



المملكة العربية السعودية
المؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني
الإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج

تخصص سلامة الأغذية

ميكروبيولوجيا الأغذية
(عملي)

١٦٣ حيا

طبعة ١٤٢٩ هـ

مقدمة

الحمد لله وحده، والصلاة والسلام على من لا نبي بعده، محمد وعلى آله وصحبه، وبعد:

تسعى المؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني لتأهيل الكوادر الوطنية المدربة القادرة على شغل الوظائف التقنية والفنية والمهنية المتوفرة في سوق العمل، ويأتي هذا الاهتمام نتيجة للتوجهات السديدة من لدن قادة هذا الوطن التي تصب في مجملها نحو إيجاد وطن متكامل يعتمد ذاتياً على موارده وعلى قوة شبابه المسلح بالعلم والإيمان من أجل الاستمرار قدماً في دفع عجلة التقدم التتموي: لتصل بعون الله تعالى لمصاف الدول المتقدمة صناعياً.

وقد خطت الإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج خطوة إيجابية تتفق مع التجارب الدولية المتقدمة في بناء البرامج التدريبية، وفق أساليب علمية حديثة تحاكي متطلبات سوق العمل بكافة تخصصاته لتلبي متطلباته، وقد تمثلت هذه الخطوة في مشروع إعداد المعايير المهنية الوطنية الذي يمثل الركيزة الأساسية في بناء البرامج التدريبية، إذ تعتمد المعايير في بنائها على تشكيل لجان تخصصية تمثل سوق العمل والمؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني بحيث تتوافق الرؤية العلمية مع الواقع العملي الذي تفرضه متطلبات سوق العمل، لتخرج هذه اللجان في النهاية بنظرة متكاملة لبرنامج تدريبي أكثر التصاقاً بسوق العمل، وأكثر واقعية في تحقيق متطلباته الأساسية.

وتتناول هذه الحقيبة التدريبية " ميكروبيولوجيا الأغذية (عملي) " لمتدربي تخصص " سلامة الأغذية " في الكليات التقنية موضوعات حيوية تتناول كيفية اكتساب المهارات اللازمة لهذا التخصص.

والإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج وهي تضع بين يديك هذه الحقيبة التدريبية تأمل من الله عز وجل أن تسهم بشكل مباشر في تأصيل المهارات الضرورية اللازمة، بأسلوب مبسط يخلو من التعقيد، وبالإستعانة بالتطبيقات والأشكال التي تدعم عملية اكتساب هذه المهارات.

والله نسأل أن يوفق القائمين على إعدادها والمستفيدين منها لما يحبه ويرضاه؛ إنه سميع مجيب الدعاء.

الإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج

تمهيد

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على نبيه الأمين وعلى اله وصحبه أجمعين وبعد .

إن الدراسة العملية والتطبيقية هي انجح وسيلة لترسيخ المعلومات وتثبيتها في الذهن وأقصر السبل لإثبات صدق النظريات وصحتها .

ومن المعروف أن الكائنات الحية الدقيقة تعيش في كل مكان وتلعب دوراً رئيساً في حياتنا سواء الممرض منها أو غير الممرض وحتى النافع ، وتهدف هذه الحقيبة لتدريب المتدرب على طرق استخدام الأدوات والأجهزة المختلفة التي تستخدم في معامل الأحياء الدقيقة كما أنها تهدف للتدريب على طرق فحص ومشاهدة هذه الكائنات الحية الدقيقة وعزلها من الطبيعة إلى المعمل وطرق الحفاظ عليها داخل المعمل .

وقد قسمت الحقيبة إلى جزئين ، الجزء الأول ويشمل التدريب على كيفية تحضير المنابت والشرائح الميكروبية وعزلها من المواد الغذائية وطريقة العد الأكثر احتمالاً والعد المجهرى ، وتشمل عادة البكتيريا والفطريات والخمائر والطحالب ، والجزء الثاني يشمل فحص المواد والمعلبات التالفة والميكروبات التي تسبب التسمم الغذائي

كما تحتوي الحقيبة على بعض التمارين لمساعدة المتدرب في تقييم نفسه بعد كل تجربة.

ونسأل الله التوفيق وأن يجعل عملنا خالصاً لوجه الكريم.

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

التعرف على أجزاء المجهر وكيفية عمله

الجدارة: التعرف على المجهر وطريقة عمله .

الأهداف: أن يتعرف المتدرب على طريقة استخدام المجهر وميكانيكية عمله .

مستوي الأداء المطلوب: أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان .

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة ..

- جهاز الميكروسكوب .

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على تطبيق استخدام المجهر في فحص الكائنات الحية الدقيقة .

الهدف :

١. إعطاء المتدرب إرشادات وقائية داخل المختبر . .
٢. تعريف المتدرب بتركيب جهاز الميكروسكوب .
٣. تعريف المتدرب بطريقة استخدام الميكروسكوب .

إرشادات وقائية داخل المختبر

١. ارتداء معطف المختبر (البالطو) دائماً داخل المختبر .
٢. تنظيف المنضدة بمادة مطهرة مثل الديتول أو الكحول قبل إجراء التجربة وبعد الانتهاء من التجربة.
٣. غسل اليدين بالماء والصابون قبل البدء في إجراء التجربة وبعد الانتهاء من التجربة .
٤. لبس قفازات خاصة باليدين لضمان عدم انتقال أي كائن حي دقيق ، ويجب الامتناع عن لمس كافة محتويات المختبر حتى لا تتلوث وتصبح مصدراً للعدوى ، ثم التخلص من القفازات بعد الانتهاء من التجربة .
٥. قبل بداية كل فترة معملية يجب قراءة التعليمات الخاصة بكل تجربة بدقة والتأكد من معرفة طريقة العمل .
٦. يمنع منعاً باتاً إدخال المشروبات أو المأكولات إلى المختبر ويجب تجنب لمس الأنف أو الفم أثناء العمل .
٧. عدم لمس أو تحريك أي جهاز أو أي من الأدوات إلا بعد التعرف عليها وشرح طريقة وكيفية استخدامها .
٨. جميع الأدوات في المختبر والأجهزة المستخدمة يجب وضعها في أماكنها بعد إنهاء التجربة ، وتنظيف الأدوات أو غسلها بعد الانتهاء منها .
٩. يجب التعامل مع المنابت الحيوية بحرص وعدم حملها خارج مختبر الأحياء الدقيقة .
١٠. يجب إخبار المشرف على المختبر عند حدوث أي حالة غير اعتيادية في المختبر وذلك لاتخاذ الإجراءات المطلوبة .

المجهر (الميكروسكوب)

تعريفه : هو نظام بصري لتكبير العينة المراد فحصها والتي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة حيث يحتوي على نظام إضاءة لجعل العينة المفحوصة مرئية بوضوح .

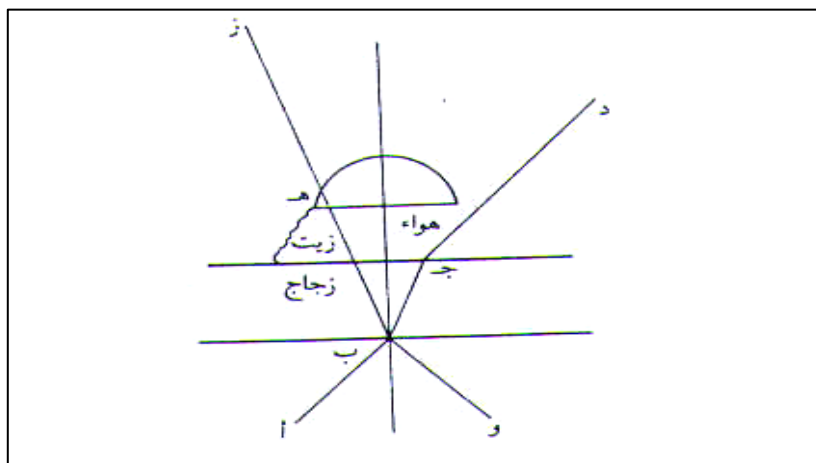
وأنواعه :

أ. المجهر البسيط : ويتركب من عدسة واحدة وتكبر العينات بكفاءة محدودة ويكون فيها مصدر الضوء أشعة الشمس أو أشعة إنارة الغرفة .

ب. المجهر الإلكتروني : ويتركب من وحدتين أساسيتين وهي وحدة القاعدة وملحق بها العدسات وآلات التصوير و وحدة تزويد بشحنات من الإلكترونات ، ويستخدم لرؤية الأشياء الدقيقة (التحت مجهرية) والقدرة التوضيحية له أكبر بحوالي ١٠٠٠ مرة عن الميكروسكوب المركب .

ج. المجهر المركب : يتركب من مجموعتين من العدسات الأولى تسمى العدسات الشيئية والثانية تسمى العدسات العينية وتستخدم العدسات الشيئية لإنتاج منظر مكبر للجسم المراد فحصه وتتكون من ثلاث عدسات :

١. العدسة الصغرى : وهذه ذات بعد بؤري ١٦ ملم وتكبيرها ١٠ مرات .
٢. العدسة الكبرى الجافة وهي ذات بعد بؤري ٤ ملم وتكبيرها ٤٠ مرة .
٣. العدسة الزيتية وهي ذات بعد بؤري ٢ ملم وتكبيرها ١٠٠ مرة وتستخدم لفحص الشرائح المصبوغة ، وعند استخدامها يوضع بين العدسة الزيتية والشريحة زيت السيدر لأن معامل انكساره يماثل انكسار الزجاج وعلى ذلك فنفاذ الأشعة الضوئية في وسطين متساويين من الكثافة يمنع انكسارها .

