزيادة درجة الحرارة المستخدمة، مثلا تستخدم لبسترة الحليب درجة حرارة 145 ف° (62.8 م°) لمدة 30 دقيقة Low Temperature Long time (LTLT) أو تسخين الحليب عند 71.7 ف° (62.8 م°) لمدة 15 ثانية High Temperature Short Time (HTST).

ويمكن تعريف البسترة على أنها تسخين كافة أجزاء الحليب لدرجة حرارة لا تقل عن 62.8 م° لمدة 30 دقيقة، أساس البسترة يعتمد على حفظ الحليب باستخدام حرارة كافية

تضمن القضاء على معظم الخلايا الخضرية خاصة البكتيريا الممرضة من النوع Mycobacterium tuberculosis وبكتيريا Coxiella burentii التي تسبب حمى كيو Q fever والأكثر مقاومة للحرارة، يبرد الحليب مباشرة بعد البسترة إلى 40 ف° ثم يعبأ ويحفظ عند هذه الدرجة حتى الاستهلاك. وتستخدم البسترة في الحالات الآتية:

أ. عندما تكون الأحياء الدقيقة المسببة للفساد غير مقاومة للحرارة كما هو الحال في الأغذية مرتفعة الحموضة.

ب. عندما يمكن عرقلة نمو ونشاط الأحياء الدقيقة المسببة للفساد بوسائل أخرى بالإضافة للمعاملة الحرارية مثل التبريد (كما هو الحال في الحليب) أو إضافة تركيز عالي من السكر(الحليب المكثف المحلى) أو عند إضافة مواد حافظة مثل الأحماض العضوية (عصائر الفاكهة والمخللات).

وتستخدم درجات الحرارة المنخفضة في معاملة أغذية أخرى مثل البيض الكامل السائل وذلك بالتسخين عند 140ف° (60 م°) لمدة 1.5 دقيقة والتي تهدف إلى تحطيم بكتيريا *Salmonella*. كما تعامل عصائر الفواكه *عند* 60 إلى 70م° لمدة 15 دقيقة أو على 80 – 85 م° لمدة دقيقة، كذلك يعامل الخل من 65.6 إلى 71.1 م° لمدة 1 دقيقة أو على 60 م° لمدة 30 دقيقة، هناك بعض المنتجات الغذائية التي تبستر بالحرارة الجافة مثل بياض البيض المجفف وجوز الهند المجفف على 50 إلى 70م° لمدة 5 إلى 7 أيام، وطبقاً لدرجات الحرارة المستخدمة فقد تنجو البكتيريا المقاومة للحرارة المفسدة للأغذية وكذلك جراثيم

البكتيريا الممرضة وفي هذه الحالة تستخدم معاملات إضافية للقضاء عليها مثل الجمع ما بين طريقتين للحفظ ما لم يكون الغذاء يملك بعض عوامل السلامة الطبيعية مثل انخفاض الأس الهيدروجيني كما في حالة المنتجات الحامضية.

2.22 استخدام درجات حرارة مرتفعة High-Heat-Processed Foods

وفي هذه الحالة يتم التحكم في الكائنات الدقيقة عن طريق معاملة الأغذية بدرجات حرارة 100م° أو أعلى لمدة زمنية محددة. ويتم اختيار درجات الحرارة والأزمنة حسب خصائص الغذاء ونوع الكائن الدقيق المراد القضاء عليه، وتتعرض معظم الأغذية للتعقيم التجاري لتحطيم الأحياء الدقيقة الممرضة. المنتجات ذات الحموضة المنخفضة (pH > 4.6) تعقم تجارياً بتطبيق معاملة 12D (تطبق D12 عند درجة حرارة 250 ف° ولمدة زمنية تختلف حسب المنتج) لتحطيم جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* Type A & B الأكثر مقاومة للحرارة غير أن هذه المعاملة لا تقضي على جراثيم البكتيريا المفسدة للأغذية من الأنواع و *Bacillus stearothermophilus* و *B. coagulans* و *Desulfotomaculum nigrificans* و *Cl. thermosaccharolyticum* إن وجدت والتي لا تستطيع أن تنمو طالما خُزنت الأغذية المعقمة عند 30م° أو أقل.

الأغذية مرتفعة الحموضة (pH ≤4.6) مثل منتجات الفواكه ومنتجات الطماطم والأغذية الحامضية الأخرى تستخدم لتعقيمها درجات حرارة أقل من الأغذية غير الحامضية وذلك لأن جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* لا تستطيع النمو في الوسط الحامضي ولا تشكل

أي خطر على الصحة يُذكر.

ويتم تعقيم هذه المنتجات عند 100م° لمدة محددة كما يمكن التعقيم باستخدام درجات حرارة عالية جداً لفترات زمنية قصيرة وهذه تسمى معاملة التسخين فوق العالي (Ultra-High Temperature UHT) وتجرى هذه المعاملة لتعقيم الحليب حيث يسخن إلى 150م° لمدة من 2 إلى 3 ثواني ويمكن بعد المعاملة أن يخزن على حرارة الغرفة (أقل من أو تساوى 30م°) ومدة حفظه تصل إلى 3 شهور، ولكن إذا تواجدت الأنزيمات المقاومة للحرارة مثل البروتينيز واللايبيز proteinases وlipases في الحليب الخام قبل التعقيم فقد تسبب فساد الحليب المعقم، ويتم التعقيم بهذه الطريقة عن طريق حقن الحليب بالبخار المضغوط لرفع درجة الحرارة بسرعة ثم يعبأ الحليب في عبوات مناسبة، السموم الميكروبية الحساسة للحرارة تتحطم بينما السموم الثابتة قد تبقى نشطة.

3.22 تأثير الحرارة والزمن على هلاك البكتيريا

من أجل الفهم الجيد للهلاك الحراري للأحياء الدقيقة أثناء المعاملات الحرارية الخاصة بحفظ وتعليب الأغذية لابد من التعرف على بعض المفاهيم الأساسية المتعلقة بهذه التقنية.

1.3.22 زمن الهلاك الحراري Thermal Death Time (TDT)

زمن الهلاك الحراري يعرف بأنه الزمن اللازم تحت درجة حرارة معينة للقضاء على

عدد معلوم من خلايا الميكروبات الخضرية الحية أو جراثيمها تحت ظروف معينة، وفي هذه الحالة تكون الحرارة ثابتة ويتم تحديد الزمن اللازم للقضاء على كل الخلايا. هناك تعبير آخر أقل أهمية وهو نقطة الهلاك الحراري thermal death point وهي درجة الحرارة اللازمة لقتل عدد محدد من الأحياء الدقيقة عند زمن ثابت وعادةً يكون 10 دقائق، ويتم تقدير زمن الهلاك الحراري بعدة طرق منها طريقة الأنابيب أو العلب أو بجهاز قياس المقاومة الحرارية thermoresistometer وتعتمد هذه الطرق على وضع عدد محدد من الجراثيم أو الخلايا الخضرية في عبوات مناسبة ثم تغلق بإحكام وتوضع في حمام زيتي وتسخن على درجة حرارة ثابتة وفترات زمنية مختلفة. وعند نهاية عملية التسخين تُبرد العبوات بسرعة في ماء بارد ويُنمى الكائن الدقيق بعد التبريد على بيئة مناسبة للنمو أو يتم تحضين العبوة نفسها إذا كانت البيئة بداخلها مناسبة لنمو الميكروب على درجة حرارة مناسبة ثم يقدر العدد الميكروبي للبكتيريا الحية بعد العاملة الحرارية، يتم رسم خط بياني بعلاقة زمن التسخين بالدقائق مقابل لوغاريتم عدد الميكروبات الناجية من المعاملة الحرارية ومن الرسم البياني يمكن الحصول على مقاومة الميكروبات للحرارة ويمكن استخراج قيمة D.

2.3.22 قيمة D Decimal reduction time (D-value)

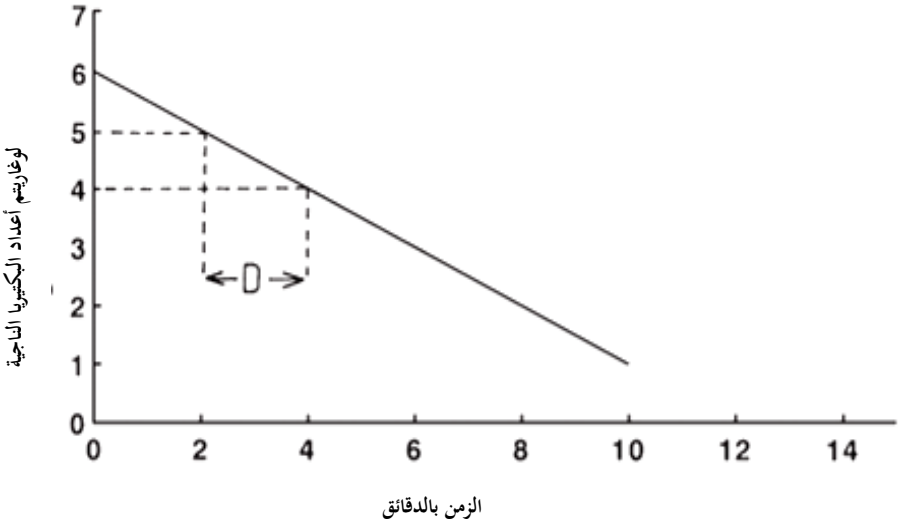
وهي تعبر عن زمن الاختزال أو الانخفاض العشري (لوغاريتمي) لأعداد خلايا أو جراثيم الميكروب عند درجة حرارة معينة أو الزمن اللازم لتحطيم 90% من الخلايا أو الجراثيم عند درجة حرارة معينة أو الزمن اللازم لخفض الأعداد الميكروبية بمقدار دورة لوغاريتمية

واحدة، مثلا لنفترض أن قيمة *D* عند 72م° هي 1 دقيقة هذا يعني أنه كلما مرت 1 دقيقة على درجة 72م° فإن العدد الميكروبي ينخفض بنسبة 90% أو بمقدار دورة لوغاريتمية واحدة، وتعبر قيمة *D* عن مدى مقاومة الكائن الدقيق للحرارة.

ويمكن الحصول على قيمة *D* بيانياً عن طريق رسم العلاقة ما بين لوغاريتم أعداد الخلايا أو الجراثيم الناجية وزمن المعاملة الحرارية (عند درجة حرارة معينة) بالدقائق (شكل: 1.22) فإذا فرضنا أن درجة حرارة المعاملة الحرارية هي 72م° فإن قيمة *D* طبقاً للشكل البياني هي 2 دقيقة، وهذا مثال للتوضيح: إذا كانت قيمة D_{72} لبكتيريا *Salmonella* Senftenberg 775W وهي أكثر بكتيريا السالمونيلا مقاومة للحرارة هي 1.5 ثانية فإن معاملة حرارية لمدة 15 ثانية على نفس درجة الحرارة ستؤدي إلى انخفاض في أعداد البكتيريا بمقدار 10D وإذا افترضنا أن أعداد هذه البكتيريا الأولية في الحليب قبل عملية البسترة هي خلية واحدة/لتر فإن الأعداد بعد 10D ستنخفض إلى10^{-10} خلية/لتر، هذا يعنى أنه إذا تم تعبئة الحليب المبستر في عبوات 1 لتر فإن عبوة واحدة من بين 10 بلايين عبوة ستحتوي على خلية واحدة من السالمونيلا وإذا افترضنا أن أعداد البكتيريا الأولية في الحليب كانت 10^4 خلية/لتر فإن عبوة واحدة من بين مليون عبوة ستحتوي على خلية واحدة من السالمونيلا. يمكن تقدير قيمة *D* عند درجة حرارة معينة رياضياً باستخدام المعادلة الآتية:

$$D_T = \frac{t}{\log_{10} x - \log_{10} y},$$

حيث x العدد الميكروبي قبل المعاملة الحرارية T وy العدد الميكروبي بعد المعاملة t زمن التعرض للحرارة بالدقائق.



شكل (1.22): قيمة *D*

المصدر: ADAMS and MOSS (2008)

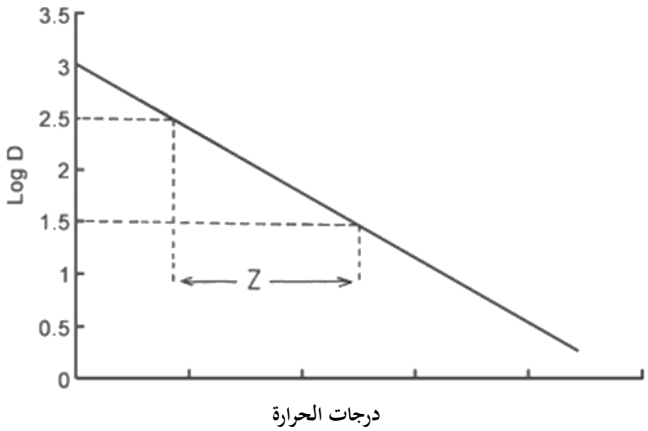
وتكتب عادةً درجة الحرارة التي ستطبق عندها المعاملة الحرارية تحت بهذا الشكل D_{65}، وكلما زادت درجة الحرارة قلت قيمة *D*، وعادةً المعاملة الحرارية التي تستخدم في عملية البسترة تبنى على مفهوم 12*D* أو انخفاض في الأعداد الميكروبية مقداره 12 دورة لوغاريتمية.

3.3.22 قيمة Z

يمكن اشتقاق مؤشر آخر هام وهو ما يعرف بقيمة Z وتعرف قيمة Z بأنها التغير في درجة الحرارة (فْ أو مْ) الذي يؤدي إلى تغير في قيمة *D* مقداره عشرة أضعاف (دورة لوغاريتمية واحدة) شكل (2.22) وشكل (3.22)، وهذه القيمة مهمة في حالة الاهتمام بمعرفة التأثيرات القاتلة لدرجات الحرارة على الأحياء الدقيقة أثناء المعاملات الحرارية

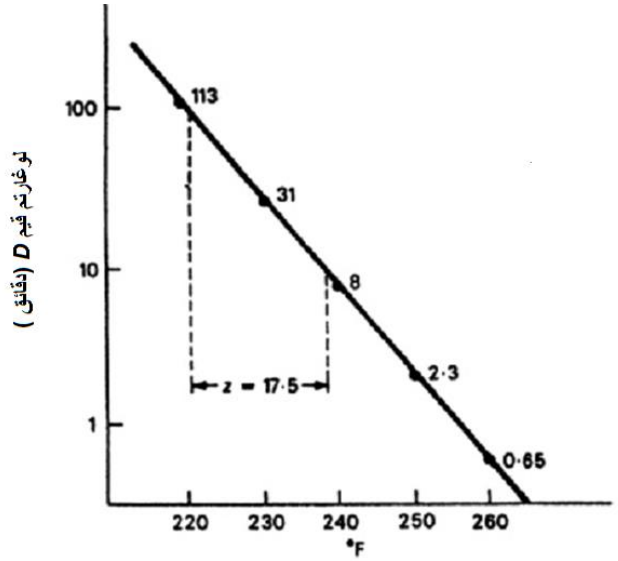
وتعطي معلومات عن المقاومة النسبية للكائن الدقيق لدرجات الحرارة المختلفة كما تسمح بحساب المعاملات الحرارية المتكافئة عند درجات الحرارة المختلفة. مثلاً إذا كانت 3.5 دقيقة على درجة 140 ف° هي معاملة كافية وقيمة Z تساوي 8.0 فإن 0.35 على درجة 148 ف° أو 35 دقيقة على 132 ف° تعتبر جميعها معاملات متكافئة التأثير على الكائن الدقيق، ويمكن تقديرها رياضياً بالمعادلة التالية:

$$z = (T_2 - T_1)/(\log D_1 - \log D_2)$$



شكل (2.22) قيمة Z

المصدر: **ADAMS & MOSS (2008)**



شكل (3.22): منحنى زمن الموت الحراري لجراثيم بكتيريا الفساد المسطح سلالة F.S 7 المعاملة في البازيلاء المعلبة في المحلول الملحي وعند pH 6.2

المصدر: JAY (2000)

4.3.22 مفهوم D12

تعتبر بكتيريا *Clostridium botulinum* types A مسؤولة عن أخطر أنواع التسممات الغذائية وهو ما يعرف بالتسمم البتيولوني ولذلك تحدد المعاملات الحرارية على أساس القضاء على جراثيم هذه البكتيريا في الأغذية، وهي بكتيريا لاهوائية إجبارية محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ومكونة للجراثيم فإذا احتوت العلب بعد عملية التعقيم على أي جراثيم لهذه البكتيريا فإنها قد تنمو وتنتج سموم لأن عملية التعليب توفر بيئة لاهوائية مناسبة كما أن العلب تُخزن على درجات حرارة مناسبة لنمو جراثيمها، ولذلك تعرض العلب

لمعاملة حرارية على درجة حرارة معينة ولمدة زمنية محددة تخفض احتمالية نجاة جراثيم هذه البكتيريا وتعرف هذه المعاملة بـ D12 حيث يتم تعريض المنتج لدرجة حرارة من 240 – 250 ف° ولمدة زمنية تختلف حسب المنتج وبعض الظروف الأخرى. وتطبق D12 عند درجة حرارة 250 ف° وهي درجة الحرارة المستخدمة عادةً في حسابات التعقيم التجاري للعلب. وجد أن قيمة *D* عند هذه الدرجة هي 0.21 دقيقة. وتعتمد المعاملات على احتمال احتواء الغذاء على 10 جراثيم /مل وتستخدم 12 دورة لوغاريتمية أو D12 في صناعة التعليب والتي تعتبر أقل معاملة حرارية تخفض احتمالية نجاة جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* إلى 10^{-12}، فإذا افترضنا أن كل علبة تحتوي على جرثومة واحدة من جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* فإننا نستطيع حساب F^0 (وهي الزمن بالدقائق على درجة 250 ف° اللازم للقضاء على الجراثيم) من المعادلة التالية:

$$F_0 = D_{250°F} (\log a - \log b)$$

a = العدد الجرثومي الابتدائي b = العدد بعد المعاملة الحرارية

وهكذا فإن:

$$F_0 = (0.21\text{min.})(\log 1 - \log 10^{-12})$$

$$F_0 = 0.21 \times 12 = 2.52$$

وهذا يعني أن معاملة حرارية على درجة 250 ف° لمدة 2.52 دقيقة سوف تخفض أعداد الجراثيم إلى جرثومة واحدة في علبة من بين 1 بليون علبة تعرضت للمعاملة الحرارية،

أما البكتيريا المتجرثمة المحبة لدرجات الحرارة العالية والتي مقاومة جراثيمها أعلى من جراثيم *Cl. botulinum* فإنها لا تستطيع النمو على درجات حرارة التخزين العادية لأن درجة نموها الدنيا هي 38م° (100 ف°)، أما إذا كان الغذاء المعلب سوف يُخزن على درجات حرارة عالية بحيث يمكن أن تفسد العلب بسبب البكتيريا المكونة للجراثيم اللاهوائية المحبة لدرجات الحرارة العالية فإنه يجب تحديد المعاملة الحرارية على أساس أكثر البكتيريا المتجرثمة مقاومة للحرارة في هذه المجموعة وهي *Cl. thermosaccharolyticum* أو البكتيريا المحبة للحرارة العالية اللاهوائية الاختيارية *Bacillus stearothermophilus*، ونظراً لأن جراثيم بكتيريا *Clostridium botulinum* لا تنمو ولا تنتج سموماً تحت أس هيدروجيني أقل من 4.6 (الأغذية الحامضية) فإن هذه المعاملة تقتصر فقط على الأغذية غير الحامضية، والجدول (1.22) يوضح المعاملات الحرارية المطبقة على الأغذية لحفظها من الفساد الميكروبي.

جدول (1.22): المعاملات الحرارية التي تجرى على الأغذية

المعاملة	درجة الحرارة	الهدف
الطبخ- الخبز- الغلي- الشوي	≥ 100م°	تحسين هضمية النشا والكولاجن أثناء طهو اللحم، تحسين النكهة القضاء على الميكروبات المرضية
السلق	< 100 م°	إخراج الأكسجين من الأنسجة وتثبيط الإنزيمات
التجفيف والتركيز	< 100 م°	إزالة الماء الحر
البسترة	60 – 80 م	القضاء على الميكروبات الممرضة
التعقيم التجاري	< 100 م°	القضاء على الميكروبات للوصول للتعقيم التجاري

المصدر: ADAMS & MOSS (2008)

4.22 حساسية الأحياء الدقيقة للحرارة Heat sensitivity of microorganisms

حساسية الأحياء الدقيقة للحرارة موضحة بجدول (2.22) حيث يوضح قيمة D لأنواع مختلفة من البكتيريا وغالباً البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrotrophs أقل مقاومة

للحرارة مقارنة بالبكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة Mesophiles، البكتيريا الموجبة لصبغة جرام أكثر مقاومة للحرارة من السالبة لصبغة جرام، ومعظم الخلايا الخضرية تموت عند درجة حرارة 100م° أو أقل بينما الجراثيم البكتيرية هي أكثر مقاومة للحرارة مقارنة بالخلايا الخضرية. البكتيريا المتجرثمة المحبة لدرجات الحرارة العالية Thermophiles تنتج جراثيم مقاومة للحرارة أكثر من البكتيريا المتجرثمة المحبة لدرجات الحرارة المنخفضة أو المتوسطة. الجراثيم الفطرية حساسة للحرارة وتموت عند 100 م° أو أقل ولكن هناك بعض الفطريات مثل فطر *Byssochlamys fulva* ينتج جراثيم مقاومة للحرارة ويسبب فساد للفواكه المعلبة والتي تعامل بمعاملة حرارية متوسطة mild heat process.

1.4.22 العوامل المؤثرة على فعالية الحرارة ضد الأحياء الدقيقة

تعتمد فعالية الحرارة في القضاء على الخلايا الميكروبية والجراثيم على عدة عوامل هي:

أ. طبيعة المادة الغذائية

محتوى الغذاء من الكربوهيدرات والبروتين والدهن والمواد المذابة وكذلك الأس الهيدروجيني والمحتوى الرطوبي ومحتوى الغذاء من المضادات الميكروبية الطبيعية أو المضافة كلها عوامل ذات تأثير كبير على فعالية المعاملة الحرارية، وفي العموم الكربوهيدرات والبروتين والدهن تعطي حماية للأحياء الدقيقة ضد تأثير الحرارة وتزيد مقاومة الميكروبات بزيادة هذه المكونات في الغذاء، ولذلك نجد أن الأحياء الدقيقة في الأغذية السائلة أو الأغذية المحتوية على جزيئات صغيرة معلقة في السائل أكثر حساسية للحرارة منها في الأغذية الصلبة، ولذلك نجد أن

معاملة البسترة للمثلجات اللبنية تكون أعلى من التي تجرى على اللبن نظراً لاحتواء المثلجات على خليط من السكريات والدهون. كما أن الخلايا أو الجراثيم تظهر حساسية عالية للحرارة إذا زاد الأس الهيدروجيني عن 8 أو انخفض عن 6، كذلك انخفاض النشاط المائي بالتجفيف أو إضافة مذابات مثل السكروز يزيد من مقاومة الخلايا الخضرية أو الجراثيم للحرارة، جدول (3.22) يوضح تأثير النشاط المائي والأس الهيدروجيني للوسط على قيم D لجراثيم بكتيريا *Bacillus cereus* ويلاحظ أن قيم D تنخفض كلما انخفضت قيم الأس الهيدروجيني وارتفعت قيم النشاط المائي.

جدول (2.22): مقاومة الأحياء الدقيقة للحرارة

الزمن (دقائق)	D	الخلايا الخضرية (Z حوالي 5 م°)
0.25 - 0.02	D_{65}	*Salmonella sp.*
1.0 - 0.8	D_{65}	*Salmonella Senftenberg*
2.0 - 0.2	D_{65}	*Staphylococcus aureus*
0.1	D_{65}	*Escherichia coli*
3.0 – 0.5	D_{65}	*Yeasts and moulds*
8.3 – 5.0	D_{60}	*Listeria monocytogenes*
1.1	D_{55}	*Campylobacter jejuni*
	D_{121}	الجراثيم البكتيرية: Z حوالي 10 م°
4 - 3		*C. thermosaccharolyticum*
5 - 4		*B. stearothermophilus*
3 - 2		*Desulfotomaculum nigrificans*
0.1		*B. coagulans*
0.2 – 0.1		*C. botulinum types A & B*
1.5 – 0.1		*C. sporogenes*
3.0 –0.1	D_{80}	*C. botulinum type E*
اقل من ثانية واحدة	D_{110}	

المصدر: عن ADAMS & MOSS (2008)

جدول (3.22): تأثير درجة الحرارة والنشاط المائي والأس الهيدروجيني على قيم D لجراثيم بكتيريا ***Bacillus cereus***

		D (دقيقة)		
°C	a_w	6.5	5.5	4.5
95	1.00	2.386	1.040	0.511
95	0.95	5.010	2.848	1.409
95	0.86	13.842	14.513	7.776
85	1.00	63.398	13.085	5.042
85	0.86	68.909	91.540	33.910

المصدر: **BRADSHAW et al., (1984)**

والجدول (4.22) يوضح تأثير البيئة الغذائية على درجة الحرارة اللازمة لهلاك بكتيريا *Escherichia coli* في بيئات غذائية مختلفة. ويلاحظ انخفاض درجة الحرارة اللازمة للهلاك الحراري كلما أقل محتوى البيئة من الدهن الذى يوفر حماية للأحياء الدقيقة ضد تأثير الحرارة. ووجد Juneja وزملاؤه سنة 2001 أن قيم *D* عند 60 مْ لثماني سلالات من بكتيريا السالمونيلا تختلف باختلاف المحتوى من الدهن حيث كانت 1.3 و5.48 في لحم العجول المحتوي على 12.5% دهن وكانت 5.70 في لحوم الدواجن المحتوية على 7% دهن.

أما الأس الهيدروجيني فإن الكائن الدقيق يكون أكثر مقاومة للحرارة عند الأس الهيدروجيني الأمثل للنمو وتقل هذه المقاومة كلما أنخفض أو زاد الأس الهيدروجيني عن الأمثل ويوضح شكل (5.22) تأثير الأس الهيدروجيني لبيئة النمو على زمن الهلاك العشري عند درجة 60 مْ decimal reduction time (DRT) لبكتيريا *Enterococcus faecalis* من الشكل يلاحظ أنه كلما إنخفض أو زاد الأس الهيدروجيني عن الأمثل لهذه البكتيريا كلما إنخفض الزمن اللازم للهلاك العشري (الزمن اللازم لخفض العدد البكتيري أو أعداد الجراثيم

دورة لوغاريتمية واحدة عند درجة حرارة معينة)، كما يوضح جدول (5.22) تأثير الأس الهيدروجيني على قيم D لجراثيم بكتيريا *Cl. botulinum62A* ويلاحظ ازدياد قيم D كلما زاد الأس الهيدروجيني للغذاء.

أما تأثير الأملاح على مقاومة الخلايا والجراثيم للمعاملة الحرارية يختلف باختلاف نوع الملح والتركيز وعوامل أخرى، بعض الأملاح تعطي حماية للخلايا وأخرى تزيد من حساسيتها للحرارة، ويعتقد أن بعض الأملاح ربما تخفض النشاط المائي وتزيد من مقاومة الخلايا للحرارة بميكانيكية تشبه تأثير عملية التجفيف بينما تزيد بعض الأملاح الأخرى مثل الماغنسيوم والكالسيوم من النشاط المائي وتزيد من حساسية الخلايا للحرارة، وجد أن تزويد بيئة نمو جراثيم بكتيريا *Bacillus megaterium* بملح كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ ينتج جراثيم أكثر مقاومة للحرارة بينما زيادة المحتوى من الفوسفات يقلل من مقاومة الجراثيم للحرارة.

جدول (4.22) تأثير تركيب البيئة الغذائية على درجة الهلاك الحراري (Thermal Death Point) لبكتيريا *Escherichia coli*

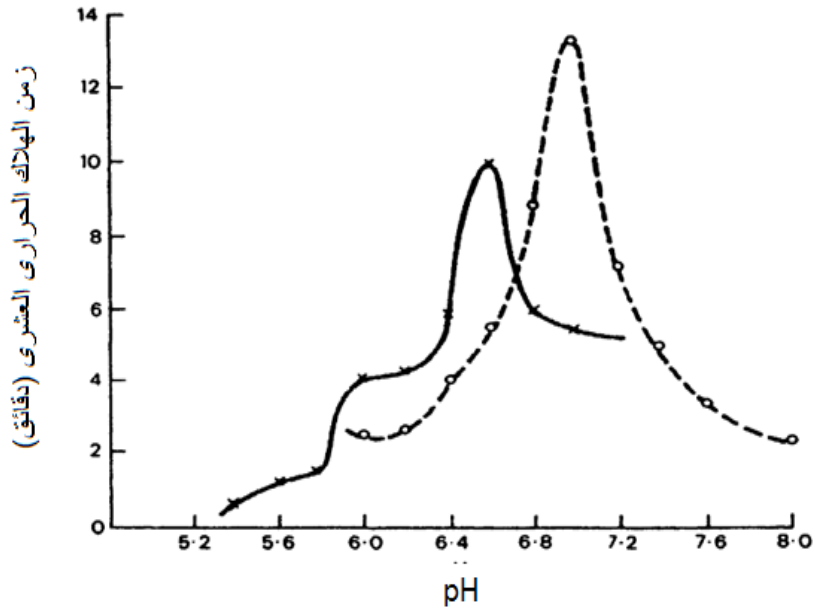
البيئة	درجه حرارة (م°) الهلاك الحرارى
كريم Cream	73
حليب كامل Whole milk	69
حليب منزوع الدسم Skim milk	65
شرش Whey	63
مرق (broth)	61

(Thermal Death Point: هي أقل درجة حرارة تكفي لقتل جميع الخلايا الميكروبية الموجودة في المادة في مدة **10** دقائق)
المصدر: **JAY (2000)**

جدول (5.22): تأثير الأس الهيدروجيني على قيم *D* لجراثيم بكتيريا *Cl. 62A* المتواجدة في ثلاثة أنواع من الأغذية والمعاملة عند 240 ف° (115م°).

قيمة D (دقائق)			
الأس الهيدروجيني	معكرونة مع صلصة الطماطم والجبن	معكرونة فقط	أرز أسباني
4.0	0.128	0.127	0.117
4.2	0.143	0.148	0.124
4.4	0.163	0.170	0.149
4.6	0.223	0.223	0.210
4.8	0.226	0.261	0.256
5.0	0.260	0.306	0.266
6.0	0.491	0.535	0.469
7.0	0.515	0.568	0.550

المصدر: JAY (2000)



شكل (4.22): تأثير الأس الهيدروجيني على زمن الانخفاض العشري (اللوغاريتمي) لبكتيريا *Enterococcus faecalis* المعاملة على 60 م° في محلول الفوسفيت المنظم (o) أو محلول السترات المنظم (x) –citrate phosphate buffe عند قيم أس هيدروجيني مختلفة.

المصدر: JAY et al. (2005)

ب. طبيعة الكائنات الدقيقة

تختلف مقاومة الكائنات الدقيقة للحرارة باختلاف الأنواع والسلالات للأحياء الدقيقة وكذلك مرحلة النمو للكائن والتعرض المسبق للحرارة والحمل الميكروبي الأولي، وعموماً نجد أن الخلايا الخضرية للبكتيريا والفطريات والخمائر أكثر حساسية للحرارة من الجراثيم.

خلايا الفطريات والخمائر ومعظم البكتيريا والفيروسات تتحطم خلال 10 دقائق على 65 م°، معظم البكتيريا المحبة للحرارة thermophilic والمقاومة للحرارة thermoduric ومعظم الفيروسات تموت بعد دقائق قليلة على درجة حرارة من 65 إلى 70م°.

أما الجراثيم البكتيرية تختلف بشكل كبير في حساسيتها للحرارة وبشكل عام فإن التسخين عند 80 إلى 85 م° لعدة دقائق لا يحطمها وهناك بعض أنواع البكتيريا التي تستطيع جراثيمها أن تقاوم حتى درجة الغليان (100م°) لمدة 24 ساعة. ولكن معظم الجراثيم البكتيرية تتحطم عند 121م° لمدة 15 دقيقة، والجدول (6.22) يوضح قيم D و Z للمجموعات البكتيرية المحبة لدرجات الحرارة العالية أو المتوسطة في الأغذية مختلقة الأس الهيدروجيني.

من العوامل المهمة أيضا هي الحمل الميكروبي قبل المعاملة الحرارية فكلما كانت الأعداد الأولية للخلايا عالية كانت المقاومة للمعاملة أكبر. ويعتقد أن ميكانيكية الحماية من

الحرارة بواسطة العدد الميكروبي العالي ترجع إلى أن الخلايا تفرز مواد ذات طبيعة بروتينية تعطي حماية للخلايا من تأثير الحرارة، كما أن وجود أعداد كبيرة من الميكروب تعطي فرصة لاحتمال تواجد من هو منها ذا طبيعة مقاومة للحرارة أكثر من غيره.

وبذلك فإن احتواء الغذاء على حمل ميكروبي عالي يتطلب مدة أطول على درجة حرارة معينة لتحطيم هذه الميكروبات وهذا يجعل من الضروري تجنب التلوث الشديد للغذاء قبل المعاملة الحرارية باتباع الطرق الصحية في إنتاج الأغذية.

كذلك عمر خلايا الكائن الدقيق فإذا كانت في طور النمو اللوغاريتمي exponential stage تكون أكثر حساسية للحرارة من الخلايا في طور الثبات stationary phase. كذلك عمر الجراثيم البكتيرية أيضا يلعب دوراً هاماً في حساسيتها للحرارة فالجراثيم الفتية (غير الناضجة) مقاومتها للحرارة أقل مقارنة بالجراثيم الناضجة.

أيضا كلما زادت درجة حرارة التحضين لخلايا البكتيريا كلما ازدادت مقاومتها للمعاملة الحرارية وهذا ينطبق غالباً على البكتيريا التي لها القدرة على التجرثم، غير أنه Ng وزملاؤه (1969) وجد أن خلايا بكتيريا S.enftenberg التي نُميت عند 44م° زادت مقاومتها بحوالي 3 أضعاف عن الخلايا التي نميت عند 35م°، كذلك الخلايا التي سبق تعرضها لدرجات حرارة منخفضة نسبياً تصبح أكثر مقاومة لدرجات الحرارة الأعلى (نتيجة إنتاج بروتينات الإجهاد Stress proteins).

5.22 تأثير الحرارة على الأحياء الدقيقة

يرجع التأثير القاتل للحرارة (الرطبة) على الأحياء الدقيقة إلى أن الحرارة تحدث تجمع coagulation أو دنترة البروتينات والإنزيمات الهامة في الخلايا كما أن الحرارة قد تحدث هدماً في الأحماض النووية (DNA, RNA) أو تلفاً في الغشاء البلازمي، أما الجراثيم البكتيرية فإنها تفقد المكونات التركيبية في الغلاف الجرثومي وتفقد القدرة على استخدام الماء في الإنبات ويحدث الموت نتيجة عدم القدرة على الإنبات أو النمو.

