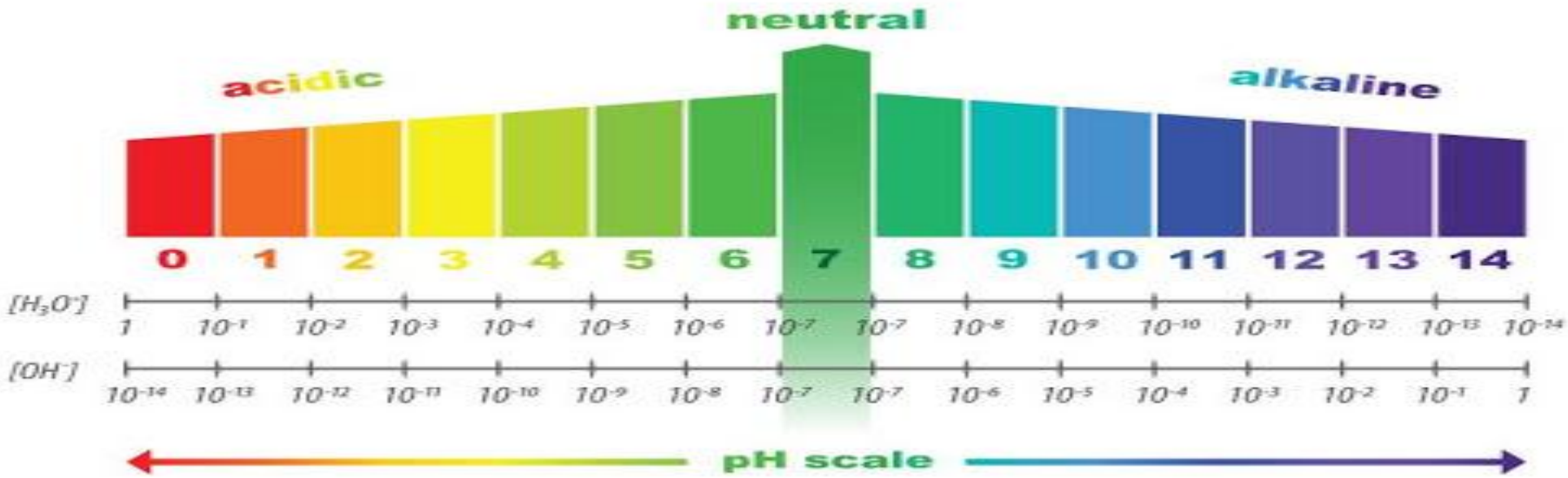
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الأنبار – كلية الزراعة
قسم علوم الاغذية

احياء اغذية مجهرية / عملي
المرحلة الثالثة

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

ثانيًا : تأثير الأس الهايدروجيني pH الوسط على مقاومة (ابواغ) البكتريا للحرارة

- من العوامل المهمة التي تؤثر على مقاومة المايكروبات للحرارة هو pH الغذاء ومعروف أن تعليب الأغذية الحامضية كالطماطم مثلا تتطلب معاملة حرارية أقل من تعليب الأغذية غير الحامضية مثل البزاليا . وقد وجد أن تغيير pH الغذاء من التعادل نحو الحامضية او نحو القاعدية أثناء معاملته بالحرارة يسبب ارتفاع في سرعة هلاك الأحياء المجهرية . وان اضافة حوامض عضوية الى الاغذية حيث يكون تأينها غير متكامل فيعتقد أن تأثير الجزء غير المتأين يكون أكثر فعالية ضد البكتريا منه من الجزء المتأين وبذلك يكون تأثير تغيير pH الوسط في هذه الحالة محدودًا.



طريقة العمل :

• ١- تحضير الأوساط الزرعية :

- يحضر ٢٠٠ مل من كل الأوساط الزرعية السائلة Nutrient broth فيها pH متباين وكما يلي :
- pH= 5 .
- pH= 8.5.
- pH= 7.

ملاحظة : تعادل الانابيب ذات الوسط الحامضي بقاعدة (0.1مولاري NaOH) معقمة والانابيب ذات الوسط القاعدي بحامض (٠.١ مولاري HCl) معقم.