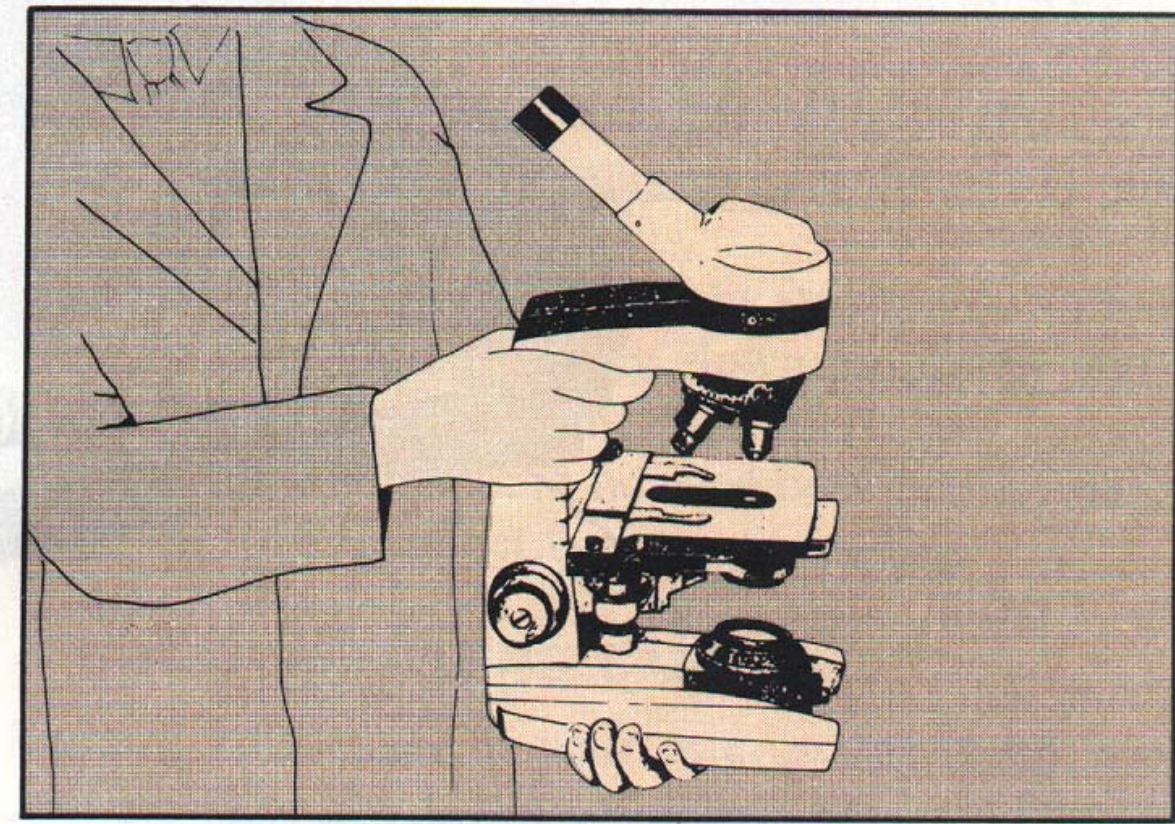


شكل (١- ١) رسم تخطيطي يبين مسار الأشعة خلال عدسة جافة (إلى اليمين) وخلال عدسة زيتية (إلى اليسار) لاحظ انكسار الشعاع الضوئي المائل أ ب ج د وخلال مروره من زجاج الشريحة إلى الهواء مع مقارنته بالشعاع و ب هـ ز الذي يمر إلى فتحة العدسة الزيتية بدون حدوث انكسار خلال زيت السيدر

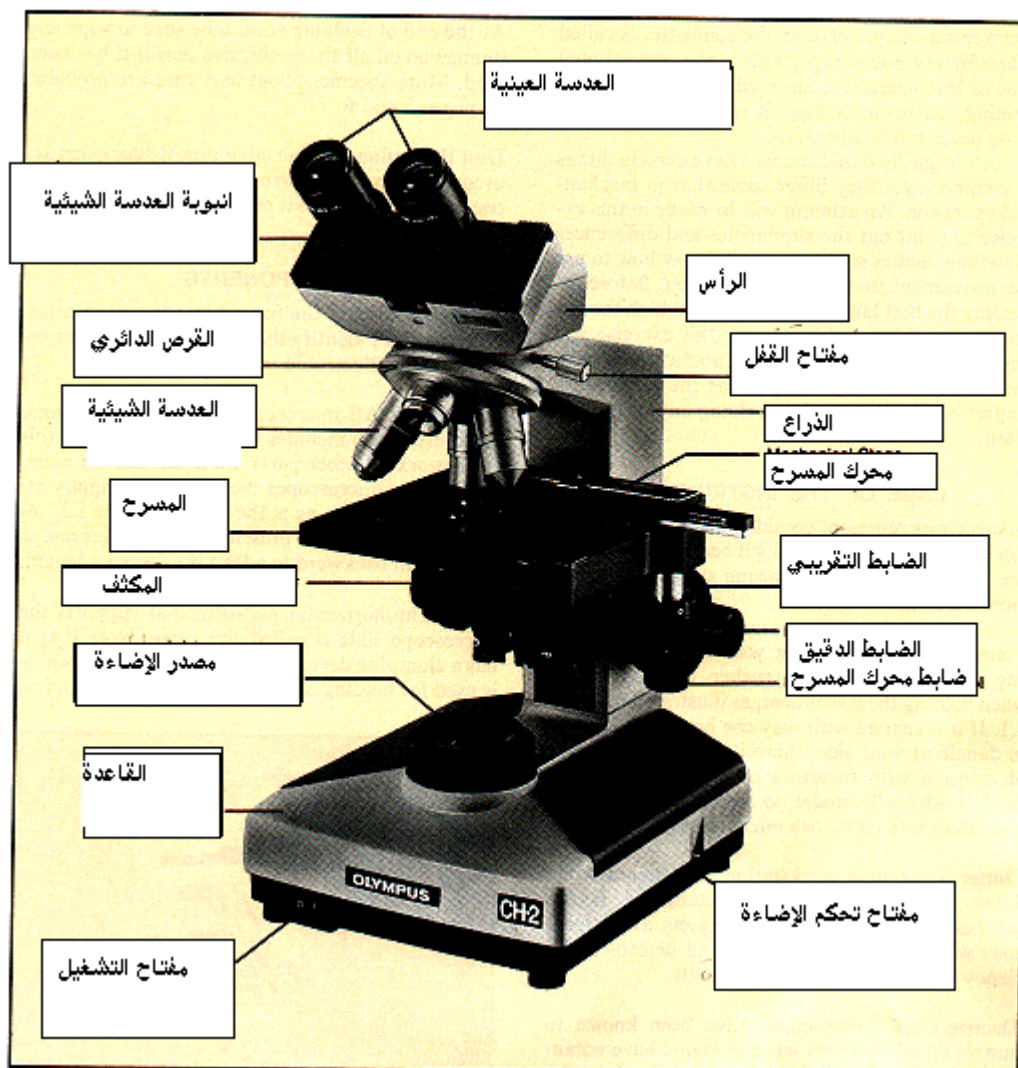
أما العدسات العينية فتكون مثبتة في أعلى الميكروسكوب داخل أنبوب ، وتتركب من عدستين كل عدسة تتكون من وجه محدب و آخر مسطح ، العليا عدسة العين والسفلى العدسة المجمعة لتجميع الضوء الصادر من العدسات الشيئية وتوصيلها إلى العينية ثم العين .
بالإضافة إلى العدسات توجد الأجزاء التالية:

١. القاعدة : وهي قاعدة لحمل المجهر .
٢. الذراع : يستخدم لحمل المجهر .
٣. المفصل : يستعمل لتحريك المجهر إلى الخلف أو إلى الأمام دون تحريك القاعدة .
٤. المسرح : يستخدم لتثبيت الشريحة ويحتوي على مقابض كما يوجد لولبان لتحريك الشريحة إلى الأمام أو إلى الخلف أو إلى الجانب .
٥. أنبوبة جسم المجهر : وهي عبارة عن أنبوبة متداخلة مثبتة في الأنبوبة الداخلية في الطرف العلوي للعدسة العينية وفي الجزء السفلي للعدسة الشيئية .
٦. الضابط : وهو عبارة عن الضابط التقريبي أو الخشن والضابط الدقيق ويستعمل الضابط التقريبي أولاً ثم يعقبه استعمال الضابط الدقيق لضبط البعد البؤري .

٧. المكثف : وهو عبارة عن عدستين مثبتتين في أسطوانة نحاسية وحاجز العليا محدبة مسطحة والسفلى محدبة الوجهين ومرتبعة بحيث تسمح بتجميع الأشعة ، والحاجز يستخدم في التحكم بالأشعة الضوئية الصادرة .
٨. المرآة : وتتكون من وجهين أحدهم مسطح والآخر مقعر لاستقبال أشعة الضوء وتوجيهها إلى الجسم المراد فحصه وتوجد مباشرة تحت المكثف .



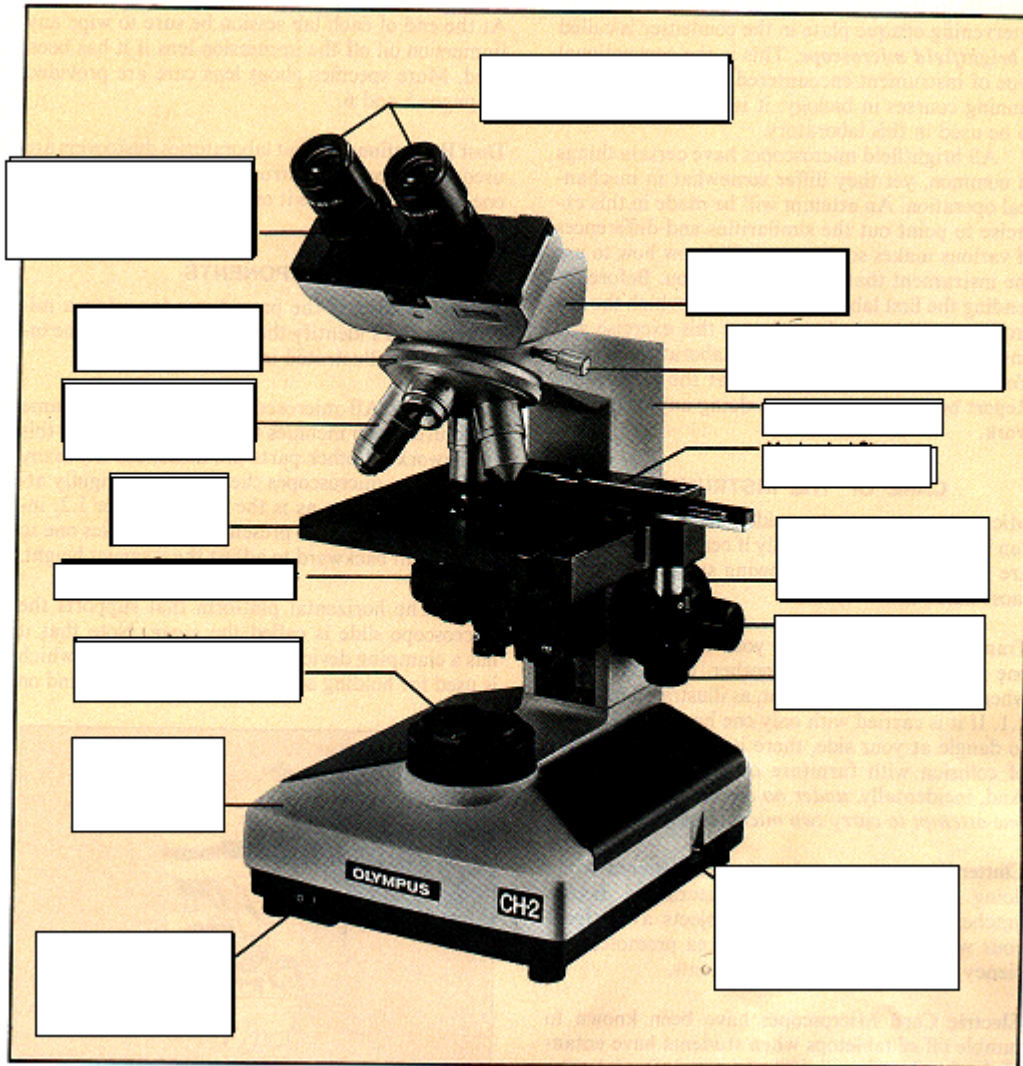
شكل رقم (٢-١) الطريقة الصحيحة لحمل الميكروسكوب



شكل (٣-١) يوضح أجزاء الميكروسكوب الضوئي

تمرين /

تعرف على أجزاء المجهر المركب



طريقة استخدام المجهر المركب :

الأدوات المطلوبة :

١. مجهر مركب .
٢. شريحة زجاجية (لعينة بكتيرية أو فطرية جاهزة) .
٣. ورق عدسات .
٤. زيت الزيلول .
٥. زيت السيدر .