(RAY, 2000; JAY et al., 2005; ADAMS & MOSS, 2008).

جدول (5.22): المقاومة الحرارية النسبية لأهم أنواع البكتيريا في الأغذية المعلبة

مجموعات الأحياء الدقيقة	قيمة D^* بالدقائق	قيمة Z^{**} عند درجات حرارة م° (ف°)
الأغذية ذات الحموضة المنخفضة (pH اعلى من 4.5):	$D_{121.1\ (250)}$	
بكتيريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة ومكونة للجراثيم:		
Bacillus stearotherophilus	4.0	(22-14) 72-57
Clostridium thermosaccharolyticum	4.0-3.0	(22-16) 72-61
Disulfotomaculum nigrificans	3.0 - 2.0	(22-16) 22-61
بكتيريا محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ومكونة للجراثيم		
Clostridum botulinum	0.2-0.1	(18-14) 64-57
Clostridium sporogenes	1.4 – 0.1	18 -14) 64 - 57
الأغذية الحامضة (pH اعلى من3.7 واقل من 4.5)	$D_{121.1\ (250)}$	
بكتيريا مقاومة لدرجات الحرارة العالية ومكونة للجراثيم:		
Bacillus coagulans	0.07 - 0.01	(18 -14) 64 - 57
هوائية: *B. polymxa , B. macerans*	0.5 - 0.10	(16-12) 61 -54
بكتيريا محبة لدرجات الحرارة المتوسطة ومكونة للجراثيم:	$D_{212\ (100)}$	
لاهوائية مكونة لحمض البيوتريك		
Clostridium pasteurianum	0.5 – 0.10	(16 -12) 61 -54
الأغذية ذات الحموضة المرتفعة الحامضة (pH اقل من 3.7)	$D_{150\ (66)}$	
بكتيريا محبة لدرجات الحرارة المتوسطة وغير مكونة للجراثيم:		
Lactobacillus , Leuconostoc	1.0 – 0.5	(10 - 8) 50 - 46

الرقم أسفل D يقصد به درجة الحرارة ف° (م°) التي تمت عندها المعاملة الحرارية. ** قيمة Z درجات الحرارة ف° (م°) اللازمة لإحداث تغير في قيمة D بمقدار دورة لوغاريتمية واحدة

المصدر: عن KAREL *et al*. (1975) ; ICMSF (1980); JAY et al., (2005)

الفصل الثالث والعشرون

السيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية باستخدام درجات الحرارة المنخفضة

1.23 مقدمة

هذه الطريقة مناسبة لكثير من الأغذية والهدف الأساسي من استخدام درجات الحرارة المنخفضة في حفظ الأغذية هو منع أو تقليل نمو الأحياء الدقيقة ومنع إنبات الجراثيم وعرقلة أو إبطاء النشاط الإنزيمي والتفاعلات الكيميائية في الأغذية، كما تتم عرقلة أو توقف نشاط الأنزيمات الميكروبية المقاومة للحرارة مثل إنزيم البروتينيز Proteinases واللابيز Lipases.

ووجد أن خفض درجة حرارة الغذاء بمقدار 10م° سيؤدي إلى خفض معدل أي تفاعل كيميائي إلى النصف. خفض درجة الحرارة إلى التجميد يكون له تأثير قاتل على الكائنات الدقيقة ويمكن أن يؤدي التجميد في بعض الحالات إلى قتل حوالي 90% أو أكثر من الخلايا الميكروبية، وعلى أي حال فإن معدلات الموت للأحياء الدقيقة تحت درجات الحرارة المنخفضة لا يمكن التنبؤ بها مقارنة بتلك (مثل قيم D و Z) عند استخدام المعاملات الحرارية. كذلك فإن الجراثيم البكتيرية لا تموت عند درجات الحرارة المنخفضة، وهناك مدى لدرجات الحرارة لكل معاملة، فمعاملة التبريد Chilling temperatures تكون فيها درجات الحرارة ما بين 5 إلى 7 م°.

أما التبريد Refrigeration يقصد به المعاملة بدرجات حرارة ما بين 0 إلى 7م° بينما التجميد يقصد به معاملة عند -18 م° أو أقل، ويجب أن نلاحظ أن الحرارة المنخفضة لا تؤدي إلى قتل الأحياء الدقيقة أو إتلاف الأنزيمات في أغلب الأحوال لذلك فإن الغذاء

المحفوظ بالحرارة المنخفضة إذا أخرج من الجو المبرد فإنه يكون سريع التلف بفعل الأحياء الدقيقة والإنزيمات التي تستعيد نشاطها.

2.23 تأثير عملية التبريد والتجميد على الأحياء الدقيقة

كلما انخفضت درجة الحرارة كلما قلت النشاطات الميكروبية المتعلقة بالنمو كما يزداد الزمن الجيلي Generation time للأحياء الدقيقة، التبريد يثبط الكثير من نشاط الأحياء الدقيقة ولكن لا يقتلها حيث وجد أن الكثير من البكتيريا الممرضة لا تستطيع النمو على درجات الحرارة أقل من 30 ف° كما أن نشاط الأنزيمات سواء كان مصدرها المادة الغذائية أو الأحياء الدقيقة سيكون مستمراً ولكن ببطء، كما يطول طور السكون والطور اللوغاريتمي وزمن الإنبات لجراثيم البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrotrophic خاصة من النوع البكتيريا المحبة لدرجات الحرارية المتوسطة (Mesophilic types) كلما انخفضت درجة الحرارة إلى 0 م° أو حتى إلى −1 م°، عند هذه الدرجة البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة Mesophiles والعالية Thermophiles تتضرر وربما تموت إذا خزنت على درجة 2 م° أو أقل لمدة أسابيع خاصة إذا كان الغذاء منخفض الأس الهيدروجيني ومنخفض النشاط المائي أو يحتوي على مواد مضادة للنمو الميكروبي، وكلما انخفضت درجة الحرارة باتجاه الصفر المئوي كلما قلت أعداد الأحياء الدقيقة القادرة على النمو حيث يقف نمو الكثير منها باستثناء البكتيريا المقاومة للبرودة Psychrotrophic والمحبة لدرجات الحرارة المنخفضة Psychrophilic التي تنمو ولكن ببطء.

وتقضي عملية التجميد على نسبة كبيرة تتراوح من 50 إلى 80% من الأحياء الدقيقة في الأغذية المجمدة بطريقة التجميد السريعة، وأثناء عملية التجميد يبدأ الماء الحر المتواجد في الغذاء بالتجمد إذا انخفضت درجة الحرارة إلى –2 م° ويكون بللورات ثلجية ice crystals وكلما انخفضت درجة الحرارة أكثر تتكون المزيد من البللورات الثلجية وتتركز المواد المذابة في الماء المتبقي ويقل النشاط المائي في المادة الغذائية مما يتسبب في هجرة الماء من داخل الخلايا الميكروبية المتواجدة في الغذاء إلى الخارج وهذا بدوره يؤدي إلى جفاف الخلايا Dehydration الميكروبية نتيجة زيادة تركيز المواد المذابة والأيونات فيها، فإذا انخفضت درجة الحرارة أكثر (لكنها فوق –20 م°) فإن كل الماء الحر تقريبا في الغذاء والخلايا الميكروبية يتجمد كما أن الخلايا تعرضت قبل ذلك إلى نشاط مائي قليل نتيجة تجمد الماء الحر وزيادة تركيز المواد المذابة وأس هيدروجيني منخفض نتيجة تركيز الأيونات في الغذاء كل هذا يتسبب في تغيير طبيعة البروتين في الخلايا الميكروبية وتغير في طبيعة الأحماض النووية DNA وRNA الرابوزومي، كما يسبب التجميد تمزق وأضرار في مكونات الجدار والغشاء الخلوي نتيجة تكون البللورات الثلجية الكبيرة خاصة في حالة التجميد البطيء.

3.23 حساسية الأحياء الدقيقة لتأثير درجات الحرارة المنخفضة

فعالية استخدام درجات الحرارة المنخفضة كوسيلة للتحكم في نمو ونشاط الأحياء الدقيقة في الأغذية تعتمد على عدة عوامل هي:

أ. طبيعة المعاملة

تستطيع أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة مثل البكتيريا والخمائر والأعفان أن تنمو فوق درجة التجميد (– 2 م° ≤) لكن طور السكون lag phase وطور النمو اللوغاريتمي exponential phase يكونان أطول، وعند المدى الحراري المنخفض فإن أي اختلاف في درجات الحرارة حتى ولو بأقل من درجة مئوية واحدة قد يكون له تأثير مهم، مثلاً وجد أن سلالة من بكتيريا *Pseudomonas fluorescens* لها زمن جيلي (generation time) يقدر بحوالي 6.7 ساعات على 0.5 م° أما على 0 م° فقد تزايد الزمن الجيلي إلى 32.2 ساعة وهذا يعني أن انخفاض في درجة الحرارة مقداره 0.5 م° زاد الزمن الجيلي لهذه البكتيريا بمقدار 4.5 ضعف، جراثيم بعض أنواع بكتيريا *Bacillus* و*Clostridium* spp تستطيع الإنبات تحت درجة حرارة التبريد (4.5 م°) (45 ف°). بعض أنواع البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة mesophiles والعالية thermophiles يمكن أن تتضرر بشكل كبير أو تموت كلما انخفضت الحرارة إلى أقل من 4.5 م°، وبانخفاض درجة الحرارة إلى الدرجة التي يتجمد عندها كمية كبيرة من الماء الحر في الغذاء فإن نمو معظم الأحياء الدقيقة يتوقف ما عدا بعض البكتيريا المحبة للبرودة psychrophilic والخمائر والأعفان حيث يمكن لبعض الأعفان أن تنمو ببطء حتى درجة –10 م°، وفي هذه الحالة تنمو الخمائر والفطريات من النوع المقاوم للبرودة والمقاومة للنشاط المائي المنخفض ففي حالة تخزين اللحوم والدواجن المجمدة على درجة حرارة –5 إلى –10م° يمكن أن تنمو عليها بعض الفطريات وتكون بقع سوداء مثل

فطر *Cladosporium herbarum* أو تتكون بقع بيضاء بسبب نمو فطر *Sporotrichum carnis* أو نمو ريشي لفطر *Thamnidium elegans*، وعند انخفاض درجة الحرارة إلى –20 م° وتجمد كل الماء الحر في الغذاء فإن الكثير من الخلايا تتضرر بشكل قوي sublethal injury أو تموت.

معدل ودرجة حرارة التجميد يؤثران بشكل كبير على درجة تضرر الخلايا الميكروبية من البللورات الثلجية المتكونة، وقد وجد أن موت وتضرر الخلايا الميكروبية يكون أكبر تحت التجميد البطيء عند –20 م° مقارنة بالتجميد السريع عند –78 م° أو –196 م°، ويكون موت وتضرر الخلايا عالي جداً في الأيام الأولى من التخزين (7 أم الأولى) ثم يتناقص بعد ذلك ومهما انخفضت الحرارة بعد ذلك فإن معدل موت الميكروبات يتناقص ولا يزيد.

تذبذب درجات الحرارة أثناء التخزين تحت درجات الحرارة المنخفضة له تأثير كبير على نمو وتضرر وموت الأحياء الدقيقة، ويمكن أن يحدث التذبذب أثناء التخزين أو النقل أو العرض أو في المنازل، ولقد وجد أن أي تذبذب في درجات الحرارة أثناء التبريد من أقل من 4.4 م° إلى 10 – 12 م° قد حفز النمو السريع للبكتيريا المرضية المحبة للحرارة المنخفضة والبكتيريا المفسدة للأغذية كما شجع نمو البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة وإنبات بعض الجراثيم. كما وجد أن تعرض اللحم المعبأ تحت تفريغ ومبرد لسوء تخزين على درجة حرارة 12 م° لمدة من 6 — 8 ساعات يمكن أن يخفض مدة صلاحيته بمقدار 7 إلى 10 أيام. أما تذبذب درجات الحرارة أتناء تخزين الأغذية المجمدة فإنه يزيد من تضرر وموت الخلايا

الميكروبية نظراً لتلف وتمزق الخلايا نتيجة لتكرار انصهار وإعادة تكون البلورات الثلجية الكبيرة مرة أخرى، أيضا معدل تبريد الغذاء له دور كبير في التحكم في نمو البكتيريا الممرضة والمفسدة للأغذية، التبريد البطيء يعطي فرص للبكتيريا الممرضة للنمو والنجاة. وهذا يحدث عند محاولة تبريد كمية كبيرة من الغذاء الساخن أو الدافئ في إناء كبير باستخدام الثلاجة أو عند تحميل الثلاجة فوق سعتها بالغذاء الدافئ أو الساخن. الأغذية المبردة لها مدة صالحية قصيرة مقارنة الأغذية المجمدة فسرعان ما تتعرض الأغذية المبردة إلى فساد نتيجة نمو ونشاط الأحياء الدقيقة.

ب. طبيعة المادة الغذائية

تركيب المادة الغذائية والأس الهيدروجيني والنشاط المائي واحتواء الغذاء على مواد مثبطة لنمو الميكروبات كلها عوامل هامة تؤثر في موت أو تضرر أو حيوية خلايا الأحياء الدقيقة تحت معاملة التبريد أو التجميد، الأغذية عالية المحتوى من المواد الصلبة (مثل الكربوهيدرات – الدهن – البروتين منخفضة المحتوى من الأيونات) والتي لها أس هيدروجيني قريب من 7.0 ونشاط مائي عالي تشجع نمو ونجاة الأحياء الدقيقة عند درجات حرارة التبريد كما إنها تقلل من تضرر وموت الخلايا الميكروبية أثناء عملية التجميد، من أهم الأغذية التي تدعم النمو الميكروبي تحت الصفر المئوي مركزات عصائر الفاكهة والمثلجات اللبنية ice cream وبعض أنواع الفواكه، ويرجع ذلك إلى احتواء هذه الأغذية على مواد تخفض نقطة تجمد الماء Freezing point، وكمثال على ذلك فقد تم عزل بكتيريا *Salmonella* من

المثلجات اللبنية المحفوظة عند –23 م° لمدة 7 سنوات، وهكذا فإن كفاءة عملية التبريد وزيادة مدة صلاحية الأغذية المبردة تزداد باستخدام واحد أو أكثر من هذه العوامل مثل خفض الأس الهيدروجيني أو خفض النشاط المائي أو إضافة مادة مناسبة مثبطة لنمو الميكروبات أو التعبئة في جو معدل Modified air packaging أو تحت تفريغ.

ج. طبيعة الكائن الدقيق

على الرغم من أن بعض الأحياء الدقيقة تستطيع النمو عند درجات حرارة قد تصل إلى –10م° فإن الكثير من خلايا البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة والعالية تموت أو تتضرر بشدة مع الوقت عند درجات حرارة فوق درجة التجميد. وفي العموم البكتيريا السالبة لصبغة جرام وذات الشكل العصوي حساسة وتتضرر أسرع من البكتيريا الموجبة لجرام وذات الشكل الكروي. وجد أنه بعد تجميد الأغذية السريع على درجة –70م° بأقل من 15 ثانية وجد أن كل خلايا بكتيريا *Staphylococcus aureus* قاومت التجميد بينما فقط 70% من خلايا *E.coli* و 20% من خلايا بكتيريا *Pseudomonas aerugenosa* ظلت حية.

كذلك الخلايا عند المراحل الأولى من الطور اللوغاريتمي أكثر حساسية للتجميد من الخلايا التي دخلت المراحل الأولى من طور الثبات، أيضا تختلف الأنواع والسلالات للأحياء الدقيقة في حساسيتها ومقاومتها للضرر والتلف الناجم عن معاملة التجميد. فالجراثيم البكتيرية لا تتحطم بفعل التجميد، وتستطيع جراثيم بعض أنواع بكتيريا spp *Clostridium* الإنبات والنمو عند درجة حرارة منخفضة تصل إلى 2م° كما يمكن لجراثيم

بعض أنواع بكتيريا *Bacillus* spp أن تنمو في درجات أعلى بقليل من البكتيريا السابقة.

تستطيع بعض الإنزيمات المقاومة للحرارة أو المتحررة من انحلال خلايا البكتيريا الميتة أن تحفز بعض التفاعلات عند درجات حرارة أعلى من −20م° ولكن بمعدلات بطيئة وتقلل بذلك من جودة المنتج الغذائي، وتعتبر الأعفان أكثر مقاومة للتجميد بينما تموت معظم الخمائر في التجميد السريع. وطبقاً لجدول (1.23) وجدول (2.23) فإن أقل درجة حرارة للنمو رُصدت كانت −32 م° وهي لأحد أنواع الخميرة.

وبصفة عامة القدرة على النمو تحت الصفر المئوي تكون لبعض أنواع من الفطريات والخمائر أكثر منها للبكتيريا. ووجد أن بعض أنواع البكتيريا يمكن أن تنمو عند −20م° أو −12م° .

جدول (1.23): درجة حرارة النمو الدنيا لبعض الأحياء الدقيقة القادرة على النمو عند أو تحت 7م°

الأنواع	درجة الحرارة م°
Pink yeast	–34
Pink yeasts (2)	–18
Unspecified molds	–12
Vibrio spp.	–5
Cladosporium cladosporiodes	–5
Yersinia enterocolitica	–2
Unspecified coliforms	–2
Brochothrix thermosphacta	–0.8
Aeromonas hydrophila	–0.5
Enterococcus spp.	0
Leuconostoc carnosum	1.0
L. gelidum	1.0
Listeria monocytogenes	1.0
Thamnidium elegans	~1
Leuconostoc sp.	2.0
L. sake/curvatus	2.0
Lactobacillus alimentarius	2.0
C. botulinum B, E, F	3.3
Pantoea agglomerans	4.0
Salmonella panama	4.0
Serratia liquefaciens	4.0
Vibrio parahaemolyticus	5.0
Salmonella heidelberg	5.3
Pediococcus sp.	6.0
Lactobacillus brevis	6.0
W. viridescens	6.0
Salmonella typhimurium	6.2
Staphylococcus aureus	6.7
Klebsiella pneumoniae	7.0
Bacillus spp.	7.0
Salmonella spp.	7.0

المصدر: مختصر عن JAY et al., (2005)

جدول (2.23): بعض الأجناس البكتيرية التي تحتوي أنواع أو سلالات تنمو عند أو تحت 7م°

البكتيريا السالبة لجرام				البكتيريا الموجبة لجرام	
Acinetobacter	XX	*Proteus*	X	*Bacillus*	XX
Aeromonas	XX	*Providencia*	X	*Brevibacterium*	X
Alcaligenes	X	*Pseudomonas*	XXX	*Brochothrix*	XXX
Alteromonas	XX	*Psychrobacter*	XX	*Carnobacterium*	XXX
Cedecea	X	*Salmonella*	X	*Clostridium*	XX
Chromobacterium	X	*Serratia*	XX	*Corynebacterium*	X
Citrobacter	X	*Shewanella*	XXX	*Deinococcus*	X
Enterobacter	XX	*Vibrio*	XXX	*Enterococcus*	XXX
Erwinia	XX	*Yersinia*	XX	*Kurthia*	X
Escherichia	X			*Lactobacillus*	XX
Flavobacterium	XX			*Lactococcus*	XX
Halobacterium	X			*Leuconostoc*	X
Hafnia	XX			*Listeria*	XX
Klebsiella	X			*Micrococcus*	XX
Moraxella	XX			*Pediococcus*	X
Morganella	X			*Propionibacterium*	X
Photobacterium	X			*Vagococcus*	XX
Pantoea	XX				

الاهمية و مدى سيادتها كبكتيريا مقاومة للبرودة : x قليلة , xx متوسطة xxx عالية جدا

المصدر: JAY et al., (2005)

4.23 تبريد الأغذية

وهو حفظ الأغذية على درجة حرارة منخفضة ولكنها لا تبلغ درجة الحرارة التي تؤدي إلى تجمد الغذاء، وقد يستخدم التبريد كوسيلة حفظ مستقلة لبعض الأغذية خاصة الخضروات التي تؤكل طازجة مثل الجرجير والخس والفجل والطماطم والخيار وغيرها أو كوسيلة مؤقتة حتى يتم استكمال الحفظ والتصنيع، أو كوسيلة مكملة لطرق الحفظ الأخرى مثل الأغذية المبسترة والمدخنة والمعاملة بالإشعاع، وقد أصبح التبريد عاملاً مهما في تداول ونقل وتخزين الأغذية، وحالياً حوالي 80% من الأغذية يتم تبريدها بعد حصادها مباشرة على درجات حرارة منخفضة وخلال تداولها وحتى استهلاكها، كما أن التبريد يسهل تخزين

الأغذية ونقلها إلى الأماكن البعيدة، ويقصد بالتخزين البارد الاحتفاظ بالأغذية مبردة على درجات حرارة أعلى من درجات تجمدها وتتراوح عادة من -2.2 إلى 15.5 م° (28 – 60 ف°)، المبردات المنزلية تعمل على مجال حراري من 4.5 إلى 7 م° (40 – 45 ف°)، ويتم التبريد بخفض درجة حرارة المادة الغذائية من درجة الحرارة المحيطة إلى درجة حرارة التخزين المبرد.

الأغذية سريعة الفساد Perishable products يفضل تبريدها عند أقل من أو يساوي 4.4 م° (Perishable products ≤ 4.4)، كما يستخدم مصنعو الأغذية درجة حرارة تصل إلى 1م° للأغذية سريعة الفساد مثل الأسماك واللحوم الطازجة. ولإطالة مدة عرض وحفظ الأغذية المبردة تستخدم وسائل حفظ أخرى مع التبريد إلى أقل درجة حرارة ممكنة (قريبة من -1م°)، وعلى أي حال فإن المنتج المبرد غير معقم وإذا احتوى على أعداد ميكروبية أولية حتى ولو كانت قليلة (10 خلايا بكتيرية أو جراثيم/جرام) فإنها قادرة على النمو تحت ظروف التخزين لتصل إلى أعداد قد تشكل خطر على الصحة العامة (في حالة البكتيريا الممرضة) أو تصل بكتيريا الفساد لأعداد قادرة على إحداث تغيرات غير مرغوبة تقلل من جودة المنتج.

5.23 تجميد الأغذية Freezing

وهو حفظ الأغذية على درجات حرارة منخفضة (أقل من درجة الصفر المئوي) تبلغ الدرجة التي يتجمد عليها الغذاء وتخزينها بعد ذلك في درجات حرارة تحافظ على حالتها المتجمدة، وعملية التجميد يمكن أن تستخدم مع الأغذية الخام (الخضروات والفواكه –

الأسماك واللحوم الطازجة) أو المصنعة أو شبة المصنعة.

درجة الحرارة الدنيا التي تستخدم للتجميد في المبردات المنزلية هي -20م° والتي عندها يتجمد معظم الماء الحر المتواجد في الغذاء. الثلج الجاف (-78 م°) والنيتروجين السائل (196م°) يمكن أن يستخدمان للتجميد السريع للأغذية والذي يحفظ الكثير من خصائص الجودة للغذاء المجمد، بعد عملية التجميد يحفظ الغذاء على درجة حرارة من -20 إلى -30م°، معظم الأحياء الدقيقة تموت عند -20م° بينما لا تتحطم الجراثيم البكتيرية ويمكن أن ينجو القليل جداً من الخلايا الخضرية للبكتيريا لكنها لا تستطيع النمو إلا في بعض الظروف مثل التسييح البطيء للأغذية المجمدة حيث يمكن أن تنمو بعض منها مسببة فساد الأغذية أو تسمم أو عدوى بكتيرية في حالة نجاة أحد أنواع البكتيريا الممرضة، جدول (3.23) يوضح درجات حرارة التجميد لبعض أنواع الأغذية (AYRES et al. 1980; RAY,2004; ADAMS & MOSS, 2008).

جدول (3.23): درجات حرارة التجميد لبعض أنواع الأغذية

الغذاء	م°	ف°
الفستق	–8.3	17
الجوز	–6.7	20
جوز الهند	–4.4	24.5
الموز	–3.9	25
الثوم	–3.6	25.5
لحم الضأن و لحم العجل	–2.8	27
البطاطس	–2.2	28
لحم البقر و السمك	–2.0	28.5
الجزر	–1.7	29
التوت	–1.4	29.5
الهليون	–1.1	30
البازلاء	–0.9	30.5
الفرنبيط	–0.6	31
الكرنب و الخس	–0.3	31.5
الماء	0.0	32

المصدر: JAY et al., (2005)

الفصل الرابع والعشرون

التحكم في نمو الأحياء الدقيقة بواسطة تعديل جو التعبئة والتغليف

Control by Modified Atmosphere

تعتمد هذه الطريقة على تغيير غازات الجو المخزن فيه المنتجات الغذائية سريعة الفساد مثل اللحوم والأسماك الطازجة والخضروات والفواكه وغيرها من المنتجات، عرفت هذه الطريقة منذ بدايات القرن العشرين حيث أوضحت الدراسات أنه باستخدام تركيز عالي من ثاني أكسيد الكربون (4 – 100%) يمكن منع نمو الفطريات على اللحوم الطازجة وتفادي فساد الفواكه والخضروات الطازجة، وفي الستينات أصبحت مواد التغليف البلاستيكية متاحة مما ساهم في تطوير طرق لحفظ الأغذية بأحجام مختلفة في جو تعبئة معدل أما بتفريغ الغازات من العبوات Vacuum Packaging أو بإحلال غاز معين أو خليط من الغازات محل الهواء Gas Flushing. تطبق هذه التقنية الآن على عدد كبير من الأغذية مثل اللحوم الطازجة أو المجهزة والدواجن والأسماك والمحار ومنتجات الألبان والخضروات والفواكه الطازجة والمعجنات والحلويات والوجبات الخفيفة وشارك في انتشار هذه التقنية تزايد طلب المستهلكين على الأغذية الطازجة والمصنعة جزئياً والوجبات الجاهزة Ready - to- eat والخالية من المواد الحافظة، ومن أهم الطرق المستخدمة في هذه التقنية ما يلي:

1.24 التغليف في جو متحكم به Controlled Atmosphere Packaging (CAP)

وفي هذه الطريقة يتم تغيير جو غرف التبريد التي تستخدم لتخزين المواد الغذائية من حيث نسبة الأكسجين وثاني أكسيد الكربون والنيتروجين لإطالة فترة الحفظ بالتبريد، ويتم مراقبة وتعديل مستويات الغازات في الغرف باستمرار وضبط هذه المستويات إذا أحتاج الأمر.

وعادةً تستخدم هذه الطريقة مع الفاكهة لتأخير النضج الزائد وإعاقة نمو الفطريات على سطح الفاكهة والخضروات، وتعتبر هذه الطريقة مكلفة وتستخدم عندما يراد تخزين الخضر والفواكه لمدة طويلة مع المحافظة عليها طازجة.

1.1.24 التغليف في جو معدل Modified Atmosphere Packaging (MAP)

هذه الطريقة لا تحتاج مراقبة وضبط مستويات الغاز خلال مدة التخزين كما هو الحال في الطريقة السابقة. وفيها يتم تعبئة المادة الغذائية تحت تفريغ في عبوات غير منفذة ومحكمة القفل مع تعديل نسبة ثاني أكسيد الكربون والنيتروجين داخل عبوة مناسبة غير منفذة ثم يزال الهواء من العبوة ويضخ غاز معين أو مجموعة غازات داخل العبوة وتغلق بإحكام.

2.1.24 التعبئة تحت تفريغ Vacuum Packaging

وفي هذه الطريقة يتم سحب الهواء من العبوة بعد وضع المنتج الغذائي فيها ثم يتم قفلها بإحكام، والهدف من التعبئة في الجو المعدل التحكم أو خفض نمو الأحياء الدقيقة الغير مرغوبة في الأغذية كما أن هذه الطريقة تساعد في إعاقة النشاطات التنفسية والإنزيمية للأغذية الطازجة أو الخام والتي تؤدي إلى إحداث تغيرات غير مرغوبة تقلل من جودة المنتج. ويتم منع أو إعاقة نمو الأحياء الدقيقة الهوائية (الفطريات والخمائر والبكتيريا الهوائية) عن طريق التخلص من الأكسجين سواءً بواسطة التفريغ أو إحلال بعض الغازات مثل النيتروجين

N_2 (100%) أو ثاني أكسيد الكربون CO_2 (100%) أو خليط منهما محل الهواء داخل العبوة. غير أنه وتحت هذه الظروف البكتيريا اللاهوائية واللاهوائية الإختيارية تستطيع النمو ما لم تتخذ وسائل إضافية تمنع نموها.

وتختلف مدة صلاحية المنتجات المعبأة بتفريغ الهواء Vacuum Packaging بشكل كبير وتتراوح من 3 إلى 4 أسابيع للحم الطازج وحوالي 8 أسابيع لمنتجات اللحوم المصنعة، وتزداد مدة صلاحية هذه المنتجات بانخفاض الأس الهيدروجيني أو النشاط المائي للمنتج أو كلاهما وكلما كانت ظروف الإنتاج صحية وحفظت المنتجات تحت درجة حرارة 1.5 م^{o} أو أقل، أما في حالة التعبئة أو التغليف في جو معدل Gas Flushing فهي تستخدم على نطاق واسع لحفظ الكثير من المنتجات مثل اللحوم والأسماك الطازجة والمصنعة والمخبوزات والبيض المطبوخ وغيرها. وفي اللحوم الحمراء وجد أن التعبئة في جو يتكون من75% من ثاني أكسيد الكربون و 15% نيتروجين و 10% أكسجين يمنع نمو بكتيريا *Pseudomonas fragi*، مدة صلاحية المنتج تعتمد على نوع الغذاء ويمكن أن تكون 4 أسابيع للأغذية الطازجة و8 أسابيع للمنتجات المصنعة، والجدول (1.24) يوضح ظروف التخزين المناسبة لبعض الأغذية المعبأة في جو معدل. ويلاحظ أن استخدام الأكسجين مع اللحوم يحافظ على اللون الأحمر لمادة ox myoglobin، والنيتروجين لا يعتبر مثبط ميكروبي ولكنة مالئ أما غياب الأكسجين في بعض الحالات فإنه يقلل من تزنخ اللحوم.

جدول (1.24): خليط الغازات المستخدم لبعض الأغذية المعبأة في جو معدل تحت التبريد

% N_2	% O_2	% CO_2	المادة الغذائية
40	30	30	اللحم الطازج Fresh meat
–	60–85	15–40	
50–80	0	20–50	اللحم المعالج Cured meat
15	10	75	شرائح لحم البقر المحمرة
80	0	20	البيض
100	0	0	
70–75	0	25–30	الدواجن
>20	5–10	60–75	
0	0	100	
0	60–80	20–40	
100	0	0	Processed meats اللحم المصنع
30	30	40	Fish (white) السمك
30–100		0–70	Cheese (hard) الجبن الصلب
100	0	0	Cheese الجبن
0–100	0–10	20–100	Sanwiches الشطائر الجاهزة
100	0	0	المعجنات
20–30	0	70–80	
100	0	0	المخبوزات
0	0	100	

المصدر: مختصر عن ADAMS and MOSS, (2008)

2.24 تأثير التعبئة في جو معدل على الأحياء الدقيقة

تأثير التعبئة في جو معدل على الأحياء الدقيقة يعتمد على التغير في جهد الأكسدة والاختزال Potential redox (Eh) وتركيز غاز ثاني أكسيد الكربون والذي يعتمد على الطريقة المستخدمة، الأحياء الدقيقة الهوائية واللاهوائية تختلف في احتياجاتها من جهد الأكسدة والاختزال وهذا يتوقف على نوع الكائن الدقيق ونوع الغذاء (وجود المواد المؤكسدة أو المختزلة في الغذاء) بينما اللاهوائيات الاختيارية تعيش في مدى واسع من جهد الأكسدة والاختزال.

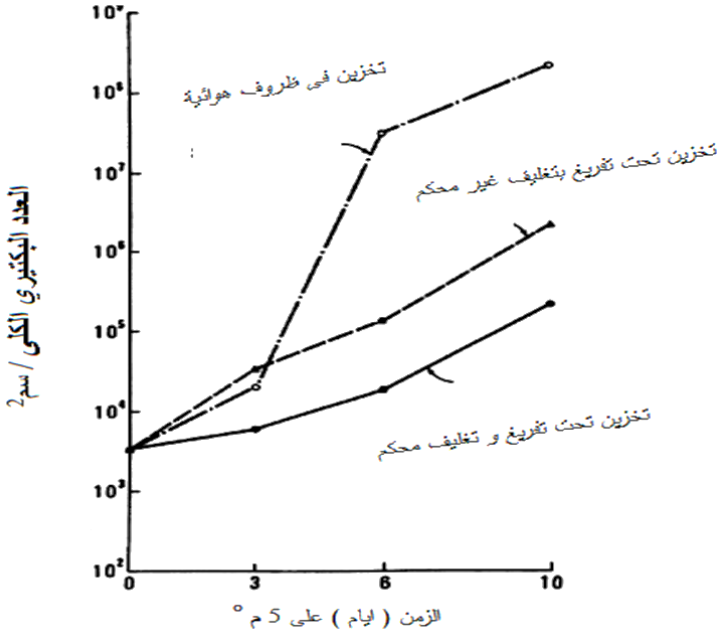
إن التعبئة في جو معدل وسحب الهواء وإحلاله بالنيتروجين أو ثاني أكسيد الكربون أو خليط منهما وغياب الأكسجين سيثبط نمو الأحياء الدقيقة الهوائية ويشجع نمو الأحياء اللاهوائية أو اللاهوائية الاختيارية، وحتى تحت هذه الظروف فإن الأكسجين المتواجد في الأنسجة والمذاب قد يسمح للأحياء الهوائية أن تنمو وتنتج ثاني أكسيد الكربون، بالإضافة إلى أن تواجد المكونات المختزلة الطبيعية في الغذاء مثل مجاميع - SH في الأغذية الغنية بالبروتين ووجود فيتامين C (Ascorbic acid) وكذلك وجود السكريات المختزلة (Reducing sugars) في منتجات الخضروات والفواكه كل هذه المكونات تستطيع أن تغير جهد الأكسدة والاختزال للغذاء وتشجع نمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية أو اللاهوائية الإختيارية وبذلك لا يمكن التحكم في النمو الميكروبي بمجرد تغيير جهد الأكسدة والاختزال ويجب استخدام طرق أخرى مع هذه الطريقة، وعلى أي حال فإن توقف نمو الأحياء الهوائية يزيد فترة صلاحية المنتج بشكل كبير.

وعند استخدام ثاني أكسيد الكربون بتركيز كبير (20 – 100%) فقط أو مع النيتروجين N_2 أو الأكسجين O_2 أو كليهما فإن فترة صلاحية المنتج المعبأ بهذه الظروف تزداد، ويعتقد أن ثاني أكسيد الكربون CO_2 يطيل طور السكون بعدة ميكانيكيات مقترحة مثل سرعة اختراق CO_2 للخلايا وتغيير نفاذية الخلية وتكون حمض الكربونيك نتيجة ذوبانه داخل الخلية مما يخفض الأس الهيدروجيني داخل الخلايا، كذلك قد يتداخل CO_2 مع بعض المسارات الحيوية والإنزيمية والذي يؤدي إلى انخفاض في معدلات نمو الخلية، ويحدث التأثير المثبط لغاز CO_2 عند تركيز 10% ويزداد كلما زاد التركيز ولكن التركيز العالي جداً من الغاز قد يشجع نمو بكتيريا *Clostridium botulinum* التي تسبب تسمم غذائي خطير.

