اولا / ارشادات عامة للطلبة والعاملين بمختبرات مايكروبايولوجي الاغذية :

من المهم أخذ الحيطة والحذر الدائمين اثناء العمل في تداول وفحص الأغذية وان الدقة المتناهية في مثل هذه الفحوصات هي الأساس في اعطاء الصورة الصحيحة الحقيقة عن تلوث الأغذية بالمايكروبات والتي لا تقتصر على الناحية الاقتصادية في رفض او قبول الكميات الكبيرة من الأغذية فحسب بل من المحتمل أن يعرض الفاحص لهذه الأغذية نفسه الى بعض المايكروبات المرضية فيها .

الاقتراحات الاتية هي بعض الارشادات العامة التي يجب اتباعها :

1- منع تناول الطعام او الشراب او التدخين على طاولة المختبر .
2- يجب أن تكون سطوح طاولات المختبر ملساء وذلك لسهولة تنظيفها وتعقيمها .
3- ارتداء صدرية المختبر النظيفة اثناء العمل .
4- عدم تداول أو العمل ببكتريا مرضية او سمومها الا بموافقة خاصة من الأستاذ المشرف وتحت تعلميات دقيقة وواضحة .
5- عدم لمس العين والفم والأنف خاصة اثناء العمل في مختبرات مايكروبايولوجي الأغذية.
6- عدم السماح لذوي اللحى الطويلة والشعر الطويل العمل بمختبرات مايكروبايولوجي الأغذية (الا بعد اتخاذ بعض الإجراءات الوقائية لانها تسبب في مخاطر عديدة .
7- الحذر من نقل البكتريا او سمومها بالماصات بواسطة الفم ويستحسن وضع كمية من القطن قرب نهاية اعلى الماصات قبل تعقيمها اذا لم تتوفر الماصات الميكانيكية.
8- تغمر الماصات والأدوات الأخرى التي استخدمت في نقل البكتريا في محلول معقم وقاتل للاحياء المجهرية لفترة لا تقل عن 30 دقيقة ومن ثم تنقل الى محلول غسيل بالماء ثم تغسل بالماء الفاتر عدة مرات ثم بالماء المقطر حتى تضمن زوال كافة ما علق بها من مواد او محاليل غسيل واخيرا تعقم تحت درجات عالية.
9- توضع الأطباق البتري وانابيب الاختبار التي نمت فيها المايكروب في محلول معقم الفترة لا تقل عن ساعة قبل غسلها وتتلف الأطباق البلاستيكية بعد الانتهاء من التجربة.
10- عدم استخدام اللسان في ترطيب اوراق العلامات التي توضع على الأواني والادوات المختبرية .
11- بعد الانتهاء من العمل تعقم سطوح الطاولات في المختبر خاصة التي اجري عليها الفحص المايكروبي بمركبات معقمة وقاتلة للاحياء المجهرية ثم تغسل الأيدي جيدا وتطهر بإحدى المطهرات ويترك المختبر نظيفة ومنظمة .

12- تتبع التعليمات النظامية والنظافة والتعاون في مختبرات مايكروبايولوجي الأغذية حسب التعليمات التي يعطيها الأستاذ المشرف .

ثانيا / بعض الأدوات والأجهزة الواجب توفرها في مختبر مايكروبايولوجي الأغذية :

بالاضافة الى توفر البناء الملائم والتصميم الصحيح بمختبر مايكروبايولوجي الأغذية وتوفر خبرة للعاملين بمثل هذا المختبر ، ثم توفر الأوساط الزرعية والمواد الكيمياوية الأخرى وتوفر مصادر المياه النقية والماء المقطر يتطلب توفر الأدوات والاجهزة الاتية :

1- مايكروسكوبات خاصة للفحص المايكروبي وما تتطلبها تلك المايكروسكوبات من ملحقات.

2- جهاز التعقيم البخاري (Autoclave) وجهاز التعقيم بالهواء الحار الجاف (Oven)

3- حاضنات يمكن تنظيمها بدرجات حرارة مختلفة 3-2 م و 20 م و 30 م و 37 م و 55 م ° ومجمدة.

4- حمامات مائية يمكن تنظيم وتثبيت درجات الحرارة فيها .

5- عداد مستعمرات يدوية أو الكتروني او اوتماتيكي .

6- خلاطات blenders ميكانيكية ذات سرعة ما بين 8000 - 25000 دورة بالدقيقة مع اسطوانات زجاجية او معدنية مقاومة للصدأ وقابلة للتعقيم بالحرارة العالية وبالإمكان تعويض الخلاطات بجهاز Stomacher في خلط بعض عينات الاغذية .

7- ميزان مناسب ذو حساسية 0.1 غم .

8- ادوات زجاجية مختلفة مثل قناني تخفيف ، شرائح زجاجية و محرار ، انابيب اختبار ، اطباق بتري زجاجية او ابلاستيكية معقمة ، ماصات مدرجة وذات فوهات واسعة سعة 0.1 ، 1،1،11.1 م.

9- ناقل جرثومي Loop ، ابر تلقيح ، سكاكين ، مقصات وملاقط وغيرها ، شرائح زجاجية ، قضبان زجاجية ملتوية.

10- حيوانات تجارب وغيرها من المتطلبات الأخرى .

ثالثا / طريقة اخذ العينات الغذائية للفحص المايكروبي :

توجد عدة أساليب بواسطتها تؤخذ العينات الغذائية ويجري الفحص المايكروبي عليها المهم في الأمر أن تكون العينة الغذائية تمثل الغذاء المطلوب فحصه تمثيلا جيدة فاذا كان الغذاء سائلا يجب اخذ عدة عينات منه بعد رجه وخلطه جيدا .

اما اذا كان الغذاء صلبة أو شبه صلب فتكون عملية اخذ العينات اصعب ويجب اللجوء احيانا الى استخدام الأساليب الاحصائية خاصة في الحالات التي تكون الأغذية مخزونة في اكياس ،

اواني او احواض كبيرة حيث يكون صعبا اخذ العينات المتجانسة لأن توزيع الأحياء المجهرية في تلك الحالات تكون متفاوته واكثر عددا بصورة عامة كلما كان الغذاء غير متجانسة وبكميات كبيرة كلما تطلب اخذ عينات اكبر كمية.

ففي حالة أخذ عينات اللحوم للفحص وجد أن أفضل طريقة هي فرم عينة اللحم التي تؤخذ من عدة مناطق من أجزاء اللحم المطلوب فحصه ويوضع على سطح اناء معقم ثم ينشر على شكل دائرة ثم يؤخذ 5 أجزاء منه ، اربعه من المحيط الخارجي متوزعه على ابعاد متساوية والجزء الخامس من وسطه ثم تمزج الأجزاء الخمسة هذه مزج جيدا في اناء معقم للحصول على خلطة لحم متجانسة لدرجة كبيرة ثم يؤخذ مقدار 11 غم منه ويمزج مع 99 مل ماء مقطر معقم يحتوي على 0.1% ببتون ومن ثم تجري التخافيف المطلوبة للدراسة .