الطريقة :

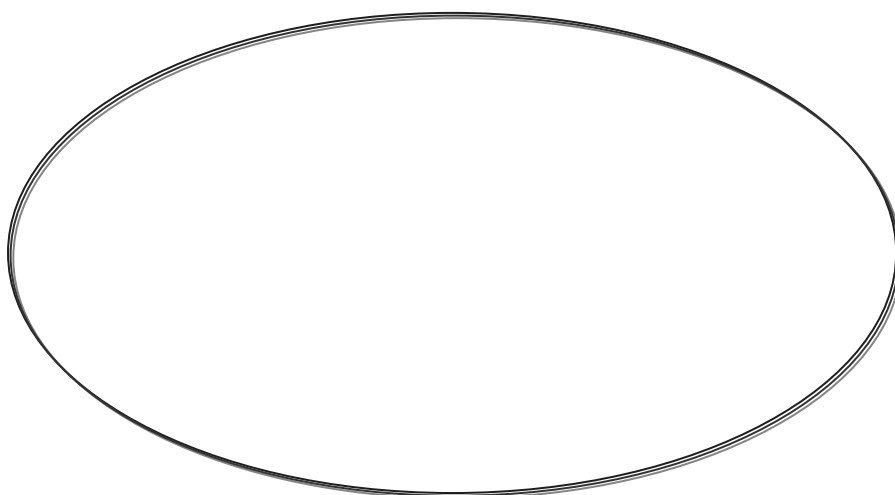
١. اغسل يديك .
٢. اجمع الأدوات المطلوبة .
٣. أحضر المجهر مع ملحوظة أن هناك طريقة مناسبة لحمل المجهر وذلك بوضع اليد بقوة على ذراع المجهر ووضع اليد الأخرى تحت القاعدة . كما في شكل (١-٢) .
٤. ضع المجهر على الطاولة على ارتفاع مريح لمستوى جلوسك ، وتأكد من أن ذراع المجهر مواجه لجسمك .
٥. نظف العدسات العينية والشيئية بورق عدسات .
٦. حدد الضابط التقريبي ثم ادر الزر بعناية وببطء وراقب حركة أنبوبة الهيكل إلى أعلى وأسفل .
٧. ادر زر الضابط التقريبي لرفع وحدة القطعة الأنفية الدوارة .
٨. ادر زر المكثف الضوئي لرفع المكثف .
٩. حدد العدسة الشيئية الصغرى ذات القوة $\times 10$ وأدرها إلى مكان نقطي فيه مباشرة فتحة المسرح
١٠. افتح الضوء .
١١. افتح الحجاب الحاجز حتى تنفذ أقصى كمية من الضوء خلال المكثف .
١٢. ضع الشريحة المراد فحصها على المسرح مع تثبيتها بالمقابض .
١٣. حدد زر الضابط التقريبي وراقب العدسة الشيئية الصغرى بينما تدير زر الضابط التقريبي لخفض أنبوبة الهيكل ، اخفض أنبوبة الهيكل حتى تكون العدسة الشيئية الصغرى بالقرب من الشريحة إلى أقصى مدى وكن حذراً حتى لا تكسر الشريحة .

١٤. اضبط العدستين العينيتين أفقياً إلى المسافة بين عينيك ، وانظر وادر الضابط التقريبي لرفع أنبوبة الهيكل حتى يظهر الجسم المراد فحصه .

١٥. ادر زر الضابط الدقيق ببطء وعناية حتى ترى الشيء بوضوح تام .

١٦. نفذ الملاحظات الآتية :

- أ. حرك الشريحة إلى اليمين . في اتجاه تحرك الجسم ؟
- ب. حرك الشريحة إلى اليسار في اتجاه تحرك الجسم ؟
- ج. افتح وأغلق الحجاب الحاجز كيف يؤثر على الصورة ؟
- د. ارسـم تخطيطاً لما تراه في العدسة العينية تحت قوة التكبير الصغرى



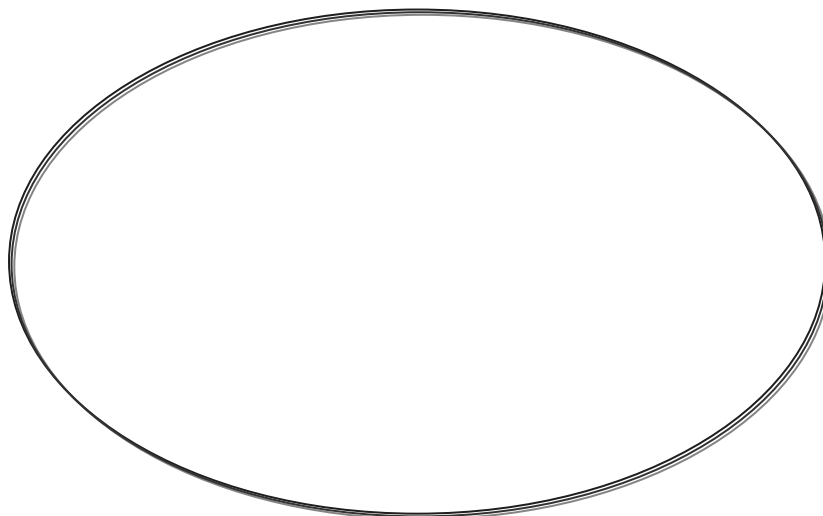
١٧. اختر المساحة التي ترغب في دراستها وأدر العدسة الشيئية الجافة ذات التكبير $\times 40$.

١٨. انظر خلال العدسة العينية الجزء المراد تكبيره مع ملحوظة عدم استخدام زر الضابط التقريبي إطلاقاً عندما تستخدم العدسة الجافة الكبرى ذات القوة $\times 40$ ويكتفى فقط باستخدام الضابط الدقيق .

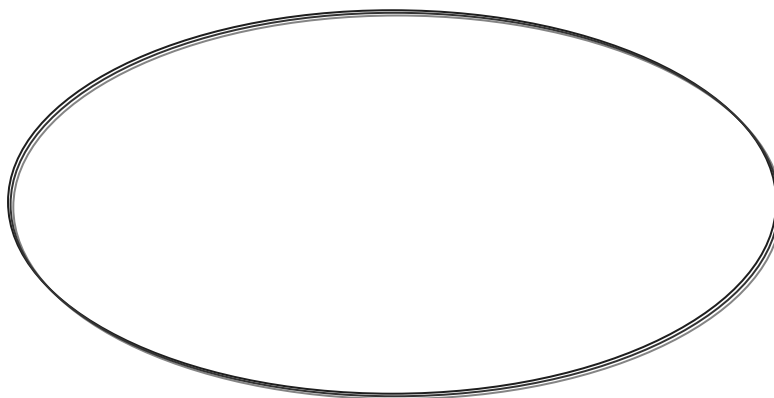
١٩. اضبط الضوء ثم ارسـم ما تراه خلال العدسة العينية تحت القوة الجافة الكبرى $\times 40$.

٢٠. قارن بين ما تراه على هذه العدسة وبين ما تراه على العدسة الشيئية الصغرى .

٢١. عند استخدام العدسة الزيتية كرر الخطوات السابقة من ١ — ٢٠ .



٢٢. أدر العدسة الشيئية الجافة الكبرى $\times 40$ إلى أحد الجانبين ثم ضع قطرة من زيت السيدر مباشرة فوق فتحة المسرح على الشريحة .
٢٣. ركز بصرك على العدسة الزيتية ($\times 100$) أدر ببطء وبعناية العدسة الزيتية إلى مكانها متأكد أنها لا تقرب الشريحة أو المسرح .
٢٤. استمر في تركيز بصرك على العدسة الزيتية اخفض بعناية أنبوبة الهيكل حتى تتغير مقدمة العدسة في الزيت تأكد أن عدستك لا تلامس الشريحة . وعندما تنغمر العدسة بزيت السيدر يحدث إشعاع ضوء بسيط على الشريحة .
٢٥. استخدم فقط الضابط الدقيق بعد غمر العدسة الزيتية وانظر خلال العدسات العينية الجسم المراد فحصه ستظهر الصورة بسرعة وعدل الإضاءة باستخدام الحاجب لتحصل على أوضح صورة.
٢٦. ارسم ما تراه خلال العدسات العينية والعدسة الزيتية ثم قارن بين ما رأيته بين العدسات الثلاثة .



٢٧. ابعد الشريحة عن المسرح وبواسطة ورق عدسات تخلص من زيت السيدر على الشريحة .
٢٨. نظف بعناية زيت السيدر من العدسة الزيتية مع المسرح والمكثف بواسطة الزيلول .
٢٩. أدر الضابط التقريبي حتى القطعة الأفقية في أقصى وضع منخفض .
٣٠. غط المجهر وأعدّه إلى مكانه .
٣١. نظف مكان العمل الذي حولك .

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

طريقة تحضير المزارع والبيئات

طريقة تحضير المزارع والبيئات

٢

الجدارة : التعرف على طرق تحضير المنابت الميكروبية .

الأهداف : أن يتعرف المتدرب على تحضير المنابت الميكروبية المختلفة .

مستوي الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ٤ ساعات .