3.24 العوامل المؤثرة على تعبئة الأغذية في جو معدل

أ. طبيعة المعاملة

وتشمل كفاءة عملية التفريغ Vacuum ونفاذية مادة التغليف للأكسجين وأنواع الغازات المستخدمة، التفريغ العالي يؤدي إلى تثبيط قوي لنمو الأحياء الدقيقة الهوائية نظراً لإزالة الأكسجين ماعدا الأكسجين الذائب أو المحتجز في الأنسجة عدم نفاذية مادة التغليف للأكسجين أثناء التخزين يعتبر من أهم عوامل الحفاظ على التفريغ داخل العبوة ومنع المنتج من الفساد نتيجة نمو الميكروبات الهوائية، والشكل (1.24) يوضح أهمية التغليف المحكم للحم الدواجن المعبأ تحت تفريغ والمخزن على 5°م.



شكل (1.24): العدد الكلي للبكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة في لحم الدواجن المخزن على 5 م° في ظروف هوائية أو تحت تفريغ Vacuum-pack storage

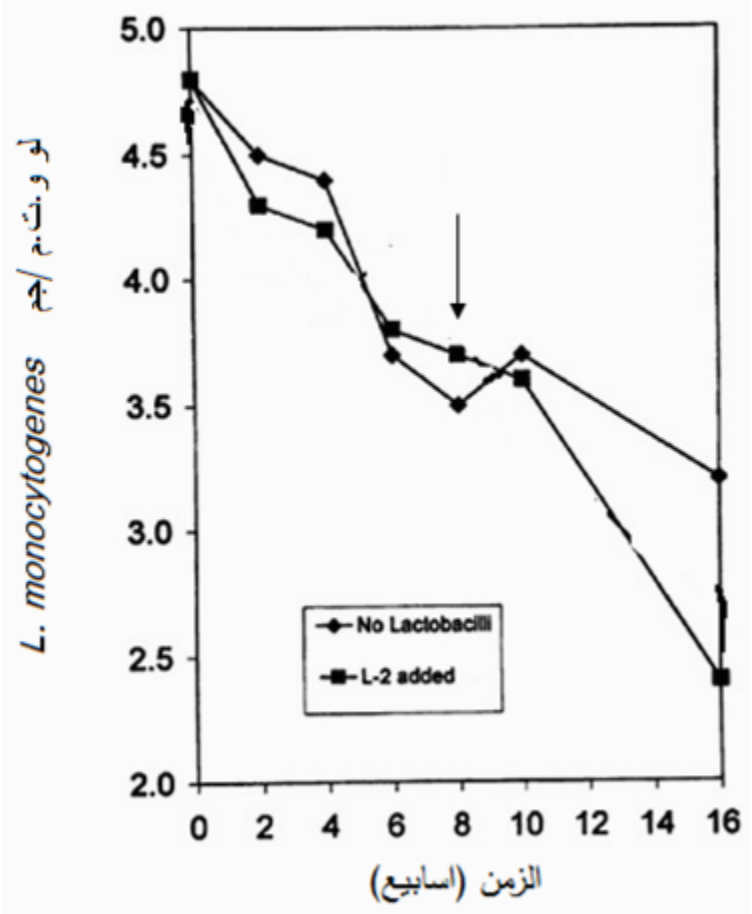
المصدر: **JAY (2000)**

حيث يلاحظ ارتفاع أعداد البكتيريا على سطح الدواجن في حالة التخزين بدون تفريغ أو في حالة وجود تنفيس في عبوات لحم الدواجن عنها في حالة التخزين في عبوات محكمة، ولقد ساعد استخدام رقائق البلمر Polymeric film المطورة الآن في منع نفاذية الهواء بشكل كبير، في حالة التعبئة في جو معدل يستخدم ثاني أكسيد الكربون والنيتروجين وقد يستخدم الأكسجين معهما كما في حالة تعبئة اللحم الطازج حيث يستخدم النيتروجين كغاز مالئ خامل بينما تعمل إضافة الأكسجين على إعطاء اللون الأحمر Red color oxymyoglobin للحم ويعمل CO_2، كمضاد للنمو الميكروبي، ولقد وجد أن نسبة 20% ثاني أكسيد الكربون تكون فعالة جداً ضد الميكروبات الهوائية مثل *Pseudomonas* و *Acinetobacter* و *Morexella* ولكن 40 إلى 60% تعطى نتائج أفضل وأحياناً قد يستخدم 100% ثاني أكسيد الكربون.

ب. نوع الغذاء

كمية الأكسجين الذائب أو المحتجز في الأنسجة النباتية أو الحيوانية وكمية الكربوهيدرات المتاحة بالنسبة للأحياء الدقيقة وتواجد المكونات المختزلة في الغذاء كل ذلك يؤثر على نوع ونمو الأحياء الدقيقة، فوجود المواد المختزلة يشجع نمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية Anaerobes، كذلك تواجد بعض المواد المثبطة لنمو الميكروبات سواءً كانت متواجدة أصلاً في الغذاء أو المنتجة (مثل البكتيريوسين Bacteriocins) بواسطة بعض أنواع البكتيريا (بكتيريا حامض اللاكتيك) وانخفاض الأس الهيدروجيني وانخفاض النشاط المائي كل ذلك يؤثر على قابلية الميكروبات للنمو أو عدم النمو، والشكل (2.24) يوضح تأثير أحد سلالات بكتيريا حامض اللاكتيك من النوع *Lactobacillus alimentarius* والتي تستطيع مقاومة البرودة والنمو على 2مْ على بكتيريا *L. monocytogenes* الممرضة في لحم البقر

المفروم المخزن تحت تفريغ وتبريد، ويلاحظ من الشكل انخفاض أعداد بكتيريا *L. monocytogenes* نتيجة التأثير المضاد لنموها والذي يعتقد أنه ناتج من تأثير حامض اللاكتيك.



شكل (2.24): نجاة بكتيريا *L. monocytogenes* في لحم البقر المفروم والمحفوظ تحت تفريغ *vacuum-packaged* والمبرد على 4 م° أو 7م° بإضافة أو عدم إضافة بكتيريا *Lactobacillus FloraCarn L-2 alimentarius* (السهم يشير إلى تغير درجة الحرارة من 4 إلى 7 م°).

المصدر: JAY (2000)

ج. طبيعة الكائن الدقيق

الأحياء الدقيقة الهوائية تنمو بشكل محدود جداً في الأغذية ويتوقف ذلك على نسبة الأكسجين المتواجدة في حالة التعبأة تحت تفريغ Vacuum-packaged أو التعبأة في جو معدل Gas flushed packaged، ويثبط نموها بنمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية الإختيارية والتي تشمل بكتيريا حامض اللاكتيك *Brochothrix thermosphacta* وبعض *Enterobacteriaceae* و*Corynebacteriaceae*، في الأغذية المنخفضة الأس الهيدروجيني (الحامضية) تنمو بكتيريا حامض اللاكتيك وتمنع نمو البكتيريا الأخرى بسبب إنتاجها لحمض اللاكتيك ومواد أخرى مضادة للنمو مثل البكتيريوسين، كذلك نوع الغاز ونسبته في جو التعبئة يمكن أن يوثر في نوع الكائنات الحية السائدة، مثلاً إذا كانت نسبة CO_2 100% فإن بكتيريا حامض اللاكتيك *Leuconostoc* و .*Lactobacillus* spp تكون هي السائدة، أما نسبة 20% من CO_2، فإنها تقضي على بكتيريا *Pseudomonas* spp بينما 60% أو أكثر ضرورية للقضاء على نمو أنواع عائلة *Enterobacteriaceae* ، وكلما إنخفض جهد الأكسدة والاختزال شجع ذلك نمو الأحياء الدقيقة اللاهوائية خاصة *Clostridium* spp. وتعتبر نمو *Cl. Botulinumin* في المنتجات المعبأة في جو معدل والمبردة خاصة النوع Type E وغير المحلل للبروتين Type B من أهم المخاطر الصحية المتعلقة بهذه المنتجات، البكتيريا المرضية اللاهوائية الاختيارية والمقاومة للبرودة مثل *Listeria monocytogenes* و *Yersinia enterocolitica* يمكنها النمو في هذه الأغذية، هناك بعض أنواع البكتيريا

المرضية المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة واللاهوائية الإختيارية تستطيع النمو على درجات حرارة من 10 إلى 12 مْ مثل بعض أنواع *Salmonella* و*Escherichia coli* O157:H7 و*Staphylococcus aureus* وبذلك تستطيع النمو إذا تعرضت هذه المنتجات لهذا المدى الحراري كنتيجة لسوء التخزين temperature abuse في السابق كانت 7مْ (45 فْ) تعتبر درجة حرارة مرغوبة ولكن طبقاً للتطورات التقنية الحديثة جعلت من المهم التبريد على درجة حرارة 4 إلى 5مْ (40 إلى 41 فْ).

الأس الهيدروجيني المنخفض والنشاط المائي القليل وإضافة مواد حافظة مناسبة يجب أن تستخدم جميعها معاً للسيطرة على نمو الكائنات الدقيقة بهذه المنتجات (RAY, 2004; JAY et al.,2005; ADAMS & MOSS, 2008).

الفصل الخامس والعشرون

السيطرة على نمو ونشاط الأحياء الدقيقة بالتحكم في نشاط الماء

يعتبر حفظ الأغذية بالتجفيف وهو أحد طرق التحكم في النشاط المائي من أقدم الطرق التي عرفها الأنسان والتي تزيد قابلية الحبوب والفواكه والخضر الجافة لمقاومة الفساد الميكروبي، وبذلك فقد استخدمت عملية خفض النشاط المائي عن طريق التجفيف لحفظ كميات كبيرة من المنتجات الزراعية وتوفير بعض المحاصيل في غير مواسمها، وكذلك حفظ اللحوم والأسماك ومنتجاتها لفترات طويلة بواسطة تمليحها وتجفيفها، النشاط المائي للأغذية يمكن أن يُخفض بواسطة عدة طرق مثل إزالة الماء الحر كبخار بواسطة استخدام الحرارة مثل التجفيف والتجفيد Dehydration، Freeze-Drying أو إزالته بواسطة البلورة Crystallization كما هو الحال في التجميد أو إضافة مواد مذابة Solutes لتركيز المادة الغذائية مثل إضافة الملح أو السكر أو العسل لربط الماء الحر.

25 1 التجفيف والتجفيد

تعتمد هذه الطرق على إزالة الماء الحر من الأغذية بواسطة الحرارة المتحكم بها كما في حالة التجفيف الصناعي وتتم عملية التجفيف في غضون ثواني أو ساعات وبالتالي ينخفض النشاط المائي للحد الذي يمنع نمو الأحياء الدقيقة. واعتماداً على درجات الحرارة المستخدمة ومدة التعرض فإن بعض الخلايا الميكروبية تموت ويتضرر البعض الآخر، أيضا أثناء عملية التخزين وبناءً على ظروف التخزين فإن عدد من الخلايا الميكروبية يموت بسرعة أثناء المراحل الأولى من التخزين ثم تتناقص معدلات الموت بعد ذلك، غير أن جراثيم البكتيريا والفطريات لا تتأثر بهذه العمليات وتظل حية طوال فترة التخزين. وتحتوي الأغذية

المجففة على مجاميع متعددة من الميكروبات قد يكون من بينها بكتيريا ممرضة حية وتواجد أي مجموعة ميكروبية في الأغذية الجافة يعكس مدى كفاءة عملية التجفيف ومدى التلوث المبدئي للغذاء الخام قبل عملية التجفيف، تستخدم عملية التجفيد Freeze-Drying مع الأغذية السائلة والصلبة وتعتمد على نزع الماء بعد تجميده بواسطة تفريغ عاي نسبياً، تتعرض الخلايا الميكروبية أثناء التجفيد إلى نوعين من الإجهاد هما التجميد والتجفيف مما يتسبب في موت وتضرر الكثير من الأحياء الدقيقة كما يستمر موت الميكروبات في بداية التخزين خاصة عندما يكون على درجة حرارة تخزين عالية وفي وجود الأكسجين بينما لا تأثير يذكر لهذه العملية على جراثيم البكتيريا، ويجب حماية المنتجات المجففة من الرطوبة بواسطة التغليف والتخزين الصحيح عند ظروف مناسبة من الرطوبة النسبية حتى لا تتكون جيوب ذات محتوى رطوبي عالي تسمح بنمو الميكروبات، وهناك ما يعرف بتجفيف الرغوة Foam-Drying حيث يتم خفق المنتج لتكوين رغوة ثابتة لزيادة المساحة المعرضة ثم التجفيف باستخدام هواء دافئ Warm air، تستخدم هذه الطريقة لتجفيف الأغذية السائلة مثل بياض البيض ومعجون الفواكه والطماطم، هذه الطريقة لها تأثير قليل على حيوية الخلايا الميكروبية ولكن عوامل أخرى مثل انخفاض الأس الهيدروجيني مع تأثير انخفاض النشاط المائي يمكن أن يزيد من فعالية الطريقة ضد الأحياء الدقيقة.

2.25 إزالة الماء بالتمليح والتسكير

يمكن استخدام الملح والسكر لخفض النشاط المائي ومنع الفساد الميكروبي

للأغذية وكذلك فإن المذابات ترفع الضغط الأسموزي للوسط مما يسبب تلف للخلية الميكروبية، بالإضافة إلى أن لكلوريد الصوديوم تأثير حافظ قد يرجع لأيون الكلور Cl^- والذى له تأثير مثبط على نمو الأحياء الدقيقة، وهناك منتجات غذائية كثيرة تعتمد في حفظها على هذه الطريق مثل اللحوم والأسماك المجففة والألبان المجففة والخضروات والفواكه المجففة كذلك اللحوم والأسماك المملحة والألبان المبخرة والمركزة evaporated, sweetened condensed milk والمربيات والجلي وغيرها. والغرض الأساسي من خفض النشاط المائي للأغذية هو منع أو تقليل نمو الخلايا الخضرية ومنع إنبات جراثيم الأحياء الدقيقة وكذلك عرقلة إنتاج السموم من قبل الفطريات والبكتيريا السامة.

3.25 تأثير خفض النشاط المائي على الأحياء الدقيقة

الأحياء الدقيقة تحتاج الماء لنقل المغذيات ولعمليات الأيض وللتخلص من الفضلات، وفي الغذاء المحتوى الكلي للماء يوجد في صورة حرة ومرتبطة ولا تستطيع الأحياء الدقيقة الاستفادة من الماء المرتبط ولكنها تستخدم الماء الحر فقط والذي يعبر عن النشاط المائي a_w للمادة الغذائية، كما أن الخلايا الميكروبية لديها نشاط مائي داخل الخلايا منخفض قليلاً مقارنة بالوسط الخارجي وذلك للحفاظ على ما يسمى بضغط الانتفاخ Turgor Pressure وهذا مهم لنمو الخلايا. فإذا انخفض النشاط المائي في الوسط المحيط بواسطة إزالة الماء أو إضافة مذيبات فإن الماء سينتقل من الخلايا إلى الوسط المحيط لإحداث

التوازن مما يعرض الخلايا لصدمة أسموزية Osmotic shock تجعلها غير قادرة على النمو. وفقد الرطوبة من الوسط المحيط بالخلايا له تأثير كبير مهما كان هذا الفقد قليل فقد وجد أن انخفاض ضئيل في النشاط المائي بمقدار 0.005 (a_w: من 0.955 إلى 0.950) خفّضْ المحتوى المائي داخل خلايا *Staphylococcus aureus* إلى 50% وأحدث انخفاض في حجم خلايا *Salmonella typhimurium* إلى 44%، مالم تستعيد الخلايا الميكروبية الانتفاخ الداخلي intracellular turgor عن طريق خفض النشاط المائي الداخلي فإن الخلايا أما تبقى ساكنة dormant أو تموت، هناك بعض الأحياء الدقيقة التي تقاوم الانخفاض في النشاط المائي من خلال ميكانيكيات مثل نقل المذابات إلى داخل الخلايا أو أيض المواد المذابة للتغلب على التحلل plasmolysis.

وعلى الرغم من أن عملية التجفيف والتجفيد تقضي على الكثير من الأحياء الدقيقة إلا أن بعض البكتيريا السالبة والموجبة لجرام وكذلك جراثيم البكتيريا وبعض الفطريات يمكن أن تنجو. وفي حدى الدراسات وجد أن 32 % من الأحياء الدقيقة الأولية الملوثة للحم الدواجن قد نجت بعد تجفيده وإعادة ترطيبه على درجة حرارة الغرفة. وعندما تم تلويث لحم الدواجن ببكتيريا *Staphylococcus aureus* وجد أن البكتيريا استطاعت النجاة بعد عملية التجفيد. كما أن هناك حوالي 20 حالة تفشي ناتجة من نجاة كل من *Staphylococcus aureus* و*Salmonella* في اللبن المجفف في بريطانيا منذ عام 1955.

والهدف من تجفيف الأغذية هو إنتاج منتج بعدد ميكروبي كلي لا يزيد عن

100,000كائن دقيق / جرام، كما يجب أن يخلو من بكتيريا القولون خاصة *E.coli*.

كما يجب أن يخلو من البكتيريا المنتجة للسموم أو من سمومها مثل السم الاستافيللى، ويعتبر الكشف عن بكتيريا *Salmonella* من أهم مؤشرات مدى تطبيق الاشتراطات الصحية أثناء إنتاج الأغذية المجففة ولقد وجد أن هذه البكتيريا يمكنها النجاة أثناء معاملة التجفيف ولذلك يجب أن تخلو تماما منها.

4.25 العوامل المؤثرة على فعالية الانخفاض في النشاط المائي على نمو الأحياء الدقيقة

هناك عدة عوامل تؤثر في فعالية التحكم في النشاط المائي على نمو ونشاط الأحياء الدقيقة وهي:

أ. طبيعة العملية

وجد أن المواد المذابة Solutes تختلف في قابليتها لخفض النشاط المائي حيث وجد أن كمية كلوريد الصوديوم NaCl (w/w) والسكروز والجلوكوز والسكريات المحولة Inverted sugar المحتاجة لخفض النشاط المائي عند درجة حرارة 25م° للماء النقي ليصل إلى 0.99 هي 1.74 و 15.45 و 8.9 و 4.11 جرام على التوالي، ولخفض النشاط المائي إلى 0.92 نحتاج 11.9 و 54.34 و 43.72 و 32.87 جرام على التوالي، وهذه المواد لا تدخل إلى الخلايا الميكروبية ولذلك فإن لها تأثير مثبط كبير لنمو الميكروبات مقارنة بمواد أخرى قادرة

على الدخول إلى الخلايا مثل الجلسيرول حيث نحتاج تركيزات عالية منه لإحداث نفس التأثير المثبط. وعلى الرغم من أن الأحياء الدقيقة يمكن أن تتضرر أو تموت عند النشاط المائي المنخفض إلا أن البعض يستطيع المقاومة لهذه الحالة حيث وجد أن القضاء على 90% من أعداد بكتيريا *Salmonellae* على درجة 5مْ يحتاج 27 يوماً على نشاط مائي 0.71 ولكنها تحتاج 67 يوماً على نشاط مائي 0.34.

ب. نوع المادة الغذائية

تركيب ونوع الغذاء يمكن أن يكون له تأثير كبير على معدل موت الأحياء الدقيقة حتى عند نفس النشاط المائي، وجد أن أعداد *Escherichia coli* عند نشاط مائي 0.33 قلت بمعدل 2.8 دورة لوغاريتمية في الآيس كريم المجفف وبمعدل 4.8 في البطاطس المجففة وكان معدل الانخفاض أكثر من 6 دورات لوغاريتمية في القهوة، وتحت نفس الظروف وجد أن معدل موت بكتيريا *Enterococcus faecalis* كان أقل.

وعلى الرغم من وجود هذه البكتيريا خاملة في الأغذية المجففة إلا أنها تعود للنشاط والنمو عقب تبليل أو إضافة الماء لهذه المنتجات ولذلك يجب أن تعامل هذه المنتجات على أنها مواد سريعة الفساد مالم تتخذ إجراءات أخرى لضمان سلامة هذه الأغذية، ووجد أن البكتيريا الممرضة الملوثة للمنتجات المجففة تنمو بمعدل أسرع من نموها قبل التجفيف بسبب هلاك كثير من الميكروبات الهوائية أثناء عملية التجفيف أو التجفيد وأثناء التخزين والتي كانت تنافس البكتيريا الممرضة قبل التجفيف، كما وجد أن بعض البكتيريا المحبة للبرودة

تكون مقاومتها أكبر بعد ترطيب الأغذية المجففة منها قبل عملية التجفيف.

قيم النشاط المائي الدنيا للنمو الميكروبي وتأثير انخفاض النشاط المائي على حيوية الأحياء الدقيقة يختلف باختلاف خصائص الغذاء والوسط الغذائي، ففي الغذاء المتجانس يبقى النشاط المائي بدون تغير مالم يطرأ تغير على العوامل الأخرى. أما في حالة احتواء الغذاء على مكونات تختلف في النشاط المائي (الوجبات المحتوية على عدة أنواع من الأغذية والمتواجدة في عبوة واحدة) فقد يحدث تغير في النشاط المائي. وهذا قد يؤدي إلى نمو الميكروبات في الغذاء المحفوظ بطريقة خفض النشاط المائي والمخزن مع غذاء آخر عالي النشاط المائي ويحتوي مادة حافظة. وكذلك كلما بعدت درجة حرارة التحضين عن الدرجة المثلى للنمو بدون تغير في النشاط المائي يحتاج الميكروب إلى زمن أطول للنمو.

ج. طبيعة الكائن الدقيق

تختلف الأحياء الدقيقة بشكل كبير في الحد الأدنى من النشاط المائي الذى تحتاجه لنموها وللتجرثم أو الإنبات، والجدول رقم (1.25) يوضح الاحتياجات الدنيا للأحياء الدقيقة من النشاط المائي، وفي العموم فإن الفطريات والخمائر تنمو عند نشاط مائي أقل من البكتيريا. ومن بين البكتيريا الممرضة والمفسدة للأغذية نجد أن البكتيريا السالبة لصبغة جرام تحتاج نشاط مائي أعلى قليلاً مقارنة بالبكتيريا الموجبة لصبغة جرام، بكتيريا *S. aureus* تستطيع النمو على نشاط مائي منخفض قد يصل إلى 0.86 والتجرثم Sporulation بواسطة البكتيريا المتجرثمة يحدث عند النشاط المائي المناسب للنمو بينما الإنبات يحدث عند قيم نشاط مائي منخفض قليلاً. إنتاج السموم يمكن أن يحدث عند نشاط مائي مناسب لنمو *C. botulinu* أو عند نشاط مائي أعلى بقليل من الحد الأدنى للنمو. معدل نمو الأحياء الدقيقة يقل كلما إنخفض النشاط المائي، مثلاً معدل نمو بكتيريا *S. aureus* إنخفض إلى

حوالي 10% عند نشاط مائي 0.90 عنه عند النشاط المائي الأمثل للنمو (0.99: a_w).

الأحياء الدقيقة المحبة للملوحة العالية halophiles والمحبة للضغط الأسموزي العالي osmophiles تنمو جيداً عند نشاط مائي منخفض، البكتيريا المحبة للملوحة مثل vibrios تحتاج تركيزات مختلفة من كلوريد الصوديوم NaCl للنمو.

جدول (1.25): الحد الأدنى للنشاط المائي لنمو الأحياء الدقيقة

الكائن الدقيق	النشاط المائي
البكتيريا	
Bacillus cereus	0.95
Bacillus stearothermophilus	0.93
Clostridium botulinum Type A	0.95
Clostridium botulinum Type B	0.94
Clostridium botulinum Type E	0.97
Clostridium perfringens	0.95
Escherichia coli	0.95
Salmonella spp.	0.95
Vibrio parahaemolyticus	0.94
Staphylococcus aureus	0.86
Pseudomonas fluorescens	0.97
Lactobacillus viridescens	0.94
خمائر	
Saccharomyces cerevisiae	9.90
Saccharomyces rouxii	0.62
Debaryomyces hansenii	0.83
الفطريات	
Rhizopus nigricans	0.93
Penicillium chrysogenum	0.79
Penicillium patulum	0.81
Aspergillus flavus	0.78
Aspergillus niger	0.77
Alternaria citri	0.84
لا نمو لاى كائن دقيق	< 0.6

المصدر: معدل عن RAY (2004)

الفطريات والخمائر المحبة للضغط الأسموزي العالي تستطيع النمو عند نشاط مائي أقل من 0.85، معظم الأحياء الدقيقة التي تنمو في الأغذية لها نشاط مائي أمثل اكثر من أو يساوي 0.98 ($a_w \geq 0.98$)، وعند نشاط مائي أكثر من أو يساوي 0.98 تنمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام بمعدل سريع وتكون هي السائدة أما إذا إنخفض النشاط المائي إلى 0.97 تنمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مثل Bacilli وLactobacilli وMicrococci وClostridia وتكون هي السائدة، أما عند النشاط المائي تحت 0.93 تستطيع البكتيريا الموجبة لجرام مثل Micrococci وStaphylococci وEnterococci و Pediococci وكذلك الخمائر والأعفان أن تنمو. أما انخفاض النشاط المائي إلى ما تحت 0.86 يؤدي إلى سيادة الخمائر المحبة للضغط الأسموزي العالي مثل *Zygosaccharomyces rouxii* والتي تستطيع النمو عند نشاط مائي 0.65 والفطريات Xerophilic مثل *Xeromyces bisporu* والتي تستطيع أن تنمو في الأغذية التي يصل نشاطها المائي إلى 0.60 أما عند وصول النشاط المائي إلى أقل من 0.60 فإن جميع الأحياء الدقيقة تتوقف عن النمو (BANWART, 1998; RAY, 2004; ADAMS & MOSS,2008).

الفصل السادس والعشرون

السيطرة على نشاط الأحياء الدقيقة بالمواد الحافظة الكيميائية

1.26 مقدمة

تعتبر عملية حفظ الأغذية باستخدام المواد الكيميائية من أقدم طرق الحفظ، وقد استخدم ملح الطعام (كلوريد الصوديوم) كمادة حافظة للحوم والأسماك منذ مئات السنين. كما أضيفت قديما التوابل والنباتات العطرية للأغذية لتعطي تأثير حافظ، غير أن بعض الأغذية تحتوي على مواد حافظة طبيعية وقد تكون بكميات كافية لأحداث فعل مضاد للنمو الميكروبي مثل اللاسوزايم Lysozyme في بياض البيض والأحماض العضوية في الموالح وتسمى مواد حافظة طبيعية، وهناك مواد حافظة يمكن أن تتكون أثناء تصنيع الأغذية بكميات كافية لعرقلة النمو الميكروبي مثل حامض اللاكتيك المتكون في اليوغورت.

أما المواد الأخرى مثل: أحماض البنزويك والبوريك والساليسليك والبوراكس والكبريتوز والفورمالدهيد ... الخ فهي تضاف للأغذية بهدف منع أو إعاقة نمو الأحياء الدقيقة التي تسبب فساد الأغذية وتسمى مواد حافظة كيميائية. وتنص بعض القوانين على ضرورة النص على نوع المادة الحافظة المضافة ونسبتها، ويمكن تعريف هذه المواد الحافظة بأنها مواد لها فعل مضاد لنشاط الأحياء الدقيقة Antimicrobial inhibitors or Preservatives بالنسب التي تستعمل بها في الأغذية لغرض حفظها، يكون فعلها قاصراً على إعاقة نمو الأحياء الدقيقة أو قد تؤدي إلى موتها. وقد تستخدم مادة كيميائية واحدة أو خليط من مادتين لحفظ الأغذية أو إطالة مدة خزنها تحت الظروف العادية أو تحت التبريد، وقد

تستخدم مادة بنزوات الصوديوم مع إضافة السكر أو التجفيف الجزئي لخفض الرطوبة وبالتالي لا تستطيع الأحياء الدقيقة النمو.

2.26 الشروط الواجب توافرها في المواد الحافظة المضادة للأحياء الدقيقة

من أهم الاشتراطات التي يجب أن تؤخذ في الاعتبار عند اختيار المواد الحافظة المضادة للميكروبات التي تستخدم في حفظ الأغذية هي:

أ. أن لا تغير من جودة الغذاء من ناحية اللون أو الطعم أو القوام.

ب. أن لا تتداخل مع مكونات الغذاء وتفقد فعاليتها.

ج. أن يكون لها تأثير مضاد للميكروبات عالي عند الأس الهيدروجيني والنشاط المائي وجهد الأكسدة والاختزال للغذاء المضافة إليه وكذلك تحت درجة حرارة التخزين.

د. أن تكون ثابتة أثناء فترة تخزين الغذاء.

هـ. أن تكون متاحة وغير مكلفة اقتصادياً.

3.26 العوامل المؤثرة على فعالية المواد الحافظة المضادة للأحياء الدقيقة

أ. نوع المادة الحافظة

المواد الحافظة المضادة لنمو الأحياء الدقيقة تختلف في تأثيرها على الميكروبات بشكل كبير فمنها ما له تأثير على كثير من الأحياء الدقيقة (broad spectrum) والبعض الآخر له تأثير محدود (narrow spectrum)، كما أن لبعضها تأثير مثبط على الفطريات والخمائر فقط fungistatic أو قاتل fungicide، أو تأثير مثبط على البكتيريا فقط bacteriostatic أو تأثير قاتل bactericidal، كما يمكن أن تكون فعالة ضد البكتيريا السالبة لصبغة جرام أو الموجبة لصبغة جرام أو فعالة ضد الجراثيم، وقد يكون للمادة الحافظة تأثير مثبط على الكائن الدقيق عند التركيزات المنخفضة وتأثير قاتل عند التركيزات العالية.

ب. نوع وحالة وعدد الأحياء الدقيقة في الغذاء

الخلايا الخضرية أكثر حساسية للمواد الحافظة من الجراثيم، وتعتبر الجراثيم البكتيرية الأكثر مقاومة للمواد الحافظة يليها الخمائر بينما تعتبر الفطريات أكثر الأحياء الدقيقة حساسية لفعل المواد الحافظة، وتختلف الأنواع والسلالات المختلفة للنوع في حساسيتها للمواد الحافظة، كما وجد أن الخلايا الميكروبية في طور النمو اللوغاريتمي أكثر حساسية منها في طور الثبات، وكلما زاد الحمل الميكروبي للغذاء كلما زاد تركيز المادة الحافظة اللازم لإحداث الفعل التثبيطي.

ج. نوع الغذاء وظروف تخزينه

وجد أن فعالية المواد الحافظة تزداد بانخفاض الأس الهيدروجيني للغذاء، كما وجد أن مكونات الغذاء يمكن أن تتفاعل مع المادة الحافظة وتفقدها فعاليتها، كما أن المادة الغذائية السائلة تسمح بتعرض الأحياء الدقيقة لفعل المادة الحافظة أكثر مقارنة بالغذاء الصلب، كما أن درجات حرارة تخزين الغذاء الأعلى من الدرجات المثلى للأحياء الدقيقة تزيد من فعالية المادة الحافظة.

4.26 تأثير المواد الحافظة على الأحياء الدقيقة

تؤثر المواد الحافظة على الأحياء الدقيقة مباشرة بعدة طرق أهمها تثبيط الأنزيمات وتثبيط تخليق البروتين أو تغيير في الحمض النووي DNA أو التأثير على الجدار الخلوي أو الغشاء الخلوي أو كليهما، كما يمكن أن تغير الأس الهيدروجيني داخل الخلية.

5.26 المواد الحافظة المستخدمة في الأغذية

المواد الكيميائية التي تستخدم كمواد حافظة في الأغذية يجب أن تكون تم اختيارها ومصرح بها من قبل هيئات صحية معروفة مثل منظمة الصحة العالمية WHO وإدارة الأغذية والعقاقير Food and Drug Administration (FDA) وتم تصنيفها على أساس أنها من المواد المعروفة بأنها آمنة في العموم generally recognized as safe (GRAS)، وقد أصدرت لجنة دستور الأغذية CAC قائمة بالمواد المضافة التي خضعت لاختبارات السلامة

وأعطيت كل مادة حافظة رقم وهذا النظام في الترقيم يعرف باسم نظام الترقيم الدولي International Numbering System (INS)، ومن أهم المواد الحافظة المستخدمة في الأغذية:

1.5.26 الأحماض العضوية organic acids

حامض الخليك وحامض اللاكتيك يمكن أن ينتجان ميكروبيولوجياً من قبل بعض أنواع البكتيريا كما يمكن إنتاجهما صناعياً وهما أكثر فعالية في الأغذية الحامضية ويمكن إضافتهما للصلصات والمخللات والمايونيز والكاتشب والخبز، وحامض الخليك يتميز برخص الثمن وسهولة الحصول علية وهو من المواد المعروفة عامة بأنها آمنة (GRAS)، ويضاف للأغذية طبقاً لممارسة التصنيع الجيد Good Manufacturing Practice (GMP)، وحامض الخليك فعال ضد معظم الأحياء الدقيقة ماعد القليل منها مثل بكتيريا *Acetobacter* وبكتيريا حامض اللاكتيك وبعض الخمائر والأعفان، وعند تركيز 0.2% يكون مثبط لنمو الميكروب Bacteriostatic بينما ذو تأثير قاتل Bactericidal عند أعلى من 0.3%، وجد أن أعداد بكتيريا *E. coli* O157:H7 انخفضت بمقدار 6 دورات لوغاريتمية عندما تعرضت لحمض الخليك بنسبة 10% لمدة دقيقة واحدة.

أما حامض اللاكتيك وأملاحه فيكون فعال ضد الميكروبات عند تركيزات من 1 إلى 2% وعند أس هيدروجيني 5 أو أعلى، غير أن تأثيره القاتل يزداد بانخفاض الأس الهيدروجيني. وحامض اللالاكتيك مثبط لنمو البكتيريا خاصة السالبة لصبغة جرام كما أنه غير فعال ضد الأعفان في الأغذية، ويستخدم في منتجات اللحوم المصنعة Processed meat products كما يوصي به لغسل وتطهير الذبائح بعد عملية الذبح لخفض

الحمل الميكروبي من على سطحها.