اما بالنسبة لأخذ عينات الحبوب او الطحين او التوابل فتؤخذ عينات مختلفة من أجزاء واعماق شاملة لمحتوي هذه الأغذية ثم تخلط جميعا للحصول على خليط متجانس لدرجة كبيرة ثم تؤخذ من هذه الخلطة مقدار 11 غم في 99 مل ماء مقطر وهكذا تستمر عملية التخفيف حسب المطلوب.

عملية اخذ العينات يجب أن تعاد مرارًا أحيانا للحصول على نتائج متقاربة لتلك النتائج التي تعكس قبول أو رفض تلك الأغذية وذلك حسب المواصفات الموضوعة للحد الأعلى والحد الأدنى في محتواها المايكروبي.

ان من المهم تقييم الأغذية بمدى احتوائها على المايكروبات المرضية اكثر مما تحتويه من المايكروبات غير المرضية لذلك فان الفحص المايكروبي يؤكد على احتواء أو عدم احتواء الغذاء قيد الفحص على المايكروبات المرضية خاصة وان الاغذية الجاهزة للاستهلاك يجب أن لا تحتوي على البكتريا المرضية او سمومها .

اما المايكروبات غير المرضية في الأغذية فهي تعكس مدى الاهتمام بنظافة تصنيع وتداول الأغذية وقد وضعت مقاييس للحد الأعلى والأدني لبعض الأغذية بواسطة هذه المقاييس يرفض او بعدم الغذاء او يقبل .

رابعا / تحضير العينات الغذائية للفحص المايكروبي :

1- تبدأ الفحوصات الميكروبيولوجية بأسرع ما يمكن بعد اخذ العينات الغذائية فاذا تاخرت تلك الفحوصات عن ساعة يجب حفظ العينات تحت 0-5 م واذا كانت المواد الغذائية المطلوب فحصها جامدة تحل اولا وذلك بايداعها تحت درجة حرارة 2-5 م وتفحص مباشرة.

2- تحول الاغذية الصلبة وشبة الصلبة الى مستحلب وذلك لتحرير الأحياء المجهرية من داخل الأغذية او الملتصقة عليها ، ويتم ذلك بواسطة خلط ما لا يقل عن 10 غم عينة من الغذاء الذي يمثل المواد الغذائية المطلوب فحصها تمثيلا جيدة مع 9 اضعافها ماء مقطر معقم يحتوي على 0.1 % بيتون ثم تهرس جيدة ومن المهم تثبت طريقة الهرس وفترتها حتى لا تؤثر على العدد المايكروبي النهائي حيث أن زيادة الخلط قد تقضي على نسبة معينة من الأحياء المجهرية ميكانيكية او حرارية وقلة الخلط لا تجعل المستحلب متجانسة وبذلك لا تكون الأحياء المجهرية موزعه في المستحلب توزيعة متجانسة .

3- اتخاذ الحذر من احتمال تطاير الرذاذ اثناء عملية الخلط السريعة خاصة في اجراء الفحوصات على البكتريا المرضية او سمومها .

4- أن بعض المحاليل المستخدمة لتحضير المستحلب الغذائي قد تكون سامة للبكتريا اذا تعرضت لها طويلا مثل الماء والمحاليل الملحية ومحلول الفوسفات . وافضل المحاليل لهذا الغرض هو الماء المقطر المعقم الذي يحتوي على نسبة 0.1 % بيتون.

5- يترك المستحلب الناتج بعد الخلط بدون تحريك في اسطوانة الخلط لمدة 15 دقيقة وذلك لإعادة حيوية البكتريا .

6- يحرك المستحلب بعد تركه 15 دقيقة بهدوء حتى تتجانس ثم تؤخذ نسبة المقادير المعينة التحضير التخافيف المطلوبة .

المصادر :

الدليمي،خلف صوفي داود. (1988) .كتاب علم الاحياء المجهرية الجزء العملي.

رقم التسجيل168991 :

رقم التسجيل168992 :

رقم التصنيف576.163 :

رقم المؤلف : د 745

مكان النشر والناشر : بغداد:جامعة بغداد

عدد الصفحات: 264 ص

طرق تقدير العدد البكتيري

توجد عدة طرق يتم بواسطتها تقدير الاعداد البكتيرية في عينات الأغنية او المياه واهم هذه الطرق هي :

1. العد بالأطباق القياسية (Standard Plate Count) ويعبر عنها بمختصر (SPC) وتعرف بطريقة العد غير المباشر.
2. العد المباشر بالمايكروسكوب (Direct Microscope Count) ويعبر عنها بمختصر (DMC).
3. العد الأكثر احتمالا (Most Probable Number) ويعبر عنها بمختصر (MPN) .

أولًا: العد بطريقة الأطباق القياسية (Standard Plate Count (SPC

تعتبر هذه الطريقة أكثر الطرق شيوعا والمعتمدة لتقدير الأعداد البكتيرية الحية الهوائية والاختيارية في الأغذية وقد وجدت مقايس وضوابط الحد الأعلى والأدنى للأعداد البكتيرية التي بواسطتها يمكن رفض لو قبول الغذاء وتختلف هذه الضوابط والمقاييس باختلاف البلد والمؤسسات وهي تعد من الطرق غير المباشرة

اهم ما تمتاز به هذه الطريقة :

1. تعد الأحياء المجهرية الحية فقط
2. يمكن معرفة البكتريا والفطريات في نفس الوقت .

اما اهم عيوب هذه الطريقة :

1. تستغرق وقت طويل .
2. تتطلب مستلزمات عمل كثيرة .
3. احتساب المستعمرات الكبيرة والصغيرة (المندمجة مع بعضها على انها مستعمرة واحدة).
4. هناك أنواع من الأحياء قد لا تنمو في الوسط الغذائي المستخدم او قد لا تنمو ضمن درجة الحرارة المستخدمة ، وبعضها يكون لاهوائي Anaerobic لذلك لا تحسب هذه الأنواع الا اذا سمحت لها الظروف بالنمو.

تساعد عملية تعداد البكتريا في تقدير نوعية الأغذية المستخدمة ، وقد جرت العادة على عد البكتريا من خلال المستعمرات التي تكونها في الأطباق التي تحتوي على الأوساط الزرعية وكما هو شائع يطلق اسم بكتريا على هذه الاعداد ويكتب (بكتريا / غم) ولكن تم تصحيح ذلك

بوضع اسم وحدة مكونة المستعمرات ويعبر عنها ب (CFU) Colony Forming Unit لاحتمال تكون مستعمرة واحدة لاكثر من خلية بكتيرية .

