

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الأنبار – كلية الزراعة قسم علوم الاغذية

احياء اغذية مجهرية / عملي المرحلة الثالثة

إعداد م.م. بلال علي خشان كلية الزراعة-قسم علوم الأغذية

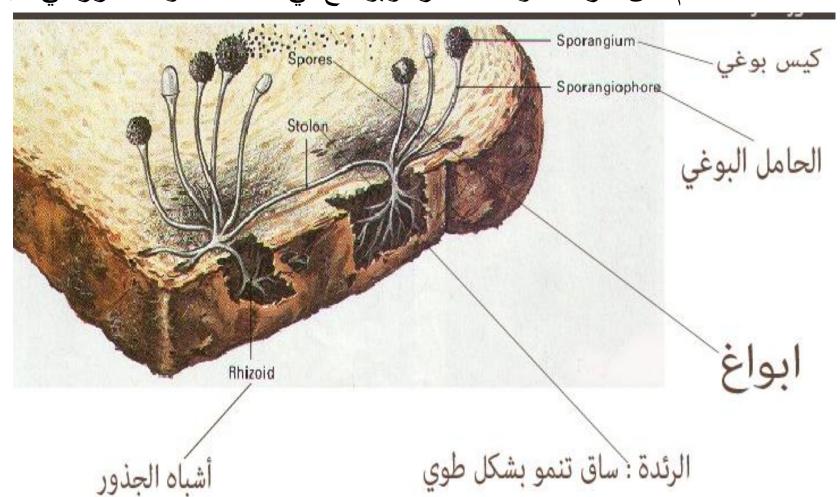
فحوصات الأغذية الملوثة بالاعفان



تصاب الأغذية بالاعفان وتسبب تلفها وقد يفرز بعضها السموم Mycotoxins ومن أهم تلك السموم هي الأفلاتوكسن التي تسبب امراضا للانسان ، تقاوم الإعفان العوامل البيئية الصعبة وتنمو في الأغذية وتسبب التلف في مدى درجات حرارة ورطوبة و pH واسعة وتقاوم تراكيز السكريات والأملاح العالية .

يمكن التفرقة بين اجناس وانواع الأعفان بواسطة الفحص المجهري دون تصبيغ وان التشخيص بين الأنواع يعتمد لدرجة كبيرة على الخصائص الظاهرية المجهرية ، يمكن تنمية الاعفان باوساط زرعية اصطناعية او طبيعية في المختبر وهي هوائية اجبارية . تنمو مستعمرة الأعفان على هيئة هالة غزلية mycelium متكونة من خيوط فطرية على المائدات لون ابيض في باديء الأمر مايلبث أن يتحول الى الوان مختلفة (الاسود الأسمر الاخضر الزيتونى) عندما يبدأ العفن في تكوين السبورات

تتكاثر الاعفان تكاثر لاجنسي وجنسي بواسطة تكوين سبورات على نهايات الخيوط الغزلية (ماعدا بعضها لاتتكاثر جنسية). ولهذه الأسباب فإن عملية نقل نموات الإعفان لا ينصح أن تكون بواسطة ابرة وشراج Loop نقل البكتريا بل بواسطة قضيب معدني ذو نهاية مفلطحة وحادة يمكن بواسطتها تقطيع النمو ونقله. وبذلك عند اعادة زرع الاعفان يقطع جزء من النمو بمساحة ١ – ٢ ملم من طرف نمو المستعمرة ويوضع في منتصف الوسط الزرعي الجديد.



ولا ينصح بنقل الجزء الذي يحتوي سبورات للاسباب التالية:

- ١- تلوث المختبر في سبورات الإعفان بواسطة الهواء.
- ٢- عندما يتم نقل سبورات الإعفان ستتكون عدة مستعمرات جديدة ومتراكمة او متقاربة يكون من صعب الحصول على مزرعة يمكن دراسة خصائصها الظاهرية.
- "- ازدياد احتمال حصول الطفرات الوراثية عند نقل السبورات، وتكون النموات اوضح واسهل ومنسجمة للدراسة عندما يتم نقل الهايفات او المايسيليوم.

تعتبر الخصائص الظاهرية لهم وسيلة في تمييز الاعفان ولذلك تكون من المهم جدا السيطرة على تقنية زراعة ودراسة الاعفان في المختبر تسبب بعض أنواع الإعفان تلف الأغذية بينما يساهم البعض في صناعات متعددة مثل صناعة مضادات الحياة والانزيمات والحوامض والدهنيات.