حامض البروبيونيك وأملاحة يستخدم كمثبط لنمو الفطريات Fungistatic agent ولكنه فعّال أيضا ضد البكتيريا خاصة السالبة لصبغة جرام وذلك عند أس هيدروجيني 5 أو أقل عند تركيزات مثل 0.1 إلى 0.2%، ولكن التركيزات المسموح بها في الأغذية لا تؤثر على نمو الخمائر، ويستخدم حمض البروبونيك وأملاحه في تثبيط نمو الفطريات في الجبن والزبد ومنتجات الخبيز وكذلك في حفظ بعض الفواكه الطازجة، حمض البنزويك وأملاحه التي يمكن استعمالها هي بنزوات الصوديوم وتتميز أملاح هذا الحامض بقدرتها العالية على الذوبان مقارنة بالحامض. والحمض نفسه هو العامل الفعال لأن أملاح هذا الحامض يجب استخدامها في وسط حمضي حتى يمكن أن تكون ذات أثر فعال فانخفاض رقم الحموضة للوسط من 7 إلى 5.3 يزيد مفعول أملاح البنزوات إلى 10 أضعاف، وقد أتضح من بعض التجارب أن البنزوات تزيد كفاءتها 100 مرة في التطهير عند استعمالها في بيئة شديدة الحموضة بمقارنتها بالبيئة المتعادلة، ويستخدم ملح بنزوات الصوديوم عادةً بنسبة لا تزيد عن 0.1 % على شرط أن يكون رقم الحموضة 4، وتستخدم استرات الباراهيدروكسي بنزويك في مدى واسع من قيم الأس الهيدروجيني لأن فعاليتها غير معتمدة على الأس الهيدروجيني للغذاء، ويؤثر حامض البنزويك وأملاحه على الأعفان والخمائر بشكل خاص وتأثير أقل على البكتيريا وتستخدم البنزوات في كثير من الأغذية مثل عصير الفاكهة والشراب والمربيات والمايونيز بنسبة لا تزيد عن 0.1 %، أما حمض السوربيك يستخدم كمثبط للفطريات والخمائر لكنه لا يؤثر على البكتيريا السالبة لاختبار الكاتليز مثل بكتيريا حامض اللاكتيك

ولذلك يستخدم في الأغذية المتخمرة fermented foods كمثبط للفطريات كما يستخدم ضد أنواع بكتيريا *Clostridium* حيث أشارت بعض الدراسات إلى قدرته على منع إنبات ونمو جراثيم بكتيريا .*Cl* كما يستخدم في الخبز ومنتجات المخابز والجبن والفواكه المجففة وعصائر الفاكهة والمرملاد وغيرها، الشكل (1.26) يوضح أهم الأحماض المستخدمة في حفظ الأغذية.

التأثير المضاد للميكروبات لهذه الأحماض يرجع إلى التحلل الجزئي للأحماض العضوية الضعيفة إلى الجزيئات غير المنحلة لهذه الأحماض molecules undissociated الذى يلعب دوراً مهماً في تأثيرها المثبط على الميكروبات والذي يتوقف فعلها على قيمة الأس الهيدروجيني للغذاء. ويكون التثبيط عن طريق وقف النشاط الإنزيمي الخاص بنمو الخلايا وقد يسبب هدم لجدران الخلايا.

2.5.26 ثاني أكسيد الكبريت SO2 وأملاح الكبريتيت

استخدم ثاني أكسيد الكبريت في مجال الأغذية حيث كان يستخدم في تطهير معدات الأغذية لبعض الصناعات ويستخدم الآن كمادة مضادة للأكسدة antioxidant لتثبيط التلون البني الإنزيمي وغير الإنزيمي في بعض المنتجات، وSO_2 غاز عديم اللون يذوب في الماء ويستخدم في صورته الغازية أو السائلة أو في صورة أملاح في حفظ الفواكه الجافة وعصائر الفواكه وغيرها، وتعتبر الأعفان أكثر الأحياء الدقيقة تأثراً يليها البكتيريا خاصة البكتيريا السالبة لصبغة جرام ثم الخمائر، وقد وجد أن تركيز حمض Sulfurous acid بتركيز

0.2 – 20 جزيء بالمليون يكون فعّال ضد الخمائر مثل *Saccharomyces* و*Pichia* و*Candida*، ويرجع النشاط المثبط إلى حمض الكبريتوز undissociated sulfurous acid (H_2SO_3) غير المنحل الذي يسود عند أس هيدروجيني أقل من 3.

ولذلك فإن فعاليته تزيد في الأغذية الحامضية، ويعتقد أن تأثير هذه المركبات المضاد للميكروبات يرجع إلى قدرتها الاختزالية العالية Strong reducing power والتي تمكن هذه المركبات من خفض الأكسجين للدرجة التي لا تستطيع الأحياء الدقيقة الهوائية أن تنمو أو أنها تثبط النظام الإنزيمي مما يؤدي إلى وقف نمو الميكروب، ويمنع استخدام ثاني أكسيد الكبريت في كثير من الدول مع الأغذية الغنية بفيتامين الثيامين (B_1) مثل اللحوم حيث يسبب تكسير هذا الفيتامين.

3.5.26 نيتريت الصوديوم Sodium Nitrate

يضاف نيتريت الصوديوم $NaNO_2$ للحفاظ على اللون في بعض منتجات اللحوم المعالجة كما أن له نشاط مضاد للنمو الميكروبي خاصة عندما يوجد مع ملح الطعام. وتستطيع هذه المادة تثبيط نمو جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* في اللحوم التي لم تعامل بمعاملة حرارية كافية للقضاء عليها مثل السجق وبعض أنواع البولبيف وفي اللحم المطبوخ المملح المعلب وبعض أنواع الأسماك مثل السمك الأبيض المدخن، وفي بعض الدول يضاف النيتريت لبعض الأجبان لمنع تكون الغازات الناتجة عن نمو بكتيريا *Clostridium butyricum* و *Cl. tyrobutyricum* كما أنه مضاد لنمو بكتيريا *S. aureus*

و *Salmonella*. من أهم المآخذ على هذه المركبات هو احتمال تكون النيتروزامين Nitrosamines وهي مركبات ناتجة من تفاعل النيتريت مع الأمينات حيث أن بعض مركبات النيتروزامين يعتبر مسبباً للسرطان ويسبب التشوهات الخلقية والتطفر، وللتغلب على هذه المشكلة يتم تقليل مستوى النيتريت المستخدم وزيادة نسبة حمض الأسكوربك Ascorbic acid الذي يؤدي إلى تثبيط تفاعل تكوين النيتروزمين، ولذلك الإتجاه الآن نحو تقليل مستوى نيتريت الصوديوم أو استبعاده من الأغذية غير أنه لا يوجد بديل له حتى الآن في صناعة اللحوم.

4.5.26 نيسن Nisin

سمحت اللجنة المشتركة ما بين منظمة الصحة العالمية والأغذية والزراعة للمضافات الغذائية Joint FAO/WHO Expert Committee عام 1969 باستخدام النيسن كمضاد ميكروبي في الأغذية نظراً لميزاته العديدة فهو غير سام للإنسان ولا يستخدم طبياً كما أن البكتيريا التي تنتجه هي *Lactococcus lactis subsp lactis*. وهي بكتيريا آمنة وغير خطرة (Regarded as Safe Food-Grade)، والنيسن عبارة عن عديد ببتيد Polypeptide مقاوم للحرارة والحموضة ويؤثر على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مثل *Lactococcus* و*Streptococcus* و *Staphylococcus* و*Micrococcus* و*Lactobacillus* و *Pediococcus* و *Listeria* و *Mycobacterium*، كما يثبط نمو الجراثيم البكتيرية. غير أنه لا يؤثر على الخمائر أو الفطريات، ويستخدم أيضا لتقليل المعاملة الحرارية اللازمة لتحطيم

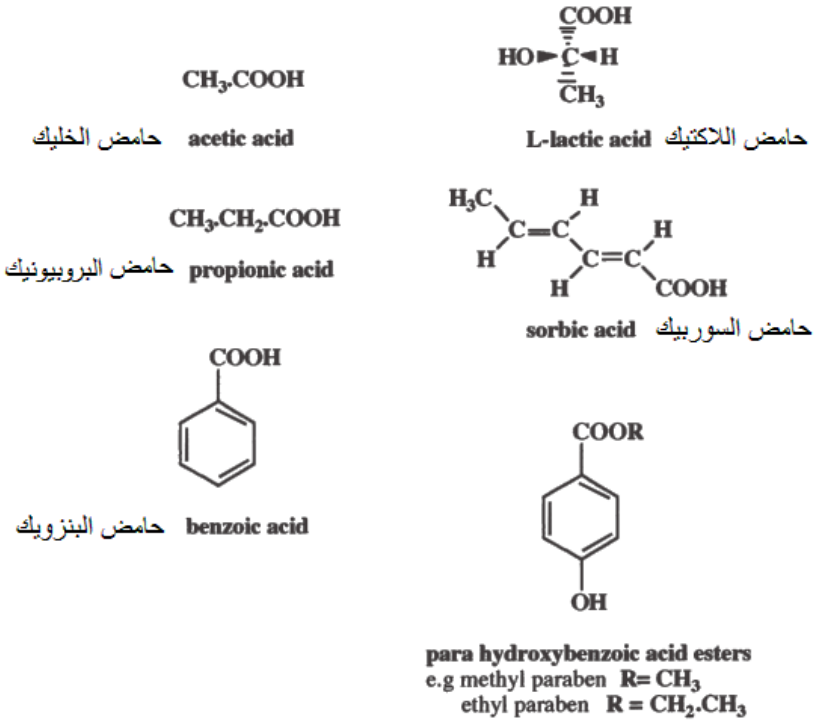
جراثيم بكتيريا *Cl. botulinum* في اللحوم.

ويُكوّن النيسن معقد مع الدهن Lipid II وهو الجزيء الموجه لتكوين جدار الخلية ويدخل هذا المعقد في الغشاء السيتوبلازمي للخلية Cytoplasmic membrane مما يؤدي لتكوين ثقوب أو فتحات في هذا الغشاء تسمح بتدفق مكونات الخلية الهامة مؤدياً إلى تثبيط أو موت الخلية، أما خلايا البكتيريا السالبة لصبغة جرام فإن جدر خلاياها أقل نفاذية ولا تسمح بمرور النيسن ولكن أي معاملة تؤدي إلى زيادة نفاذية جدر هذه الخلايا للنيسين تجعلها أكثر حساسية له، وهذه المعاملات مثل التعرض للمواد المخلبية Chelating agents أو التعرض للحرارة العالية نسبياً أو التجميد أو الصدمة الأسموزية Osmotic shock وغيرها، ويثبط النيسين نمو الجراثيم البكتيرية عن طريق ارتباطه بالمجاميع الكبريتية على سطح الجراثيم ويمنع عملية الإنبات، والجدول (1.26) يبين أهم المواد الحافظة المستخدمة في مجال الصناعات الغذائية والتراكيز المستخدمة والغرض من إضافتها.

6.5.26 ناتاميسين Natamycin

ويعرف أيضا باسم بيريمسين Pimaricin وهو مضاد حيوي ينتج بواسطة *Streptomyces natalensis* ويستخدم ضد الفطريات بفعالية عالية لأنه يرتبط مع الأسترول Sterol والأرجوسترول Ergosterol مما يسبب تدمير غشاء الخلية الفطرية ويؤدي إلى فقد المذابات من السيتوبلازم وتحلل الخلايا، والناتاميسين ضعيف الذوبان في الماء ولا يعتمد في فعله على الأس الهيدروجيني، ويستخدم كمعلق مائي لمعاملة أسطح الجبن والسجق

وذلك لعرقلة نمو الخمائر والفطريات بتركيز 200 – 300 جزء في المليون كما يستخدم لوقف النمو الفطري على السجق بتركيز 1000جزء في المليون.



شكل (1.26): تركيب بعض الأحماض العضوية المستخدمة في حفظ الأغذية

المصدر: **ADAMS & MOSS (2008)**

جدول (1.26): أهم المواد الحافظة المستخدمة في صناعة الأغذية

المادة الحافظة	أقصى تركيز مسموح به	الميكروب المستهدف	الأغذية التي تستخدم فيها المادة
حامض البروبيونيك وأملاحه Propionic acid / Propionate	% 0.32	الفطريات	الخبز، الكيك، بعض الأجبان، المربيات ومعجون الطماطم
حمض السوربيك وأملاحه Sorbic acid / Sorbates	% 0.2	الفطريات	الجبن الصلب، التين، العصائر، صلصات السلاطة، الجلي والكيك
حمض البنزويك Benzoic acid /benzoates	0.1	الفطريات والخمائر	المرجرين، عصير التفاح، المشروبات الغازية، صلصة الطماطم
حمض اللاكتيك Lactic acid	2	البكتيريا	المشروبات الغازية، المخللات، منتجات اللحوم
حمض الخليك Acetic acid	1	البكتيريا والفطريات	المخللات، الصلصات
ثنائي خلات الصوديوم Sodium diacetate	% 0.32	الفطريات	الخبز
نيتريد الصوديوم Sodium nitrite	120 جزء بالمليون (ppm)	Clostridia	الأجبان واللبن المبستر والأغذية المعلبة عالية الحموضة اللحوم المعالجة
النيسن Nisin	1	Clostridia	الأجبان
بارابين Parabens	%0.1	الخمائر والأعفان	منتجات الخبيز – المشروبات غير الروحية – صلصة السلطات
الكبريتات / ثاني أكسيد الكبريت SO2/sulfites	200 – 300 جزء بالمليون (ppm)	الحشرات والأحياء الدقيقة	المولاس - الفواكه الجافة
Ethylene/propylene oxides	700	الخمائر والأعفان	يستخدم كمادة تبخير (Fumigant) للمكسرات والتوابل
فورمات الإيثايل Ethyl format	15-220 جزء بالمليون (ppm)	الخمائر والأعفان	الفواكه الجافة والمكسرات
حمض الكبريليك Caprylic acid	–	الفطريات	أغلفة الجبن

المصدر: (JAY, 2000; ADAMS & MOSS, 2008)

6.26 وسائل أخرى للسيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية

1.6.26 السيطرة على الأحياء الدقيقة بواسطة الإشعاع

يعتبر تشعيع الأغذية من طرق الحفظ الحديثة نسبياً مقارنة بطرق الحفظ الأخرى. عرفت مقدرة أشعة إكس وبيتا وجاما على قتل الأحياء الدقيقة منذ نهاية القرن التاسع عشر وبداية القرن العشرين، أجريت العديد من الدراسات على أشعة إكس x-rays وأشعة بيتا β-rays وأشعة جاما γ-rays لمعرفة مقدرتها على اختراق الغذاء وقتل الميكروبات وتأثيرها على جودة الغذاء ووجد أن هذه الأشعة يمكن أن تقضى على الميكروبات في الأغذية لإطالة مدة الحفظ دون تحويل الغذاء إلى مادة مشعة Radioactive لكنها يمكن أن تؤثر على نكهة الغذاء، وتم التغلب على هذا المشكلة بتقليل زمن التعرض وخفض درجة الحرارة.

وعند استخدام الأشعة في مجال الأغذية يجب البحث عن الأشعة التي لها قدرة اختراق عالية حتى تستطيع التأثير على الأحياء الدقيقة والأنزيمات داخل المادة الغذائية، ويعتبر الكوبلت 60 (Cobalt-60) (Co^{60}) والسيزيم -137 (cesium-137) من المصادر الجيدة لأشعة جاما وهي أحد الأشعة المؤينة radiation Ionizing (لها تردد أكثر من 10^{18} هيرتز) التي تستخدم على نطاق واسع في تجارب حفظ الأغذية بالتشعيع، غير أنه يفضل استخدام الكوبلت حيث لا يؤدي إلى إكساب الأغذية أي نشاط إشعاعي.

بعد أبحاث مكثفة أثبتت عدم إضرار الأغذية المشعة بصحة الإنسان أقرت منظمة الصحة العالمية تشعيع الغذاء كوسيلة لحفظ الأغذية وأوصت باستخدام جرعات تصل إلى

10 كيلو جراي (10 kGy) (جراي: gray = 100 راد: الراد هو مقياس للطاقة المؤينة الممتصة وهو يعادل 10^{-5} جول الممتصة بواسطة1 جم من المادة)، وهذا المستوى من الجرعة يستخدم الآن في حوالي 50 دولة على مستوى العالم لحفظ الأسماك واللحوم والخضروات والفواكه والحبوب، ووفقاً لطريقة التشعيع المستخدمة فإن البكتيريا والفطريات والخمائر وكذلك الفيروسات وبعض الطفيليات يُقضى عليها كلياً أو جزئياً بينما جراثيم بكتيريا *C. botulinum* ذات الأهمية في الصناعات الغذائية مقاومة لعملية التشعيع وبذلك لم تعتمد طريقة الحفظ بالتشعيع على نطاق واسع بسبب كلفتها العالية وعدم التأكد من سلامة الغذاء بعد عملية التشعيع.

ويعتقد أن تأثير الإشعاع على الأحياء الدقيقة يرجع إلى توليد الجذور الحرة الناتجة من تأين جزيئات الماء والتي تغير من طبيعة البروتين في الخلايا كما يحدث تخريب للحمض النووي DNA بسبب إزالة إلكتروناته كما تسبب الأشعة أضراراً في أغشية الخلايا الميكروبية. ويزداد هلاك الأحياء الدقيقة بأشعة جاما بازدياد الجرعة الإشعاعية وارتفاع درجة حرارة المادة الغذائية وبانخفاض الأس الهيدروجيني وتنخفض فعالية التشعيع ضد الميكروبات بغياب الأكسجين (نظراً لانخفاض تفاعلات الأكسدة) وأيضا بالتجميد أو عند النشاط المائي المنخفض (نظراً لانخفاض تكون الجذور الحرة مع انخفاض نسبة الماء المتاح).

1.1.6.26 حساسية الأحياء الدقيقة للإشعاع

وتختلف الأحياء الدقيقة في حساسيتها للأشعة المتأينة (جاما) حيث وجد أن

الفطريات أكثر حساسية من الخمائر يليها البكتيريا ثم الفيروسات. البكتيريا السالبة لصبغة جرام أكثر حساسية من الموجبة لجرام والبكتيريا العصوية أكثر حساسية من المكورة، الجراثيم تعتبر مقاومة للإشعاع بسبب محتواها المائي القليل وتعتبر جراثيم كل من *Clostridium botulinum* Type A و *Bacillus pumilus* الأكثر مقاومة للإشعاع.

وتتأثر فعالية عملية التشعيع ضد الميكروبات بعدة عوامل مثل عمر الكائن الدقيقة والأعداد الأولية وظروف نمو الكائن، أما السموم الميكروبية فإنها لا تتحطم بفعل عملية التشعيع، والجدول رقم (2.26) يوضح مقاومة الميكروبات للتشعيع ويلاحظ أن الفيروسات والبكتيريا خاصة الموجبة لصبغة جرام المكونة للجراثيم هما الأكثر مقاومة للتشعيع وذلك بدلالة احتياجها إلى جرعة أعلى لإحداث انخفاض قدرة 6D: وهي الجرعة التي تخفض أعداد الميكروبات لمليون ضعف.

2.6.26 الموجات فوق الصوتية Ultrasound

تعتبر هذه الطريقة من الطرق الحديثة للسيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية. وفي هذه الطريقة تحلل الخلايا الميكروبية بواسطة تأثير الموجات الصوتية Sonication يشكل الأساس في استخدام الموجات الفوق صوتية في منع نمو الميكروبات في الأغذية، وتعتمد الطريقة على توليد موجات صوتية عالية التردد في المادة، ويرجع التأثير المضاد لنمو الميكروبات بواسطة الموجات فوق الصوتية إلى تكون فجوات داخل الخلايا والتي تسبب أضراراً في المكونات التركيبية والوظيفية في الخلايا، ولكن بعض الأبحاث أوضحت أن تأثير

هذه المعاملة محدود ولكن يمكن تقويته بالجمع ما بين هذه المعاملة ومعاملة حرارية للغذاء فوق 50 م°.

جدول (2.26): مقاومة بعض الأحياء الدقيقة المتعلقة بالأغذية لمعاملة التشعيع

الأنواع	الجرعة: D6 كيلو جراي (kGy)
E. coli	3.0 – 1.5
Salmonella Enteritidis	5 - 3
S. Typhimurium	5 - 3
Vibrio parahaemolyticus	أقل من 0.5 إلى 1
Pseudomonas fluorescens	1 - 0.5
Bacillus cereus	30 - 20
B. stearothermophilus	20 - 10
C. botulinum type A	30 - 20
Lactobacillus spp.	7.2 – 2
Micrococcus spp.	5 - 3
Deinococcus radiodurans	أكثر من 30
Aspergillus flavus	3 - 2
Penicillium notatum	2 - 1.5
S. cerevisiae	10 - 7.5
Viruses	أكثر 30

المصدر: عن ADAMS & MOSS (2008)

3.6.26 الضغط الهيدروستاتيكي Hydrostatic Pressure

تعتبر هذه الطريقة أيضا من الطرق الحديثة للسيطرة على الأحياء الدقيقة في الأغذية وهي معاملة غير حرارية تستخدم للقضاء على الميكروبات في الأغذية، استخدام الضغط العالي High - Pressure Processing (HPP) أو البسكلة كوسيلة لحفظ الأغذية يرجع إلى عام 1884، وفي عام 1899 استخدم الضغط الهيدروستاتيكي بنجاح في حفظ جودة

الحليب، ورغم معرفة هذه الطريقة منذ زمن بعيد إلا أنها لم تحظى باهتمام إلا في الآونة الأخيرة وذلك كنتيجة لزيادة طلب المستهلكين على الأغذية المصنعة جزئياً Minimally Processed Foods وأيضا لتكلفتها المنخفضة وسهولة توفير معداتها كما أن هذه الطريقة لا تؤثر على القيمة الغذائية أو الحسية لكثير من الأغذية باستثناء بعض الخضروات، وهناك الكثير من المنتجات الغذائية المعاملة بضغط هيدروستاتيكي 10 (10 HPP) مثل معاجين وعصائر الفواكه والمربيات والكيك متوفرة في أسواق اليابان منذ أوائل التسعينات، ويحتاج الضغط الهيدروستاتيكي زمن وطاقة أقل وحيز قليل ويعتبر أكثر أماناً من المعاملة الحرارية، لإجراء الضغط العالي يستخدم ضغط هيدروستاتيكي عالي High-Hydrostatic Pressures (HHP)، ويطبق الضغط العالي بوضع المادة الغذائية في عبوة مناسبة ومحكمة القفل في غرفة أسطوانية تحتوي ماء ومصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ ومزودة بمضخة لخلق ضغوط بمئات ميجا باسكال (MPa mega Pascal): وتستخدم ميجا باسكال للإشارة إلى معاملة الضغط، والعلاقة بين الوحدات هي كما يلي:

(atm = 1 bar = 14.5 psi = 750 torr = 100 kilopascal (kPa) = 0.1 MPa1)

وعادةً يستخدم من 2 – 3 ميجا باسكال/ثانية، ويمكن تطبيق المعاملة بضغط مستمر أو متذبذب، وفي حالة الضغط المتذبذب وهو الأكثر كفاءة تطبق من 2 إلى 4 دورة لفترات زمنية تختلف لكل دورة، لإحداث تأثير مضاد للميكروبات نموذجي تستخدم ضغوط تتراوح من 200 إلى 1000 ميجا باسكال حسب تأثير عوامل أخرى، الشكل (2.26) يوضح تأثير الضغط الهيدروستاتيكي المتذبذب والمستمر (276 ميجا باسكال: 4 دورات

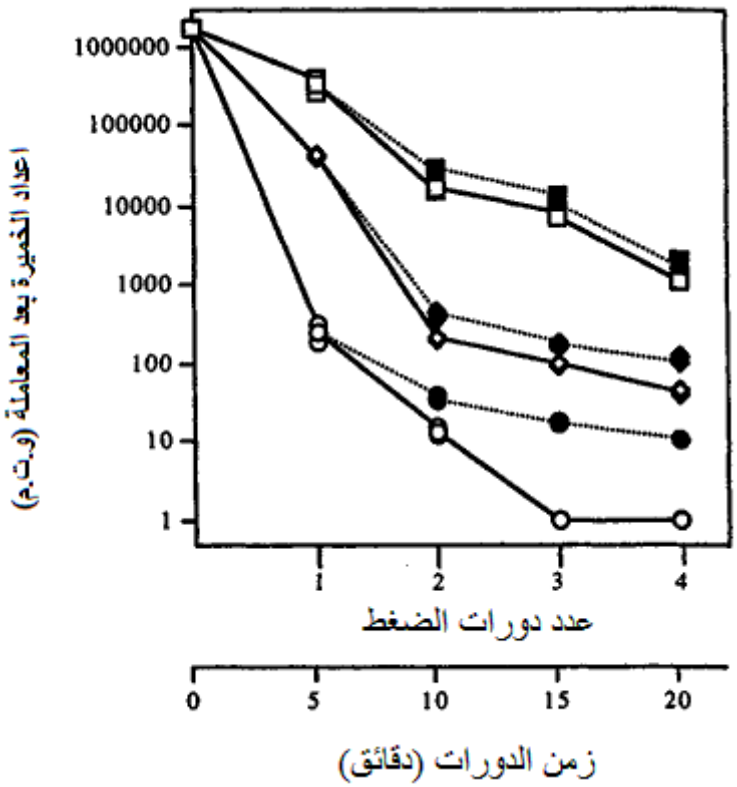
لكل دورة 5 دقائق) على خلايا خميرة *Zygosaccharomyce sbailii* ويلاحظ أن الضغط المتذبذب كان أكثر فعالية وخفض أعداد الخميرة إلى أقل من 10 خلايا/مل (العدد المبدئي: 6.1×10^6 و.ت.م/مل) بعد تعرض الخميرة إلى 20 دقيقة من المعاملة، التعرض لضغط هيدروستاتيكي إلى 450 ميجا باسكال يؤدي إلى التأثير على حيوية الأحياء الدقيقة بالترتيب التالي (الأكثر حساسية إلى الأقل): الأحياء الدقيقة حقيقة النواة ثم البكتيريا السالبة لصبغة جرام يليها الفطريات ثم البكتيريا الموجبة لصبغة جرام يليها الجراثيم البكتيرية.

ووجد أن الخلايا في طور النمو اللوغاريتمي أكثر حساسية للضغط الهيدروستاتيكي من الخلايا في طور الثبات، وفي العموم جراثيم بكتيريا *Bacillus* أكثر مقاومة من جراثيم *Clostridium*، وللقضاء على الجراثيم البكتيرية نحتاج من 400 إلى 800 ميجا باسكال للمعاملة.

يمكن استخدام عوامل كيميائية أو فيزيائية أخرى مع الضغط الهيدروستاتيكي لزيادة تأثيره ضد الميكروبات، في أحدى الدراسات وجد أن الجمع ما بين المعاملة الحرارية المتوسطة (50م°) والضغط الهيدروستاتيكي (400 ميجا باسكال لمدة 15 دقيقة) كان أكثر فعالية ضد بكتيريا *E.coli* O157:H7 المتواجدة في لحم الدواجن حيث انخفضت أعداد البكتيريا بمعدل 5 دورات لوغاريتمية في لحم الدواجن بينما كان الانخفاض أقل من 1 دورة لوغاريتمية عند 20 م°، كما أن هلاك بكتيريا 243 *L.monocytogenes* قد ازداد بزيادة الضغط الهيدروستاتيكي على 20م° (شكل: 3.26).

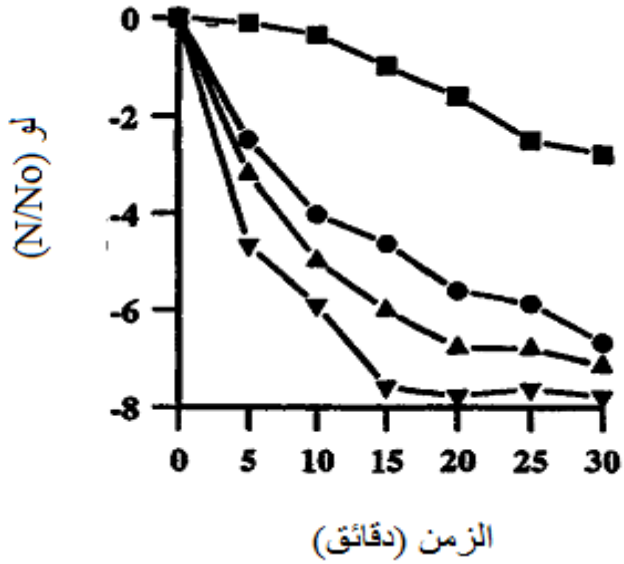
ويرجع التأثير القاتل للضغط الهيدروستاتيكي على الأحياء الدقيقة إلى التغير في شكل الخلايا وتضرر الرايبوزوم ribosomes ومعقدات البروتين والدهن في أغشية الخلايا

وحدوث تسرب في الأحماض النووية عند التعرض لضغط الهيدروستاتيكي من 200 إلى 400 ميجا باسكال. (BANWART, 1998; RAY, 2004; BROUGHTON, 2005; ADAMS & MOSS; 2008).



شكل: (2.26) تأثير الضغط الهيدروستاتيكى المتذبذب 207 (□) , 241 (◊) , 276 (O) ميجا باسكال (فى كل حالة 4 دورات لكل دورة 5 دقائق) او المستمر (العلامات الداكنة) على خميرة *Zygosaccharomyce sbailii*.

المصدر: **JAY (2000)**



شكل (3.26): تثبيط نمو بكتيريا 243 *L.monocytogenes* في محلول الملح والفوسفات المنظم (mM10) (pH:7.0) على 20مْ وعند ضغط هيدروستاتيكي 300 (مربع)، 350 (دائرة)، 375 (مثلث إلى أعلى) و 400 (مثلث إلى أسفل) N_0: عدد البكتيريا قبل المعاملة، N: عدد البكتيريا بعد المعاملة

المصدر: **JAY**،**(2000)**

الفصل السابع والعشرون

استجابة الكائنات الدقيقة للإجهاد في النظم الغذائية

Microbial Stress Response in the Food Environment

1.27 مقدمة

الأحياء الدقيقة المتواجدة في الأغذية تتعرض عادةً إلى معاملات فيزيائية أو كيميائية مختلفة أثناء الإنتاج أو التصنيع أو الحفظ أو التخزين والنقل وحتى أثناء الاستهلاك وكذلك أثناء استخدام الطرق المعتمدة للتحليل الميكروبي عند تقييم جودة الأغذية، نتيجة لذلك فإن خلايا البكتيريا يمكن أن تصبح مجهدة stressed وهذا الإجهاد يأتي من كونها ابتعدت عن الظروف المثلى لنموها ولذلك قد تطرأ عليها عدة تغيرات، واعتماداً على طبيعة ودرجة الإجهاد فإن خلايا البكتيريا يمكن أن تُظهر مستوى عالي من المقاومة للإجهاد الواقع عليها أو أنها تعاني من ما يسمى "الضرر دون الموت القابل للانعكاس" Reversible Sub lethal Injury أو فقد القدرة على النمو lose cultivability في الأوساط البيئية الموصى بها أو تفقد حيويتها بشكل نهائي lose viability مؤخراً كان هناك تحرك ما بين الباحثين لإجراء بحوث في هذا المجال لفهم استجابة الأحياء الدقيقة للمستويات المختلفة من الإجهاد في العقود الماضية ظهرت ثلاث مصطلحات في مجال الميكروبيولوجي لوصف الخصائص الجديدة التي قد تطرأ على البكتيريا بعد تعرضها للإجهاد الفيزيائي أو الكيميائي وهي:

الضرر ما قبل الموت Sublethal Injury أو أن تكون الخلايا حية ولكن غير قابلة للنمو Viable-but-nonculturable أو حالة التأقلم مع الإجهاد Stress adaptation وفي هذا الفصل سنلقى الضوء على المفاهيم الثلاثة ومدى علاقتها ببعضها.

2.27 التأقلم مع الإجهاد Stress adaptation

يعرف التأقلم مع الإجهاد بأنه الحالة التي يؤدي فيها تعرض البكتيريا لظروف فيزيائية أو كيمائية تبعدها عن الظروف المثلى للنمو إلى تطور أو حدوث مقاومة عند هذه الخلايا تجعلها قادرة على مقاومة ظروف نمو أقصى في المستقبل والتي كانت البكتيريا في الحالة الطبيعية حساسة لها. لوحظت هذه الظاهرة في العديد من أنواع البكتيريا الممرضة المنتقلة عن طريق الأغذية Foodborne Pathogens وكذلك في البكتيريا المفسدة للأغذية بعد تعرض خلاياها لظروف بعيدة عن الظروف المثلى للنمو مثل التبريد والحرارة المرتفعة والنشاط المائي المنخفض والتعرض للأشعة فوق البنفسجية ,UV light أو التركيزات العالية من الملح أو التعرض للبكتريوسين أو الأصباغ أو المنظفات أو المضادات الحيوية، الشكل (1.27) والشكل (2.27)، ويعتقد أن تعرض الخلايا البكتيرية لمدة قصيرة للإجهاد بسبب أحد المعاملات السابقة تجعلها تكتسب مقاومة لتتحمل ظروف أقصى، ولكن عند زوال هذه الظروف فإن الخلايا تعود لحالتها الطبيعية وتفقد القدرة على المقاومة، وهناك عدة مصطلحات تستخدم لوصف ظاهرة التأقلم مع الإجهاد وهي:

أ. التأقلم مع الحموضة Acid Resistance or Acid Adaptation

ويحدث عند تعرض الخلايا لفترة محددة لظروف من الحموضة المتوسطة (مثل أس هيدروجيني: 5.0 إلى 5.8) يجعل هذه الخلايا قادرة على مقاومة أس هيدروجيني يصل إلى 2.5 أو أقل.

ب. ظاهرة تحمل الحموضة

Acid Tolerance or Acid Tolerance Response (ATR)

وتحدث هذه الظاهرة عند تعرض البكتيريا إلى حموضة متوسطة تجعلها قادرة على تحمل التعرض لأس هيدروجيني من 2.4 إلى 4.

ج. الاستجابة لصدمة الحموضة .Acid Shock Response (ASR)

وهي استجابة الخلايا البكتيرية إلى الأس الهيدروجيني المنخفض بدون تأقلم مسبق على أس هيدروجيني متوسط.

وهناك عدة دراسات أجريت على العديد من أنواع البكتيريا الممرضة المنتقلة عن طريق الأغذية لتوضيح عملية التأقلم مع الإجهاد. وفى أحد الدراسات تم تعريض بكتيريا *Escherichia coli* لجيل أو جيلين لأس هيدروجيني 5.0 حيث لوحظ أن الخلايا أصبحت قادرة على مقاومة أس هيدروجيني من 3.0 إلى 4.0 (ولكن ليس لأقل من 2) وبالمثل تعرض خلايا *E. coli* إلى درجة حرارة 50 م° جعلها قادرة على النجاة عند 60م°.

في دراسة أخرى وجد أن خلايا بكتيريا *Listeria monocytogenes* المتأقلمة حامضياً تنجو بشكل أفضل عند تعرضها إلى أس هيدروجيني 5.3 كما أنها أظهرت مقاومة للنيسن nisin أيضاً، وجد أيضا أن خلايا بكتيريا *L. monocytogenes* المعرضة لفترة وجيزة إلى 0.1 % من فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) أظهرت مقاومة للتركيزات العالية من هذه

المادة تصل إلى 0.5 % وكذلك استطاعت مقاومة 5% إيثانول و 7% كلوريد صوديوم وأس هيدروجيني 5 وقاومت أيضا درجة حرارة تصل إلى 45م° مقارنة بالخلايا الطبيعية (كنترول).