وتتلخص خطوات العمل فيها بما يلي:

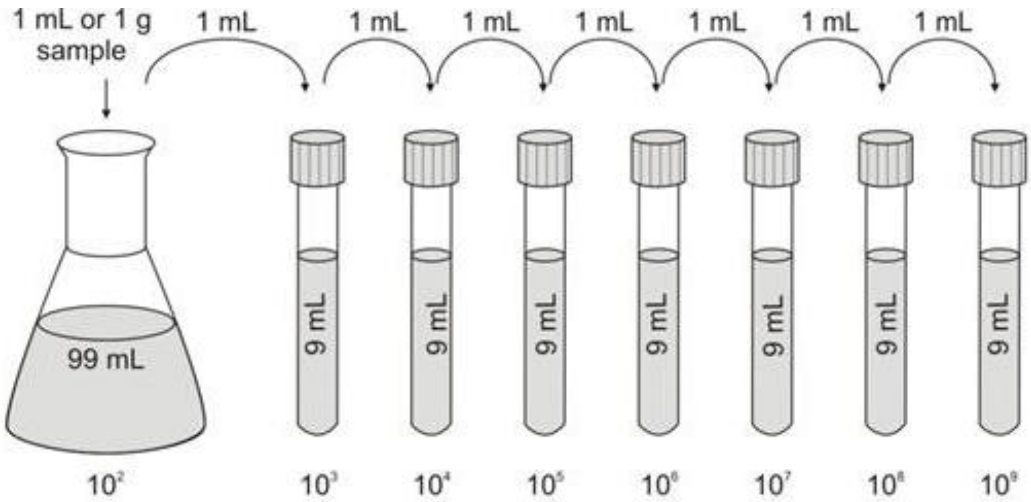
تحضر سلسلة من التخافيف العشرية Preparation of serial decimal dilution

وذلك بأتباع الخطوات التالية:

1-يضاف 11 غم او (مل) من العينة (تربة، ماء ، حليب ،..) إلى قنينة التخافيف الأولى الحاوية على 99 مل من ماء الببتون Peptone water (يحضر باذابة 0.1غم من Peptone في 100 مل من الماء المقطر) ترج القنينة رجاً قوياً للحصول على مزيج متجانس.

2-ينقل 1 مل من محلول القنينة الأولى وبواسطة ماصة معقمة (تحت ظروف معقمة) إلى قنينة التخفيف الثانية والحاوية أيضا على 9 مل من ماء الببتون وترج القنينة رجاً جيداً.

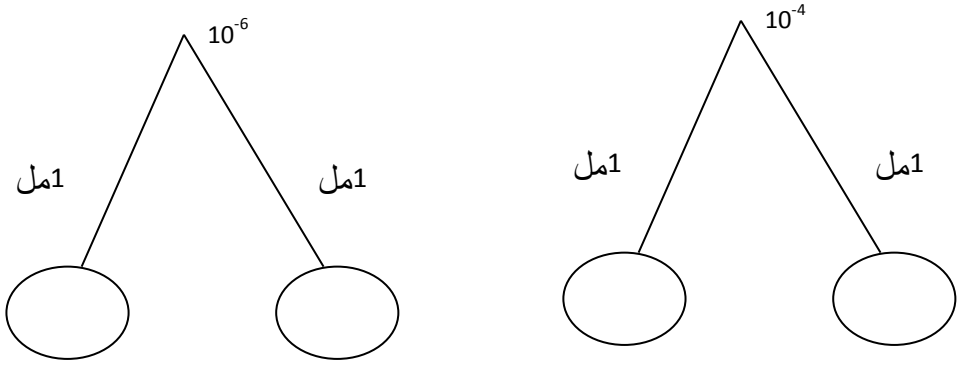
3-تكمل بقية التخافيف وبنفس الطريقة لحين الوصول إلى التخفيف المناسب وكما هو موضح أدناه:



تتم طريقة العد بطريقة الأطباق القياسية Standard Plate Count (SPC) بطريقتين :

أً: صب الأطباق Plate pouring

1- يؤخذ 1 ملليتر من التخافيف الأخيرة على اعتبار إن التخافيف الأولى تحتوي على أعداد كبيرة من الأحياء المجهرية يصعب عدها ، لذلك نفرض إننا نقلنا 1 ملليتر من التخفيف 10^{-4} إلى طبق بتري معقم ونعمل له مكرر أي نأخذ 1 ملليتر من نفس التخفيف ووضعه في طبق بتري آخر، تكرر العملية نفسها على التخفيف 10^{-6} وكما موضح:



- يستخدم في عملية النقل ماصة معقمة وتتم العملية تحت ظروف معقمة.

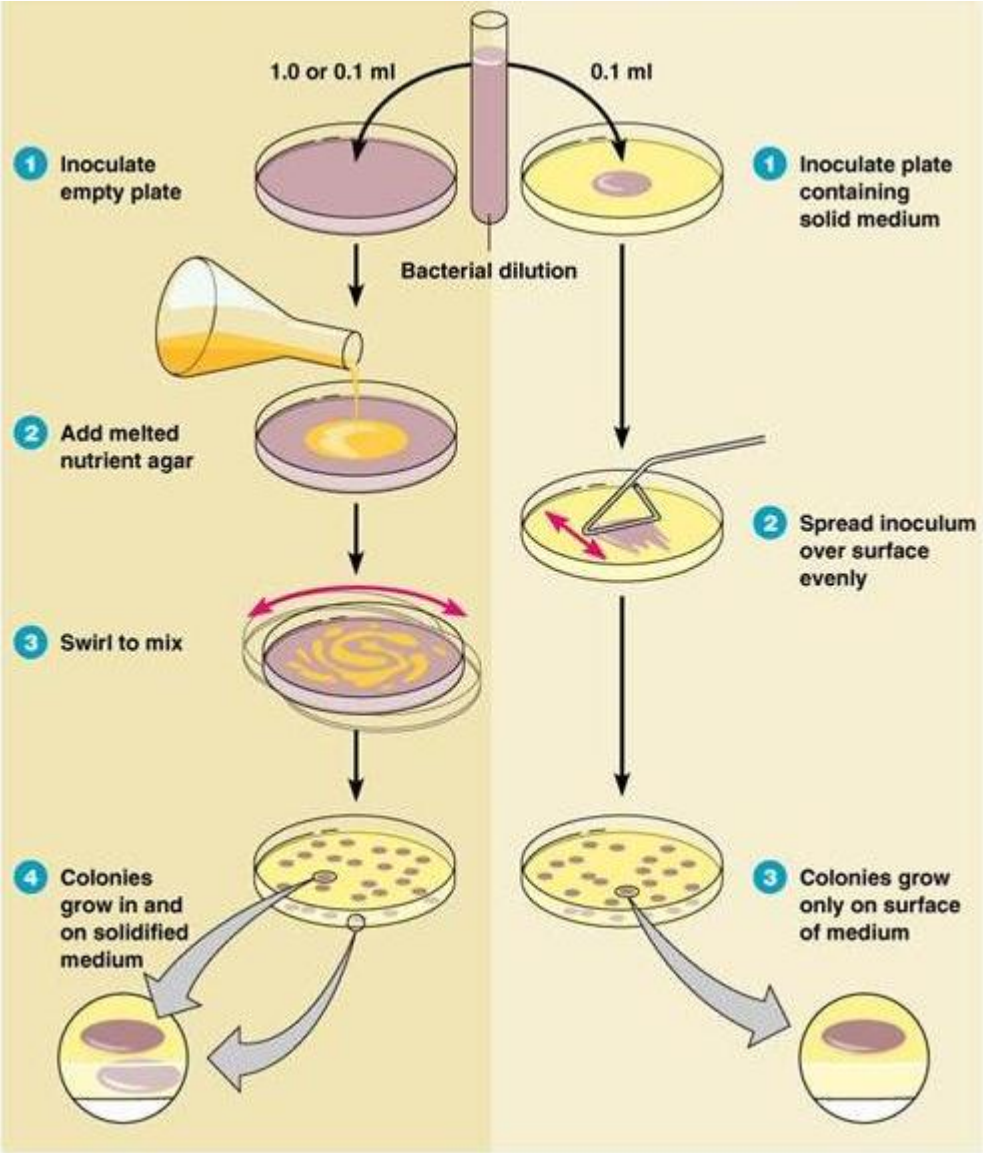
2- يضاف إلى كل طبق من الأطباق الأربعة الوسط الغذائي Nutrient Agar بمقدار 15–20 ملليتر في كل طبق وتدور الأطباق يميناً ويساراً أي بحركة دائرية باتجاه عقرب الساعة وبعكسه لخمس مرات لغرض مزج العينة مع الوسط داخل الأطباق ، يصب الوسط إلى الأطباق وهو بدرجة حرارة 45م° تقريباً وفي ظروف معقمة .