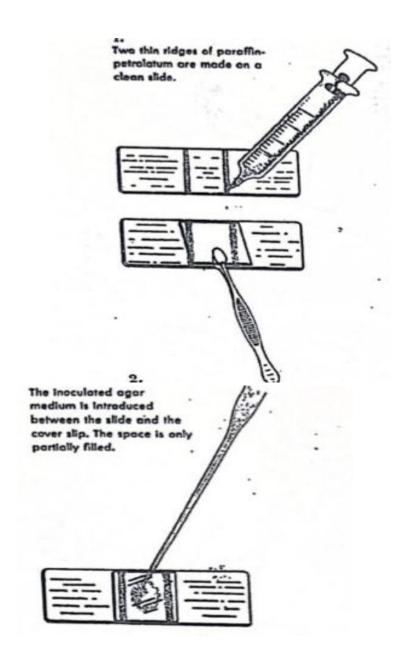
- تفحص الاغذية المصابة بالاعفان بالعين المجردة وبالمجهر بالعدسة الصغيرة للتعرف على نوع العفن المسؤول عن التعفن ولغرض التأكد من هوية العفن تجرى عملية زرع نموات من تلك الأعفان على أحد الأوساط الزرعية بتنمية الاعفان الملوثة للاغذية مباشرة على احد الاوساط الزرعية وكما ياتى:
- ينقل جزء من حافة المستعمرات من كل مزرعة من مزارع الإعفان المتوفرة الى احد الانابيب الزجاجية التي تحتوي الوسط الزرعي (Sabouraud Dextrose Agar (SDA) أو (PDA) Potato Dextrose Agar (PDA) المائل بواسطة القضيب المعدني ذو النهاية المسطحة الحادة بعد تعقيم الجزء المسطح على اللهب ثم غمره بالكحول الإثيلي ٧٠ ٪ لغرض تبريده ثم اعادة تعريضه على اللهب لغرض التخلص من الكحول . تحضن انابيب الاختبار تحت درجة حرارة ٢٥ م لمدة خمسة أيام .





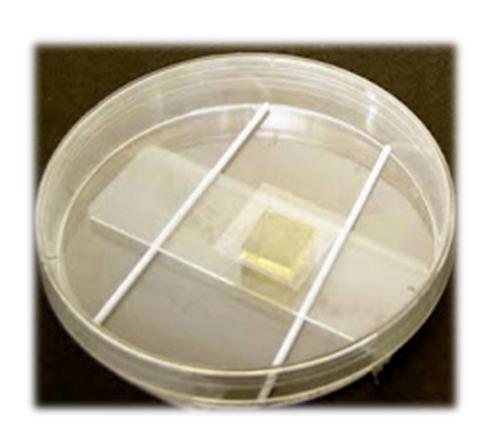


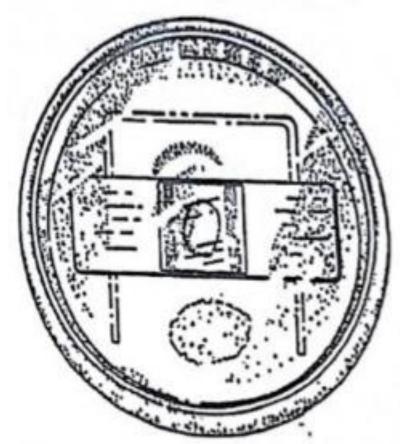
طريقة الشريحة Slide Culture Technique



- 1- تحضرشريحة زجاجية نظيفة ومعقمة ثم بواسطة السرنج الذي يحتوي على البارافين ، يصنع خطين رقيقين متوازيين على هيئة موازين في وسط الشريحة الزجاجية يبعد الواحد من الاخر حوالي ٥.٢ سم وذلك بواسطة الضغط على زناد السرنج (لغرض تسهيل عملية خروج إلبارانين ، وترك السرنج في حاضنة درجة حرارتها حوالي ٣٥ م)
- ۲- تغطى الشريحة بالغطاء الزجاجي Cover slip
 بحيث تكون حافتين من حواف الغطاء الزجاجي على موازي البارافين .
- ٣- تلقح انبوبة تحتوي على الوسط الزرعي SDA أو PDA المعقم المبرد الى درجة حرارة ٤٥ ٥٠ م باحد مزارع الأعفان وترج الأنبوبة بواسطة تدوير الأنبوبة بين كفتي الايدي لغرض توزيع لقاح العفن.
- ٤- بواسطة الماصة بنقل جزء قليل من الوسط الذي يحتوي العفن ويوضع فيا بين الشريحة الزجاجية والغطاء بحيث يمتلىء نصف الفراغ الذي بين الشريحة والغطاء.