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة

- الأدوات المخبرية .
- جهاز الأوتوكلاف .

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على تحضير المنابت الصناعية لتنمية الميكروبات .

طريقة تحضير البيئات:

أولاً : الأهداف :

١. تدريب المتدرب على طرق تحضير البيئات السائلة والصلبة .
٢. تحضير البيئات من أجل الحصول على بيئة مناسبة لنمو الكائنات الحية الدقيقة ومن ثم يمكن فحصها أو حفظها في المعمل .

ثانياً : تعريف البيئة

عبارة عن مجموعة من المواد المتماثلة من البيئات التي تعيش عليها الميكروبات في الطبيعة والتي تحتوي غالباً على العناصر الضرورية للنمو ، مثل الكربون والنيتروجين بالإضافة إلى بعض العناصر المعدنية .

ثالثاً : أقسام الأوساط الغذائية من حيث التركيب :

١. أوساط غذائية محددة التركيب الكيميائي :
تتركب هذه الأوساط الغذائية من مواد كيميائية معروفة التركيب تضاف بنسب معينة وتذاب في الماء بنسب معروفة .

٢. أوساط غذائية غير محددة التركيب الكيميائي
وتتركب هذه الأوساط من مكونات غير محددة التركيب وهي عبارة عن مستخلصات نباتية أو حيوانية مثل مستخلص اللحم والدم ، أو مستخلص بعض الأنسجة النباتية والحيوانية .

كما يمكن تقسيم الأوساط الغذائية محددة التركيب وغير محددة التركيب الكيميائي حسب القوام إلى :

١. أوساط غذائية صلبة وهذه يضاف إليها مادة الآجار .
 ٢. أوساط غذائية سائلة وهذه لا يضاف إليها مادة الآجار .
- كما توجد أنواع الأوساط الغذائية ، فمنها الأوساط الغذائية العامة وهي تسمح بنمو معظم أنواع الميكروبات وأوساط غذائية تخصصية تسمح بنمو نوع معين من الميكروبات ، وتثبط أنواع الميكروبات الأخرى .

وعند تحضير الأوساط الغذائية فإن البعض منها يحتاج إلى تعقيم وعادة يمكن تعقيمه بجهاز يعرف باسم الأوتوكلاف والبعض منها لا يتحمل درجة حرارة الأوتوكلاف ويتم تعقيمه بطرق أخرى مثل استخدام جهاز ارنولد .

خطوات العمل :

أ. الأدوات المطلوبة :

١. عبوة وسط غذائي صلب عامة .
٢. عبوة وسط غذائي صلب تخصصية .
٣. عبوة وسط غذائي سائل عامة .
٤. عبوة وسط غذائي سائل تخصصية .
٥. ماء مقطر .
٦. جهاز الأوتوكلاف .
٧. الميزان الحساس .
٨. ورق ترشيح .
٩. ملعقة .
١٠. مخبر مدرج .
١١. أنابيب زجاجية .
١٢. أطباق بتري .
١٣. حضانة كهربائية .
١٤. حمام مائي .
١٥. دورق زجاجي .
١٦. لهب بنزن .
١٧. قطن .

طريقة العمل :

١. اقرأ طريقة تحضير كل عبوة مع ملاحظة الحجم المراد تحضيره عند واحد لتر والفترة الزمنية للتعقيم إن وجدت .
٢. عادة لا نقوم بتحضير لتر ، لذلك يجب تحديد الحجم المراد تحضيره فمثلاً لو أردنا تحضير ٥٠٠ مل نطبق القانون التالي:

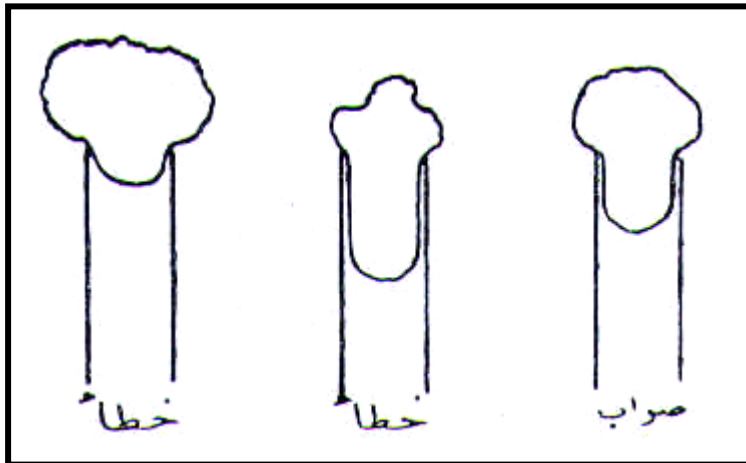
وزن البيئة اللازمة لتحضير واحد لتر * الحجم المطلوب

$$\frac{\text{الوزن المطلوب تحضيره}}{1000} =$$

$$28 \times 500$$

$$\text{فلو كان الوزن اللازم لتحضير واحد لتر هو } 28 \text{ جم} = \frac{28 \times 500}{1000} = 14 \text{ جم} / \text{نصف لتر}$$

٣. إذن وزن ١٤ جم ونذوبها في ٥٠٠ مل ماء مقطر داخل دورق زجاجي .
٣. الآن توضع جميع الدوارق الزجاجية في داخل الحمام المائي وذلك للإسراع في عملية ذوبان البيئة مع ملاحظة أنه يجب أن تتم الإذابة بشكل واضح .
٤. بعد عملية الإذابة في حالة البيئة السائلة يتم توزيعها على أنابيب زجاجية بأحجام مناسبة وذلك باستعمال قمع للتعبئة ويتم سد الأنابيب بسداد من القطن كما في الشكل التالي .



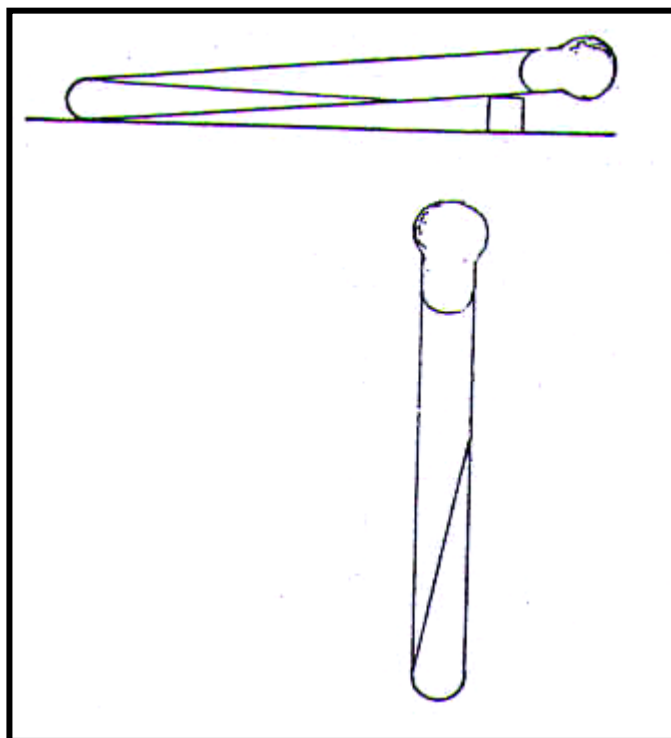
شكل (٢ - ١) طريقة الصحيحة لسد الأنبوبة

٥. يتم وضع $\frac{1}{3}$ من بيئة الوسط الصلب في أنابيب وتسد الأنبوبة بقطن وذلك للحصول على بيئة آجار مائل .

٦. ثم ضع الأنابيب والدوارق الزجاجية بجهاز الأوتوكلاف مع ملاحظة إنها لا توضع معاً وذلك لأن كل وسط غذائي له وقت تعقيم محدد . وذلك بفتح جهاز الأوتوكلاف بعد التأكد من تعبئة ربع الجهاز بالماء المقطر أو أقل من الربع ثم ارفع الشبك المخصص لوضع المواد وضع بها المواد ثم أقفل الجهاز مع التأكد من إقفال صمام الأمان وضبط درجة الحرارة على 121°C وضبط زمن التعقيم . وبعد الانتهاء من التعقيم يتم إخراج البخار وذلك بفتح صمام الأمان ويجب أن يكون الفتح تدريجياً وعند وصول المؤشر إلى صفر يتم فتح غطاء الجهاز وإخراج الوسط الغذائي .

٧. في حالة الأوساط الغذائية السائلة بعد التعقيم يتم حفظها في الثلاجة إلى حين الحاجة إليها وقت الزراعة .

٨. في حالة الآجار المائل يتم وضعها بشكل مائل وتترك حتى تبرد وتتجمد فيصبح الآجار مائلاً كما في الشكل (٢ - ٢)



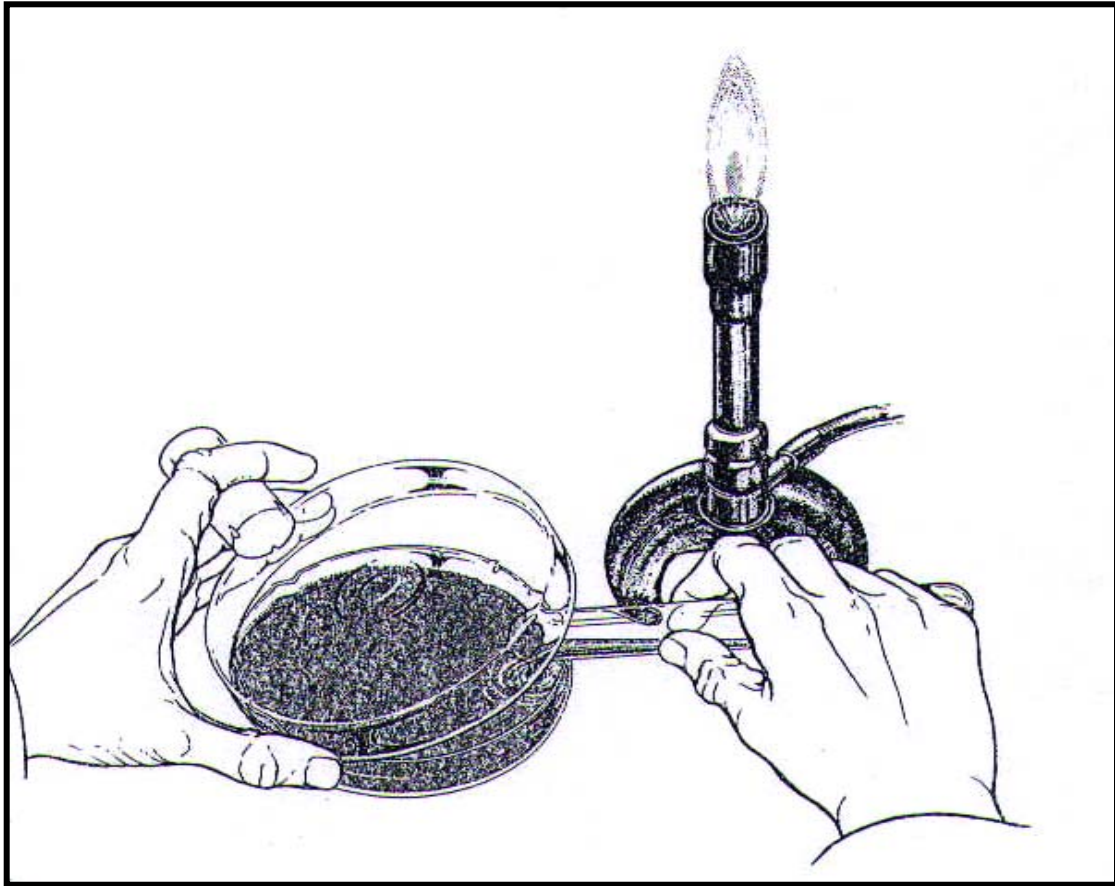
شكل (٢ - ٢) طريقة تحضير الآجار المائل.