3- تترك الأطباق إلى أن يتصلب الوسط ثم توضع في الحاضنة بصورة مقلوبة بدرجة حرارة 35–37م° لمدة 48 ساعة.

ب: طريقة النشر السطحي Surface or spread plating

تستخدم في بعض الدراسات مثل عد البكتريا S.aureus على الوسط الزرعي المتصلب Mannitol salt agar حيث يحضر مسبقًا ويجفف سطحه جيدًا بواسطة وضع الأطباق بعد صب الوسط فيها في حاضنة بدرجة حرارة 37 مئوية لمدة ليلة. ثم ينقل مقدار 0.1 مل من التخفيف الغذائي أو البكتيري المطلوب (لا ينصح بإستخدام كمية أكثر بسبب صعوبة جفافها على سطح الوسط الزرعي) ثم ينشر على سطح الوسط بواسطة قضيب زجاجي ملتوي معقم

يشبه الحرف L الكبير. ويمكن استخدام نفس القضيب الزجاجي لعدة تخافيف يبدأ النشر من التخيف الأعلى نحو التخافيف الأقل.



ثالثاً: حسابات الطريقة:

تؤخذ الأطباق التي تتراوح فيها عدد المستعمرات من 30–300 مستعمرة بعين الاعتبار مع إهمال الأطباق التي تزيد فيها عدد المستعمرات عن 300 أو يقل فيها عدد المستعمرات عن 30 ، لأن زيادة المستعمرات عن 300 يعني احتمال حصول تنافس بين الأحياء المجهرية وعدم نمو الأحياء المجهرية الضعيفة غير قادرة على التنافس على المواد الغذائية في الأطباق ، أما ما قل عن 30 فأنه لا يمثل الأنواع المختلفة من الأحياء المجهرية في العينة .

يطبق القانون التالي لإيجاد عدد البكتريا أو الأحياء المجهرية في العينة:

$$\frac{\text{معدل عدد المستعمرات} \times \text{مقلوب التخفيف}}{\text{حجم او وزن العينة}}$$

مثال :

إذا فرضنا أن أعداد المستعمرات في مكررات الأطباق كانت 20 و 23 للتخفيف الرابع فإن النتيجة تكون :

$$\frac{\text{معدل عدد المستعمرات} \times \text{مقلوب التخفيف}}{\text{حجم او وزن العينة}} = \frac{٤٣ \times ١٠٠٠٠}{١}$$

430000 خلية/مل أو غم إذا كانت العينة المزروعة هي 1 مل . أما إذا كانت 0.1 مل فيضرب الناتج في 10.

المصادر :

الدليمي،خلف صوفي داود. (1988) .كتاب علم الاحياء المجهرية الجزء العملي.

رقم التسجيل168991 :

رقم التسجيل168992 :

رقم التصنيف576.163 :

رقم المؤلف : د 745

مكان النشر والناشر : بغداد:جامعة بغداد

عدد الصفحات: 264 ص

العدد المايكروسكوبي المباشر (DMC) Direct Microscopic Count

تستخدم هذه الطريقة للأغذية السائلة وهي تختلف عن الطريقة السابقة بانها تعد كافة البكتريا الحية والميتة على عكس الطريقة السابقة التي تعد البكتريا الحية فقط، ومن المهم معرف استخدام المايكروسكوب جيدا.

ان اهم ما تمتاز به هذه الطريقة :

1- سريعة يمكن انجازها خلال 15 – 30 دقيقة وتعتمد على مهارة وقدرة القائم بها .

2- لا تحتاج الى اجهزة ومعدات كبيرة .

اما عيوب هذه الطريقة :

أ- تعد الخلايا الحية والميتة في العينة .

ب-يتم حساب التجمعات البكتيرية (عناقيد ، مسبحية ، ثنائية) على انها خلية بكتيرية واحدة

خطوات العمل :

1- تؤخذ شريحة خاصة لهذا الغرض تدعى شريحة Breed محدد عليها مساحة (1 سم^2) و بواسطة الناقل المعقم Loop او بواسطة شريحة خاصة او ماصة دقيقة خاصة يتم نشر حجم معلوم من النموذج المراد فحصة (العينة) أي ما يعادل 0.01 مل على المساحة المعلومة (1 سم^2) ، ويتم تثبيت الغشاء (اي تثبيت الخلايا البكتيرية) ضمن هذه المساحة ثم يجفف هوائية (وفي حالة استخدام هذه الطريقة مع احد منتجات الألبان كاللبن مثلا يتم ازالة المواد الدهنية قبل تجفيف السلايد وذلك باستخدام احد المذيبات العضوية كالزايلين)

2- تصبغ الشريحة تصبيغ بسيط اما باستخدام صبغة Crystal Violet , Metheylene Blue لمدة 2-3 دقيقة ثم تشطف الشريحة بالماء لازالة الصبغة الزائدة وتجفف هوائيا .

3- تفحص تحت المجهر (بعد قياس قطر العدسة الزيتية) ويفحص عدد الحقول المجهرية ما بين 10 – 15 حقل يستخرج متوسط عند المايكروبات للحقل الواحد .

خطوات قياس قطر العدسة الزيتية وتحديد مساحة الحقل المجهري :

ان المساحة المحددة 1 سم^2 على الشريحة تحتوي بحدود 4000 حقل مجهري مما يصعب عدها في وقت واحد لذلك يتبع الاتي لحل هذه المشكلة:

- يتم قياس مساحة الحقل المجهري (الحقل المجهري هو المساحة التي نراها من خلال العدسات العينية والصغرى أي بمعنى ان مساحة الحقل المجهري هي المساحة التي نراها من خلال العدسة)
- يتم تحديد مساحة الحقل المجهري بعد قياس قطر العدسة الزيتية المستخدمة في الفحص وذلك باستخدام شريحة زجاجية خاصة تسمي Stage Micrometer (شريحة مايكرومترية) توضع تحت العدسة الزيتية بعد وضع قطرة من الزيت عليها أن تحتوي هذه الشريحة على تدريجات وكالاتي :

المسافة بين كل خطين كبيرين تساوي 0.1 ملمتر

المسافة بين كل خطين صغيرين تساوي 0.01 ملمتر

فعلى سبيل المثال ظهر خطين كبيرين (بعد وضع الشريحة القياسية) وخمسة خطوط صغيرة

$0.2=0.1\times2$

0.015 = 0.05 وحاصل جمعهما = 0.25 ملم وهو يمثل قطر العدسة الزيتية ولكون العدسة دائرية فان مساحتها تساوي (نق$^2\pi$)