(يتم تحديد pH الوسط بإستخدام جهاز pH meter)

• ٢- المعاملات الحرارية :

- ١- اجراء معاملة حرارية على مزرعة B.subtilis قدرها ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق للقضاء على البكتريا الخضرية.
- ٢- تحضر ٤ انابيب تحوي مقدار ١٠ مل من كل من الاوساط الزرعية الثلاث السابقة . ثم تلقح الانابيب ٠.١ مل من تخفيف سبورات البكتريا B.subtilis ، ويتم تخصيص احد الانابيب الأربعة لكل وسط للسيطرة (بدون معاملة) .

٣- تسخن الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة ٨٠م وترفع انبوبة واحدة بعد ١٠ دقائق والثانية ترفع بعد ٢٠ دقيقة والثالثة بعد ٣٠ دقيقة .

- ٤- تبرد الانابيب بوضعها في حمام بارد مباشرة بعد رفعها . يضاف مقدار قطرتين (٠.١ مل) من المحلول التالي لكل الأنابيب بضمنها انابيب السيطرة :
  - كلوكوز= ١٠غم.
  - Bromocresol purple= ٤٠ ملغم
  - ماء = ١٠٠ مل.

- ٥- يزرع مقدار ١ مل من كل معاملة في اطباق بتري مع الوسط الزرعي المغذي . تحضن الأطباق او الانابيب على درجة حرارة ٣٧ م لمدة يومين وتسجل النتائج بجدول.

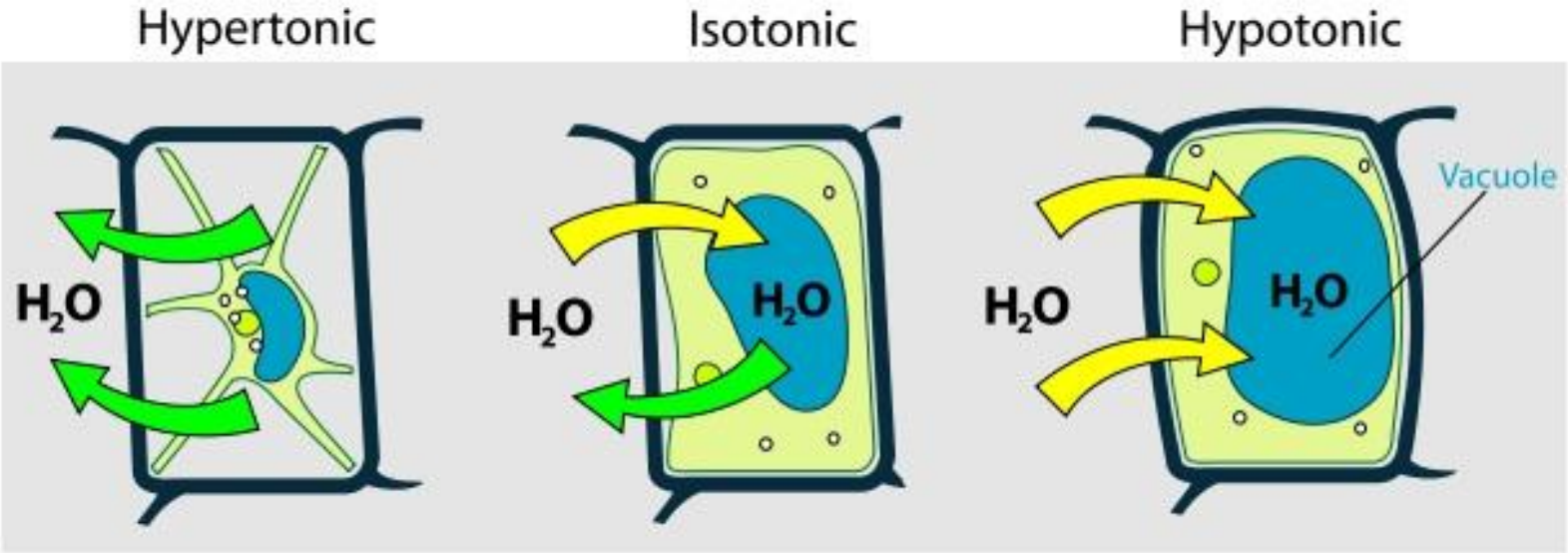
نتائج تجربة تأثير pH الوسط على هلاك سبورات البكتريا بالحرارة