٩. في حالة تحضير الأوساط الغذائية الصلبة دع الوسط حتى يبرد في حدود ٤٥°م حتى يمكن ملامسته (براحة اليد) . ثم امسك الدورق بواسطة الماسك باليد اليمنى وارفع غطاء الدورق بأصابع اليد الأخرى ومرر فوهة الدورق بلهب بنزن ثم ارفع غطاء الطبق باليد الممسكة بالسداد وبسرعة ودقة أفرغ قليلا من الوسط الزراعي في الطبق حتى يغطي الطبق بارتفاع $\frac{1}{2}$ سم تقريبا ثم أعد غطاء الطبق إلى مكانه ومرر فوهة الدورق بلهب بنزن و أعد السدادة إلى الدورق ثم حرك الطبق بأطراف أصابعك بسرعة حتى يتم تجانس الوسط في كل الطبق.

٩. ضع الأطباق في الحضانة لمدة ٢٤ ساعة عند ٣٧°م وذلك للتأكد من أن ذلك الوسط معقم ولم يحدث له تلوث .

١٠. نظف بعناية المنضدة ، وقم بإرجاع الأدوات إلى مكانها والأجهزة .

١١. اغسل يديك بالماء والصابون .



شكل (٢ - ٣) صب طبق الآجار تحت ظروف التعقيم



شكل (٢-٤) مزارع مختلفة من البكتيريا

تدريبات

س١: قسم الأوساط الغذائية (بيئات زرع الميكروبات)

من حيث :

١- التركيب الكيميائي

٢- القوام

س٢: اذكر الشروط الواجب توافرها في بيئات زرع الميكروبات ؟

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

طريقة عزل الميكروبات

الجدارة: التعرف على طرق زراعة الميكروبات .

الأهداف : أن يتعرف المتدرب على طريقة عزل وزراعة الميكروب داخل المعمل .

مستوي الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ساعتان .

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة

- المنابت الصناعية .
- الأدوات المخبرية .
- الحضانة الكهربائية .

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على زراعة الأعفان والبكتيريا والخمائر بعدة طرق مختلفة.

طريقة عزل الميكروب :

الهدف من التجربة :

١. التدريب على طرق زراعة البكتيريا والأعفان و الخمائر في الأوساط الغذائية الصلبة على أطباق بتري والأجار المائل والسائلة .
٢. الحصول على نوع واحد من الميكروب على هيئة صورة نقية .
٣. تنمية البكتيريا أو الأعفان و الخمائر للحصول على كميات كبيرة منها .
٤. الحفاظ على البكتيريا أو الأعفان و الخمائر داخل المعمل لسنوات طويلة .

سوف نقوم بزراعة البكتيريا على وسط غذائي سائل وكذلك وسط غذائي صلب وأيضاً وسط غذائي مائل ، كما سوف نقوم بعزل العفن على وسط غذائي صلب ووسط غذائي مائل مع ملاحظة أن زراعة الخمائر بنفس طريقة زراعة البكتيريا .

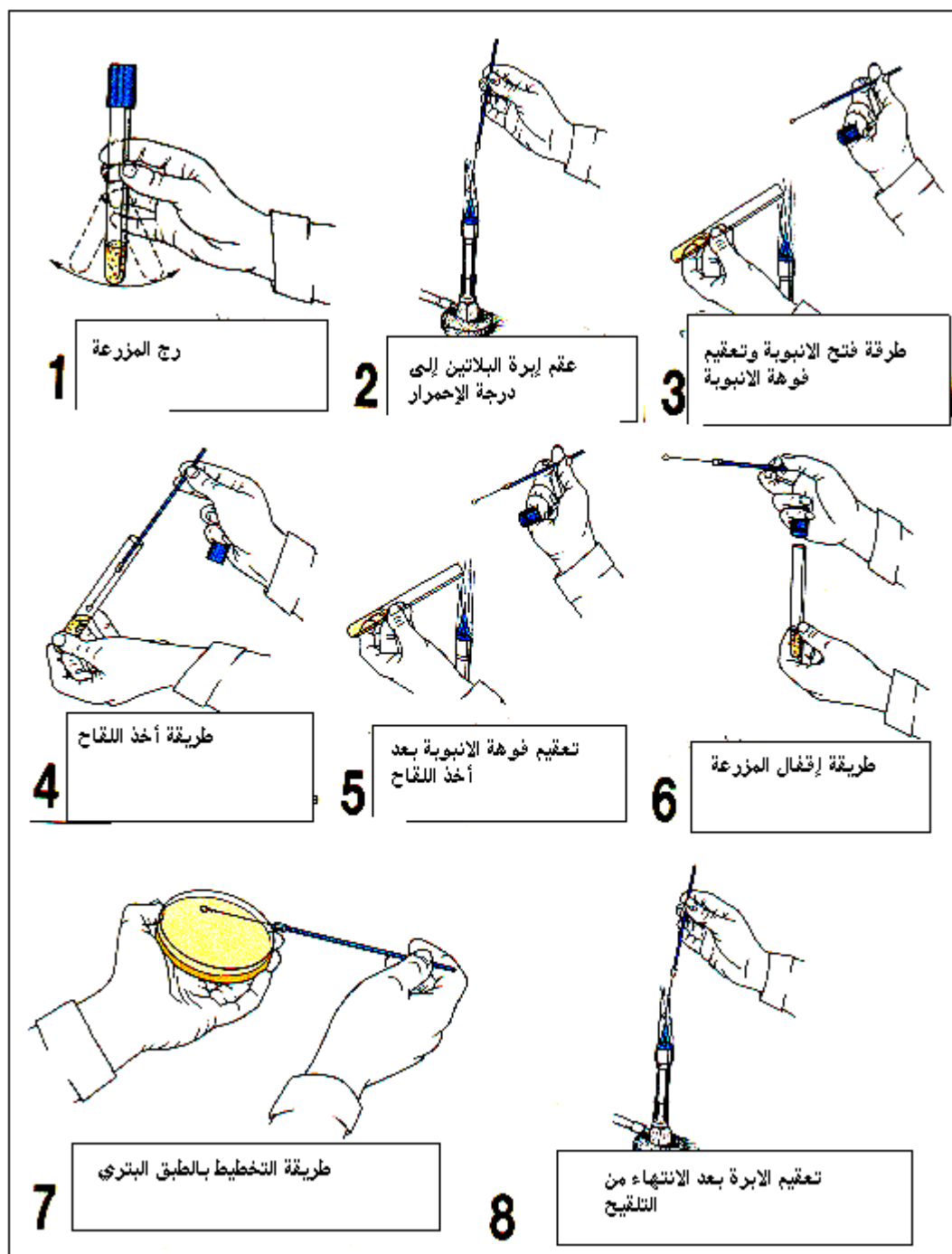
أولاً : زراعة البكتيريا في وسط سائل

الأدوات المطلوبة :

١. مزرعة بكتيرية في وسط سائل .
٢. وسط غذائي سائل محضر مسبقاً .
٣. إبرة تلقيح .
٤. لهب بنزن .
٥. قلم شمع .
٦. الحضانة الكهربائية .

خطوات العمل :

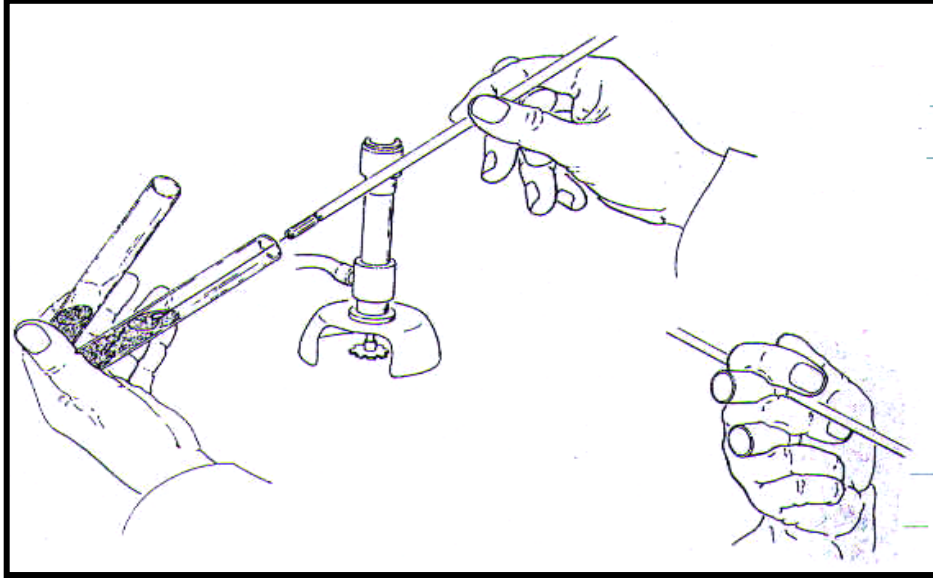
١. اكتب على أنبوبة الوسط الغذائي البيانات المطلوبة من تاريخ الزراعة ورقم العينة .
٢. سخن إبرة التلقيح إلى درجة الإحمرار ، امسك مقبض الإبرة ثم ضع الإبرة في اللهب لتسخينها كما هو في الشكل (٣ - ١)



شكل (٣ - ١) طريقة زراعة البكتيريا

٣. امسك الأنبوبة باليد اليسرى وبواسطة أصابع اليد اليمنى انزع غطاء الأنبوبة مع الحذر من إلقاء الغطاء ، وتكون الأنبوبة بوضع أفقي ، ويجب تمرير فوهة الأنبوبة إلى لهب بنزن قبل وبعد إدخال إبرة التلقيح وذلك لمنع التلوث .