مساحة العدسة الزيتية = مساحة الحقل المجهري $\pi \times {}^{2}(\frac{0.25}{2})$

- يتم تحديد ما يعرف بالمعامل المايكروسكوبي Microscopic Factor وهو يمثل عند الحقول المجهرية في مساحة 1 سم^2 اي آن

$$\mathbf{MF} = \frac{\mathbf{100}}{\mathbf{2}\text{نق} \times \boldsymbol{\pi}}$$

- قد تصل MF من 2000 – 4000 وان قيمة MF التي نحصل عليها يمكن تثبيتها لمرة واحدة في حالة استخدام نفس المجهر في المختبر ونفس العدسة الا اذا استخدم مجهر اخر عندها يتم قياس قطر العلمية الزيتية مره اخرى .
- و بعد تقدير MF يتم استخراج معدل عدد البكتريا في الحقل الواحد وهو ما يعبر عنه بقيمة **n**

$$\frac{\text{عدد الاحياء المجهرية المحسوبة}}{\text{عدد الحقول}} = \boldsymbol{n}$$

n : متوسط او معدل عد البكتريا في الحقل الواحد

ان النتيجة النهائية= مقلوب التخفيف MF xnx

تمثل عدد الأحياء المجهرية المنشورة في مساحة 1 سم^2 أي الموجودة في 0.01 مللتر و هو حجم القطرة التي نشرت.

وعليه يضرب القانون اعلاء في100 لحساب عند الأحياء المجهرية في المليلتر الواحد ويعبر عن النتيجة ب CFU / ML وكما ذكر سابقا

100 × مقلوب التخفيف MF xnx

قياس فعالية وحيوية خميرة الخبز

Activity and Viability of baker's yeast

يمثل الخبز خاصة والمعجنات بشكل عام مركز الصدارة في قائمة الأغذية المعروفة في العالم حيث يستهلكها مئات الملايين من سكان المعمورة بكميات كبيرة في وجبات الغذاء اليومية بالمقارنة مع المواد الغذائية الأخرى.

وتشكل خميرة الخبز Baker's yeast (خميرة المخابز) حوالي 1-4% من وزن العجينة على أساس الوزن الرطب عند صناعة الخبز المتخمر Leavened Bread وبعض المعجنات.

وتنتج خميرة الخبز من تكاثر خلايا انواع مختارة او منتخبة من جنس Saccharomyces، والمسماة *S. cerevisiae* في بيئات غذائية ملائمة لنموها وتستخدم عادة المواد الغنية بالمصادر الكاربوهيدراتية الرخيصة مثل مولاس البنجر ومولاس القصبة المستعملة في صناعة السكر والسائل الكبريتيدي Sulfite liquor وهي من مخلفات صناعة الورق .

خميرة الخبز التي تباع في الأسواق العالمية على نوعين :

1- الخميرة المضغوطة Compressed yeast أو الخميرة الطرية (الطازجة) Fresh yeast نسبة الرطوبة فيها 68-72% .

2- الخميرة الجافة الفعالة Activated Dry Yeast نسبة الرطوبة فيها 7.5-9% .

وتتشابه الطرائق المتبعة في انتاج هذين النوعين من الخميرة في جميع مراحل التصنيع ابتداء من مرحلة التكاثر ومرورًا بمرحلة الفصل أي فصل الخميرة من وسط النمو بوساطة الطرد المركزي وانتهاء بعملية الترشيح التي تتم اما باستخدام مرشحات مخلخلة للضغط Under vacuum أو مرشحات الضغط الاعتيادي لانتاج خميرة الخبز المضغوطة وقد تعرض الخميرة بعد عملية الترشيح أو التقطيع الي عملية التجفيف لانتاج الخميرة الجافة الفعالة .

ان انتاج الخميرة الجافة الفعالة يقوم أساسًا على اتباع طريقة تجارية ناجحة في تجفيف الخميرة دون التأثير في حيويتها وفعاليتها .

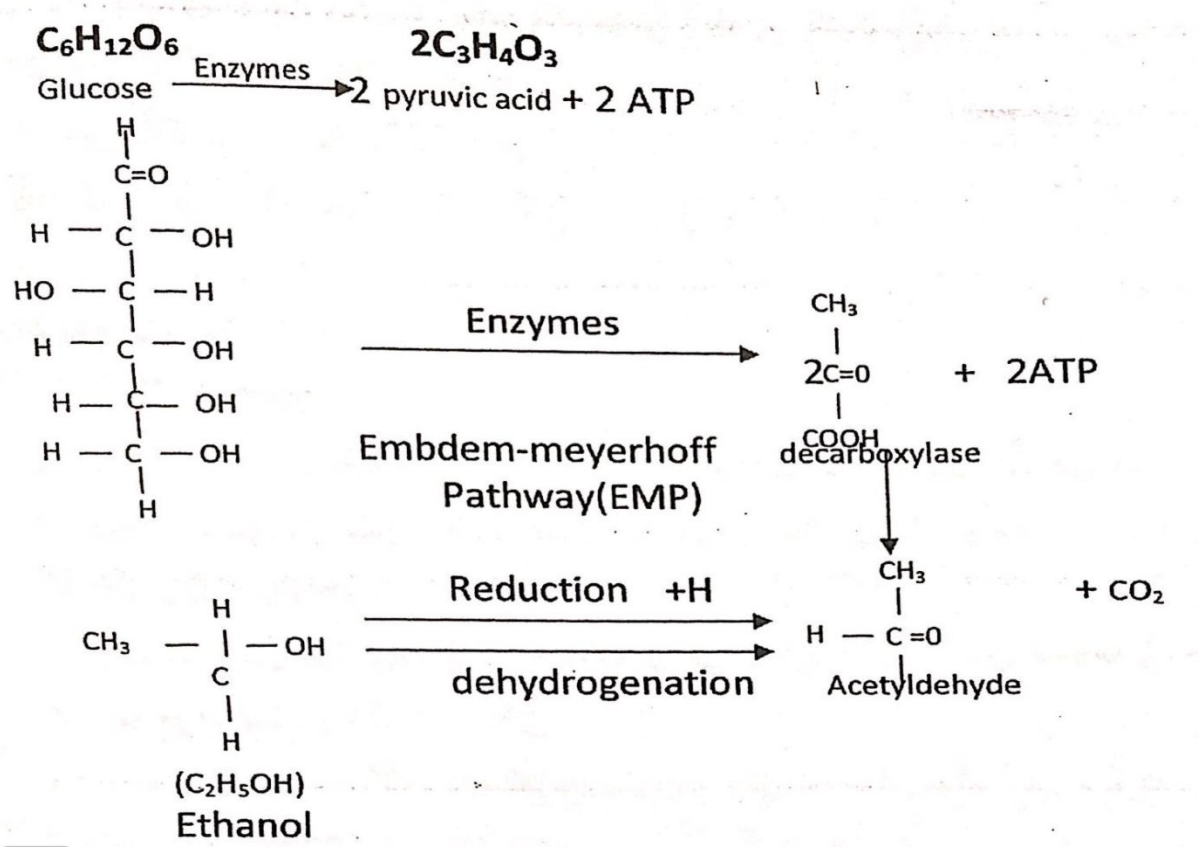
اسباب انتاج خميرة الخبز الجافة :

1- سهولة التداول .