أجريت دراسة أخرى لتقدير قيمة زمن الاختزال العشري *D* (*D*-value) لبكتيريا *L. monocytogenes* و *Salmonella* serovars و *E. coli* O157:H7 وذلك بتعريض خلايا هذه البكتيريا إلى أس هيدروجيني منخفض يصل إلى 5 ثم وضعت هذه الخلايا في عصائر برتقال أو تفاح أو عنب تراوح الأس الهيدروجيني لهذه العصائر من 3.9 إلى 3.5 وتم التسخين على 56م°. وجد أن قيمة *D* (التي تعبر عن المقاومة للحرارة) في كل الحالات للبكتيريا المتأقلمة حامضياً قد زادت مقارنة بخلايا الشاهد وأن أكبر زيادة كانت لبكتيريا *L. monocytogenes* في عصير التفاح حيث كانت 5 دقائق مقابل 1.6 دقيقة للكنترول أو الشاهد، هذه النتائج تدل على أن تأقلم البكتيريا على الإجهاد يمكن أن يحدث في البيئات الغذائية وفي الأنظمة الغذائية ولذلك فإن المعاملات في صناعة الأغذية وطرق حفظ الأغذية التي قامت على القضاء على البكتيريا الطبيعية الممرضة والمفسدة للأغذية ربما ليست مناسبة للقضاء على البكتيريا المتأقلمة على الإجهاد.

1.2.27 ميكانيكية التأقلم مع الإجهاد Mechanisms of Stress Adaptation

ميكانيكية التأقلم مع الإجهاد في البكتيريا وغيرها من الكائنات الحية بإيجاز يعتقد أنها تقوم على أساس تخليق بروتينات تسمى بروتينات الإجهاد Stress Protein أو بروتينات الصدمة Shock Proteins والتي تعطي حماية للتركيبات الخلوية التي يمكن أن تتأثر نتيجة

الإجهاد مثل الحمض النووي DNA والكثير من الإنزيمات، وتقوم أنظمة جينية خاصة داخل الخلايا بالتحكم في إنتاج بروتينات الإجهاد والتعبير الجيني لها يبدأ بإنتاج عديد الببتيد الخاص Specific polypeptides أو عامل سقما (δ) Sigma factor، عند تعرض البكتيريا لإجهاد معين مثل درجة الحرارة يفتح الجين الخاص بالصدمة الحرارية *rpoH* للتأثير على إنتاج السقما بروتين الخاص بالصدمة الحرارية بكميات كبيرة والذي يقوم بالارتباط مع أنزيم البوليميريز RNA polymerase للحامض النووي RNA ليكون إنزيم البوليميريز الكامل والذي يرتبط بدورة مع المحفز Promoter الخاص بجين الصدمة الحرارية لإنتاج بروتينات الإجهاد بكميات كبيرة لحماية البكتيريا من التأثير الضار للإجهاد الحراري.

2.2.27 أهمية الكائنات الدقيقة المتأقلمة على الإجهاد في مجال الأغذية

أثناء التعامل مع الأغذية من المزرعة إلى المائدة يمكن أن تتعرض البكتيريا الممرضة والمفسدة المتواجدة في الأغذية لظروف عديدة غير مثلى للنمو وهذا يجعلها كما ذكر سابقاً تطور قدرات للمقاومة والنجاة أكثر من البكتيريا الطبيعية الغير مجهدة، ومن أهم تداعيات ظاهرة التأقلم ما يلي:

1.2.2.27 قدرة البكتيريا الممرضة والمفسدة للأغذية على البقاء والنجاة في الأغذية ذات الأس الهيدروجيني المنخفض

حيث وجد أن معظم البكتيريا الممرضة خاصة من الأصل المعوي والبكتيريا المفسدة

للأغذية خاصة السالبة لصبغة جرام تكون حساسة للأس الهيدروجيني المنخفض وتموت بسرعة في الأغذية الحامضية (أس هيدروجيني أقل من أو يساوى 4.5) أثناء التخزين، كذلك عند الأس الهيدروجيني المنخفض الخلايا الطبيعية تكون حساسة للمعاملات الأخرى مثل البسترة والمواد الحافظة وغيرها وذلك عندما تستخدم هذه المعاملات عند مستويات منخفضة في الأغذية ولكن إذا كانت الخلايا متأقلمة حامضياً فإنها تصبح مقاومة للمستويات المنخفضة للمعاملات الأخرى وبذلك تبقى حية وتنمو في الأغذية، وقد حدثت مؤخراً حالات من العدوى الغذائية ناتجة عن استهلاك أغذية حامضية مثل عصائر الفواكه والنقانق المخمرة وأغذية أخرى حامضية تحتوي خلايا حية من بكتيريا *Salmonella* و *E. coli* O157:H7 و*L. monocytogenes* والتي يعتقد أنها سلالات متأقلمة حامضياً استطاعت أن تنجو في الأس الهيدروجيني المنخفض والحرارة المنخفضة المحفوظة عندها هذه الأغذية، وللتغلب على هذه المشكلة يجب تجنب تعريض الأغذية إلى المعاملات المتوسطة أو استخدام عدة معاملات متوسطة لإحداث التأثير المطلوب.

2.2.2.27 نجاة البكتيريا الممرضة المتأقلمة حامضياً في معدة الإنسان

البكتيريا الممرضة والمسببة للعدوى الغذائية من أصل معوي تكون في الغالب حساسة لحموضة المعدة وتموت بسرعة ولذلك فإن العدوى بهذه البكتيريا لكى تحدث لابد من ابتلاع أعداد كبيرة منها تصل إلى 10^6خلية حية أو أكثر لمعظم الممرضات من أصل معوي Enteric Pathogens لتحدث العدوى في القناة المعوية Gastrointestinal (GI)

tract حيث ينجو فقط عدد قليل منها من حموضة المعدة. ولكن إذا كانت الخلايا الممرضة في الغذاء متأقلمة حامضياً فإن دخول عدد قليل منها إلى المعدة قد يحدث العدوى الغذائية لأنها تستطيع النجاة في المعدة وتصل حية إلى القناة المعوية ولذلك يجب تخفيض أو منع تواجد هذه البكتيريا المجهدة مسبقاً في الأغذية الجاهزة للأكل .Ready-to-eat food.

27 3.2.2 زيادة حيوية البادئات البكتيرية

البادئات البكتيرية عادةً تتعرض للتجميد أو التجفيد Freeze-drying قبل استخدامها لتصنيع المنتجات المتخمرة المختلفة مع ملاحظة أنها تحتوي على مستويات عالية من البكتيريا الحية غير أن حيوية البادئات المجفدة قليلة، كذلك هناك العديد من البكتيريا المستخدمة علاجياً أو غذائياً التي تسمى Probiotic bacteria تكون حساسة لحموضة المعدة وكذلك حساسة للأغذية ذات الأس الهيدروجيني المنخفض مثل اليوغورت وغيرة، ولذلك فإن تعرض البادئات لإجهاد متوسط يجعلها قادرة على النجاة أثناء العمليات التي تجرى عليها من التجميد أو التجفيد أو التعرض إلى أس هيدروجيني منخفض في المعدة أو في الأغذية الحامضية، كذلك الهندسة الوراثية يمكن أن تنتج بادئات قادرة على مقاومة الحموضة لتنجو الخلايا بشكل أفضل.

3.27 الضرر والإجهاد ما دون الموت Sub lethal stress and injury

يحدث الضرر أو الإجهاد ما دون الموت عندما تتعرض الخلايا إلى ظروف فيزيائية

وكيميائية غير مناسبة تخرج بهذه الخلايا إلى ما وراء المدى الطبيعي للنمو ولكن ليس في مدى الموت وينتج عن ذلك حدوث تغيرات عكسية في الأنظمة التركيبية والوظيفية للخلايا، يعتقد أن موت الخلايا الواقعة تحت الإجهاد ما دون الموت تكون عملية تدريجية ويمكن أن تكون عكسية أي أنها تزول عند زوال ظروف الإجهاد وتعود الخلايا لطبيعتها مالم تتقدم هذه المرحلة إلى حد بعيد، الشكل (1.27) والشكل (2.27)، كثير من العمليات التي تجري على الأغذية أثناء التصنيع والتخزين تضع الأحياء الدقيقة في هذه الحالة منها: البسترة والتجميد والتبريد وخفض النشاط المائي (التجفيف وإضافة الملح أو السكر) والتشعيع واستخدام الضغط الهيدروستانيكي العالي High hydrostatic pressure أو خفض الأس الهيدروجيني واستخدام المواد الحافظة مثل السوربات والبنزوات أو استخدام المطهرات (الكلور- مركبات الأمونيوم الرباعية) أو استخدام البيئات الميكروبيولوجية ساخنة (خاصة البيئات التخصيصية فوق 48م°).

حالة الضرر ما دون الموت لوحظت في عدة أنواع من خلايا البكتيريا والجراثيم وفي الفطريات والخمائر التي لها أهمية في مجال الأغذية من حيث قدرتها على إحداث المرض أو إفساد الأغذية وكذلك لوحظت في الأحياء الدقيقة المهمة ككواشف لصحة الأغذية، في العموم وجد أن البكتيريا السالبة حساسة للإجهاد اكثر من الموجبة والجراثيم البكتيرية أكثر مقاومة من الخلايا الخضرية.

1.3.27 خصائص البكتيريا في حالة الضرر دون الموت Sublethal Injury

بعد تعرض خلايا البكتيريا للإجهاد ما دون الموت فإنها تدخل في عدة حالات هي:

- خلايا عادية غير متضررة.
- خلايا متضررة ولكن بشكل قابل للانعكاس (يزول الضرر بزوال الإجهاد).
- خلايا متضررة ولكن بشكل غير قابل للانعكاس.

ونسب الخلايا الداخلة في هذه الحالات تختلف باختلاف نوع وسلالة الكائن الدقيق وطبيعة البيئة المتواجدة بها الخلايا وطبيعة ومدة الإجهاد الواقع على الخلايا، ومن أهم خصائص البكتيريا في حالة الضرر دون الموت:

أ. الخلايا المتضررة ما دون الموت تكون حساسة للكثير من المركبات التي لم تكن حساسة لها وهي في الحالة الطبيعية مثل اللتتراثيونات tetrathionate وحساسة للإنزيمات مثل اللاسوزوم والإنزيمات المحللة للحمض النووي RNA (lysozyme or RNase) وحساسة للمضادات الحيوية وللأصباغ وللحموضة.

ب. تفقد الخلايا مواد خلوية مثل +K والببتايد peptides والأحماض الأمينية و RNA وتموت هذه الخلايا تدريجياً عند تعرضها لظروف غير مناسبة.

ج. هذه الخلايا يمكن أن يحدث لها إصلاح repair وتستعيد نشاطها وقدرتها على النمو الطبيعي في البيئات الغنية غير التخصيصية وتحتاج إلى 1 إلى 6 ساعات ويعتمد ذلك على طبيعة الإجهاد ومستوى تضرر الخلايا.

د. جراثيم البكتيريا يمكن أن يحدث لها تضرر إذا تعرضت لتسخين أو للأشعة فوق البنفسجية UV والتشعيع ionizing radiation أو المعاملة بال hydrostatic pressure أو التعرض لبعض الكيماويات مثل حمض الهيدروليك أو بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 أو النيتريت، أيضا الجراثيم المتضررة injured spores تكون حساسة لكلوريد الصوديوم ولانخفاض الأس الهيدروجيني وثاني أكسيد النيتروجين NO_2 وحساسة للمضادات الحيوية ولجهد الأكسدة والاختزال ودرجة حرارة التحضين.

هـ. الجراثيم المتضررة تظهر أيضا إطالة في الإنبات وطول في طور النمو وكذلك تزداد الحاجة إلى بعض المغذيات الخاصة. وتختلف مظاهر التأثر للجراثيم المتضررة حسب طبيعة الإجهاد الواقع عليها.

2.3.27 موقع وطبيعة التضرر في الخلايا نتيجة الإجهاد

الإجهاد الواقع على الخلايا يسبب تخريب لبعض المكونات التركيبية والوظيفية فيها، وعند الإجهاد ما دون الموت Sublethal Stresses يتضرر جدار الخلية والغشاء السيتوبلازمي والحامض النووي الرايبوزومي rRNA والحامض النووي DNA وبعض

الإنزيمات، ووجد أن التخريب الذي يحدث لجدار الخلية والغشاء السيتوبلازمي يكون بسبب عمليات التجفيف والتجميد بينما التضرر الحادث لـ rRNA يكون بسبب عملية التسخين. أما تضرر الـ DNA فيكون بسبب التشعيع Radiation.

ومن أهم مظاهر التضرر الناتج عن الإجهاد في البكتيريا:

أ. يحدث تغيرات في خاصية كراهية الماء لسطح الخلايا Cell surface hydrophobicity في البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام نتيجة التجميد والتجفيف.

ب. يحدث فقد لطبقة البروتينات السطحية Surface layer proteins في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام.

ج. يحدث تغير في التركيبة الهيكلية لطبقة السكريات الدهنية العديدة Lipopolysaccharide (LPS) للبكتيريا السالبة لصبغة جرام المعرضة للإجهاد ما دون الموت وبذلك تفقد قدرتها على حجز المواد الكيميائية الضارة للخلية مثل أملاح الصفراء والمضادات الحيوية واللايسوزايم والأنزيم المحلل للحامض النووي RNA (bile salts, antibiotics, lysozyme, and RNase). التغير في التركيبة الهيكلية للسكريات الدهنية العديدة يكون بسبب فقد الأيونات ثنائية التكافؤ التي لها دور مهم في ثبات السكريات الدهنية العديدة.

د. في البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام يكون الغشاء السيتوبلازمي متماسك رغم

الإجهاد لكنة يفقد خاصية النفاذية كوظيفة مانعة permeability وبذلك الخلايا تصبح حساسة لكلوريد الصوديوم وتفقد المواد الخلوية المختلفة.

هـ. RNA الرايبوزومي (rRNA) في الخلايا المجهدة يتحلل بواسطة أنزيمات تحليل rRNase كما يتعرض الحامض النووي DNA للتحلل أيضا.

و. في بعض السلالات البكتيرية الإجهاد يسبب تنشيط لإنزيمات التحلل الذاتي autolytic enzymes مما يسبب تحلل الخلايا.

3.3.27 مظاهر تضرر الجراثيم

في الجراثيم البكتيرية وحسب نوع الإجهاد ما دون الموت فإن العديد من المكونات الوظيفة والتركيبية في الجراثيم يمكن أن تتضرر نتيجة الإجهاد.

أ. الحرارة العالية تسبب إضرار في الإنزيمات المحللة Lytic enzymes والتي لها أهمية في تحليل طبقة القشرة cortex قبل عملية الإنبات في الجراثيم وكذلك تؤثر الحرارة على تراكيب الغشاء الجرثومي وتؤدي إلى فقد وظيفة النفاذية كحاجز للحماية.

ب. تأثير أشعة جاما والأشعة فوق البنفسجية UV ينحصر في تحليل أو تكسير الحامض النووي DNA.

جـ. الحرارة مع الضغط الهيدروستاتيكي Hydrostatic pressure تدمر طبقة القشرة بينما

أشعة جاما γ-irradiation تدمر كلا من القشرة والحامض النووي DNA.

د. المعاملة بالحامض المعتدل أو القوى تجعل الجراثيم ساكنة بسبب إزالة أيون الكالسيوم الموجب من الجراثيم وتصبح حساسة للحرارة.

4.3.27 إصلاح ضرر الإجهاد أو التضرر القابل للانعكاس للخلايا

من أهم خصائص البكتيريا المتضررة من الإجهاد هو قدرتها على التخلص من هذا الضرر واستعادة حيويتها وطبيعتها عندما تتواجد في ظروف بيئية مناسبة، عملية إصلاح الضرر في الخلايا واستعادة النشاط تختلف في المدة حسب مستوى الضرر، وفي العموم الخلايا المتضررة تستعيد نشاطها أسرع في البيئات الغنية بمصادر الكربون والنيتروجين وعند الأس الهيدروجيني الأمثل ودرجة الحرارة المثلى. واعتماداً على نوع الإجهاد ما دون الموت فإن عملية النشاط الكامل للخلايا يمكن أن تُستعاد في فترة من 1 إلى 6 ساعات وعند درجة حرارة من 25 إلى 37 م°، عملية إصلاح (استعادة الحيوية) الخلايا المتضررة ومعدل هذا الإصلاح يمكن أن تقاس بعدة طرق خاصة منها:

أ. قياس استعادة مقاومة الخلايا المتضررة لبعض المواد ذات النشاط السطحي نتيجة إصلاح جدر الخلايا أو الغشاء الخارجي.

ب. تعليق الخلايا المتضررة من الإجهاد ما قبل الموت في بيئة تخصيصية وأخرى غير تخصيصية غنية ثم تقدير العدد الكلي للمستعمرات على فترات تحضين مختلفة في كلا البيئتين

لمعرفة معدل الإصلاح في الخلايا المتضررة، ستفشل الخلايا المتضررة في البداية في النمو في البيئة التخصيصية وستنمو جيداً في البيئة الغير تخصيصية ولكن مع حدوث إصلاح تدريجي للخلايا معدل نموها في البيئة التخصصية سيزداد.

ج. الجراثيم المتضررة حرارياً أو بواسطة الإشعاع أو المواد الكيميائية تحتاج زمن أطول لإصلاح الضرر مقارنة بالمتضررة من الحرارة المنخفضة. ووجد أن الخلايا المتضررة من عملية التجميد والتجفيد معدل استعادة نشاطها أسرع مقارنة بالخلايا المتضررة من عملية التسخين.

ظروف عملية إصلاح الجراثيم المتضررة تختلف باختلاف نوع الجراثيم (جراثيم لأنواع بكتيريا هوائية أو غير هوائية). ولإصلاح الجراثيم المتضررة لابد من توفر بيئة لها مصدر كربون ونيتروجين جيد، إضافة إلى بعض المواد مثل النشا ومواد مختزلة مثل السستين واللايسوزايم وبعض الكاتيونات يكون ضروري لإزالة الضرر في الجراثيم، درجة الحرارة والظروف الهوائية يجب أن تكون مثلى للنوع حتى يتم إصلاح الخلايا.

5.3.27 التضرر في الخمائر والأعفان

هناك دراسات قليلة في هذا الشأن، التجميد والتسخين على درجة حرارة منخفضة والتشعيع سبب ضرراً للخلايا الخضرية لكل من *Saccharomyces* و*Kluyveromyces* و*Candida* و *Aspergillus* و *Penicillium* و .*Rhizopus* spp، جراثيم الفطريات تتضرر من التشعيع. ومن أهم علامات التضرر هي زيادة حساسية الفطريات للظروف الانتقائية،

والغشاء الخلوي يكون أهم موقع للتضرر، إصلاح الضرر والعودة للحالة الطبيعية يحتاج بيئة غنية غير تخصصية.

6.3.27 أهمية الأحياء الدقيقة المتضررة ما دون الموت في الأغذية

الكثير من المعاملات الفيزيائية والكيميائية التي تجرى على الأغذية وكذلك عمليات التنظيف لمعدات الأغذية تجعل الخلايا الميكروبية في حالة ما يسمى بالتضرر ما دون الموت sublethal injury وهذه الحالة مهمة في مجال ميكروبيولوجي الأغذية للأسباب التالية:

أ. من المعروف أن خلايا البكتيريا المتضررة ما قبل الموت سواءً كانت ممرضة أو مفسدة للأغذية إذا تواجدت في الأغذية يمكن أن تستعيد نشاطها من جديد بمجرد توفر ظروف مناسبة للنمو وتسبب المرض للمستهلك أو تسبب فساد للأغذية، ومن المهم الكشف عنها في الأغذية ولكنها لا تنمو في البيئات التخصصية ولذلك الأغذية يمكن أن تحوي بكتيريا ممرضة أو مفسدة للأغذية ولكن نتائج التحليل الميكروبي تكون سلبية مما يشكل خطراً على الصحة العامة وكما أن لها مدة حفظ أقصر، وللتغلب على هذه المشكلة لابد من إعادة نشاط وحيوية الخلايا المتضررة عن طريق إجراء زرع في بيئات غنية غير تخصصية للسماح لها باستعادة نشاطها قبل استخدام البيئات التخصصية، هذه العمليات أيضا مهمة لتصميم العمليات مثل المساعدة في استخدام درجات حرارة مناسبة لفترات مناسبة للقضاء على هذه الميكروبات المفسدة والممرضة للإنسان.

ب. زيادة مدة صلاحية الأغذية

الخلايا المتضررة تكون حساسة للظروف الفيزيائية والكيميائية التي قد تتعرض لها، هذه الظروف مثل درجات الحرارة المنخفضة والأس الهيدروجيني المنخفض والمواد الحافظة يمكن أن تستخدم لقتل الخلايا والجراثيم المتضررة وبذلك تكون غير قادرة على إصلاح الضرر واستعادة نشاطها وبالتالي تقل قدرتها على النمو وإفساد الأغذية.

ج. زيادة حيوية البادئات

البادئات المستخدمة في تصنيع بعض المنتجات الغذائية تكون محفوظة على هيئة مركزات بالتجميد أو تحفظ بالتجفيد ومن المعروف أن هذه المعاملات تؤدي إلى تضرر خلايا البادئات وتفقدها الكثير من حيويتها، من خلال دراسة الميكانيكية المسؤولة عن موت الخلايا وتضررها يمكن حل هذه المشكلة بتقليل الموت والتضرر للخلايا وإطالة مدة حفظها دون انخفاض حيويتها أو خصائصها المرغوبة.

4.27 الخلايا الحية غير القابلة للنمو: Viable but not culturable (VBNC)

تحت الظروف غير المناسبة بعض خلايا البكتيريا تبقى حية ولكنها غير قادرة على النمو في البيئات الصناعية الموصى بها مالم تتعرض لعملية تنشيط مسبقة. هذه الظاهرة لوحظت في خلايا بكتيريا *Vibrio vulnificus* و *V. Cholerae* و *V. Parahaemolyticus* و *Salmonella* serovars و *E. coli* O157:H7

و *Campylobacter jejuni* و *Enterococcus faecalis* و *Shigella dysenterie* و *Helicobacter pylori* و *Pseudomonas fluorescens* التي تعاني نقص في المغذيات وكذلك لوحظت في البكتيريا المتعرضة لدرجات حرارة منخفضة أو لمياه البحر أو لمحلول الفوسفات المنظم أو للعاب، ولأن هذه الظاهرة لوحظت في بعض البكتيريا الممرضة المنتقلة عن طريق الأغذية فإن هناك مخاوف من تواجدها في الأغذية في هذه الحالة أي في حالة حية غير قابلة للنمو حيث يمكن أن تنشط هذه البكتيريا مرة أخرى تحت الظروف المناسبة وتتكاثر وبعد استهلاك الغذاء تسبب المرض للإنسان، الشكل (1.27) والشكل (2.27). هناك عدة تعريفات علمية لبعض المصطلحات المتعلقة بهذه الظاهرة يجب الإلمام بها وهي:

– الحيوية Viability: وتعني أن الخلايا تكون نشطة أيضياً وقادرة على التكاثر والنمو في الظروف المناسبة.

– النشطة أيضياً Metabolically Active: الخلايا قادرة على القيام ببعض العمليات الأيضية ولكنها ليست بالضرورة قادرة على النمو والتكاثر.

– عدم القدرة على النمو Nonculturability: عدم قدرة الخلايا على النمو تحت أي ظروف.

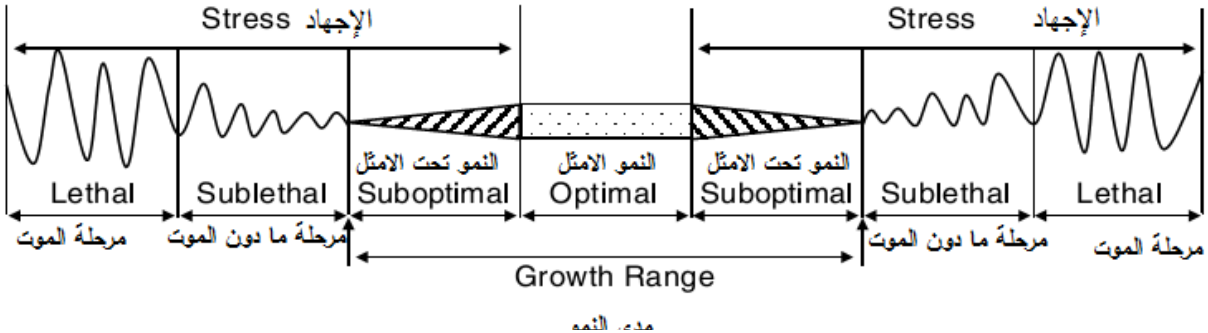
– الخلايا الميتة Dead Cells: الخلايا تكون غير قادرة على النمو في الظروف المثلى.

– إعادة الإنعاش أو النشاط: Resuscitation

خلايا نشطة ميتابولزمياً تتغير من حالة عدم القدرة على النمو في ظروف بيئية معينة إلى حالة قادرة فيها على النمو في بيئة أو ظروف أخرى، وبذلك فإن مصطلح الخلايا الحية غير القادرة على النمو (VBNC) تشمل الخلايا التي تفشل في النمو في البيئة التخصصية لها وتنمو في بيئة أخرى، وبعد عملية الإنعاش تستطيع الخلايا أن تنمو في الظروف الخاصة بها أي في البيئة التخصصية الخاصة بها.

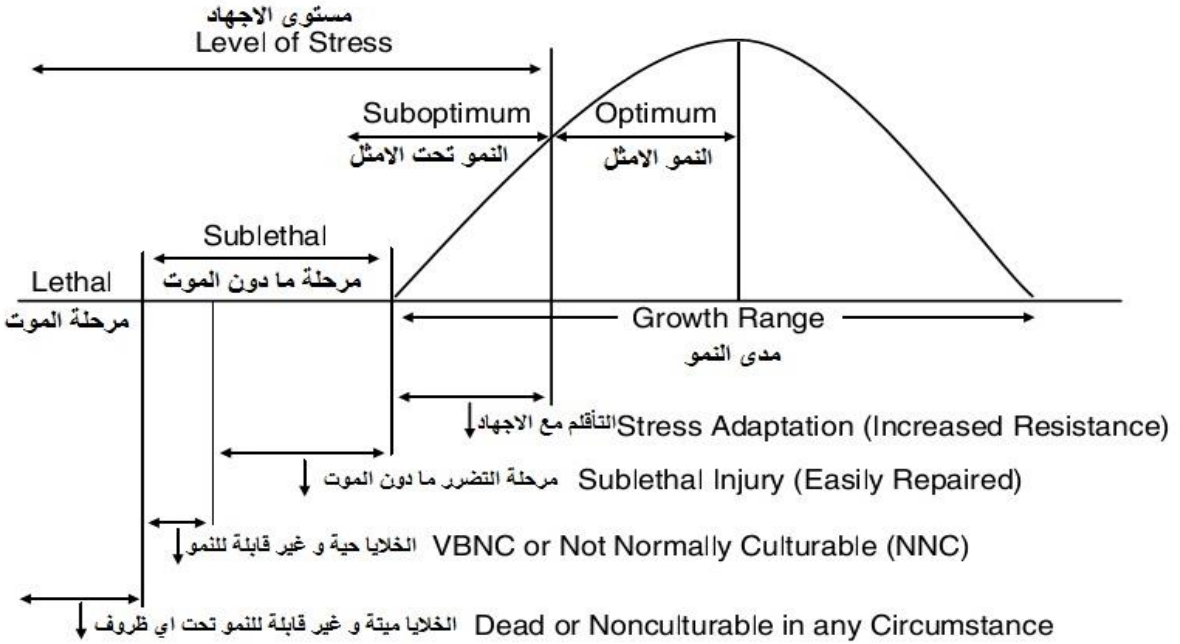
1.4.27 أهمية الأحياء الدقيقة الحية غير القابلة للنمو في مجال الأغذية

الخلايا التي تدخل مرحلة تكون فيها حية غير قادرة على النمو (VBNC) لا يمكن الكشف عنها بالطرق الميكروبيولوجية الموصى بها وباستخدام البيئات التخصصية ولذلك يمكن أن تتواجد البكتيريا الممرضة أو المفسدة في الأغذية على حالة حية غير قابلة للنمو ولا يمكن الكشف عنها في البيئات التخصصية وتكون النتيجة سالبة مع أن البكتيريا الممرضة أو المفسدة للأغذية قد تكون متواجدة ولذلك يجب على العاملين في هذا المجال تطوير طرق لنشيط البكتيريا وتطوير طرق الكشف عنها وتعريفها أذا وجدت في الغذاء لحماية المستهلك ولتقليل الخسائر الاقتصادية نتيجة فساد الأغذية.



شكل (1.27) : مستويات أو درجات مختلفة من الإجهاد يمكن أن تتعرض له خلايا البكتيريا أثناء عملية التصنيع والحفظ للأغذية. البكتيريا المتعرضة لظروف تحت المثلى تظهر تأقلم للإجهاد– ما بعد مدى النمو الخلايا أما تتعرض لمرحلة ما دون الموت أو الموت

المصدر: عن RAY (2004)



شكل (27.2): رسم تخطيطي يوضح الاستجابات المختلفة للبكتيريا عند تعرضها لإجهاد نتيجة لظروف ما بعد المدى الأمثل لنمو

المصدر: عن **RAY (2004)**

الفصل الثامن والعشرون

الطبقة الحيوية

Biofilm

1.28 مقدمة

الطبقة الحيوية هي عبارة عن تجمع معقد للأحياء الدقيقة على سطح حي أو خامل يتميز بإفراز نسيج لاصق وحامي خارج الخلايا، ومن المعروف أن الخلايا تتواجد بطريقتين: أم أن تعيش حرة عائمة في البيئة السائلة Planktonic cells التي تتواجد بها أو أن تكون متجمعة وملتصقة بشدة مع بعضها البعض. وفي الأغلب تلتصق هذه الخلايا لتكون ما يعرف بالطبقة الحيوية. وتتواجد الطبقة الحيوية عادة على سطوح صلبة مغمورة أو معرضة لبعض السوائل. الأحياء الدقيقة على الأسطح الرطبة لديها القدرة على التجمع والنمو في مستعمرات وإنتاج ما يسمى بالطبقة الحيوية Biofilm، ولذلك تعرّفْ على أنها عبارة عن تجمع من الكائنات الدقيقة محاطة بطبقة لزجة من السكريات العديدة التي تم إفرازها خارج الخلايا Extracellular polysaccharides (EPS) وملتصقة ببعضها، الطبقة الحيوية تتكون من الخلايا الميكروبية والسكريات والمخلفات العالقة مع هذه المكونات.

والطبقة الحيوية واسعة الانتشار في الطبيعة ومن المعروف أن أكثر من 99% من البكتيريا تعيش في طبقة حيوية لأن الخلية الميكروبية تميل إلى التشبث أو الالتصاق Attachment بالأسطح الرطبة عندما تتلامس معها من أجل أن تنافس الأحياء الدقيقة الأخرى على المكان والمغذيات وكذلك لمقاومة الظروف غير المناسبة. وعند الظروف المناسبة معظم الخلايا الميكروبية تستطيع الالتصاق أو التعلق بالأسطح الصلبة. وقد تحتوي الطبقة الحيوية على عدة أنواع من الأحياء الدقيقة مثل البكتيريا والفطريات والأوليات والطحالب

والآشينات، ومن أمثلة الطبقة الحيوية الترسبات الجيرية على الأسنان والمادة اللزجة على الأحجار القريبة من الأنهار ويمكن أن تتكون في قاع المجاري وتتكون أيضا على سطوح البرك الراكدة.

2.28 ميكانيكية تكون الطبقة الحيوية

تتكون الطبقة الحيوية على عدة مراحل وهي:

1.2.28 تهيئة السطح Surface conditioning

تتغير الأسطح النظيفة المغمورة في المحاليل بسرعة عن طريق ادمصاص الجزيئات العضوية والأيونات المشحونة charged ions وهذه العملية تسمى التهيئة preconditioning، ويحدث هذا الادمصاص في خلال ثواني من تعرض الأسطح للسوائل. ولكي يحدث الادمصاص لابد من أن يكون لهذه الأسطح طاقة حرة عالية High free energy.

جزيئات البروتين الكبيرة الكارهة للماء تُدمص أفضل على الأسطح ذات الطاقة الحرة العالية بينما الأحماض الدهنية تُدمص أفضل على أسطح البللمرات الكارهة للماء، الحليب ومكوناته يُدمص على السطح خلال 5 إلى 10 ثواني لتكون طبقة تشجع أو تمنع الالتصاق البكتيري.

وجد أن ارتباط بكتيريا *L. monocytogenes* و *S. typhimurium* بالصلب غير

القابل للصدأ stainless steel تم تثبيطه بتعرض السطح للحليبِ الكاملِ وحليب الشوكولاتة Chocolate milk بينما زادت قدرة البكتيريا على الالتصاق عندما تعرض السطح إلى الحليب المخفف Diluted milk.

28 2.2 الالتصاق Attachment

ارتباط الأحياء الدقيقة بالسطوح وتكوين الطبقة الحيوية عملية معقّدةَ جداً وتتأثر بعِدّة متغيّرات وعُموماً الارتباط سَيَكون أكثر بسهولة على الأسطحِ الأكثر كراهية للماء hydrophobic والأخشن.

التصاق البكتيريا بالأسطح الرطبة يمكن أن يحدث أما بالجاذبية أو الانتشار أو مع حركة السوائل أو بالالتصاق النشط حيث يقوم سطح الخلية بتسهيل عملية الالتصاق الابتدائي بواسطة زوائد أو جزيئات الالتصاق الخلوي مثل الأسواط Flagella والأهداب pili والبروتين اللاصق adhesion protein أو الكبسولة capsules والشحنات على سطح الخلية. تحدث عملية الالتصاق غالباً خلال 5 إلى 30 ثانية وتحدث على مرحلتين:

أ. التصاق قابل للانعكاس Reversible attachment

وهو عبارة عن تفاعل ضعيف ما بين البكتيريا وسطح الالتصاق الرطب وتتحكم فيه قوى ضعيفة مثل الروابط الالكتروستاتيكية وروابط فإن در ويلز (Electrostatic and Van der Waals forces) ولذلك يمكن أن يفك هذا الارتباط

بسهولة من على الأسطح بواسطة قوى الحك أو القَشْط (Scrubbing or Scraping) المتوسطة.

ب. التصاق غير قابل للانعكاس Irreversible attachment

الالتصاق أو الارتباط الغير عكسي هو عملية فسيولوجية تحت التحكم الجيني. الدِراسات على *E. coli* و *S. aureus* و *S. epidermis* أوضحت أن الجينات المسؤولة عن إنتاج البروتينِ السطحي surface protein لارتباط أو الالتصاق بالأسطح وإنتاج مادة المخاط الخارجي EPS (EPS production) تنشط وتحفز كنتيجة للاستجابة للتغيرات في البيئة المحيطة مثل الحمل الميكروبي population density والإجهاد stress أو نقص المغذيات nutrient limitation.