٤. خذ من المزرعة لقاحا وضعها في الوسط الغذائي السائل مع الرج، ثم غط الأنابيب بعد تمرير فوهة الأنابيب على لهب بنزن ضعها في حامل الأ



شكل (٣-٢) الطريقة الصحيحة لمسك الأنابيب أثناء نقل المزرعة

ثم ضع الأنابيب الملقحة في الحضانة عند ٣٧° م لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة ، ليظهر النمو في المزارع السائلة كالتالي :

١. تعكير حيث يكون النمو على شكل سحابة مختلفة الكثافة .
٢. تكوين على السطح حيث تطفو كتلة صغيرة من الخلايا .
٣. راسب غشاء توجد في قاع أنبوبة المزرعة السائلة
٤. لزوجة تظهر في حالة اللزوجة إذا لم تتفصل الخلايا .

ثانيا : زراعة البكتيريا أو العفن في بيئة الآجار المائل :

وتعتبر من الطرق الشائعة لحفظ المزارع الميكروبية لسنوات طويلة .

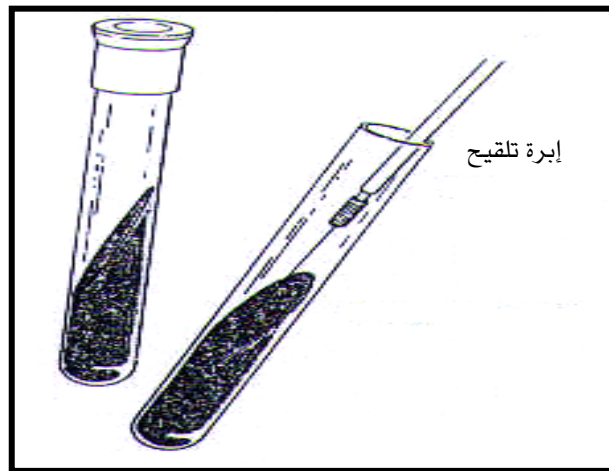
الأدوات المطلوبة :

١. إبرة تلقيح .
٢. مزرعة بكتيرية .
٣. مزرعة فطرية عبارة عن ثمرة مصابة بعفن .
٤. حضانة كهربائية .

٥. وسط غذائي من الآجار المائل من بيئة الزراعة البكتيرية وبيئة آجار البطاطس لزراعة الأعفان .
٦. لهب بنزن .

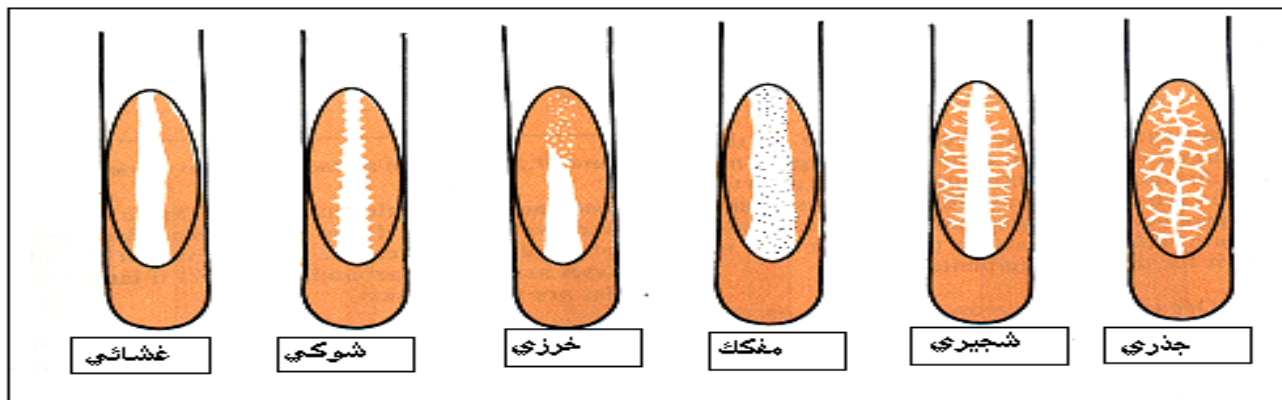
خطوات العمل :

١. سخن إبرة التلقيح إلى درجة الإحمرار .
٢. بنفس الطريقة السابقة للزراعة في البيئة السائلة ، امسك الأنبوبة بيد وافتح غطاء الأنبوبة بأصابع اليد الأخرى مع تمرير الفوهة على لهب بنزن .
٣. لقح سطح الآجار باستخدام إبرة التلقيح مع تحريك الإبرة برفق على سطح الآجار من أسفل إلى أعلى ، وحاذر من الضغط على الإبرة حتى لا تجرح الآجار . ثم قم بتغطية الأنبوب وضعها بالحامل .
٤. في حالة زراعة البكتيريا ، حضن الأنبوب عند درجة 37° م لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة وفي حالة الأعفان تحضن عند 30° م لمدة سبعة أيام شكل (٣ - ٣)



الآجار المائل ، للتلقيح في البيئة

شكل (٣-٣) طريقة زراعة الآجار المائل



شكل (٣ - ٤) صور نمو البكتيريا على الآجار المائل.

ثالثا : الزراعة على أطباق بتري :

الأدوات المطلوبة :

١. قلم شمع .
٢. أطباق بتري مصبوبة في بيئة الآجار المغذي والبطاطس آجار .
٣. إبرة تلقيح ذات عقدة وإبرة تلقيح بدون عقدة .
٤. لهب بنزن .
٥. حضانة كهربائية .
٦. مزرعة من خليط من البكتيريا .
٧. مزرعة فطرية .

أولا : زراعة العفن :

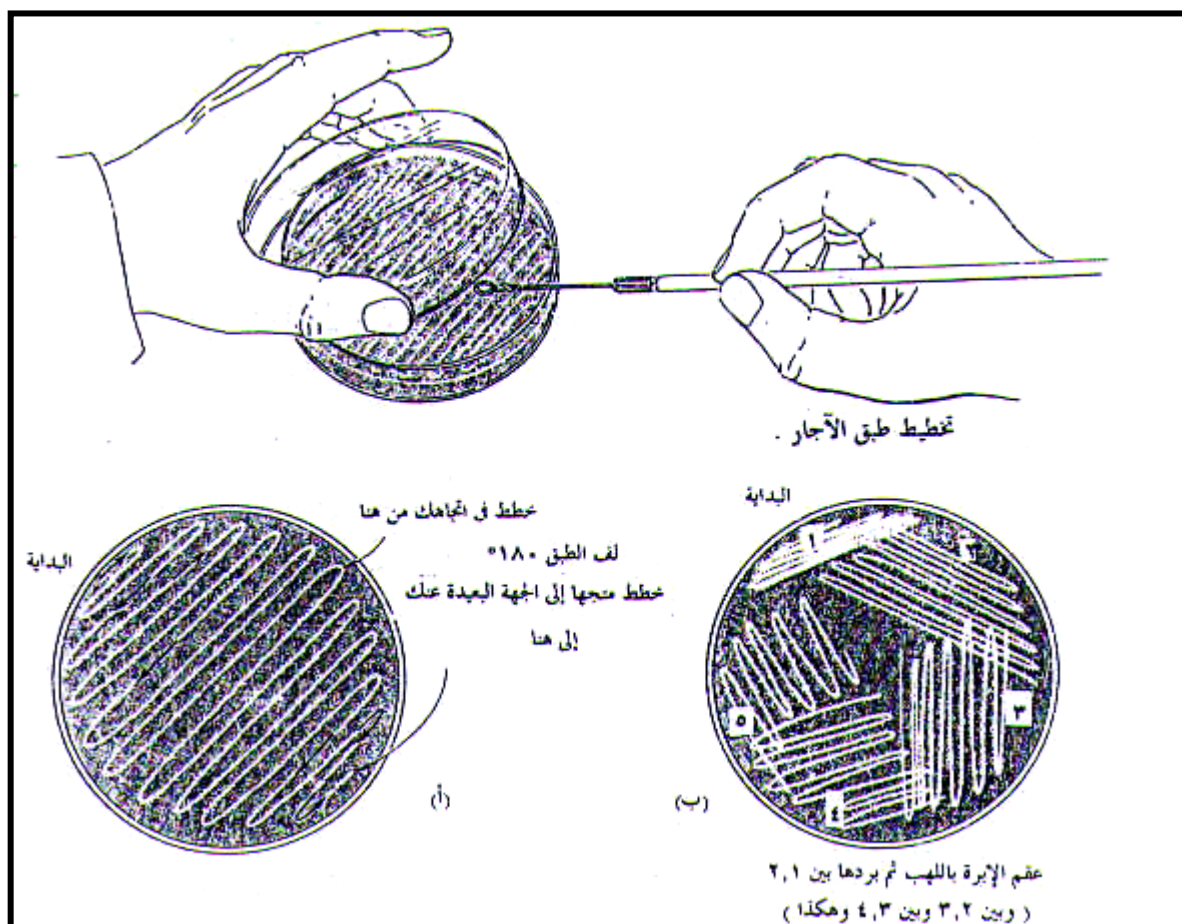
١. كتابة البيانات على قاع العينة ويكتفي بكتابة التاريخ واسم العينة ورقم المتدرب .
٢. تسخن إبرة التلقيح بدون عقدة إلى درجة الإحمرار قبل وبعد أخذ اللقاح .
٣. يتم أخذ قطعة صغيرة من العفن المتواجد على الثمرة بعد تعقيم الجزء المصاب بالكحول وتوضع على سطح الآجار .
٤. يتم وضع اللقاحة في منتصف الطبق مع الضغط على الوسط الغذائي وذلك لتثبيت اللقاحة .
٥. توضع مقلوبة وتوضع في الحضانة عند ٣٠° م لمدة سبعة أيام .

ثانيا : زراعة البكتيريا بطريقة التخطيط :

الهدف منها هو الحصول على مستعمرات منفصلة تماما وعند التلقيح تكون المستعمرات ذات كثافة عالية تقل باستمرار عملية التخطيط .