2- اطالة مدة الحفظ .

طرائق قياس فعالية وحيوية خميرة الخبز :

يقصد بالفعالية Activity الفعالية الأنزيمية لخلايا الخميرة التي تفسر بتقدير نشاطها في انتاج غاز ثاني أوكسيد الكاربون والكحول إذ يعمل ثاني أوكسيد الكاربون عادة على انتفاش العجينة.



طرائق القياس :

1- طريقة الزرع Culture method :

ويتم فيها تنمية الخميرة في وسط غذائي مناسب بعد اجراء سلسلة من التخافيف وهنا تعبر الطريقة عن الفعالية – الانزيمات المسؤولة عن النمو والتكاثر فيها.

من مساوئها : احتمال ظهور أكثر من خلية واحدة وتكوينها المستمرة واحدة كما انها تتطلب مدة زمنية أطول مقارنة مع الطرائق الأخرى.

2- طريقة التصبيغ Staining technique :

تعتمد هذه الطريقة على تصبيغ معلق الخميرة بأحدى الصبغات القاعدية مثل primaline

Acriflavin ، flavin ، methylene blue إذ تكتسب الخلايا الميتة الصبغة المستعملة وتظهر ملونة تحت المجهر في حين تبقى الحية غير ملونة وهذه الطريقة تُعبر عن الحيوية لعدم علاقتها بأي نشاط أنزيمي وإنما تقتصر علاقتها بخاصية شبه النضوح للأغشية السايتوبلازمية.

3- طريقة استخدام التخمير Fermentation :

يتم فيها قياس كمية (حجم) غاز CO_2 المتكون باضافة وزن معلوم من الخميرة في وسط يحتوي كمية من العجينة.

4 - طريقة Warburg Apparatus :

يتم فيها قياس كمية او حجم غاز CO_2 المتكون باستخدام وسط غذائي يحتوي على سكر الكلوكوز او السكروز بدلا من العجينة .

5- طريقة قياس سرعة انتعاش العجينة (الزمن) .

6- طريقة قياس الضغط (ضغط CO_2) ملم زئبق/4 ساعات .

طريقة التصبيغ :

المواد وطريقة العمل :

1- تحضر صبغة المثيلين الزرقاء methylene blue بتركيز 0.02 % في الماء المقطر.

2- يحضر معلق من خميرة الخبز الجافة بتركيز 0.5% في ماء درجة حرارته صفر- 5م و 20-25 م و 60-65م.

3- يضاف 1 مل من معلق الخميرة المحضر في 2 الى 0.5 سم^3 من الصبغة المحضرة في1.

4- يمزج الخليط جيدا لمدة 5 دقائق .

5- تؤخذ قطرة أو قطرتين من المزيج وتوضع على شريحة زجاجية ثم تُغطّى الشريحة الزجاجية بغطاء زجاجي cover slip.

6- تفحص تحت المجهر بالعدسة الصغرى ثم بالعدسة الكبرى إذ تُعد الخلايا الملونة بالازرق ميتة والخلايا الشفافة حية، تحسب الخلايا الحية و الخلايا الميتة في 5-10 حقول مجهرية ثم تستخرج النسبة المئوية للخلايا الحية وكما يأتي :

$$Total\ Yeast\ Count\ (T.Y.C) = \frac{4T \times 10^6}{n}$$

حيث أن :

n = عدد الحقول.

T = عدد الخلايا المختارة.

T4 = مساحة الشريحة.

$$\% \, Viability \, Count = \frac{\text{عدد الخلايا غير الملونة}}{T.Y.C}$$

هذه الطريقة تعتمد على شريحة زجاجية تسمى Thoma slide chamber مقسم الى مربعات ويتم اختيار الخلايا من أماكن مختلفة .

مقارنة بين حيوية الخميرة و فعاليتها :

نوع الخميرة الجافة	الحيوية%	الفعالية (سم) ارتفاع العجينة
الخميرة العراقية	70.4	19.5
الفرنسية	85.9	25.5
التركية	80.0	22.0
المغربية	76.9	20.5

CS Scanned with

طريقة انتفاش العجينة :

وهي طريقة (American Association of Cereal Chemistry) (AACC) وتتلخص بما ياتي :

1- يذاب 5 غم من الخميرة مع 5غم من سكر السكروز في 20سم^3 ماء مقطر ويترك في درجة حرارة 30 م لمدة 10 دقائق •

2- يضاف الخليط الى 1كغم من الطحين (نمرة صفر) مع 625 سم^3 من محلول ملحي بتركيز 2% .

3- يمزج الخليط جيدًا لمدة 5 دقائق .

4- توضع العجينة الناتجة في أسطوانة مدرجة تحتوي على كليسرين وتحضن في الحاضنة بدرجة حرارة 35م.

5- يسجل حجم العجينة في أوقات مختلفة 30 ، 60 ، 90 دقيقة .

6- مناقشة الناتج .

مقدار نفاشية العجينة داخل الاسطوانة يدل على مدى نشاط الخميرة ، كلما كانت النفاشية عالية دل على أن الخميرة نشطة اكثر .

جدول (1) تأثير حرارة ماء النقع في حيوية وفعالية خميرة الخبز وبطرائق مختلفة

درجة حرارة ماء النقع	الفقدان الحاصل في المكونات الخلوية	فعالية الخميرة ملم زئبق/4ساعات	فعالية الخميرة سرعة الانتفاش (دقيقة)	الحيوية %
45→م	8.25	645	127	88.4
25→م	14.81	541	148	54.5
5→م	21.46	209	501	34.3

جدول (2) إنتاج الغاز والحامض بفعل تخمير السكريات من قبل الخمائر

الخميرة		تخمير السكريات									
		Glucose		Sucrose		Raffinose		Lactose		Mannos	
		غاز	حامض	غاز	حامض	غاز	حامض	غاز	حامض	غاز	حامض
1	*S. cerevisiae*	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
2	*K. fragilis*	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
3	Shizosaccharo	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
4	*C. utilis*										
5	Rhodotorulla										

++ كمية كبيرة.

+ كمية معتدلة.

- (غير مخمرة) غير مكونة للحامض.

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 Hyphae ذات لون ابيض في بادي ، الأمر مايلبث أن يتحول الى الوان مختلفة (الاسود الأسمر الاخضر الزيتوني) 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^2 من طرف نمو المستعمرة ويوضع في منتصف الوسط الزرعي الجديد .

ولا ينصح بنقل الجزء الذي يحتوي سبورات للاسباب التالية :

1. تلوث المختبر في سبورات الإعفان بواسطة الهواء.
2. عندما يتم نقل سبورات الإعفان ستتكون عدة مستعمرات جديدة ومتراكمة او متقاربة يكون من صعب الحصول على مزرعة يمكن دراسة خصائصها الظاهرية .
3. ازدياد احتمال حصول الطفرات الوراثية عند نقل السبورات ٠ تكون 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 ياتي:

1- ينقل جزء من حافة المستعمرات من كل مزرعة من مزارع الإعفان المتوفرة الى احد الانابيب الزجاجية التي تحتوي الوسط الزرعي (Sabouraud Dextrose (SDA Agar أو (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 25 م لمدة خمسة أيام .