تفرز الخلية جزيئات معقدة من السكريات العديدة لترتبط أو تلصق نفسها بسطح الغذاء أو معدات الأغذية وتنغمس بها الزوائد السطحية للخلايا مثل الأسواط flagella والأهداب pili وهذه المرحلة غير عكسية ولا يمكن إزالة الالتصاق بسهولة ويحتاج لإزالتها لاستخدام قوى حك أو فرك قوية أو تكسير كيميائي مثل استخدام أنزيمات أو منظفات أو مطهرات أو حرارة، وتقوم الخلايا الملتصقة بتسهيل وصول خلايا أخرى جديدة والتصاقها بها عن طريق وجود النسيج الخارجي.

ج. تكوين طبقة لزجة من إفرازات خارج الخلايا Extracellular polymeric substances

.(Slime Glue-like)

أظهرت عدة دراسات انه عند الظروف المناسبة كثير من الأحياء الدقيقة المهمة في مجال الأغذية يمكن أن تكون طبقة حيوية، عدة أنواع وسلالات من بكتيريا *Pseudomonas* وجد أنها تستطيع الالتصاق على أسطح الصلب غير القابل للصدأ stainless steel المستخدم في تصنيع معدات الأغذية بعضها خلال 30 دقيقة عند درجة 25مْ وتحتاج ساعتين على4 مْ، وجد أن *Listeria monocytogenes* تستطيع أن تلتصق بسطح الصلب الغير قابل للصدأ والزجاج والمطاط خلال 20 دقيقة من التلامس معه. كما أن كثير من الأحياء الدقيقة الممرضة والمفسدة للأغذية تستطيع الالتصاق على سطح لحوم الأبقار والدواجن والأغنام وغيرها مثل *L. monocytogenes* و *Micrococcus* spp و *Bacillus* spp. و *Lactobacillus* spp. و *Brochothrix thermosphacta* و *Escherichia coli* و *Serratia*. spp و *Pseudomonas* spp. و *Salmonella* spp. و *Clostridium* spp. و *Staphylococcus* spp.

ووجد Wijman وآخرون (2007) أن بكتيريا *B .cereus* يمكنها أن تكون طبقة حيوية على أنظمة الأنابيب في مصانع الألبان وتعمل كمصدر مستمر لتلويث الألبان بجراثيم هذه البكتيريا حيث تحمي الطبقة الحيوية الجراثيم من تأثير مواد التطهير.

1.2.2.28 العوامل المؤثرة على عملية الالتصاق attachment الميكروبي بالأسطح

أ. خصائص سطح الالتصاق

تعتمد القدرة القصوى لارتباط البكتيريا بالأسطح على الطاقة الحرة لهذه الأسطح أو على قابلية الأسطح للتبلل أو الترطيب بالماء wettability. الأسطح ذات الطاقة الحرة العالية مثل الزجاج glass والصلب غير القابل للصدأ stainless steel تكون محبة للماء hydrophilic أكثر وتسمح بالتصاق البكتيريا بها بشكل أكبر وتكوين الطبقة الحيوية مقارنة بالأسطح الكارهة للماءhydrophobic surfaces مثل النايلون nylon والتفلون Teflon والمطاط buna-N rubber والبلميرات المفلورة fluorinated polymers.

Smoot & Pierson (1998) لاحظا أن الالتصاق المبدئي لبكتيريا *L. monocytogenes* على الصلب غير القابل للصدأ كان أسرع مقارنة بالمطاط على الرغم من أن الالتصاق بالمطاط كان أقوى. كما وجد أن عملية التنظيف أيضا يمكن أن تؤثر في خواص سطح الالتصاق حيث لاحظ Boulange-Peterman وآخرون (1993) و Sinde & Carballo (2000) أن عملية تنظيف الصلب غير القابل للصدأ تغير من خواصه بشكل مؤقت. وعلى سبيل المثال التنظيف باستخدام قلوي alkali أو حامض قوي strong acid يجعل سطح الصلب محب للماء hydrophilic بينما استخدام الأحماض الضعيفة يجعله كارها للماء hydrophobic، وعندما يتعرض الصلب إلى الهواء أو الماء تتكون طبقة من أكسيد الكروميم Chromium oxide، حيث ترتبط بها الأوساخ وتكون

طبقة تُسّهل من التصاق البكتيريا. أن نوع مادة السطح لها تأثير على نمط التصاق البكتيريا حيث وجد أن البكتيريا تميل لتكوين طبقة أحادية متجانسة uniform monolayer على الأسطح المحبة للماء وتكون كتل Clumps على الأسطح الكارهة للماء، إذا كانت اسطح معدات الأغذية خشنة أو احتوت على عيوب فإنها يمكن أن تحتفظ أكثر بالفضلات التي تأوي أو تغذي البكتيريا كما أن خشونة الأسطح قد توفر مأوى للبكتيريا وتحميها من تأثير عمليات التنظيف والتطهير.

ب. زمن التلامس أو التماس contact time ما بين الأحياء الدقيقة واسطح معدات الأغذية مهم لالتصاق البكتيريا الغير قابل للانعكاس بهذه الأسطح. وجد أن سلالة بكتيريا *L. monocytogene* (1/C2) الأكثر انتشاراً في مصانع الأغذية لها قدرة جيدة على الالتصاق وتحتاج زمن قصير لذلك. وجد أن عدد الخلايا الملتصقة بسطح اللحوم ترتبط مباشرة مع زمن التلامس وتركيز الخلايا البكتيرية في البيئة.

ج. خصائص سطح الخلية البكتيرية

قدرة الخلايا البكتيرية على الالتصاق بالأسطح تتأثر بالخصائص الفيزوكيميائية physicochemical properties لسطح الخلية والتي تتأثر بدورها بعدة عوامل منها معدل النمو الميكروبي وبيئة النمو وظروف النمو مثل درجة الحرارة والزمن. البكتيريا تتصرف كجزيئات تحمل شحنة سالبة وكارهة للماء hydrophobic particles وهذه الخاصية يمكن أن تتغير بتغير طور النمو حيث تنخفض هذه الخاصية بزيادة معدل النمو، كلما كانت

ظروف النمو مثلى للكائن كلما كان الالتصاق الميكروبي وتكوين الطبقة الحيوية أسرع. ووجد أن درجة حرارة النمو العاليةِ ترتَبط بزيادة القدرةِ على الالتصاق أو الارتباط من المحتمل بسبب إنتاجِ بروتينِ الإجهادِ الحراري Heat Stress Proteins المرتبط بسطحِ الخليةَ. الجراثيم Spores تلتصق بالأسطح الملامسة للأغذية أفضل من الخلايا الخضرية بسبب ارتفاع خاصية كراهية سطحها للماء High hydrophobicity.

الزوائد من الغشاء الخلوي مثل السكريات الدهنية العديدة lipopolysaccharide وحمض التشيوك الدهني lipoteichoic acids تلعب دوراً هاماً في عملية الالتصاق الميكروبي بالأسطح حيث وجد أن فقد بكتيريا *E. coli* لـ lipopolysaccharide أدى إلى نقص في قدرة الخلايا على الالتصاق أو الارتباط بالأسطح.

د. نوع الكائن الدقيق

أوضحت بعض الدراسات أن البكتيريا السالبة لصبغة جرام مثل *Proteus* و.*Pseudomonas* spp أكثر قدرة على الالتصاق وأسرع في تكوين الطبقة الحيوية على سطح اللحوم والذبائح من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مثل *Lactobacillus*, و *Staphylococcus* و .*Micrococcus* spp. وجدت بعض الدراسات أن تنمية كل من *L. monocytogenes* و .*Flavobacterium* sp مع بعضهما يؤدي إلى زيادة قدرة *L. monocytogenes* على الارتباط بسطح الصلب غير القابل للصدأ، كما وجد أن تنمية *L.monocytogenes*. و *Pseudomonas fragi* مع بعضهما تؤدي إلى إنتاج طبقة حيوية

اكثر صلابة وتعقيداً مما لو نميت كلا منهما على حدا.

هـ. نوع الغذاء

أوضحت بعض الدراسات التي أجريت على اللحوم أن البكتيريا لها قدرة على الارتباط بالأنسجة الخالية من الدهن أكثر من التصاقها بالأنسجة الدهنية، كذلك بينت الدراسات أنه ليس هناك اختلاف في سرعة الالتصاق ما بين أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام على سطح الجلد أو العضلات للأنواع المختلفة من الأغذية الحيوانية والطيور. كما وجد أن الجلوكوز وحامض اللاكتيك في وسط النمو يؤديان إلى نَقصَ الكهربائية السالبة electronegativity للجدار الخلوي لبكتيريا *L. monocytogenes* من خلال معادلة الشحنة السالبة وإنتاج بروتينِ مقاوم للإجهادِ الحامضي acid stress proteins، ووجد أن بكتيريا *L. monocytogenes* النامية في بيئة تحتوي على التربتون tryptone أقل قدرة ارتباط أو التصاق من تلك النامية في وجود الأحماض الأمينية.

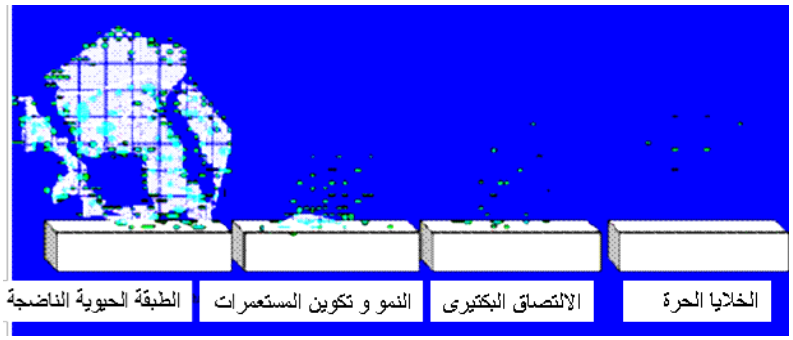
3.2.28 نمو الطبقة الحيوية Growth of biofilm

النمو وتكوين المستعمرات يحدث بعد عملية الالتصاق الغير قابل للانعكاس وتوفر ظروف نمو مناسبة حيث تنمو الأحياء الدقيقة وتتجمع ويكون النمو مصحوباً بتكوين نسيج خارج الخلايا يتكون من مواد متبلمرة Extracellular polymeric substances (EPS) التي تعمل على زيادة التصاق الخلايا بالسطح ومع بعضها البعض ويعطيها صلابة وحماية من

العوامل المحيطة. ووجد أن هذه المواد تُفرز أيضا كاستجابة لعملية الالتصاق البكتيري وكاستجابة للظروف المحيطة مثل الضغط الأسموزي والأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة ونقص المغذيات.

4.2.28 نضج الطبقة الحيوية Maturation of the biofilm

إذا توافرت ظروف النمو المناسبة فإن الطبقة الحيوية يمكن أن تطور تركيبات منتظمة وتسمى هذه العمليات نضج الطبقة الحيوية، الطبقة الحيوية الناضجة يمكن أن تتكون من طبقة أحادية من الخلايا في بوللمرات مسامية أو عدة مستعمرات متفككة مرتبطة مع بعضها بواسطة نسيج المواد المبلمرة الخارجية EPS تتخللها قنوات مائية لتوزيع الغذاء وإشارات الاتصال بين الخلايا داخل الطبقة الحيوية، النسيج يمكن أن يصبح قوى جداً ومتحجر في بعض الأحيان والشكل (28-1) يوضح مراحل تكوين الطبقة الحيوية.



شكل (1.28) مراحل تكوين الطبقة الحيوية

المصدر: **FRANK & CHMIELEWSKI (2003)**

3.28 مشاكل الطبقة الحيوية في مجال الأغذية

قدرة الخلايا الميكروبية على الالتصاق بالأسطح الصلبة وتكوين الطبقة الحيوية لها عدة تداعيات على الجودة الميكروبية وسلامة الأغذية، ومن المشاكل الناجمة عن الطبقة الحيوية:

1.3.28 التلوث

البكتيريا المسبّبة المرض يُمْكِنُ أَنْ تَتعايشَ ضمن الطبقة الحيوية مع الأحياء الدقيقة الأخرى Microflora biofilm مثال ذلك إن بكتيريا *L. monocytogenes* تنجو في الطبقة الحيوية التي تكونها *Pseudomonas*. الطبقة الحيوية أصعب في الإزالة مِنْ السطوحِ وبيئاتِ تحضيرِ الأغذية بسبب إنتاج مواد EPS وصعوبات تنظيف أجهزةِ التصنيع المعقّدةِ، والأحياء الدقيقة الملتصقة على أسطح المعدات المستخدمة في صناعة الأغذية والمتواجدة في طبقة حيوية تكون أكثر مقاومة للمطهرات المستخدمة في مجال الأغذية والتي تكون فعالة ضد الميكروبات الحرة Planktonic الغير متواجدة في طبقة حيوية كما أن مواد التطهير يصعب وصولها إليها مما يجعلها مصدر مستمر لتلوث المنتجات الغذائية بالبكتيريا الممرضة للإنسان والمفسدة للأغذية وهذا يزيد من المخاطر الصحية كما يؤدي إلى سرعة فساد الأغذية وزيادة الخسائر الاقتصادية.

2.3.28 صعوبة التنظيف والتطهير

البكتيريا في الطبقة الحيوية تختلف في خصائصها عن البكتيريا التي تعيش حرة عائمة حيث تكتسب البكتيريا في الطبقة الحيوية قدرة على مقاومة المنظفات الكيميائية والمطهرات والمضادات الحيوية، صلابة الطبقة الحيوية تجعل عملية إزالتها صعبة كما أنها توفر حماية للأحياء الدقيقة المتواجدة بها. الطبقة الحيوية تعطي الأحياء الدقيقة حماية ضد الطرق الفيزيائية لإزالة الخلايا بواسطة الغسل والتنظيف لأن الخلايا تبدي مقاومة كبيرة للمطهرات والحرارة، وهكذا فإن الأحياء الدقيقة الممرضة والمفسدة للأغذية الملتصقة على أسطح الأغذية مثل اللحوم والأسماك والخضروات والفواكه لا يمكن إزالتها بواسطة الغسيل مما يؤدي إلى احتمال تكاثرها على الأغذية مسببة انخفاض في جودتها.

3.3.28 إضعاف أنظمة تبريد المياه والأنظمة المتعاملة مع السوائل في مصانع الأغذية

وجود الطبقة الحيوية والبلمرات العديدة المفرزة خارج الخلايا EPS (Extracellular Polymeric Substances) في أنظمة تبريد المياه والأنظمة المتعاملة مع السوائل في مصانع الأغذية يؤدي إلى أضعاف نقل الحرارة وتآكل الأسطح المعدنية كما أن البلمرات العديدة المفرزة تكون أرضية لمزيد من الأحياء الدقيقة لتلتصق بها.

4.28 طرق التحكم في الطبقة الحيوية

الطبقة الحيوية المتكونة من الميكروبات على سطح الأغذية أو معدات الأغذية

تستطيع أن تقاوم طرق الإزالة التي تكون فعالة عادةً ضد الخلايا الحرة (الغير متواجدة في طبقة حيوية) ولذلك فإن إجراء تعديل على طرق التنظيف أو التطهير لأسطح معدات الأغذية اصبح أمر ضروري للتغلب على هذه المشكلة. والاتجاه الآن هو منع عملية تكوين الطبقة الحيوية بدلاً من معالجتها بعد التكوين. ومن أهم الاستراتيجيات المتبعة للتحكم في الطبقة الحيوية ما يلي:

1.4.28 التنظيف والتطهير Cleaning and disinfection

من المهم إجراء عملية التنظيف والتطهير في مجال صناعة الأغذية بشكل سريع ودون إبطاء وباستمرار حتى لا يُسمح بتكون الطبقة الحيوية والتي يصعب إزالتها، وعملية التنظيف خطوة أساسية لضمان صحية معدات تصنيع الأغذية ولذلك فإن من المهم إزالة بقايا الأغذية والرواسب الأخرى والتي قد تحتوي أحياء دقيقة أو تشجع أحياء دقيقة أخرى على النمو. مواد التنظيف المستخدمة هي المواد ذات النشاط السطحي أو مواد قلوية بهدف إذابة وتعليق متبقيات الأغذية بواسطة خفض التوتر السطحي أو استحلاب الدهون ودنترة الدهون، عملية التنظيف الفعالة يجب أن تزيل نسيج المواد المتكونة من البلمرات المفرزة خارج الخلايا حتى تستطيع المطهرات أن تصل للبكتيريا الحية. عملية التنظيف يفترض أن تزيل 90% أو أكثر من الأحياء الدقيقة المتواجدة على الأسطح ولكن لا يعتمد عليها لقتل الأحياء الدقيقة. وعملية التطهير هي استخدام المواد المضادة للأحياء الدقيقة للقضاء عليها والتي لم يتم إزالتها بعملية التنظيف، والمطهرات تكون فعالة في غياب المواد العضوية مثل

البروتين والدهن والكربوهيدرات التي يجب أن تزال بعمليات التنظيف الجيدة. المطهرات يجب أن تكون فعالة آمنة وسهلة الاستخدام ويمكن إزالتها بسهولة من على الأسطح بواسطة الشطف ولا تترك أي رواسب سامة تؤثر على جودة المنتج أو خواصه الحسية، ويتوقف اختيار المواد المطهرة في مصانع الأغذية على المواد المصنع منها معدات الأغذية وعلى نوع الميكروب.

2.4.28 الاستراتيجية الخضراء للتحكم في الطبقة الحيوية

أ. استخدام المنظفات ذات الأساس الإنزيمي Enzyme-based detergents والتي تعتبر من المنظفات الحيوية Bio-cleaners وتعرف كذلك بالكيماويات الخضراء ''Green Chemicals'', التي يمكن استخدامها لمكافحة الطبقة الحيوية، ونظراً لأن البلمرات العديدة المفرزة خارج الخلايا EPS مادة غير متجانسة فإن مجموعة من الأنزيمات تستخدم لتحليل وتكسير الطبقة الحيوية مثل الأنزيمات المحللة للبروتين Proteolytic enzymes وGlycolytic، كما يمكن استخدام الأنزيمات مع المطهرات والمنظفات لإعطاء نتائج أفضل لإزالة الطبقة الحيوية، ونظراً لتخصص الأنزيمات وعدم وجود أنزيم واحد يقضي على كل أنواع الطبقات الحيوية فإن استخدام تركيبة من عدة أنواع من الأنزيمات يمكن أن يكون فعّال للتحكم في تكوين الطبقة الحيوية ولكن الأنزيمات تعتبر مكلفة مقارنة بالمواد الكيميائية، ولإزالة الطبقة الحيوية عادةً تستخدم أولاً أنزيمات محللة مناسبة Hydrolyzing enzymes ثم تستخدم EDTA مع مركبات الأمونيوم الرباعية.

3.4.28 معدات التصنيع

معدات التصنيع يجب أن تصمم بطريقة خاصة تمنع أو تتحكم في تكوين الطبقة الحيوية. التحكم في عملية الالتصاق على الأسطح الصلبة للأغذية يتطلب إجراءات تحكم أُخر مثل استخدام مواد حافظة وخفض النشاط المائي وخفض الأس الهيدروجيني والتبريد حيث يمكن أن تستخدم أثنين معا أو أكثر من هذه الإجراءات لمنع تكوين الطبقة الحيوية على الأغذية.

4.4.28 التحكم بواسطة استخدام البكتيريوفاج

البكتيريوفاج عبارة عن فيروسات تصيب البكتيريا ويمكنها أن تستخدم كطريقة آمنة وطبيعية ومناسبة للتحكم في تكوين الطبقة الحيوية، المعلومات عن هذا الجانب قليلة كما أن عدوى البكتيريا بالبكتيريوفاج تعتمد على تركيبها الكيميائي والعوامل البيئية مثل درجة الحرارة ومرحلة النمو وتركيز جزيئات الفاج في البيئة. وعند تلامس الفاج مع الطبقة الحيوية يهاجم الفاج البكتيريا ويحللها وأحياناً الفاج يملك أنزيمات محللة للسكريات العديدة Polysaccharide- degrading enzymes المفرزة من بكتيريا الطبقة الحيوية مما يؤدي إلى انهيار تماسك الطبقة الحيوية.

استخدم Sillankorva وآخرون سنة (2004) الفاج لإزالة بكتيريا P. fluorescens ووجدوا أن الفاج كان فعال في إزالة الطبقة الحيوية في مراحلها الأولى وبعد مرور 5 أيام على

تكوين الطبقة الحيوية حيث أزيل أكثر من 80% وذلك تحت الظروف المثلى للنمو، ويمكن استخدام الفاج مع منظف قلوي لزيادة الفعالية حيث أستخدم Sharma, وآخرون سنة (2005) الفاج KH1 (Bacteriophage KH1) مع منظف قلوي لتثبيط الطبقة الحيوية لبكتيريا *E. coli* O157:H7 المتكونة على سطح الصلب غير القابل للصدأ، وتم استخدام التقنية الحديثة لإنتاج فاج معدل وراثياً له قابلية لإنتاج إنزيم محلل للخلايا ونسيج الطبقة الحيوية biofilm degrading enzyme وخفض العدد البكتيري في الطبقة الحيوية إلى أكثر من 99.9 % (KUMER & ANAND,1998; CHMIELEASKI & FRANK, 2003).

الفصل التاسع والعشرون

المياه المعبأة

Bottled Waters

1.29 المقدمة

المياه المعبّأة Bottled waters كما هي مُعَرَّفة من قبل "إدارة الأغذية والأدوية FDA": في الولايات المتّحدة هو الماء المعدة للاستهلاك الآدمي ومعبأة في قناني مغلقة وبدون إضافة أي مكوناتِ إضافيةِ. ولكن قد تحتوي بشكل اختياري على مواد مضادة لنمو الأحياء الدقيقة على أن تكون مناسبة وآمنة.

وتشهد صناعة المياه المعبأة في كل من الولايات المتحدة الأميركية وبريطانيا زيادة سنوية بمعدل 25% وقدرت دراسة أجراها الصندوق العالمي لحماية الطبيعة عام 2001 أن الحجم السنوي لأسواق المياه المعبأة في العالم هو نحو 90 مليار ليتر تقدر قيمتها بـ 22 مليار دولار وتمثل ما معدله 15 ليتراً لكل فرد في العالم في السنة، ويعتبر الأوروبيون الغربيون المستهلكين الرئيسيين لهذا المنتجات، الزيادة الكبيرة في استهلاك المياه المعبّأة مِن قِبل المستهلكين كانت نتيجة ازدياد القلق من تلوث المياه وبسبب النكهات أَو الروائح غير المرغوبة التي قد تصاحب مياه منظومة الشبكة العامة.

المياه المعبّأة ذات جودة جيدة لأن مصدرها مياه الينابيع أو المياه الجوفية ويُقدم الماء على أنه صافي ونظيف ويفترض أن يكون من مصادر محمية لم يطلها التلوث، ولأن المياه المعبأة تُصنع وتُعبأ وتُوزع وتُباع فقد اعتبرت كالغذاء وينطبق عليها المعايير الخاصة بالأغذية.

وكمعظم الأغذية فإن المياه المعبأة غير معقمة ولذلك فهي في العموم يمكن أن

تحتوي على بكتيريا طبيعية أو يمكن أن تُلوث بأي بكتيريا أثناء التصنيع أو الاستخدام، والمياه المعبأة يجب أن تكون خالية من الكائنات الممرضة والسموم والطعوم والروائح غير المرغوبة.

قد تعبأ المياه في عبوات بلاستيكية أو ورقية أو معدنية وحجم الماء في هذه القناني يتراوح من أقل من 100 مل إلى أكثر من 8 لترات، مصادر المياه المعبأة قد تكون مياه ينابيع أو آبار أو مياه الشبكة العامة أو من أي مصدر آخر مُصرح به، المياه المعبأة يمكن أن تكون مياه مُقطّرة ومضاف لها ثاني أكسيد الكربون أو عصائر فواكه وغيرها.

2.29 أنواع المياه المعبأة Production of bottled waters

عملية إنتاج المياه المعبأة تستلزم استخدام مصادر مياه مصرح بها ومطابقة لمواصفات مياه الشرب من الكيميائية والطبيعية والميكروبيولوجية لضمان سلامتها وخلوها من الميكروبات الممرضة والسموم الكيميائية واحتوائها على حمل ميكروبي منخفض، وتستخدم لإنتاج المياه المعبأة عدة مصادر للمياه فقد تكون مياه ينابيع Springs أو آبار Wells أو مياه الشبكة العامة للمياه Municipal systems أو أي مصدر مياه آخر مصرح به. وعلية فإن المياه قد يُجرى عليها عملية تقطيرDistillation أو يضاف لها ثاني أكسيد الكربونCarbonation أو تعامل بالأوزون Ozonation والترشيح Filteration وذلك حسب جودة مصدر المياه ونوع المياه المعبأة المراد تصنيعها.

– **المياه الجوفية**: مصدرها مياه الأمطار وهي عبارة عن الكميات المتسربة من مياه الأمطار إلى التكوينات الجيولوجية في باطن الأرض، ويتم الاستفادة من المياه الجوفية عن طريق الآبار الارتوازية أو عن طريق الينابيع الطبيعية.

– **المياه المعدنية**: وهي المياه التي تأتي من الآبار أو الجبال وتحتوي على أملاح معدنية تختلف تركيبتها بحسب الطبقات الأرضية التحتية وتضاريس المنطقة الآتية منها وقد تحتوي على بعض الغازات. وهي تختلف في رائحتها وطعمها ودرجة حرارتها. وقد عرفت إدارة الأغذية والدواء الأمريكية (FDA) المياه المعدنية بأنها تلك التي تحتوي على أكثر من 250 جزء في المليون مواد صلبه ذائبه عند المصدر ولا تضاف إليها أملاح أو لا يمكن الحصول عليها من مياه جوفيه طبيعية أو من مياه الشبكة العامة، ويقدر أن 89% من المياه المعبأة عالمياً هي مياه مكررة والبقية مياه ينابيع أو مياه معدنية، أما مياه الينابيع المعبأة فهي أيضا مياه جوفية محمية من أخطار التلوث ولا يجوز إخضاعها لأي معالجة إلا ما هو مرخص به كالتهوية ولا يشترط أن تكون ذات تركيب معدني ثابت.

ويمكن تحديد ثلاثة أنواع رئيسية من المياه المعبأة هي المياه المعبأة الطبيعية Natural bottled waters والمياه المعبأة المعدنية الطبيعية Natural mineral bottled waters والمياه المكررة Purified bottled waters.

1.2.29 المياه المعبأة الطبيعية Natural bottled waters

وهي مياه جوفية نظيفة ومن آبار أو ينابيع غير ملوثة. المياه المعدنية الطبيعية تستوفي معايير صارمة فهي مياه ينبغي استخراجها من مياه جوفية غنية ووضعها في عبوات من دون إخضاعها للمعالجة المسبقة (مياه خام لا يجوز إضافة أي عناصر خارجية إليها) ما عدا الترشيح أو إزالة أيونات الحديد Iron removal وهي خالية من التلوث الميكروبي ومحمية من أخطار الملوثات الأخرى وتحتوي مستوى ثابت من الأملاح المعدنية، إذا استخدمت بها مياه جوفية نظيفة ومن آبار غير ملوثة فإنها تكون خالية من البكتيريا الممرضة والطفيليات والفيروسات الضارة وتحتوي فقط على الأحياء الدقيقة المتواجدة طبيعياً في المياه الطبيعية Indigenous microflora.

2.2.29 المياه المعبأة المعدنية الطبيعية Natural mineral bottled waters

وهي مياه جوفية معدنية معبأة أخذت من مصدر مُصّرح به Approved underground source ولا تحتوي على أقل من 500 ميللجرام/لتر من المواد الصلبة المذابة الكلية، ويجب أن تكون من مصدر جوفي وتُعبأ بالقرب من مصدر المياه وتحت ظروف صحية ولا تخضع لأي عمليات إضافية (ما عدا الترشيح بمساعدة التهوية) من شأنها أن تغير التركيب الأساسي للمعادن فيها.

3.2.29 المياه المعبأة المكررة Purified bottled waters

وهي مياه أجريت عليها عدة معاملات قبل تعبأتها مثل التقطير ونزع الأيونات والتناضح العكسي ولا تحتوي على اكثر من 10 ميللجرام/لتر من المواد الصلبة المذابة الكلية Total dissolved solids، والمياه المكررة تؤخذ من الأنهار أو البحيرات أو الينابيع وتعالج بطرق مثل التقطير Distillation والتناضح العكسي Reverse osmosis وإزالة التأين De-ionization ويمكن معالجتها كيميائياً لإزالة بعض العناصر. وهناك ما يسمى بالمياه المعبأة المعدنية الطبيعية المكربنة Carbonated natural mineral bottled waters وهي مياه معدنية طبيعية معبأة بعد إضافة غاز ثاني أكسيد الكربون لها.

4.2.29 خطوات تصنيع المياه

تلخص خطوات تصنيع المياه المعبأة كما يلي:

أ. **التهوية:** الغرض منها إزالة المواد العضوية المتطايرة.

ب. **الترشيح:** وتستخدم عدة أنواع من المرشحات حسب نوع المياه والمواد المراد إزالتها. ويُستخدم مرشح الكربون النشط Activated carbon filter لإزالة الروائح والمواد العضوية والمواد الصلبة أو مرشحات الرمل Sand filters لإزالة المواد الصلبة الخشنة، أو قد يستخدم مرشح المنجنيز Manganese filter لإزالة الكبريت والحديد والمواد الصلبة.

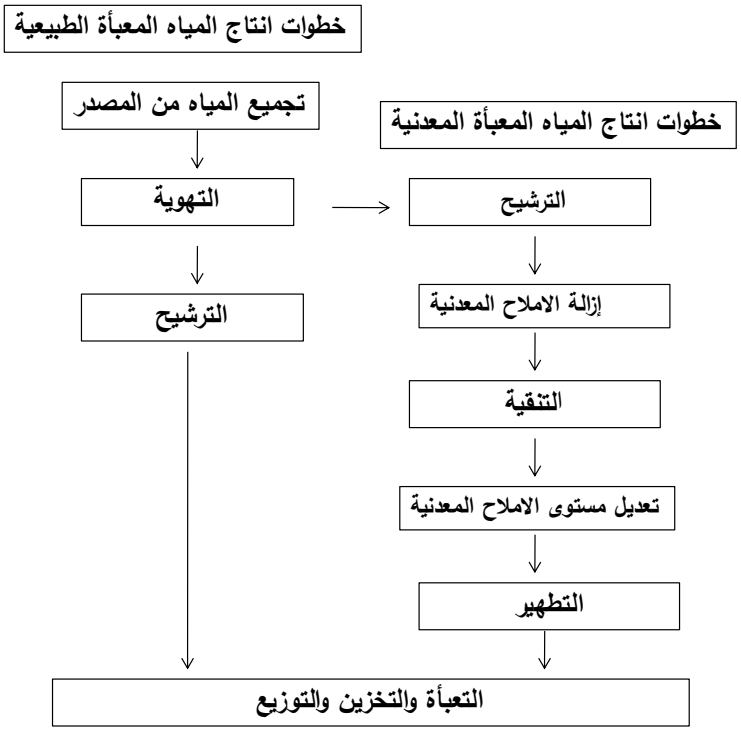
ج. **إزالة الأيونات أو التنقية:** ويستخدم لذلك المقطر Distiller أو ترشيح التناضح

العكسي Reverse-osmosis filtration أو المرشحات الكاتيونية أو الأنيونية Cation or anion filters والهدف هو إزالة المعادن الذائبة dissolved minerals من المياه.

د. تعديل نسبة المعادن: في المياه Mineral adjustmen: وذلك بإضافة خليط من المعادن بهدف تعديل نسبة المعادن والتركيب الكيميائي وتحسين الطعم.

هـ. التطهير Disinfection: وتهدف هذه الخطوة لقتل البكتيريا وتتم إما بإضافة الأوزون (0.4 – 0.6 جزء بالمليون) أو باستخدام الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet irradiation أو بالترشيح (1 – 5 ميكروميتر) أو بإضافة ثاني أكسيد الكربون Carbonation (بهدف خفض الأس الهيدروجيني وقتل البكتيريا).

و. تعبئة المياه: ووضع الأغطية Capping ووضع الكود والتوزيع (شكل: 1.29).



شكل (1.29) خطوات إنتاج المياه المعبأة

المصدر: مختصر عن WARBURTON et al. (2000)

في البداية كانت المياه تعبأ في قوارير زجاجية فقط لأن الزجاج لا يفقد خصائصه لدى إعادة تدويره، ويمكن غسل القوارير الزجاجية وإعادة تعبئتها حوالي 80 مرة، وفي نهاية الستينات بدأت شركات التعبئة تستعمل قوارير مصنوعة من مادة البوليفينيل كلورايد Polyvinyl Chloride (PVC)، وفي الثمانينات تم استعمال نوع جديد من البلاستيك هو البولي إيثالين تريفثاليت (poly ethylene terephthate) الذي أخذ يحل بالتدريج مكان عبوات الـ PVC فهو أكثر نقاوة وشفاف جدا ويبدو كالزجاج كما أنه مقاوم للكسر

ويسهل التعامل به وأخف وزناً 20 في المائة وقابل للانضغاط مما يقلل حجم نفاياته كما يمكن إعادة تدويره وتحويله إلى منتجات مختلفة وعند احتراقه لا يطلق الكلور بعكس PVC، وحالياً نحو 70% من العبوات المستعملة لتعبئة المياه المعدنية الطبيعية مصنوعة من البلاستيك، ويقدر أن نحو 5.1 مليون طن من البلاستيك تستعمل في أنحاء العالم سنوياً لصنع عبوات المياه، وضع المياه المعبأة في البلدان النامية ليس واضحاً حيث تفتقر معظم هذه البلدان إلى مقاييس واشتراطات صحية ونظام إلزامي لاختبار جودة وسلامة المياه المعبأة.

3.29 الأحياء الدقيقة في مصادر المياه

المحتوى الميكروبي الأولى للمياه المعبأة يعتمد على نوع الماء والمصدر الأصلي وموقعه نسبة إلى السطح ومصاد التلوث وأيضا إلى نوعية الصخور المحيطة ومكوناتها ومحتواها من الأكسجين والمعادن وكذلك مدى تدفق المياه، وأوضح بعض الباحثين أن العديد من الطبقات الجوفية ولعمق 4000 متر تحتوي العديد من الأحياء الدقيقة تصل في بعض الأحيان إلى $10^5 - 10^7$ و.ت.م/لتر من الماء أو الرواسب، كما بينت دراسات أخرى أن الأعداد الأولية للأحياء الدقيقة المتواجدة طبيعياً indigenous microorganisms في الماء (من المصدر أو مباشرة بعد تعبئة القناني) أقل من 10^2 وحدة تكوين مستعمرات/لتر (و.ت.م /لتر)، ووجد أن هذه الاختلافات ترجع إلى نوع الطبقات الصخرية وعمر المياه والمصدر الأساسي للمياه ومحتواها من الأوكسجين والمغذيات.