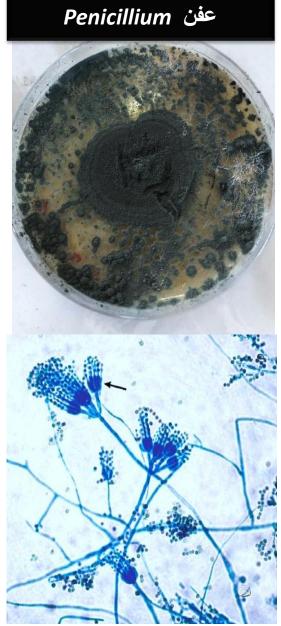
٥- وتوضع الشريحة في طبق بتري بحيث تستند على قضيب زجاجي ملتوي ويوضع قطعة من القطن المبللة بالماء لغرض الحافظة على الرطوبة في المزروع يوضع غطاء طبق بتري ويحضن تحت درجة حرارة ٢٥ م لمدة ٢-٤ يوم.





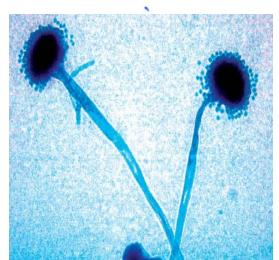
• تفحص النتائج بالعين المجردة وبالمجهر بالعدسة الصغيرة للتعرف على نوع العفن المسؤول عن التعفن

وتسجل النتائج.

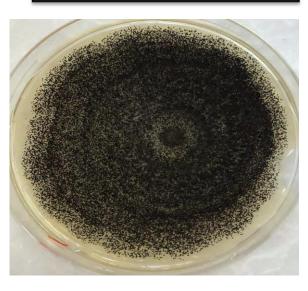


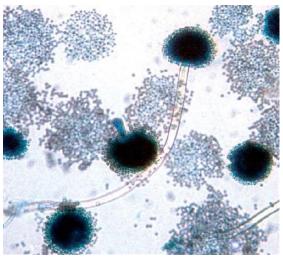
عفن A. flavus



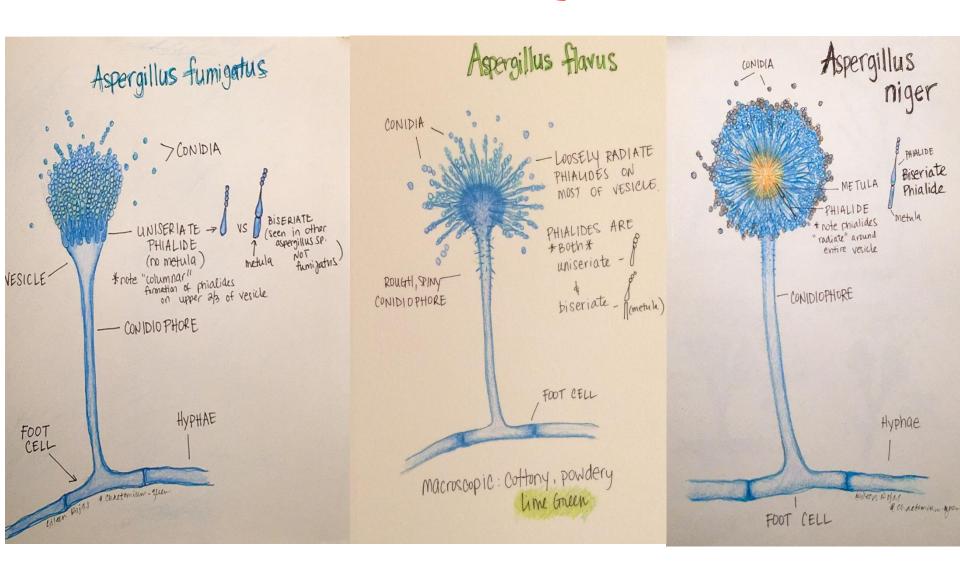


عفن A. niger





بعض انواع عفن الأسبرجيلس



المصادر

- المصادر:
- الدليمي، خلف صوفي داود. (١٩٨٨) كتاب علم الاحياء المجهرية الجزء العملي.
 - رقم التسجيل168991:
 - رقم التسجيل168992 :
 - رقم التصنيف576.163:
 - رقم المؤلف: د ٧٤٥
 - مكان النشر والناشر :بغداد:جامعة بغداد
 - عدد الصفحات: 264 ص

رابط فيديو شرح المحاضرة على اليوتيوب

https://youtu.be/qpKuO1B426A