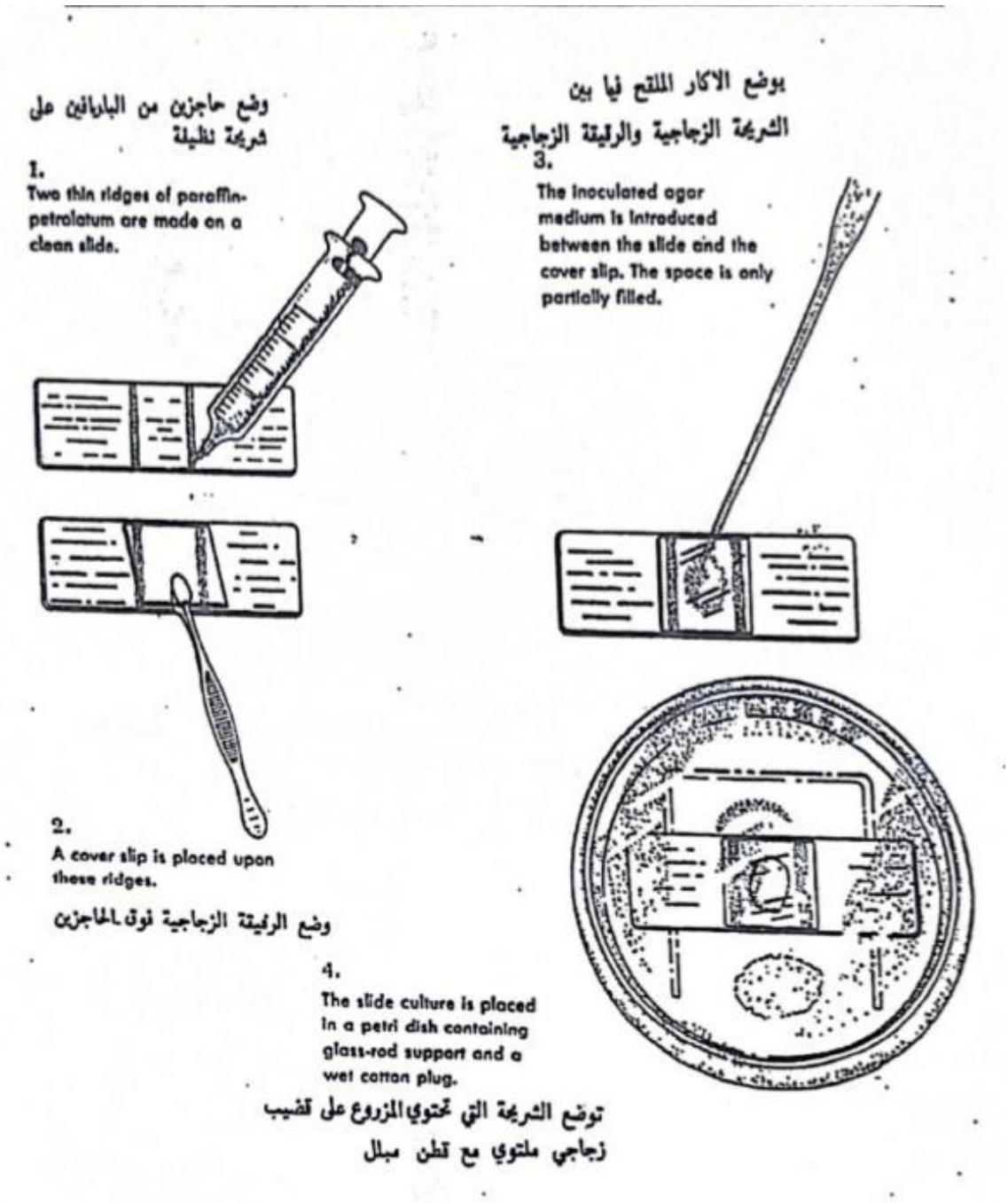
2- تحضرشريحة زجاجية نظيفة ومعقمة ثم بواسطة السرنج الذي يحتوي على البارافين . ، يصنع خطين رقيقين متوازيين على هيئة موازين في وسط الشريحة الزجاجية يبعد الواحد من الاخر حوالي 2.5 سم وذلك بواسطة الضغط على زناد السرنج (لغرض تسهيل عملية خروج إلبارانين ، وترك السرنج في حاضنة درجة حرارتها حوالي 35 م)

3- تغطى الشريحة بالغطاء الزجاجي Cover slip بحيث تكون حافتين من حواف الغطاء الزجاجي على موازي البارافين .

4- تلقح انبوبة تحتوي على الوسط الزرعي SDA أو PDA المعقم المبرد الى درجة حرارة 45 – 50 م باحد مزارع الأعفان وترج الأنبوبة بواسطة تدوير الأنبوبة بين كفتي الايدي لغرض توزيع لقاح العفن.

5- بواسطة الماصة بنقل جزء قليل من الوسط الذي يحتوي العفن ويوضع فيا بين الشريحة الزجاجية والغطاء بحيث يمتلىء نصف الفراغ الذي بين الشريحة والغطاء.

6- 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 25 م لمدة 2-4 يوم.



7- تفحص النتائج بالعين المجردة وبالمجهر بالعدسة الصغيرة للتعرف على نوع العفن المسؤول عن التعفن وتسجل في الجدول المرفق بهذه التجربة:

نتائج تجربة الخصائص الظاهرية والتنموية للاعفان

العفن	الخصائص بالعين المجردة	الخصائص المجهرية العدسة المكبرة الصغرى	العدسة المكبرة الجافة
Penicillium			
Aspergillus			
Rhizopus			
Alternaria			
Mucor			
الى اخره			

تأثير بعض العوامل على نمو وهلاك الأحياء المجهرية

أولًا: تأثير الحرارة على الأحياء المجهرية .

ثانيًا: تأثير pH الوسط على هلاك الاحياء المجهرية بالحرارة .

ثالثًا: تأثير ملح الطعام على نمو الاحياء المجهرية .

أولًا: تأثير الحرارة على الأحياء المجهرية .

مقدمة :

ان تأثير الحرارة على الأحياء المجهرية متفاوت يعتمد ذلك على نوع الكائن المجهري ودرجة الحرارة والوقت الذي خلاله تتعرض الاحياء المجهرية للحرارة بالاضافة الى عوامل أخرى مثل تركيز المايكروبات ومحتويات الوسط الغذائي و pH وغيرها من عوامل .

في هذه التجربة سوف تختبر مقاومة (ابواغ) كل من الخمائر والاعفان والبكتريا لحرارة معينة وبأوقات متفاوتة وان كافة العوامل الأخرى تكون متشابهة ضمن كل تجربة.

ان الوقت اللازم لهلاك الميكروبات جميعا تحت درجة حرارة معينة وظروف اخرى ثابتة يسمى (T D T Thermal Death Time) وهلاك المايكروبات عادة يكون لوغاريتميًا .