وقت المعاملة الحرارية ٨٠° م	عدد البكتريا / سم٣ ومقارنة النمو الظاهري		
	pH 5.0	pH 8.5	pH 7.0
١٠	—	—	—
٢٠	—	—	—
٣٠	—	—	—
سيطرة ـ بدون معاملة	—	—	—

ملاحظة : (يشار الى النمو القليل بعلامة + ، النمو المتوسط بعلامات ++ ، النمو الكثيف بعلامات +++ ، وعدم وجود النمو بالعلامة -).

ثالثًا: تأثير ملح الطعام على نمو الاحياء المجهرية .

- الملح الطعام (كلوريد الصوديوم) دور هام في نمو الاحياء المجهرية او منع نموها . تحتاج أغلب الأحياء المجهرية ملح الطعام في تراكيز قليلة لنموها وتكاثرها بينا تتطلب بعض الاحياء المجهرية الأخرى نسب عالية من هذا الملح حتى تنمو على افضل وجه في الوقت الذي تمنع فيه هذه النسب اغلب الاحياء المجهرية النمو والتكاثر .
- إن دور ملح الطعام في التأثير على نمو الاحياء المجهرية هو التأثير على الضغط الأوزموزي لخلايا البكتريا ويحدث لها الانكماش plasmolysis وبذلك تعرقل سير العمليات الحيوية في داخل الخلية . هذا بالاضافة الى تأثير تركيز ملح الطعام العالي على خفض نسبة النشاط المائي الملائم للاحياء المجهرية.



طريقة العمل :

- ١- يحضر ١٠٠٠ مل من الوسط الزرعي المغذي السائل Nutrient broth بدون ملح او محلول الكلوكوز والخميرة والماء او الحليب الخام . ثم يقسم بالتساوي الى ست دوارق وكل دورق يضاف له نسبة من كلوريد الصوديوم بالتساوي بحيث تكون تراكيز : ١ ، ٥ ، ١٠ ، ١٥ ، ٢٠ ٪ وأحد الدوارق يترك بدون اضافة ملح الطعام لغرض السيطرة .
- ٢- من كل محلول تركيز ملحي يوزع الى عدة انابيب اختبار ثم تعقم جميعها على درجة حرارة ١٢١م لمدة ١٥ دقيقة وبعد ان تبرد . تلقح انابيب كل تركيز ملحي بالمزارع المايكروبية التالية :

- Bacillus subtilis
- S.aureus
- saccharomyces
- Penicillium

ملاحظة : بالامكان استخدام اي مجموعة مايكروبية لهذه التجربة وحسب ماهو متوفر بالمختبر بشرط أن يكون بعضها يتحمل تركيز الملح العالي والبعض الآخر حساس للملح.

- ٣- تترك انابيب الاختبار في المختبر او في حاضنة درجة حرارتها مابين ٢٥ - ٣٠ م لمدة اسبوع . ويلاحظ النمو بعد ذلك وتسجل النتائج ظاهرية ومجهرية .

اسم المايكروب	درجة النمو الظاهري في تراكيز الملح المختلفة					
	صفر ٪	١ ٪	٥ ٪	١٠ ٪	١٥ ٪	٢٠ ٪
١ —						
٢ —						
٣ —						
٤ —						
٥ —						

ب — الفحص المجهري بعد التصبيغ للبكتريا

اسم المايكروب	الشكل	التصبيغ ايجابي ام سلبي	خصائص اخرى
١ —	—	—	—
٢ —	—	—	—
٣ —	—	—	—
٤ —	—	—	—
٥ —	—	—	—

ملاحظة : (يشار الى النمو القليل بعلامة + ، النمو المتوسط بعلامات ++ ، النمو الكثيف بعلامات +++ ، وعدم وجود النمو بالعلامة -).

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/hFTyz3qvrCw