1.3.29 البكتيريا المتواجدة طبيعياً في المياه Indigenous Bacteria

البكتيريا المتواجدة طبيعيا في المياه تكون عند أدنى مستوياتها عندما تكون المياه في مصدرها الطبيعي وتزداد في النمو والأعداد بعد تعبأتها في القناني، طول مدة تخزين المياه المعبأة على درجة حرارة الغرفة أو على درجات التبريد يؤدي إلى نمو كلاً من البكتيريا المتواجدة طبيعياً والبكتيريا الملوثة للمياه إلى أكثر من 10^4 أو 10^5 و. ت. م/مل. السبب في ذلك هو زيادة الأكسجين في المياه أثناء التعبأة وزيادة مساحة السطح وكمية المغذيات بسبب العبوة وارتفاع درجة حرارة العبوة مقارنة بحرارة مصدر المياه الطبيعي. كذلك تحدث زيادة النمو بسبب موت وتحلل بعض أنواع البكتيريا الأخرى مثل البكتيريا المعوية الممرضة مختلطة التغذية Heterotrophic enteric pathogens، البكتيريا الضارة يمكن أن تبقى لمدة طويلة وتتكاثر وتتغذى على منتجات تحلل الخلايا أو على نواتج الأيض للبكتيريا ذاتية التغذية autotrophs . التغيرات في أعداد البكتيريا ذاتية التغذية على المدى البعيد في المياه المعبأة يعكس التغيرات في كمية المغذيات المتاحة وانخفاض حيوية بعض الأنواع وحدوث تنافس أو فعل تضادي antagonism أو نمو تعاوني synergism أو لأسباب أخرى غير معروفة. وجد أن زيادة أعداد البكتيريا تكون أسرع في المياه المعبأة في عبوات البلاستيك مقارنة بالمياه المعبأة في عبوات زجاجية. وهذا يمكن أن يرجع إلى هجرة أو رشح بعض المكونات الكيميائية. بالإضافة إلى عوامل أخرى تشمل الأوكسجين وانتشار الغازات خلال العبوة البلاستيكية إلى المياه المعبأة. عند تخزين المياه في العبوات البلاستيكية أو الزجاجية على

درجة حرارة الغرفة يبدأ النمو بعد 1 إلى 2 يوم من التعبئة ويمكن أن تصل أعداد البكتيريا من 10^5 إلى 10^6 و. ت. م/مل وقد تصل أحيانا إلى أكثر من 10^7 و. ت. م/مل، قدرة البكتيريا على البقاء حية في المياه المعبأة لمدة طويلة تُعزى لتكوينها للطبقة الحيوية على جدران العبوة. والبكتيريا المختلطة التغذية Heterotrophs وبكتيريا *A. hydrophila* وبكتيريا *E.coli* تستطيع أن تبقى حية في الطبقة الحيوية عند مستوى أكثر من1000 و. ت. م/سم^2 لأكثر من 21 يوماً، وبعض المياه المعدنية المعبأة لا تشجع نمو البكتيريا بسبب محتواها العالي من المعادن.

1.1.3.29 العدد الكلي للبكتيريا الهوائية (ACC) Aerobic bacteria

العدد الكلي للبكتيريا الهوائية يؤخذ كمؤشر على مدى تطبيق الممارسات الصناعية الجيدة GMP ونظام تحليل المخاطر والتحكم في النقاط الحرجة HACCP أثناء إنتاج المياه المعبأة خاصة إذا قُدرت خلال 24 ساعة من عملية التعبأة وقبل ازدياد أعداد البكتيريا المتواجدة طبيعياً في المياه، ويعبر العدد المرتفع عن ظروف الإنتاج السيئة، العدد الكلي للبكتيريا الهوائية يمكن أن يتخذ لتقييم مدى صلاحية المياه المعبأة لتصنيع بعض المنتجات الغذائية والمشروبات حيث يتطلب تفادي فساد هذه المنتجات استخدام مياه منخفضة الحمل الميكروبي، أيضا ارتفاع العدد الكلي للبكتيريا ربما يقلل من حساسية اختبار بكتيريا القولون ويحجب وجود البكتيريا الممرضة والبكتيريا الممرضة الانتهازية ويزيد من خطر تعرض الفئات الحساسة (مثل كبار السن والأطفال والنساء الحوامل) للممرضات الانتهازية، كما

وجد أن هناك ارتباط ما بين العدد الكلي العالي للبكتيريا الهوائية (المتحصل علية عند 35م) في المياه وأعراض الالتهابات المعوية Gastrointestinal symptoms.

2.1.3.29 بكتيريا القولون

يعتبر وجود بكتيريا القولون في المياه المعبأة مؤشر لتلوث مصدر المياه أو دليل على الظروف الصحية السيئة التي أنتجت فيها المياه المعبأة، خلو المياه من بكتيريا القولون يدل على خلوها من الممرضات لأن بكتيريا *Vibrio cholerae* و *S. typhi* وغيرها من أنواع ال *Salmonella* تموت بمعدل أسرع من بكتيريا القولون في المياه، غير أن بعض البكتيريا الممرضة عزلت من مياه خالية من بكتيريا القولون. مثلاً عزلت بكتيريا *Aeromonas* spp من مياه لا تحتوي بكتيريا القولون، وتُقيم سلامة المياه الجوفية على أساس خلوها من بكتيريا القولون، كما أوصت منظمة الصحة العالمية أن أعداد بكتيريا القولون البرازية يجب أن تكون أقل من 1 و.ت.م/100 مل من الماء، أما العدد الكلي للبكتيريا فلا يزيد عن 10^2 و.ت.م/100مل ولا ينبغي أن تحتوي مياه الشرب على أي كائنات دقيقة مرضية إلا إذا أنتجت المياه تحت ظروف غير صحية.

وفي إحدى الدراسات وُجد أن بكتيريا *E. coli* O157:H7 بقت حية لأكثر من 300 يوم عندما لُوثت بها المياه المعدنية المعبأة عند مستوى 2.8×10^5 و.ت.م/مل، كما وجدت الدراسة أن البكتيريا قد كونت طبقة حيوية Biofilm على جوانب العبوة. وفي دراسة أخرى تم تلقيح عينات من المياه المعدنية الطبيعية المعبأة ببكتيريا *E. coli* O157:H7

عند مستوى 10^3 أو 10^5 و. ت. م/مل وخزنت عند 15 م لمدة 10 أسابيع وجد أن البكتيريا بقيت حية في المياه لأكثر من 60 يوماً.

غياب بكتيريا القولون البرازية المقاومة للحرارة Thermotolerant fecal coliforms في عينات المياه المعبأة لا يعطي مؤشر على خلو المياه من الفيروسات المعوية enteric viruses والتي تعتبر أكثر مقاومة للظروف الغير مناسبة من بكتيريا *E.coli* ولذلك بعض الدول أقرت الكشف عن بعض الكواشف الأخرى مثل *A. hydrophila* و *P. aeruginosa* للتأكد من سلامة المياه.

3.1.3.29 بكتيريا *Escherichia coli* و Fecal Streptococci و Sulfite-Reducing Anaerobes والطفيليات

وضعت التشريعات الدولية حدوداً لبكتيريا *E. coli* والسبحيات البرازية Fecal Streptococci والهوائيات المختزلة للكبريتيد Sulfite-Reducing Anaerobes جدول (2.29)، وهذه الأحياء الدقيقة تعتبر أدلة على التلوث البرازي للمياه ويوصي بالكشف عنها لتأكيد سلامة وجودة المياه. إذا احتوت المياه على بكتيريا قولون ولم تتواجد بكتيريا *E. coli* يدل ذلك على أن بكتيريا القولون ليست من أصل معوي وفي حالة تواجد السبحيات البرازية فإن ذلك يدل على أن بكتيريا القولون من أصل برازي، وفي العموم السبحيات البرازية وجراثيم *Clostridium* spp تبقى لمدة أطول في المياه مقارنة ببكتيريا القولون ولذلك يمكن أن تكون من أدلة التلوث البرازي في المياه، ومن المعروف أن

حويصلات cysts الطفيليات مثل *Giardia* و *Cryptosporidium* أكثر مقاومة للمطهرات المستخدمة في المياه المعبأة من بكتيريا القولون وبالتالي فإن خلو المياه المعبأة من بكتيريا القولون لا يعني أنها خالية من حويصلات الطفيليات.

4.1.3.29 بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* تعتبر من مؤشرات التلوث الخطيرة حيث عزلت من عينات مياه معبأة في كل من كندا وفرنسا وألمانيا والبرازيل وإسبانيا والولايات المتحدة. وتعزى أهميتها إلى أنها تشير إلى تلوث برازي آدمي كما أنها أحد مسببات الأمراض المنقولة للإنسان عن طريق المياه أو الأغذية، حيث يمكن أن تسبب إسهامات تهدد حياة الأفراد الذين يعانون من خلل في المناعة Immunocompromised individuals كما سببت إسهال للأطفال الذين تناولوا تركيبة غذائية بمياه معبأة، هذه البكتيريا تعتبر مؤشر على مدى تطبيق الممارسات التصنيعية الجيدة GMP التي أُنتجت فيها المياه المعبأة، تلوث المياه ببكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* أثناء تعبأة القناني يكون غالباً بسبب استيطان هذه البكتيريا للمعدات، السدادات المطاطية والغسالات والطلاءات وحتى الصابون المطهر يمكن أن توفر بعض المغذيات لهذه البكتيريا. وتستطيع هذه البكتيريا أن تنمو في المياه المحتوية على مغذيات قليلة جداً مثل الماء المقطر أو المنزوع الأيونات deionized water وتستطيع أن تصل إلى مستوى 10^4 و. ت. م/مل في المياه المعدنية مما يشكل خطر على المستهلك، كما أن وجودها يمكن أن يؤثر على لون وطعم المياه. بعض الأنواع التي عزلت من المياه المعدنية

تقاوم معظم المضادات الحيوية الشائعة الاستخدام، وجود هذه البكتيريا في المياه قد يعني وجود ممرضات أخرى مثل *Aeromonas* و *Salmonella* وغيرها من الممرضات

4.29 التلوث الميكروبي في مصادر المياه

Microbiological Contamination of Water Sources

مخاطر تلوث المياه المعبأة بالأحياء الدقيقة الممرضة والطفيليات عالية لأنها يمكن أن تتواجد في مصادر المياه أو قد يحدث تلوث للمياه أثناء التصنيع. التلوث البرازي Fecal contamination يمثل أهم أنواع التلوث التي تهدد الصحة العامة وأكثرها انتشارا وارتباطا بكل أنواع مياه الشرب Drinking water، وتسببت المياه سواءً كانت مياه آبار أو ينابيع أو مياه الشبكة العامةPublic water system في عدة تفشيات لأمراض ناتجة عن تلوثها ببكتيريا معوية ممرضة enteric pathogens مثل بكتيريا *Aeromonas* و *Campylobacter* و *Shigella* و *Salmonella* و *Pseudomonas* و *Vibrio* و *Escherichia coli* و *Yersinia* وكذلك الفيروسات والطفيليات Parasites كما سببت المياه المعبأة تفشيات لمرض الكوليرا ,Cholera ومرض التيفود وكذلك الإسهال المعروف باسم إسهال المسافرين "diarrhoea Traveller's"، وفي العموم الأمراض المنقولة عن طريق المياه Waterborne Diseases تكون إما بسبب تلوث مصادر المياه أو بسبب عدم كفاءة معالجة المياه.

التلوث الميكروبي للمياه الجوفية يحدث عادةً نتيجة فيضان أو نزّ مياه المجاري أو

حدوث فيضان فوق آبار المياه الجوفية، البكتيريا يمكن أن تستعمر الطبقات الجوفية بواسطة الترشيح من الأعلى وكذلك بواسطة الهجرة الطرفية Lateral migration. هجرة أو انتقال البكتيريا يمكن أن تحدث لمسافة من 2 إلى 3 كيلومتر في الطبقة الجوفية الرملية الغير المحصورة وربما يحدث ذلك بشكل أكبر في المياه الجوفية في الطبقات الجوفية المحببة حيث يمكن للبكتيريا أن تنتقل لعدة مئات من الأمتار أو أكثر كما أن البكتيريا والفيروسات تبقى لمدة طويلة في المياه الجوفية عنها في المياه السطحية. البكتيريا يمكن أن تُحتجز بواسطة التربة وتُمنع من الوصول إلى المياه الجوفية بينما تستطيع الفيروسات أن تخترق التربة وتصل إلى المياه.

تواجد بكتيريا القولون والبكتيريا الممرضة في مياه الآبار يدل على بقاء هذه البكتيريا لمدة طويلة في المياه الجوفية، أوضحت بعض الدراسات أن البكتيريا يمكن أن تبقى من شهر إلى عدة أشهر وربما تصل إلى سنة وهذا يتوقف على نوع البكتيريا وظروف التربة (من ناحية الرطوبة والمغذيات والملوثات الكيميائية) والمنافسة مع البكتيريا المتواجدة طبيعياً في التربة. ووجد أن بكتيريا و *Escherichia coli* و *Streptococcus faecalis* وفيروس شلل الأطفال Poliovirus (type1) استطاعت البقاء لأكثر من 15 يوماً في المياه الجوفية المخزنة عند 22 مْ بينما بقت بكتيريا القولون Coliform وبكتيريا القولون البرازية Fecal coliform وبكتيريا السبحيات البرازية Fecal streptococci إلى أكثر من 70 يوماً في الآبار الملوثة. الجدول(29. 1) يبين نتائج عدة دراسات وفي عدة بلدان لعينات مياه أخذت من عدة مصادر للمياه شملت مياه جوفية ومياه ينابيع بالإضافة لمياه معبأة ويلاحظ وجود أجناس البكتيريا المتواجدة طبيعياً في المياه المختلفة واحتواء بعضها على بكتيريا ملوثة.

جدول (1.29): أجناس البكتيريا الطبيعية والملوثة المعزولة من عينات المياه المختلفة

الجنس *Genus*	المياة الجوفية ومياه الينابيع *Ground and Spring Water*[a]	مياه الشبكة العامة *Municipal Treated Water*[b]	المياه المعبأة *Bottled Water*[d]
Achromobacter	+	+	+
Acinetobacter	+	+	+
Aerobacter	–	–	?
Aeromonas	+	+	+
Alcaligenes	+	+	+
Bacillus	+	+	+
Chromobacterium	–	+	+
Citrobacter	+	+	+
Clostridium	+	+	?
Corynebacterium	+	+	+
Enterobacter	+	+	+
Escherichia	+	+	+
Flavobacterium	+	+	+
Hafnia	–	+	+
Klebsiella	+	+	+
Kluyvera	–	–	?
Legionella	–	+	?
Micrococcus	+	+	+
Moraxella	+	+	+
Mycobacterium	–	+	+
Proteus	+	+	?
Pseudomonas	+	+	+
Salmonella	–	+	?
Serratia	+	+	+
Shigella	–	+	+
Staphylococcus	+	+	+
Streptococcus	+	+	+
Yersinia	–	+	+

+: عزلت من عينة المياه –: لم تعزل من عينة المياه ؟: لم يثبت أنها ممرضة

المصدر: مختصر عن WARBURTON & AUSTIN (2000)

5.29 التلوث الميكروبي للمياه المعبأة

تعتبر مصادر المياه ومعدات ضخّ المياه إلى مكان التعبئة والمعدات الأخرى مثل المرشحات وأعمدة إزالة الأيونات Deionizing columns والقناني والأغطية من أهم مسببات تلوث المياه المعبأة. وفي ظروف التصنيع السيئة يمكن أن تحتوي القناني والأغطية الملوثة على حمل ميكروبي يصل إلى 10^7 و. ت. م/سم^2، البكتيريا السالبة لصبغة جرام هي الأكثر تواجداً من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام حيث تستطيع الأولى أن تبقى حية في وجود كمية ضئيلة من المواد العضوية. وتعتبر كلا من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Burkholderia cepacia* من أكثر الأنواع المسببة للعدوى خاصة للفئات الضعيفة من المستهلكين مثل الأطفال وكبار السن، ووجد أن بكتيريا *P. aeruginosa* يمكن أن تستعمر معدات تصنيع المياه كما أن تعرض المياه للهواء والتلامس مع العاملين والحيوانات أثناء التعبئة يمكن أن يكون مصادراً إضافياً للتلوث غير أن استخدام الأوزون يمكن أن يقضي على هذه البكتيريا، في عام 1977 أقرت هيئة الأغذية والأدوية الأميركية (FAD) استخدام الأوزون عند التعبئة بتركيز لا يتجاوز 0.4 جزء بالمليون (ppm)، إذا لم يتم إتباع الممارسات التصنيعية الجيدة وتطبيق نظام الهاسب (HACCP) لتحليل المخاطر والتحكم في النقاط الحرجة فإن هذه المياه تصبح مصدر لتفشى الأمراض الخطرة وتشكل بذلك تهديداً للصحة العامة الجدول (2.29) يوضح التشريعات الدولية لمياه الشرب والمياه المعبأة، (WARBURTON & AUSTIAN, 2000)

جدول (2.29): التشريعات الدولية لمياه الشرب والمياه المعبأة

الدولة/ الكائن الدقيق	*n*	*c*	*m*	*M*
كندا				
كل انواع المياه All Bottled Water				
ACC	5	2	10^2 ml^{-1}	10^4 m^{-1}
coliforms	10 (5)	1	0 100 ml^{-1}	10 100 ml^{-1}
Aeromonas hydrophila	5	0	0 100 ml^{-1}	
Pseudomonas aeruginosa	5	0	0 100 ml^{-1}	
fecal streptococci[b]	5	0	0 100 ml^{-1}	
spore-forming sulfite-reducing anaerobes (clostridia)[b]	5	0	0 100 ml^{-1}	
Escherichia coli[b]	5	0	0 100 ml^{-1}	
parasites	5	0	0 100 ml^{-1}	
لجنة الدستور الغذائي **Codex Alimentarius Commission**				
Natural Mineral Water المياه المعدنية الطبيعية				
coliforms	5	1	0 250 ml^{-1}	2 250 ml^{-1}
E. coli	5	0	0 250 ml^{-1}	
fecal streptococci	5	1	0 250 ml^{-1}	2 250 ml^{-1}
spore-forming sulfite-reducing anaerobes (clostridia)	5	1	0 250 ml^{-1}	2 250 ml^{-1}
P. aeruginosa	5	0	0 250 ml^{-1}	
Bottled Drinking Water مياه الشرب المعبأة				
Draft standard for *E. coli* (April 1999)	?[d]	0	0 100 ml^{-1}	
الاتحاد الاوروبي **European Community**				
Natural Mineral Water المياه المعدنية الطبيعية				
ACC within 12 hours after bottling	?[d]	0	10^2 ml^{-1} [e]	
		0	20 ml^{-1} [f]	
العدد الكلي للبكتيريا الهوائية للمصدر ACC at source	?	0	20 ml^{-1} [e]	
		0	5 ml^{-1} [f]	
coliforms	?	0	0 250 ml^{-1}	
E. coli	?	0	0 250 ml^{-1}	
fecal streptococci	?	0	0 250 ml^{-1}	
P. aeruginosa	?	0	0 250 ml^{-1}	
spore-forming sulfite-reducing anaerobes (clostridia)	?	0	0 50 ml^{-1}	
Bottled Drinking Water مياه الشرب المعبأة				
ACC at 22°C	?	0	10^2 ml^{-1}	
ACC at 37°C	?	0	20 ml^{-1}	
Total and fecal coliforms, fecal streptococci, *P. aeruginosa*[g] sulfite-reducing clostridia[g]	?	0	0 250 ml^{-1}	
الولايات المتحدة **United States (FDA)**				
Bottled Water المياه المعبأة				
coliforms by MPN	10	1	2.2 100 ml^{-1}	9.2 100 ml^{-1}
coliforms by membrane filter	10	1	1 100 ml^{-1}	4 100 ml^{-1}

؟؟:عدد العينات المأخوذة غير محدد.

*n: عدد العينات المأخوذة للتحليل: c عدد العينات المسموح أن تصل إلى m ولكن ليس إلى M. m: مستوى الحد الميكروبي المطلوب.

M: أقصى قيمة للحد الميكروبي يجب أن لا يصل إليها أو يزيد عنها في أي وحدة من الوحدات المختبرة.

المصدر: عن WARBURTON & AUSTIN (2000)

الفصل الثلاثون

الأحياء الدقيقة الدلائل في الأغذية

Indicators of food microbial quality and safety

1.30 مقدمة

معظم الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان والمنتقلة عن طريق الأغذية foodborne pathogens هي من أصل معوي وهذا يعني أنها تستطيع أن تستوطن وتتكاثر في أمعاء الإنسان والحيوان والطيور، ولذلك فإن الغذاء الملوث بطريقة مباشرة أو غير مباشرة بالبراز من هذه المصادر ربما يحتوي واحد أو أكثر من الممرضات التي تشكل خطراً على الصحة العامة.

ولضمان سلامة المستهلك من الضروري معرفة ما إذا كان الغذاء خالي من البكتيريا الممرضة مثل *Salmonella* و *Escherichia coli* O157:H7 أو تحتوي على مستويات منخفضة من البكتيريا المعوية الممرضة الأخرى مثل *Yersinia enterocolitica* و *Vibrio parahaemolyticus*، طرق عزل هذه الأنواع من الممرضات من الأغذية تتضمن عدة خطوات تستهلك الكثير من الوقت والجهد بالإضافة إلى تكلفتها العالية. كما أن هناك بعض الطرق الحديثة في الكشف تتضمن استخدام الطرق البيولوجية الجزيئية biology techniques molecular (تعتمد على تحاليل DNA) وهذه تحتاج إلى معدات خاصة وأشخاص مدربين جيداً.

ونظراً لزيادة إنتاج الأغذية وتصنيعها وتداولها بأحجام كبيرة ومتنوعة بين دول العالم فإنه من غير العملي أو الاقتصادي الكشف عن وجود كل البكتيريا الممرضة في عينات الأغذية لكل دفعة من الإنتاج أو حتى الكشف عن تلك التي يشتبه في وجودها في غذاء معين ولذلك يجرى بدلاً من ذلك البحث أو الكشف عن وجود مجموعات بكتيرية أو أنواع

أخرى مصدرها معوي (enteric) تسمى المجموعات الدالة والتي تتواجد بكميات أكبر من البكتيريا الممرضة ولكنها لا تعتبر ممرضة (nonpathogenic) ويؤخذ تواجدها على أنه دليل على التلوث البرازي المباشر أو غير المباشر للغذاء وعلى احتمال تواجد الممرضات المعوية في الأغذية.

2.30 دلائل الجودة الميكروبية للأغذية

هناك بعض المجموعات البكتيرية الدالة مثل العدد الكلي للبكتيريا والتي وجودها لا يدلل على تلوث برازي ولكنها تعتبر مقياساً للجودة الميكروبية للغذاء وعلى ما إذا كان قد تم تداوله في ظروف صحية جيدة أم سيئة، وهناك عدة اشتراطات يجب أن تتوفر في الميكروبات الدالة على الجودة الميكروبية للغذاء وهي:

أ. أن تكون متواجدة في الغذاء ويمكن الكشف عنها.

ب. أن يكون نموها وأعدادها يؤثر سلباً على جودة الغذاء.

ج. أن يكون من السهل عدها والكشف عنها وتمييزها عن باقي الميكروبات الأخرى.

د. أن لا يستهلك الكشف عنها وقت طويل.

هـ. نموها لا يتأثر بالميكروبات الأخرى المتواجدة في مكونات الغذاء.

وفي العموم فإن الميكروبات الدالة يجب أن تكون خاصة بالمنتج product specific المراد تقييمه من ناحية الجودة الميكروبية، وتختلف المقاييس الميكروبية للأغذية الطازجة عنها بعد عمليات التصنيع أو الطبخ أو التسويق، على سبيل المثال المقياس الميكروبي لجودة المشروبات الغازية هو عدد الخمائر، وللأغذية ذات الحموضة المنخفضة والمراد تعليبها يكون

عدد الجراثيم البكتيرية المقاومة للحرارة، أما للدقيق فالمقياس يكون عدد جراثيم البكتيريا الهوائية التي تسبب لزوجة الخبز، وهناك دلائل ميكروبية خاصة ببعض المنتجات الغذائية وهذه الدلائل هي ميكروبات مرتبطة ومفسدة لهذه الأغذية وتسبب تدهور جودتها إذا زادت أعدادها عن المعدل ويمكن زيادة مدة حفظ الغذاء عن طريق التحكم في الكائن الدقيق المرتبط به سواءً بمنع تواجده أو تقليل أعداده في الغذاء.

3.30 دلائل سلامة الأغذية

تستخدم الدلائل الميكروبية Microbial Indicators في الغالب لتقييم سلامة الأغذية والشؤون الصحية أكثر من استخدامها لتقييم جودة الغذاء الميكروبية، وهناك عدة دلائل لسلامة الغذاء ويتم اختيار الدلائل المناسبة حسب نوع الغذاء وحالته أن كان خاماً أو مصنعاً processed أو من الأغذية الجاهزة التحضير ready-to-eat food . واستخدام هذه الدلائل مهم لأنه يقلل من تعقيدات وكلفة الكشف عن كل ميكروب ممرض على حدا في عينات الأغذية والمياه، ودلائل سلامة الأغذية لابد أن تتوفر فيها الشروط التالية:

أ. أن تكون طريقة الكشف عنها أو عدها سهلة وسريعة.

ب. أن يسهل تمييزها عن بقية الكائنات الدقيقة الأخرى المتواجدة في الغذاء.

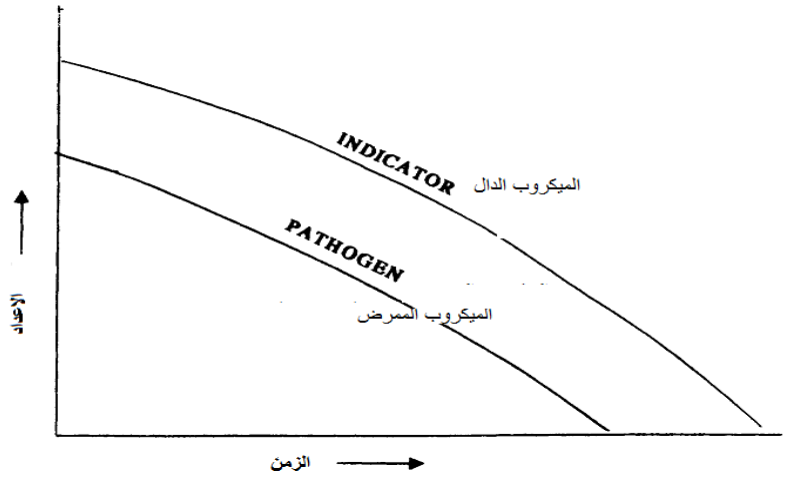
ج. أن يكون تواجد الميكروب الدليل مرتبط بشكل دائم ومستمر مع الميكروب الممرض وأن تكون أعداده أعلى من أعداد الميكروب الممرض المستخدم الدليل للكشف عنه.

د. أن يكون الكائن الدليل متواجد دائماً إذا تواجد الكائن الممرض.

هـ. أن يكون للميكروب الدال احتياجات ومعدل نمو مشابه للكائن الممرض.

و. أن يكون للميكروب الدال معدل موت يشبه الميكروب الممرض ولكنة يبقى لفترة أطول قليلاً من الميكروب الممرض.

ز. أن لا يتواجد في الغذاء في حالة خلو الغذاء من الميكروب الممرض فيما عدا أعداد محددة قليلة جداً، والشكل (1.30) يوضح العلاقة ما بين الميكروب الدليل والميكروب الممرض.



شكل (1.30): العلاقة النموذجية ما بين الميكروب الدال والميكروب الممرض أعداد الميكروب الدال يجب أن تفوق أعداد الممرض

المصدر: JAY (2000)

1.3.30 دلائل التلوث البرازي

من أهم المعايير لمعظم الأغذية أن لم يكن لكل الأغذية هي أن لا تكون ناقلة للأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان foodborne pathogens بغض النظر عن المصادر التي لوثت الأغذية، وتاريخياً استخدمت دلائل سلامة الأغذية ذات الأهمية للكشف عن وجود

الكائنات الممرضة ذات المصدر المعوي intestinal pathogens والتي تنتج من التلوث البرازي المباشر أو غير مباشر للأغذية والمياه، ولذلك فإن دلائل تطبيق الاشتراطات الصحية Sanitary indicators هي الكشف عن التلوث البرازي Fecal Contamination ومن أهم اشتراطات دلائل التلوث البرازي في الأغذية ما يلي:

أ. أن يكون الميكروب الدليل أصله معوي.

ب. يجب أن يتواجد الميكروب الدليل بأعداد كبيرة في البراز وبذلك يسهل تقديره حتى لو تواجد في الأغذية بأعداد قليلة.

جـ. أن لا يكون أكثر حساسية من الميكروب الممرض للإجهاد أو الظروف الغير مناسبة الناتجة من التعرض للعوامل الطبيعية والفيزيائية.

د. أن تكون طرق الكشف عنه أو عده لا تتطلب وقت طويل وغير مكلفة اقتصادياً.

هـ. أن يكون غير ممرض للإنسان حتى يسهل تداوله في المعمل دون إحتياطات خاصة.

و. أن يكون له القدرة على النمو وعلى التواجد والنجاة في الأغذية كما للميكروب الممرض.

ز. يجب أن يكون هناك علاقة مباشرة ما بين مستوى تواجد الميكروب الدليل وإحتمالية تواجد الميكروب الممرض المعوي في الغذاء وهذا يساعد في وضع المعايير والمواصفات لحدود تواجد الميكروب الدليل والتي على أساسها يتم قبول أو رفض المنتج الغذائي. وحيث أنه لا يوجد أي ميكروب دليل يجمع كل هذه الإشتراطات تستخدم عدة مجاميع أو أنواع تتوفر فيها العديد من الاشتراطات السابقة التي تؤهلها لتكون دلائل مرضية.

وتعتبر هذه الدلائل من أهم مؤشرات مدى الالتزام بتطبيق الاشتراطات الصحية

أثناء إنتاج الغذاء من عدمها ومن أهم دلائل التلوث البرازي ما يلي:

1.1.3.30 العدد الكلي للبكتيريا Total count of bacteria

يعتبر العدد الكلي للبكتيريا في الأغذية من المؤشرات الدالة على مستوى النظافة العام الذى أنتج فيه الغذاء، ويقدر العدد الكلي للبكتيريا الميتة والحية بواسطة العد المجهري المباشر Direct Microscopic Count بينما يقدر العدد الكلي للخلايا الحية بواسطة العد القياسي بالأطباق Standard Plate Count، وتستخدم مع بعض الأغذية مثل الأغذية الطازجة والمجمدة، واستعمال هذه الطريقة للكشف عن سلامة الأغذية من حيث احتوائها على الميكروبات المرضية أو سمومها ليست بذات أهمية لأن إرتفاع الأعداد الكلية للبكتيريا لا يعنى دائما احتمال تواجد الميكروبات المرضية في الغذاء، وتستعمل في هذه الطريقة عدة أوساط زراعية مثل الآجار المغذي Nutrient Agar أو آجار العد الكلي Total count agar والتحضين على درجة 30 إلى 37 م^{o} لمدة 48 ساعة ويتم التعبير عن النتيجة بالعدد أو لوغاريتم العدد لكل مل أو جرام من المادة الغذائية.

2.1.3.30 مجموعة بكتيريا القولون Coliform bacteria

مجموعة بكتيريا القولون هي بكتيريا عصوية سالبة لصبغة جرام غير متجرثمة ولاهوائية اختيارية، متحركة تستطيع تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج حامض وغاز خلال 48 ساعة على درجة 32 أو 35 م^{o} وتموت بالبسترة وتكون مستعمرات داكنة ذات بريق معدني في بيئة آجار إندو Endo Agar، وتستطيع بعض الأنواع منها أن تنمو على 44.5 م^{o}، وتوجد في براز الإنسان والحيوان والطيور ذوات الدم الحار.

وتتكون مجموعة القولون من أربع أجناس تابعة لعائلة المعويات *Enterobacteriaceae* وهي *Citrobacter* و *Enterobacter* و *Escherichia* و *Klebsiella*، بعض أنواع *Klebsiella* و *Enterobacter* توجد في التربة والبعض الآخر يتواجد في النبات والمياه. وحيث أن *E.coli* بكتيريا معوية وتتواجد بأعداد كبيرة في براز الإنسان والحيوان فإن تواجدها في الأغذية أو المياه يؤخذ كدليل على التلوث البرازي أكثر من غيرها من الأجناس أو الأنواع الأخرى (خاصة *Enterobacter aerogenes*)، الأنواع التابعة لهذه الأجناس تستطيع أن تنمو في الغذاء ماعدا الأغذية الحامضية (pH: أقل من أو تساوي 4.0) والقليل يستطيع أن ينمو ويقاوم أو ينجو في الحموضة. كما أن بكتيريا القولون تموت بالبسترة. ورغم أن هذه البكتيريا تعتبر من أدلة التلوث البرازي إلا أن بعض الأجناس تتواجد في الطبيعة وتلوث الغذاء، بعض أنواع *Enterobacter* spp. و *Klebsiella* spp. توجد في التربة حيث تستطيع أن تنمو وتصل إلى أعداد كبيرة.

ويتوقع أن تتواجد بكتيريا القولون في الكثير من الأغذية الخام ذات المصادر الحيوانية أو النباتية وقد تتواجد بكثرة في الأغذية النباتية نتيجة التلوث من التربة. وحيث أن بعض بكتيريا القولون ليست من مصدر معوي nonfecal origin كما أن بعضها يستطيع أن ينمو في الأغذية فإن هذا يقلل من دلالة هذه المجموعة على التلوث البرازي في الأغذية. تواجد هذه البكتيريا في الأغذية المعاملة حرارياً يعنى إما عدم كفاءة المعاملة الحرارية أو حدوث تلوث بعد المعاملة الحرارية.

3.1.3.30 مجموعة بكتيريا القولون البرازية Fecal Coliforms

بكتيريا القولون البرازية تضم البكتيريا التي مصدرها معوي وتعتبر دلالتها أقوى من بكتيريا القولون كمؤشر على التلوث البرازي للغذاء، وتضم المجموعة في الغالب بكتيريا *E. coli* وبعض أنواع *Klebsiella* و *Enterobacter*، وبكتيريا القولون الغير معوية يتم استبعادها باستخدام درجة حرارة تحضين عالية (44.5 مo ± 0.2 أو 45 م° ± 0.2) ولمدة 24 ساعة في بيئة مرق انتقائية تحتوي على سكر لاكتوز، تخمير اللاكتوز وإنتاج حامض وغاز يعتبر اختبار موجب لوجود بكتيريا القولون البرازية.