طريقة العمل :

متطلبات التجربة :

1- ثلاث انابيب اختبار تحتوي على الوسط الزرعي glucose yeast water معقمة لوضع سبورات كل من الخمائر والاعفان فيها مباشرة قبل المعاملة الحرارية لها وثلاث انابيب اختبار اخرى تحتوي على الوسط الزرعي nutrient broth الغرض اضافة (ابواغ) البكتريا Bacillus subtilis قبل معاملتها بالحرارة مباشرة . اذا كانت انابيب الاختبار ذات الغطاء ، يسد الغطاء جيدة اثناء المعاملة الحرارية ويفتح الغطاء إلى النصف (نصف لفة الغطاء) قبل حضنها .

2- مزارع ابواغ كل من الخمائر والاعنان والبكتريا .

3- حمامان مائيان ، الأول درجة حرارته 60 م لغرض اجراء تجربة مقاومة ابواغ الخمائر والاعفان للحرارة ، والثاني درجة حرارته 80 م لاجراء تجربة مقاومة سبورات البكتريا للحرارة.

4- حمام مائي بارد او مسحوق ثلجي لتبريد الانابيب فيه مباشرة بعد المعاملة الحرارية .

5- من المهم تثبيت الحرارة تماما وضبط الوقت المطلوب لكل معاملة .

أ- مقاومة سبورات الحمائر للحرارة :

تلقح 5 انابيب اختبار تحتوي على الوسط الزرعي glucose yeast water بمقدار 0.1 سم^3 من مزرعة خميرة في دور تكوين السبورات بكل انبوبة وتزج مزجة جيدة .

توضع 4 انابيب في حمام مائي درجة الحرارة فيه 60 م وترفع انبوبة واحدة بعد كل 5 دقائق و 10 دقائق و 15 و 20 دقيقة وتودع بحمام مائي بارد او حمام ثلجي مباشرة وتبقى الأنبوبة الخامسة بدون معاملة لغرض السيطرة ثم تحضن كافة الأنابيب الخمسة بضمنها انبوبة السيطرة بدرجة حرارة 25 م لمدة 5 - 7 يوم .

النتيجة :

تلاحظ النتائج بالنسبة لنمو الحائر المتميز وشدته (بعلامات +) كأن يكون السائل عكر او حدوث رواسب وانتاج الغاز . وتسجل النتائج بجدول خاص .

ب- مقاومة سبورات الإعفان للحرارة :

تتبع نفس الخطوات التي أجريت في التجربة السابقة البند (1) اعلاه ماعدا استخدام مزارع سبورات اي من الاعنان Aspergillus أو penicillium بدلا من سبورات الخمائر .

تسجل النتائج بالنسبة للنمو وشدته (بعلامات +) وتقدم بجدول .

جـ- مقاومة سبورات البكتيريا للحرارة :

تلقح 5 انابيب اختبار تحتوي على الوسط الزرعي السائل Nutrient broth بمقدار 0.1 سم^3 من تخفيف لمزرعة سبورات البكتريا Bacillus subtilis وذلك بعد القضاء على الخلايا الخضرية بواسطة معاملة حرارية بدرجة حرارة 80 م لمدة 10 دقائق .

توضع 4 أنابيب في حمام مائي درجة الحرارة فيه 80 م وترفع واحدة منها بعد 5 دقائق واخرى بعد 10 دقائق والثالثة بعد 15 دقيقة والرابعة بعد 20 دقيقة والانبوبة الخامسة تبقى بدون معاملة لغرض السيطرة والمقارنة .

ينقل مقدار 0.1 سم^3 من كل أنبوبة بضمنها انبوبة السيطرة الى طبقين بترى ثم يصب الوسط الزرعي Nutrient agar وتحضن الاطباق بدرجة حرارة ٣٠ - ٣٢ م لمدة يومين ويحسب بعدها عدد المستعمرات بكل معاملة ثم تسجل النتائج جدول .

الوقت تحت درجة ٦٠ م	نمو الاعفان او عدمه	نمو الخمائر او عدمه
صفر	—	—
٥	—	—
١٠	—	—
١٥	—	—
٢٠	—	—

ب – سبورات البكتريا

الوقت تحت درجة ٨٠° م	عدد البكتريا / -٣
صفر	—
٥	—
١٠	—
١٥	—
٢٠	—

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

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

المقدمة :

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 :

أ- تحضير الأوساط الزرعية :

يحضر ٢٠٠ مل من كل الأوساط الزرعية السائلة Nutrient broth فيها pH متباين وكما يلي :

1- pH= 5 .
2- pH= 8.5.
3- pH= 7.

(يتم تحديد pH الوسط بإستخدام جهاز pH meter)

ب-المعاملات الحرارية :

تحضر 4 انابيب تحوي مقدار 10 مل من كل من الاوساط الزرعية الثلاث السابقة . ثم تلقح الانابيب 0.1 مل من تخفيف سبورات البكتريا B.subtilis وذلك بعد اجراء معاملة حرارية على المزرعة البكتيرية قدرها 80 م لمدة 10 دقائق للقضاء على البكتريا الخضرية ، ويخصص احد الانابيب الأربعة لكل وسط للسيطرة (بدون معاملة) .
تسخن الأنابيب الأخرى في بخار ماء يتدفق . او حمام مائي بدرجة حرارة 80م وترفع انبوبة واحدة بعد 10 دقائق والثانية ترفع بعد 20 دقيقة والثالثة بعد 30 دقيقة .
تبرد الانابيب بوضعها في حمام بارد مباشرة بعد رفعها . يضاف مقدار قطرتين (0.1 مل) من المحلول التالي لكل الأنابيب بضمنها انابيب السيطرة :

كلوكوز= 10غم.

Bromocresol purple= 40 ملغم

ماء = 100 مل.

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

يزرع مقدار 0.1 مل من كل معاملة في اطباق بتري مع الوسط الزرعي المغذي . تحضن الأطباق او الانابيب على درجة حرارة 37 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 –).

تأثير ملح الطعام على نمو الاحياء المجهرية

مقدمة :

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 :

يحضر 1000 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 : 1 ، 5 ، 10 ، 15 ، 20 ٪ وأحد الدوارق يترك بدون اضافة ملح الطعام لغرض السيطرة .

من كل محلول تركيز ملحي يوزع الى عدة انابيب اختبار ثم تعلم جميعها على درجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة وبعد ان تبرد . تلقح انابيب كل تركيز ملحي بالمزارع المايكروبية التالية :

1- Bacillus subtilis
2- S.aureus
3- Vibrio parahaemolyticus
4- saccharomyces
5- Penicillium

ثم تترك انابيب الاختبار في المختبر او في حاضنة درجة حرارتها مابين 25 – 30 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 –	—	—	—

ملاحظة1 : (يشار الى النمو القليل بعلامة + ، النمو المتوسط بعلامات ++ ، النمو الكثيف بعلامات +++ ، وعدم وجود النمو بالعلامة –).

ملاحظة2 : بالامكان استخدام اي مجموعة مايكروبية لهذه التجربة وحسب ماهو متوفر بالمختبر بشرط أن يكون بعضها يتحمل تركيز الملح العالي والبعض الآخر حساس للملح.

المصادر :

الدليمي،خلف صوفي داود. (1988) .كتاب علم الاحياء المجهرية الجزء العملي.

رقم التسجيل168991 :

رقم التسجيل168992 :

رقم التصنيف576.163 :

رقم المؤلف : د 745

مكان النشر والناشر : بغداد:جامعة بغداد

عدد الصفحات: 264 ص