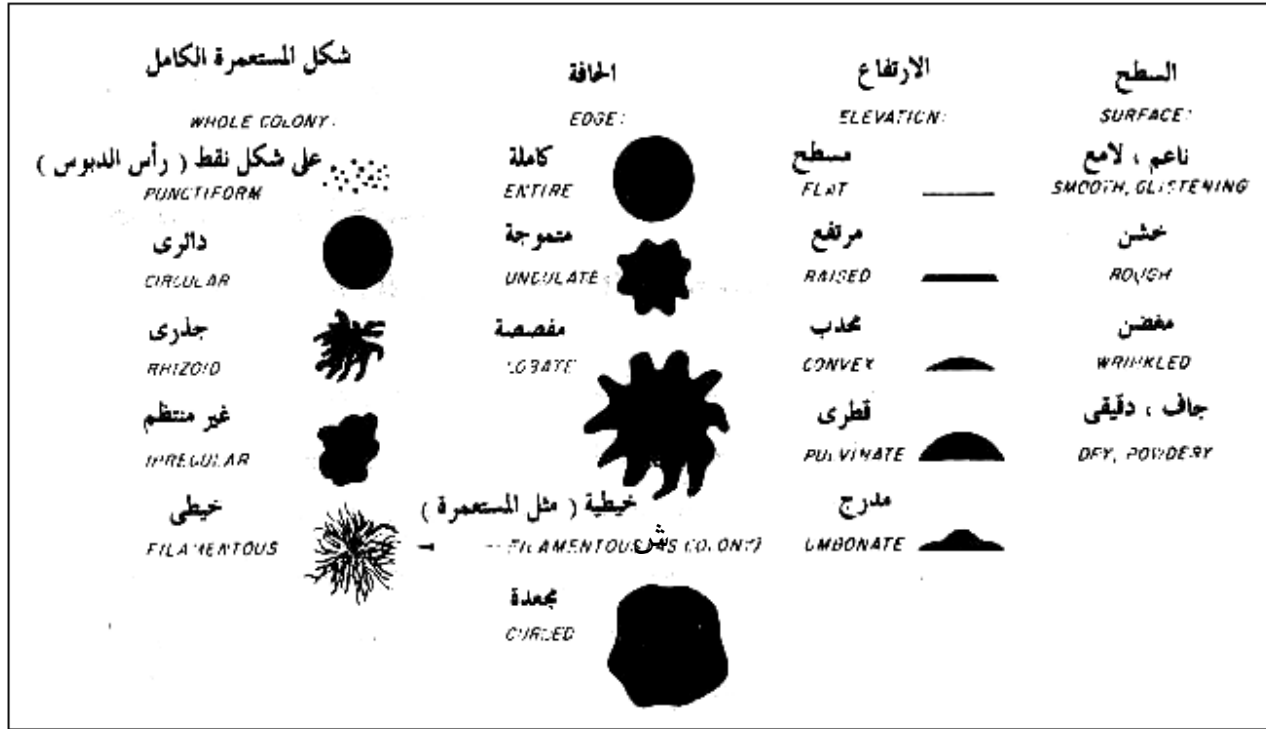
١. عقم إبرة التلقيح إلى درجة الإحمرار ثم قم بتبريدها على حافة الآجار . كما في الشكل (٣-١)
٢. خذ اللقاحة من المزرعة ثم خطط سطح الآجار بادئا من الجهة اليمنى مع مراعاة عدم لمس حافة الطبق .
٣. سر بالإبرة في اتجاهك ملامساً سطح الآجار ذهاباً وإياباً مكون خطوط متوازية البعد .
٤. عندما تصل إلى منتصف الطبق أدر الطبق ١٨٠° م مع الاستمرار في التخطيط دون الحاجة إلى تعقيم الإبرة ثم غط الطبق الممسوك باليد اليسرى .

أو بطريقة أخرى تعتمد على عمل ثلاثة خطوط متوازية ثم تعقم الإبرة وتعمل ثلاثة خطوط عمودية على المجموعة الأولى وتكرر هذه العملية حتى تتكون ثلاث مجموعات متوازية في أكثر من اتجاه ، انظر الشكل (٣ - ٥) .

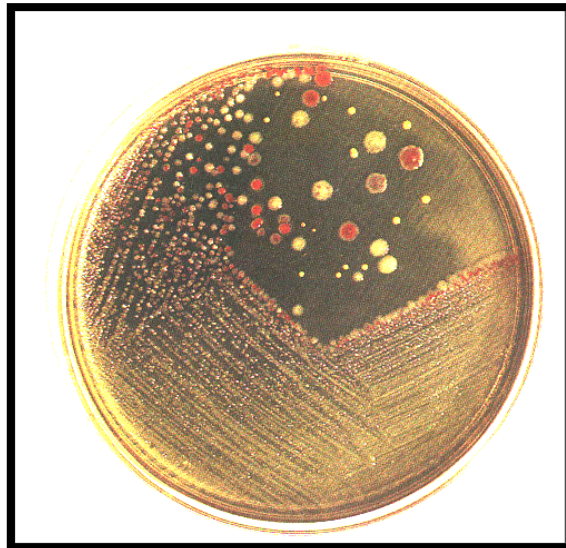


شكل (٣ - ٥) حركة إبرة التلقيح لتخطيط الأطباق بطريقتين

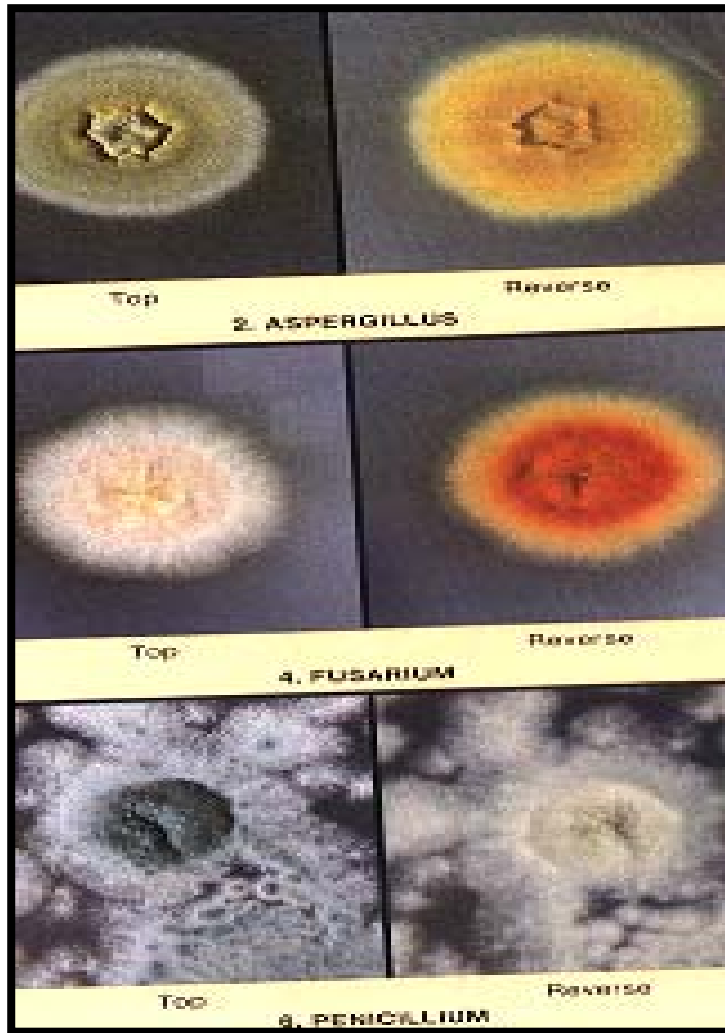
٥. حضن الأطباق عند ٣٧° م لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة وضعها وهي مقلوبة لمنع تبخر الماء .



شكل (٦-٣) الصفات المزراعية للبكتيريا



شكل (٧-٣) طبق يحتوي على شكل البكتيريا بعد الزراعة والتحصين.



شكل رقم (٣-٨) صور مختلفة لأنواع من الأعفان النامية على الطبق بعد فترة التحضين

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

العد الكلي القياسي بطريقة الأطباق

الجدارة : التعرف على طرق عد الميكروبات .

الأهداف : أن يتعرف المتدرب على الطرق المختلفة للعد الميكروبي .

مستوي الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ٤ ساعات .

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة

- الأدوات المخبرية .
- عداد كوبيك .
- طريقة MBN العد الأكثر احتمالاً

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على عد المستعمرات البكتيرية والفطريات.

طريقة تقدير أعداد الميكروبات :

الهدف من التجربة :

- ١ - يعتبر التقدير الكمي للنمو الميكروبي مهماً جداً في معظم الدراسات التطبيقية .
- ٢ - يعتبر أساساً في تقدير تأثير مختلف العوامل مثل درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني التي تؤثر على النمو الميكروبي .

٣ - معرفة أعداد الميكروبات في العينة يساعد على معرفة مدى تلوث العينة .
وهناك العديد من الطرق لعد الميكروبات مثل التقدير المباشر لعدد الخلايا وطريقة تقدير الوزن الجاف وطريقة العد بالأطباق وهي أكثر الطرق شيوعاً وتبنى هذه الطريقة على العلاقة النظرية القائمة على أن الخلية الواحدة أو تجمع الخلايا تكون مستعمرة واحدة . ويستخدم عادة جهاز يعرف باسم عداد كوبك وتحسب أعداد الميكروب بضرب عدد المستعمرات بالطبق X معامل التخفيف فمثلاً إذا كان عدد المستعمرات ١٥٠ والطبق مخفف إلى 10^{-2}

فإن عدد البكتيريا $= 150 \times 100 = 15000$ خلية بكتيرية / لكل ١ مل .

أ - التقدير الكمي للبكتيريا .