وتعتبر بكتيريا *E. coli* من أهم أعضاء هذه المجموعة وتتواجد في الجزء الأسفل من القناة المعوية للإنسان lower intestinal tract والحيوانات ذوات الدم الحار والطيور وتواجدها في الأغذية يدل على تلوث مباشر أو غير مباشر بالبراز، وقد يحدث التلوث المباشر أثناء تصنيع الأغذية ذات الأصل الحيواني بسبب سوء الظروف الصحية للتصنيع، أما التلوث الغير مباشر فيحدث بسبب مياه المجاري أو المياه الملوثة بهذه البكتيريا، وأهمية تواجد بكتيريا *E. coli* كمؤشر على التلوث البرازي واحتمال وجود بكتيريا ممرضة تعتبر أكبر من أهمية بكتيريا القولون وبكتيريا القولون البرازية، غير أن هناك بعض النقائص تتعلق باتخاذ *E. coli* كمؤشر على سلامة الأغذية وهي أنها يمكن أن تموت بمعدل أسرع من البكتيريا المعوية المرضية في الأغذية المجففة أو المجمدة والأغذية ذات الحموضة العالية، كما أن بعض الممرضات المعوية تستطيع أن تنمو على درجات حرارة منخفضة (0 – 2 م°) والتي عندها يمكن أن تموت بكتيريا *E. coli*، وقد تتواجد بكتيريا القولون البرازية في الأغذية المعاملة

حرارياً (المبسترة) وهذا يدلل على سوء الإجراءات الصحية بعد المعاملة الحرارية. وتستخدم هذه المجموعة بشكل مكثف كدليل سلامة للأغذية البحرية والمياه.

4.1.3.30 عائلة البكتيريا المعوية *Enterobacteriaceae*

الطرق الموصى بها للكشف عن مجموعة بكتيريا القولون وبكتيريا القولون البرازية وبكتيريا *E. coli* تعتمد على قدرة هذه البكتيريا على تخمير اللاكتوز وإنتاج حمض وغاز. وبالمقابل هناك بعض البكتيريا الممرضة المعوية لا تخمر اللاكتوز مثل سلالات بكتيريا *Salmonella* serovars، وهكذا بدلاً من عد بكتيريا القولون والقولون البرازية يمكن عد كل الأنواع والأجناس في العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* بما فيها البكتيريا المعوية الممرضة ليكون مؤشر أفضل على مستوى النظافة واحتمال التلوث البرازي ووجود البكتيريا الممرضة. يمكن عد هذه البكتيريا باستخدام بيئة متخصصة تحتوي سكر الجلوكوز بدلاً من اللاكتوز. من المآخذ على عائلة المعويات كمؤشر على سلامة الأغذية أنه ليست كل الأنواع التابعة لها ذات أصل معوي، والجدول (1.30) يوضح أهم الأجناس وموطنها الأصلي وقدرتها الإمراضية، تواجد هذه البكتيريا بأعداد كبيرة في الأغذية المعاملة حرارياً أو الأغذية الجاهزة ready- to-eat foods يمكن أن يهدد الصحة العامة.

5.1.3.30 بكتيريا المكورات المعوية *Enterococci*

الجنس *Enterococcus* هو جنس جديد نسبياً ويضم عدة أنواع كانت تعرف في السابق باسم السبحيات المعوية Fecal streptococci. وهي بكتيريا موجبة لصبغة جرام غير متجرثمة وغير متحركة كروية cocci أو عصوية مكورة Coccobacilli، سالبة للكاتليز

catalase negative ولاهوائية اختيارية، تستطيع أن تنمو ما بين 10 إلى 45 م°، البعض يستطيع أن ينجو أثناء عملية البسترة، وفي العموم هذه البكتيريا أكثر مقاومة من بكتيريا القولون لعملية التبريد ولتجميد والتجفيف وللأس الهيدروجيني المنخفض ولتأثير كلوريد الصوديوم، تتواجد هذه المجموعة في أمعاء الإنسان والحيوانات ذوات الدم البارد والحار وفي الطيور والحشرات كما تتواجد أيضا في مياه المجاري والمياه الملوثة، ولا تستطيع النمو في الماء ولكنها تنجو في المياه لمدة أطول من بكتيريا القولون كما تستطيع النمو في الأغذية. ولأن مصدر هذه البكتيريا معوي فقد أقترح منذ عام 1900 اعتبارها أحد دلائل جودة المياه. من أهم الأنواع المعروفة التابعة لهذه المجموعة والتي توجد في أمعاء الإنسان والأغذية ذات الأصل الحيواني هي *Enterococcus faecalis* و *E. faecium* و *E. durans*. بكتيريا *Enterococcus* ويمكن أن تتواجد في الغذاء نتيجة التلوث البرازي أو من خلال المياه أو معدات التصنيع الملوثة ووجودها بأعداد كبيرة في الأغذية المعاملة حراريًا يعتبر دليلاً على احتمالية تواجدها بأعداد كبيرة في المادة الخام الأولية وكذلك يدل على سوء الظروف الصحية وعدم نظافة معدات تصنيع المنتجات الغذائية، وأوضحت عدة دراسات أن هذه البكتيريا تعتبر مؤشر لسلامة الأغذية المجمدة أفضل من بكتيريا القولون التي لا تستطيع البقاء لفترة طويلة تحت ظروف التجميد، والجدول (2.30) يعرض نتائج أحد هذه الدراسات التي توضح قدرة بكتيريا *Enterococci* على الصمود أثناء التجميد لأصابع السمك على – 20 م° لمدة 481 يوماً مقارنة ببكتيريا القولون، كما تستخدم هذه المجموعة لتقييم الجودة الميكروبية للصدفيات Shellfish، بعض الأنواع التابعة لهذه المجموعة تسبب اضطرابات

والتهابات معوية للإنسان gastroenteritis.

جدول (1.30): أهم الأجناس التابعة لعائلة المعويات *Enterobacteriaceae* ومصادرها وقدرتها الإمراضية

الأجناس	القدرة الإمراضية	المصدر الأصلي
Escherichia	بعض السلالات ممرضة	القناة المعوية للانسان و الحيوانات ذوات الدم الحار و الطيور
Shigella	كل السلالات ممرضة	القناة المعوية للانسان
Salmonella	كل السلالات ممرضة	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الطيور و الحشرات
Citrobacter	من الممرضات الانتهازية	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الطيور و في التربة و المياة
Klebsiella	من الممرضات الانتهازية	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الطيور و في التربة و المياة و الحبوب
Enterobacter	من الممرضات الانتهازية	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الطيور و منتشرة في الطبيعة خاصة في النبات
Erwinia	غير ممرضة	في النبات
Serratia	من الممرضات الانتهازية	التربة , المياة و النبات
Hafnia	غير ممرضة	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الطيور و في التربة و المياة و الحبوب
Edwardsiella	غير ممرضة	الحيوانات ذوات الدم البارد و الماء
Proteus	من الممرضات الانتهازية	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الطيور و في التربة و المياة الملوثة
Morganella	من الممرضات الانتهازية	القناة المعوية للانسان و الحيوان و الزواحف
Yersinia	بعض الانواع ممرضة	القناة المعوية للانسان و الحيوان و في الطبيعة

المصدر: مختصر عن **RAY (2004)**

4.30 دلائل ميكروبية أخرى

هناك بعض الطرق الأخرى التي تعتمد على تقدير أعداد ميكروبية معينة لمعرفة طبيعة التلوث وكفاءة عمليات التصنيع مثل:

أ. تقدير بكتيريا *S. aureus* لمعرفة مصدر التلوث من تداول الأغذية غير الصحيح من قبل العاملين.

ب. تقدير البكتيريا المحبة للحرارة العالية thermophiles لتقييم كفاءة عملية التعقيم في الأغذية المعلبة وذلك بعد تخزينها على 55 م لعدة أيام.

ج. تقدير مجموعة البكتيريا المحبة للبرودة Psychrophiles لمعرفة مدى تلوث الأغذية المبردة (AYRES et al. 1980; JAY, 2000; RAY, 2004).

جدول (2.30): تأثير التجميد على أعداد بكتيريا القولون وبكتيريا *Enterococci* في أصابع السمك المجمدة

زمن التجمد على -20 م° (ايام)	العدد الاكثر احتمالا/ 100مل	
	Coliform	*Enterococci*
0	5,600,000	15,000,000
7	6,000,000	20,000,000
14	1,400,000	13,000,000
20	760,000	11,300,000
35	440,000	11,200,000
49	600,000	20,000,000
63	88,000	11,000,000
77	395,000	15,000,000
91	125,000	41,000,000
119	50,000	5,400,000
133	136,000	7,400,000
179	130,000	5,600,000
207	55,000	3,500,000
242	14,000	4,000,000
273	21,000	4,000,000
289	42,000	3,200,000
347	20,000	2,300,000
410	8,000	1,600,000
446	260	2,300,000
481	66	5,000,000

المصدر: JAY et al; (2005)

المراجع

Adams, M. and MOSS, M. (2008). *Food Microbiology*, The Royal Society of Chemistry, UK.

Ayers, J. , et al (1980). *Microbiology of Foods*, Freeman and Company. USA.

Banwart, G. (1998). *Basic Food Microbiology*, Chapman & Hall.

Benson, H. (1979). *Microbiological Applications*, Wm. C. Brown Company. USA.

Bitton, G., Farrah, S., Ruskin, J. Butner Y. and Chou J. (1983). Survival of Pathogenic and Indicator Organisms in Ground Water, *Ground Water*. 21(4) 405-410.

Black, J. and Black, L. (2012). *Microbiology, Principles and Exploration*, John Wiley & Sons, Inc. USA.

Boulange-Peterman, L., Barroux, B., and Bellon- Fontaine, M.N. (1993). *The influence of metallic wettability on bacterial adhesion*. Journal of Adhesion Science and Technology. 7 (3) 221-230.

Bower, C.K., McGuire, J. and Daeschel, M. A. (1996). The adhesion and detachment of bacteria and spores on food contact surfaces. Trends in Food Science and Technology. 7(5) 152-157.

Bradshaw, J.G., Shah, D.B., Wehby, A.J., Peeler, J.T. and Twedt, R.M. (1984). Thermal inactivation of the Kanagawa hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* in buffer and shrimp. Journal of Food Science. 49 (1) 183–187.

Briandet, R., Meylheue, T., Maher. C., and Bellon-Fontaine, M.N. (1999). *Listeria monocytogenes* Scott A: cell surface charge, hydrophobicity, electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. Appllied. and Environmental Microbiology. 65 (12): 5328-5333.

Broughton, J. D. (2005). Nisin as a food preservative. Food Australia 57 (12) 525-527.

Bucky, A.R., Hayes, P.R., and Robinson, D.S. (1988). Enhanced inactivation of bacterial lipases and proteinases in whole milk by a modified

ultra-high temperature. Journal of Dairy Research. 55 (3) 373-380.

Cameron, E .J. and Esty , J. R. (1940). Comments on the microbiology of spoilage in canned foods. Food Science. 5 (6) 549-557.

Carpenter, P.L. (1967). *Microbiology*, Second Edition , Philadelphia: W.B. Saunders.

Chmielowski, R. A. N. and Frank، J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. Comprehensive Review in Food Science and Food Safety. 2 (1) 22-32.

Davey, M.E., O'Toole, G.A. (2000). Microbial biofilms: From ecology to molecular genetics. Microbiology and Molecular Biology Review. 64 (4) 847-867.

Duncan, M and Horan, N. (2003). Handbook of Water and Wastewater Microbiolog . Academic Press. UK.

Eley, A.R. (1996). *Microbial Food Poisoning*. Chapman & Hall, London.

Frazier, W.C. (1968). *Food microbiology*, Second Edition. Tata Mc Graw-Hill publishing company Ltd., New Delhi.

Gerardi, M. H., and Zimmerman, M.C. (2005). *Wastewater Pathogens*. John Wiley & Sons, Inc., USA.

Gibson, H., Taylor, J.H., Hall, K.E. and Holah, J.T.(1999). Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. Journal of Appllied. Microbiology. 87(1) 41-48.

Goyal ,S. M. (2006). *Viruses in Foods*, Springer Science and Business Media, USA.

Glazer, A. N., and Nikaido, H. (2007). *Microbial Biotechnology* : Fundamentals of Applied Microbiology, Second Edition, Cambridge University Press. UK

Grant, M.A. (1998). Analysis of bottled water for *Escherichia coli* and total coliforms. Journal Food Protectection . 61 (3) 334–338.

Hardy, S.P. (2002). *Human Microbiology*, Taylor & Francis Inc,.

London.

ICMSF "The international Commission on Microbiological Specification of Foods" (1980). Microbiological ecology of foods: Factors affecting life and death of microorganisms, Academic Press, Inc., New York.

Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology*, Sixth Edition, Aspen Publishers, Inc. Maryland.

Jay, J. M., Loessner, M. J. and Golden, D.A. (editors) (2005). *Modern Food Microbiology*, Seventh Edition, Springer Science and Business Media, USA.

Juneja, V.K., Eblen, B.S., and Ransom, G.M. (2001). Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in chicken broth, beef, pork, turkey, and chicken: Determination of D- and z-values. Journal of Food Science. 66 (1) 146-152.

Juven, B.J., Barefoot, S.F., Pierson, M.D., MaCaskill, L. H., and Smith B. (1998). Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged ground beef inoculated with *Lactobacillus alimentarius* FloraCarn L-2. Journal of Food Protection. 61(5) 551-556.

Karel, M., Fennema, O. R., and Lund, D.B. (1975). *Principles of Food Science*. Part II: Physical principles of food preservation, Marcel Dekker, Inc.,New York.

Kelly, A.L., O'Flaherty, F.,and Fox, P.F. (2006). Indigenous proteolytic enzymes in milk: A brief overview of the present state of knowledge. International Dairy Journal. 16 (6) 563-572.

Kerr M., Fitzgerald, M. ,Sheridan J. J, D. A. McDowell , I. S. Blair . (1999). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in bottled natural mineral water. Journal of Applied Microbiology. 87 (6) 833–841.

Kilcast, D., and Subramaniam, P. (editors) (2000). *The Stability and shelf-life of Food*, Wood head Publishing Limited, CRC Press, USA.

Kingsley, D. H., Hoover, D. G., Apafragkou, E. P., and Richards, G. P. (2002). Inactivation of hepatitis A virus and a calicivirus by high

hydrostatic pressure. Journal of Food Protection. 65 (10) 1605- 1609.

Kim, H., and P. Feng. (2001). Bottled water. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. (eds. Downes, F. P. and Ito, K.), Washington, DC: American Public Health Association.

Koopmans, M. V., Bonsdorff, V.C. H., De Medici J. D., and Monroe, S. (2002). Foodborne viruses. FEMS Microbiology Review. 26 (2) 187-205.

Kraft, A.A., Reddy,K.V., Hasiak, R. J., and K. d. Lind (1982). Microbiological quality of vacuum packaged poultry with or without chlorine treatment. Journal of Food Science 47 (2) 380-385.

Kumar, C.G., and Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. International Journal of Food Microbiology. 42 (1-2) 9-27.

Lappin Scott, H. M. and Costerton, J. W. (editors) (Walker) (1995). *Microbial Biofilms*, Cambridge Univ.Press, Cambridge.

Lihono, M.A., Mendonca,A.F., Dickson, J.S. and Dixon, P.M. (2003). A predictive model to determine the effects of temperature, sodium pyrophosphate, and sodium chloride on thermal inactivation of starved *Listeria monocytogenes* in pork slurry. Journal of Food Protection. 66 (7) 1216-1221.

Lund, B. M., Baird-Parker T. C. and Gould G.W. (2000). *The Microbiological Safety And Quality of Food* .Vol. 2, Aspen Publishers, Inc

Lunden, J.M., Miettinen, M.K., Autio, T.J., Korkeala, H.J. (2000). Persistent *Listeria monocytogenes* strains show enhanced adherence to food contact surface after short contact time. Journal of Food Protection. 63 (9) 1204-1207.

Madigan' M. T. , Martinko J. M. , Stahl D. and Clark D. P. (editors) (2008). *Brock Biology of Microbiology*, Second Edition, Pearson Benjamin-Cummings, San Francisco.

McEldowney, S., Fletcher, M. (1987). Adhesion of bacteria from mixed cell suspension to solid surfaces. Archives of Microbiology. 148 (1) 57-62.

McFeters, G.A.,Bissonette, G. K., Jezeski, J. J., Thomson,C.A., Stuar D.G. (1974). Comparative survival of indicator bacteria and enteric pathogens in well water. Applied Microbiology. 27 (5) 823-829.

Mitchell, G.E. and Ewings, K.N. (1985). Quantification of bacterial proteolysis causing gelation in UHT-treated Milk. Dairy Science and Technology. 20 (1) 65-76.

Mittelman, M.W. (1998). Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. Journal of Dairy Science. 81 (10) 2760-2764.

Ng, H., Bayne, H.G., and Garibaldi, J.A. (1969). Heat resistance of *Salmonella*: The uniqueness of *Salmonella* Senftenberg775W. Applied. Microbiology. 17 (1) 78-82.

Nickerson, J.T., and Sinskey, A.J. (editors) (1972). *Microbiology of Foods and Food Processing*, American Elsevier Publishing Co., New York.

Oh, D-H. and Marshal, D.L. (1995). Destruction of *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel using monolaurin and heat. Journal of Food Protection. 57 (3) 251-255.

Oui Suh, S., Kurtzman, C.P., Lachance, M.A. (2006). Phylogenetics of Saccharomycetales, the ascomycete yeasts. Mycologia. 98 (6) 1006-1017.

Prescott, L. M., Harley, J.P. and Klen, D. A. (1999). *Microbiology*, fourth Edition, McGrow-Hill companies, Inc, USA

Pommemille, J. C. (2007). *Fundamental of Microbiology*, Jones and Bartlett Publishers, London. UK

Ray, B. (2004). *Fundamental Food Microbiology*, third edition, CRC Press, USA.

Richards, R. (1999). Efficacy of sanitizers on *Listeria monocytogenes* biofilms. Food Australia . 51 (12) 624-625.

Robinson, R.K. (1981). *Dairy Microbiology*, Vol. 1, Elsevier Applied Science Publisher Ltd. UK.

Robinson, R.K. (1981). *Dairy Microbiology*, Vol. 2, Elsevier Applied Science Publisher Ltd. Uk.

Sharma, M., Ryu, J. H., and Beuchat, L. R. (2005). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in biofilm on stainless steel by treatment with an alkaline cleaner and a bacteriophage. Journal of Applied Microbiology. 99 (3) 449–459.

Sillankorva, S., Oliveira, D. R., Vieira, M. J., Sutherland, I. W., and Azeredo, J. (2004). Bacteriophage ΦS1 infection of *Pseudomonas fluorescens* planktonic cells versus biofilms. Biofouling. 20 (3) 133-138.

Sinde, E., Carballo, J. (2000). Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. Food Microbiology. 17 (4) 439-447.

Sørhaug ,T., and Stepaniak, L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. Trends in Food Science and Technology. 8 (2) 35-41.

Smoot, L.M., and Pierson, M.D. (1998). Effect of environmental stress on the ability of *Listeria monocytogenes* Scott A to attach to food contact surfaces. Journal of Food Protection. 61 (10) 1293-1298.

Speck M. L. and Adams D. M. 1976. Symposium: Impact of heat sable microbial enzymes in food processing. Journal of Dairy Science. 59 (4) 786-789.

Warburton, D.W., J.W. Austin, B.H. Harrison, and G. Sanders. (1998) Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated bottled water. Journal of Food Protection. 61(8) 948–952.

Warburton, D. W. and Austin, J. W. (2000) Bottled water, In *The Microbiological Safety and Quality of Food* (eds. Lund, B. M. , Baird-Parker, T. C. and Gould, G. W.), Aspen Publishers, Inc.uk.

Warriner, K., Ibrahim, F., Dickinson, M., Wright, C. Waites W. M. (2003) Interaction of *Escherichia coli* with growing salad spinach plants. Journal of Food Protection. 66 (10) 1790-1797.

Wilkinson, N., Kurdziel, A. S., Langton, Cook, S. N. (2001) Resistance of poliovirus to inactivation by hydrostatic pressure. Innovative

Food Science & Emerging Technologies
2 (2) 95-98.

Wijman, J. G. E., de Leeuw ,P. P. L. A., Moezelaar, R., Zwietering M. H., Abee, T. (2007) Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: Formation, sporulation, and dispersion. Applied and Environmental Microbiology. 73 (5) 1481-1488.

Wuytack, E.Y., Diels, A. M. J., Meersseman, K., and Michiels, C. W. (2003) Decontamination of seeds for seed sprouts production by high hydrostatic pressure. Journal of Food Protection. 66 (6) 918-923.

Xezones, H. and Hutchings, I. J. (1965) Thermal resistance of *Clostridium botulinum* (62A) spores as affected by fundamental food constituents. Food Technology. 19(6) 1003-1005.

Yousef, A. E. and Courtney, P. D. (2002) Basics of Stress Adaptation and Implications in New-Generation Foods, In *Microbial Stress Adaptation and Food Safety*,(eds.Yousef A. E. and Juneja V. K .), CRC Press.

مسرد الكلمات والمصطلحات الأجنبية

A

Aerosols	الرذاذ أو الهباء الجوي
Acid Adaptation	التأقلم مع الحموضة
Acid Tolerance	تحمل الحموضة
Acid Shock	صدمة الحموضة
Activation	التنشيط
Aflatoxin	أفلاتوكسين (احد السموم الفطرية)
Acid stress proteins	بروتينِ الإجهادِ الحامضيِ
Acid Shock	صدمة الحموضة
Acid Tolerance	تحمل الحموضة
Adhesin protein	البروتين اللاصق
Arthrospore	الجراثيم المفصلية
Antagonistic Growth	النمو التضادي
Antigens	مستضدات
Antigenic	مستضدي
Antimicrobial substances	مواد مضادة للميكروبات
Antitoxins	مضاد سموم
Asexual reproduction	التكاثر اللاجنسي
Autolysis	تحلل ذاتي
Autolytic enzymes	إنزيمات التحلل الذاتى
Ascospores	الجراثيم الاسكية
Attachment	الالتصاق

B

Bacteriostatic	مثبط للبكتيريا

Bacteriocidal	قاتل للبكتيريا
Binary fission	الانقسام الثنائي
Bacteriophages	فيروسات (ملتهمات البكتيريا)
Biofilm	الطبقة الحيوية
Binomial name	الاسم الثنائية
broad spectrum	واسع الطيف
Botulism	تسمم بوتيوليني
Bacterial population	محتوى بكتيري
Budding	التبرعم
Brevibacteria	البكتريا القصيرة
Brucellosis	الإصابة ببكتريا البروسيلا (الحمى المالطية)

C

Carbonated drinks	المشروبات الغازية
Carcasses	ذبائح
Capsid	القفيصة
Capsules	الكبسولة
Carmalization	الكرملة
Catalytic	محفِّز
Catalase negative	سالبة للكاتليز
Cell wall	الجدار الخلوي
Chlamydospores	الجراثيم الكلاميدية (مغطاة)
Condensed milk	الحليب المكثف
Coliform	بكتريا القولون
Conidiospores	الجراثيم الكوندية (الغبارية)

Contact time	زمن التماس
Contamination	التلوث
Core	اللب
Cortex	طبقة القشرة
Commercial sterility	التعقيم التجاري
Chelating agents	المواد المخلبية
Chemical sanitizers	المطهرات الكيميائية
Chemical spoilage	فساد كيميائي
Cross-contamination	التلوث الخلطي
Crystallization	التبلور
Cytotoxins	سموم خلوية (سامة للخلايا)

D

Death phase	طور الموت
Dehydration	التجفيف
Degradative ability	القدرة على التحليل
Direct microscopic count	العد المجهري المباشر
Discoloration	تغير اللون
Disinfection	التطهير
Decimal reduction time (D-value)	زمن الاختزال العشري (قيمةD)
Deoxyribonucleic acid (DNA)	الحمض النووي الريبي
Dynamic process	عملية متحركة

E

Enteric types	الأنواع المعوية

Enteric viruses	الفيروسات المعوية
Electronegativity	الكهربائية السالبة
Ergotism	التسمم الأرغوني
Endospores	جراثيم داخلية
Emetic	مسببة للقيء
Enterococci	مكورات معوية
Enterotoxins	سموم معوية
Enteropathogenic	كائن معوي ممرض
Equilibrium relative humidity (ERH%)	اتزان الرطوبة النسبية
Evaporated milk	الحليب المبخر
Exponential phase	طور النمو اللوغاريتمي
Exosporium	الغلاف الخارجي للجرثومة
Extracellular proteolytic enzymes	الإنزيمات المحللة للبروتين الخارجية
Extracellular polysaccharides	السكريات العديدة خارج الخلايا
Extracellular polymeric substances	المواد المتبلمرة المفرزة خارج الخلايا
Eubacteria	بكتيريا حقيقية
Eucaryotes	الكائنات حقيقية النواة

F

False yeast	الخمائر الكاذبة
Fecal Coliforms	بكتيريا القولون البرازية
Fecal contamination	التلوث البرازي
Fecal-oral route	المسار البرازي الفموي
Fermented foods	الأغذية المتخمرة
Fermentation	تخمير

Fermentative yeasts	الخمائر المخمرة
Film yeasts	خمائر غشائية
Flat sour spoilage	فساد حامضي مسطح
Flagella	الاسواط
Flora	مجموعات
Food borne diseases	الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية
foodborne infection	العدوى المنقولة عن طريق الأغذية
Food poisoning	تسمم غذائي
Foodborne viral diseases	الأمراض الفيروسية المنتقلة عن طريق الأغذية
(FDA) Food and Drug Administration	إدارة الأغذية والعقاقير الأميركية
Food sanitation	شروط صحية للأغذية
Fluorinated polymers	البلميرات المفلورة
Free energy	طاقة حرة
Freeze drying	تجفيد
freezing point	نقطة التجمد
Fungi	الفطريات
Fungistatic	مثبط للفطر
Fungicides	قاتل للفطر
Foam-Drying	تجفيف الرغوة

G

Gastrointestinal tract	القناة المعوية
Gastroenteritis	التهابات معوية
Gastrointestinal disorders	اضطرابات معوية

Gel electrophoresis	تقنية الترحيل الكهربائي
Generally recognized as safe (GRAS)	معروفة عموما بانها آمنة
Generation time	الزمن الجيلى
Germination	الإنبات
Good manufacturing practice (GMP)	ممارسات التصنيع الجيدة
Growth curve	منحنى النمو
Growth range	مجال النمو

H

Halophiles	محبة للملوحة
Halotolerant	تتحمل الملوحة
Heat-labile	حساسة للحرارة
Heat-stable	ثابتة حراريا
Heat stress proteins	بروتينِ الإجهادِ الحراري
Hepatitis A	التهاب الكبد الوبائي A
Heterofermentation	تخمر غير متجانس
Homofermentation	تخمر متجانس
Hypotonic solutions	محاليل منخفضة التركيز
Hydrophilic	محب للماء
Hydrophobic	كارهة للماء
Hydrophobic particles	جزيئات كارهه للماء
Hydrostatic Pressure	الضغط الهيدروستاتيكي
Hemolysins	مواد حالة لكرات الدم الحمراء
Hybridization	تهجين
Hygien	صحي

I

Ionizing radiation	الأشعة المؤينة
Indicator organisms	الأحياء الدالة
Infant botulism	التسمم البوتيولونى للرضع
infection	العدوى
Initial load	الحمل الأولي
Intoxication	التسمم
Imperfect fungi	الفطريات الناقصة
Irreversible attachment	التصاق غير قابل للانعكاس
International Numbering System (INS)	نظام الترقيم الدولي
Intestinal pathogens	الممرضات ذات المصدر المعوي
Intestinal tract	القناة المعوية
Intracellular enzymes	الإنزيمات الداخلية
Intracellular protein	البروتين داخل الخلية
Intracellular turgor	الإنتفاغ الداخلي
Intracellular Obligate Parasites	متطفلة إجباريه لا تعيش إلا داخل العائل
Intermediate Moisture Foods (IMF)	أغذية متوسطة الرطوبة
invasive factor	عامل إجتياحي

K

Kingdom Protista	مملكة البروتستا
Kingdom Monera	مملكة مونيرا

L

Lactic Acid Bacteria	بكتيريا حامض اللاكتيك
Lag phase	طور الخمول
Lipopolysaccharide	السكريات الدهنية العديدة

Lipolytic	إنزيمات محللة للدهن
Lipoteichoic acids	حمض التشيوك الدهني
Listeriosis	عدوى الليستيريا
Log phase	الطور اللوغاريتمي
Lose culturability	فقد القدرة على النمو
Lower intestinal tract	الجزء الأسفل من القناة المعوية

M

Maximum growth temperature	درجة الحرارة القصوى للنمو
Mesophiles	المحبة لدرجة الحرارة المعتدلة
Metabolites	النواتج الأيضية
Metabolic products	النواتج الأيضية
Microaerophilc bacteria	البكتيريا شحيحة الحاجة للأوكسجين
Minimally processed foods	الأغذية المصنعة جزئيا
Minimum growth temperature	درجة الحرارة الدنيا للنمو
Microbial indicators	الدلائل الميكروبية
Mixed microbial population	مجتمع يحتوي على أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة
Modified-air packages	التعبئة في جو معدل
Molecular biology	علم الحياة الجزيئي
Morphology	علم المظهر
Multilateral budding	التبرعم الجانبي المتعدد: تكون اكثر من برعمين على الخلية الأصل في الخمائر
Mycotoxicosis	التسمم الفطري
Mastitis	مرض التهاب الضرع
Mycotoxins	سموم فطرية

Most Propable Number (MPN)	العدد الأكثر احتمالا
Mycoplasma	مايكوبلازما: بكتيريا ليس لها جدار خلوي

N

Narrow spectrum	طيف فعالية ضيق
Natural flora	فلورا (مجموعات) طبيعية
Nausea	غثيان
Neurotoxic proteins	بروتينات سميه عصبيه
Neurotoxins	سموم عصبية
Noncapsular	بدون كبسولة
Non perishable foods	الأغذية غير السريعة الفساد
Nonproteolytic	غير محلل للبروتين
Nomenclature	تسمية
Numerical Taxonomy	التصنيف العددي

O

Obligate or strict anaerobes	لا هوائية إجباريا
Obligate halohpils	محبة للملوحة إجباريا
Obligated psychrophiles	المحبة للبرودة إجباريا
Off-flavor	النكهة غير المرغوبة
Optimum temperature	درجة الحرارة المثلى
Opportunistic Pathogens	الممرضات الانتهازية
Osmotic shock	صدمة أسموزية
Osmophiles	أوزموفيلية (محبة للضغط الأسموزي)
Outbreaks	تفشيات
Outgrowth	النمو

Oxidation - reduction Potentials	جهد الأكسدة والاختزال
Oxidative yeasts	الخمائر المؤكسدة

P

Parasitism	التطفل
Parasites	طفيليات
Pectinolytic activity	نشاط تحليل البكتين
Perfect fungi	الفطريات التامة
Permeability	النفاذية
Perishable foods	الأغذية سريعة التلف أو الفساد
Pili	الأهداب
Polar fimbriae	أهداب قطبية
Poliomyelitis	شلل الأطفال
Polyhydral viruses	فيروسات متعددة الوجوه
Polyclonal antibodies	أجسام مضادة متعددة النسيلة
Polymerase chain reaction (PCR)	تفاعل إنزيم البوليميريز المتسلسل
Predominant types	الأنواع السائدة
Probiotic bacteria	بكتيريا تقدم بكمياتٍ كافيةٍ للعائل لتعطيه منافع صحية
Prokaryotes	الكائنات بدائية النواة
Proteolytic enzymes	الإنزيمات المحللة للبروتين
Promoter	المحفز
Protozoa	حيوانات وحيدة الخلية
Pseudomycelium	ميسليوم كاذب
Psychrophiles	محبة للبرودة
Psychrotrophic	تتحمل البرودة

Putrefactron	تعفن

R

Ready-to-eat food	الأغذية الجاهزة للأكل
Redox potential (Eh)	جهد الأكسدة والاختزال
Reducing power	القدرة الاختزالية
Rehydration	تشرب (إعادة ترطيب)
Resuscitation	إعادة الإنعاش
Reversible attachment	التصاق قابل للانعكاس
Ropiness	المطاطية
Radiation	التشعيع
Rogor mortis	التيبس الرمى
Rot	العفن

S

Salmonellosis	عدوى السالمونيلا
Sanitizing	تطهير
Sanitary indicators	دلائل تطبيق الاشتراطات الصحية
Sausage	سجق
Semi perishable foods	الأغذية متوسطة القابلية للفساد
Sclerotia	أجسام فطرية ساكنة صلبة
Scraping	القَشْط
Scrubbing	الحَكّ
Sequence growth	النمو المتسلسل
Septate	مقسم
Sexual reproduction	التكاثر الجنسي

Sporulation	التجرثم
Semiperishable foods	أغذية شبه قابلة للفساد
Serotype	نمط مصلي
Sewage	مياه مجاري
Shigellosis	عدوى بكتيريا *Shigella*
Shellfish	المحار
Slaughter	ذبح
Soft rot	تعفن رخو
Softening spoilage	الفساد الرخو
Solutes	مواد مذابة
Specific antigens	المستضدات النوعية
Spoilage	فساد
Spores	جراثيم
Sporangium	الكيس الجرثومي
Sporangiophore	حامل الكيس الجرثومي
Standard plate count	العد القياسي بالأطباق
Stainless steel	الصلب غير القابل للصدأ
Stationary phase	طور الثبات
Sterilization	تعقيم
Stress adaptation	التأقلم مع الإجهاد
Sublethal Injury	الضرر دون الموت
Successive growth	النمو المتعاقب
Superdormant spores	الجراثيم فائقة السكون

Surface conditioning	تهيئة السطح
Surface layer proteins	طبقة البروتينات السطحية
Surface-active compounds	المركبات النشطة سطحيا
Sweetened condensed milk	الحليب المكثف المحلى
Symbiotic growth	النمو التعاوني
Synergistic growth	النمو التكافلي

T

Temperature abuse	سوء استخدام درجةِ حرارة (تعرض المنتج لدرجة حرارة غير مناسبة تؤثر سلبا على جودته و/أو سلامته)
Thermal death time (TDT)	زمن الهلاك الحرارى
Thermal death point	نقطة الهلاك الحرارى
Thermoduric	مقاومة للحرارة
Toxicoinfection	العدوى السامة
Thermophiles	محبة للحرارة
turgor pressure	ضغط الانتفاخ
Taxonomy	علْم تَصنيف الأنواع
Toxins	سموم

U

Ultra high temperature (UHT)	درجة حرارة فائقة
Ultrasound	الموجات فوق الصوتية
Uniform monolayer	طبقة أحادية متجانسة

V

Vacuum package	تغليف تحت تفريغ

Vegetative	خضري
Viable-but-nonculturable cells	خلايا حية غير قابلة للنمو
Viral gastroenteritis	الالتهاب المعوي الفيروسي

W

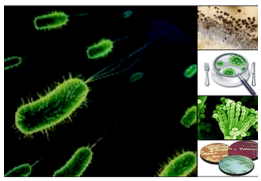
Wastes	مخلفات
Water activity	نشاط مائي
Wettability	القابلية للتبلل
World Health Organization(WHO)	منظمة الصحة العالمية

X

Xerophilic moulds	أعفان تتحمل الجفاف

Z

Zygospore	الجراثيم الزيجية



منشورات جامعة عمر المختار 2022