الأدوات المطلوبة :

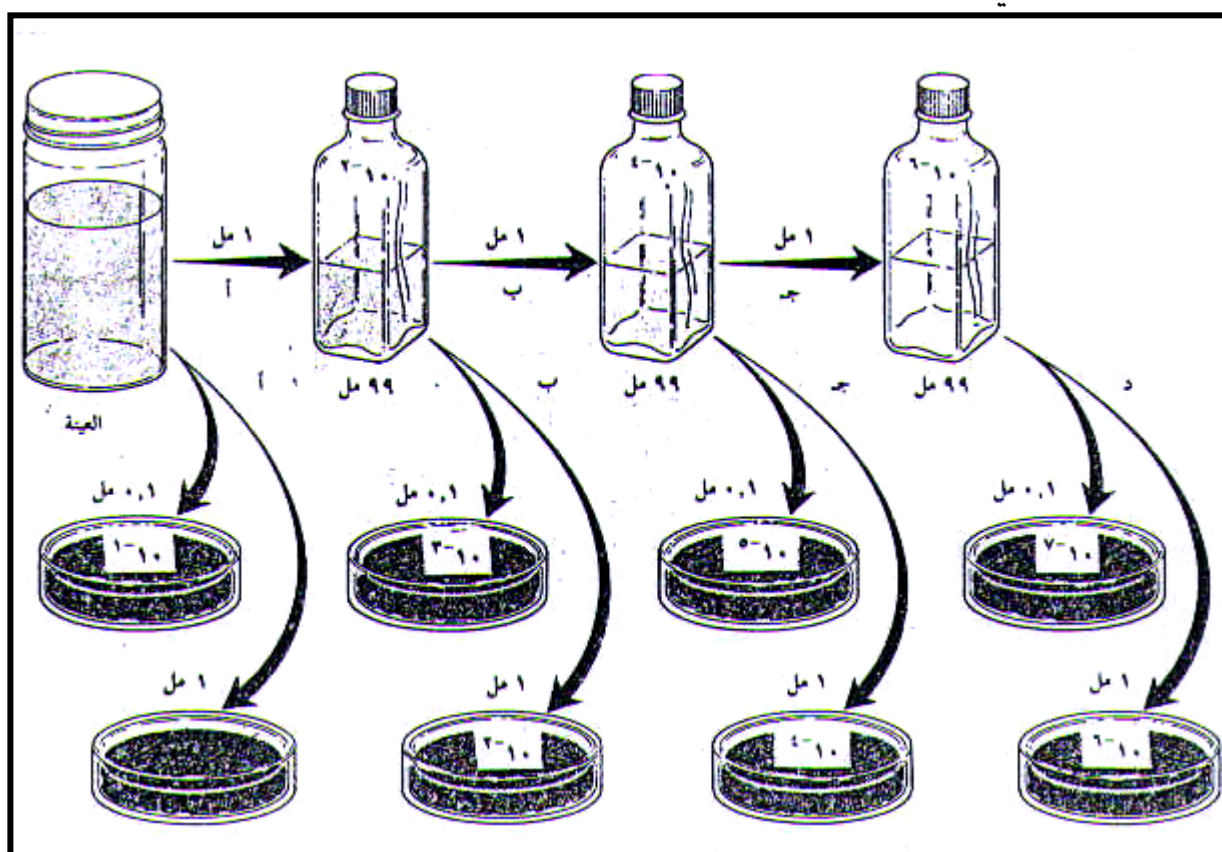
- ١ - عينة ماء ملوثة .
- ٢ - ماصات زجاجية .
- ٣ - زجاجات تخفيف .
- ٤ - حمام مائي .
- ٥ - بيئة النترنت آجار منصهرة عند 45°C .
- ٦ - حضانة كهربائية .
- ٧ - قلم شمع .

ملحوظة:

- ١ . عند تحضير العدد الكلي لعينة ١٠ جرام من لحم مفروم دجاج أو بازلاء أو جبنة شيدر أو أي مادة غذائية تحتاج إلى طحن فإنه يتم طحنها بجهاز الخلاط بعد إضافة ٩٩ مل ماء مقطر ومعقم ويكون لديك تخفيف 10^{-2} ثم تستمر بعمليات التخفيف .
- ٢ . عند العد للميكروب متخصص يستخدم بيئة متخصصة فمثلاً : في عينة الدجاج المفروم يفضل استخدام بيئة إس إس آجار (S.S.A) لحساب عدد السالمونيلا . في عينة الحليب يفضل استخدام بيئة الماكونكي آجار لحساب عدد بكتيريا القولونية وهكذا .
- ٣ . عند حساب العدد الكلي لمحبات البرودة تحضن عند 5°C لمدة ١٠ أيام .
- ٤ . عند حساب العدد الكلي لمحبات الحرارة العالية تحضن عند 55°C لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة .

خطوات العمل :

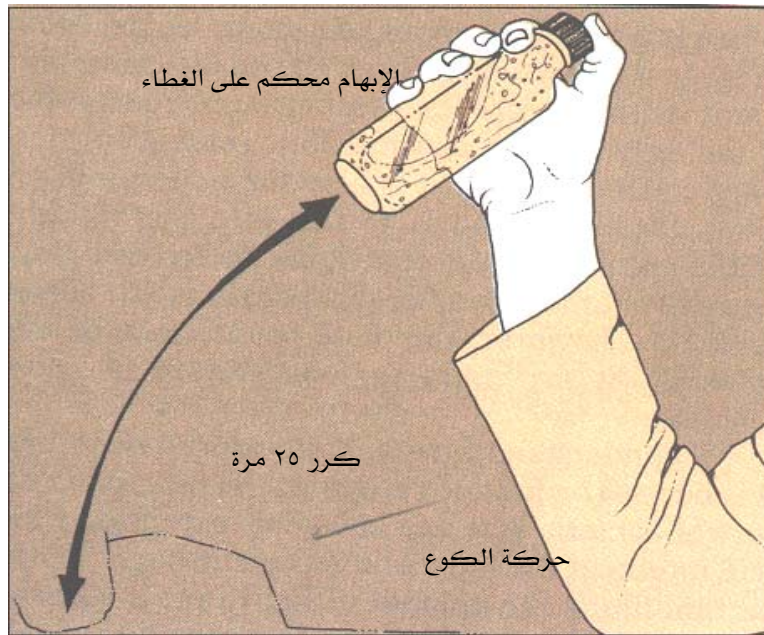
١ . انظر الشكل التالي (٤ - ١)



شكل (٤ - ١) تخفيف العينة لطريقة العد بالأطباق

طريقة العمل:

١. اصهر خمس أنابيب آجار مغذي (بكل ١٥ مل) . ثم برد الأنابيب إلى ٤٥ °م واتركها معدة للاستعمال عند عمل التخفيفات ، مراعيأً ألا يمر أكثر من دقائق قليلة بين وقت وضع العينة بأطباق بتري وخلط العينة بالآجار .
- ٢ . خذ ١ مل من العينة وضعها في زجاجة التخفيف الأولى المحتوية على ٩٩ مل من محلول التخفيف المعقم . هذه الزجاجة تحتوي الآن على ١ مل من العينة الأصلية مخفف ١٠٠ مرة . وعلى ذلك فإن ١ مل من هذا التخفيف يعادل ٠,١ مل من العينة الأصلية .
٣. رج الزجاجة جيداً ٢٥ مرة محركاً ساعد اليد في شكل قوس طوله حوالي ٤٠ سم وذلك للتأكد من المزج الجيد المنتظم للتوزيع ، وأيضاً لتفتيت البكتيريا التي قد تكون متجمعة في كتل كذلك يمكن استخدام جهاز فورتكس للمزج الجيد المنتظم للتوزيع . انظر الشكل (٤ - ٢)



شكل (٤ - ٢)

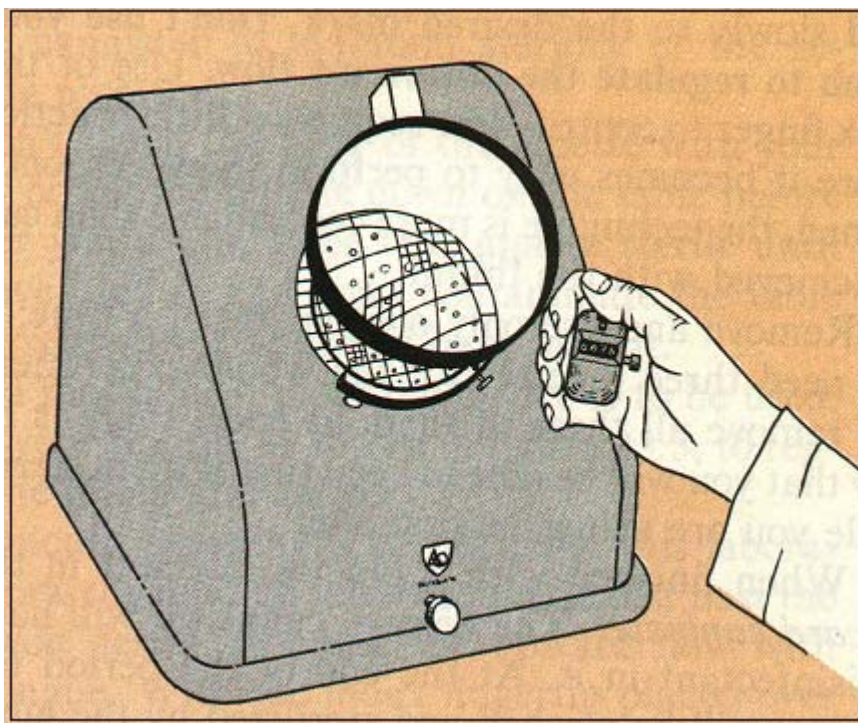
٤- بماصة أخرى معقمة خذ ١,١ مل من زجاجة التخفيف الأولى (تخفيف 10^{-2}) ضع ٠,١ مل في طبق بتري معقم (تخفيف 10^{-2}) اكتب على الطبق 10^{-2} ، ضع الباقي من الماصة (١ مل) في طبق بتري آخر معقم (تخفيف 10^{-2}) من العينة الأصلية واكتب عليها 10^{-2} .

٥ - بنفس الماصة خذ ١ مل من زجاجة التخفيف 10^{-2} ، وانقله إلى زجاجة التخفيف الثانية المحتوية على ٩٩ مل من محلول التخفيف المعقم . رج الزجاجة ٢٥ مرة كما سبق وانقل ١ مل من هذه الزجاجة إلى طبق بتري واكتب على الطبق 10^{-4} .

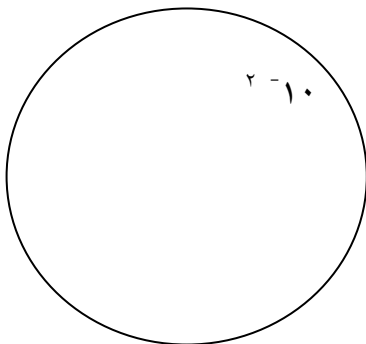
٦ - صب الآجار المنصهر المبرد بالأطباق ، امزج جيداً بالآجار ، وذلك بإمالة الطبق يميناً ويساراً عدة مرات أو بتحريك الطبق برفق حركة دائرية منتظمة عدة مرات ، مراعيًا عدم سكب الآجار على حافة الطبق .

٧ - ضع أطباق بتري على سطح مستو وبعد أن يبرد ، ضعها في الحاضنة مقلوبة عند 30°C لمدة ٤٨ ساعة.

٨ - عد المستعمرات النامية بكل طبق يحتوي على عدد مستعمرات يتراوح ما بين ٢٥ - ٢٥٠ مستعمرة مستخدماً جهاز عداد كوبيك وقانون العد البكتيري السابق ذكره .

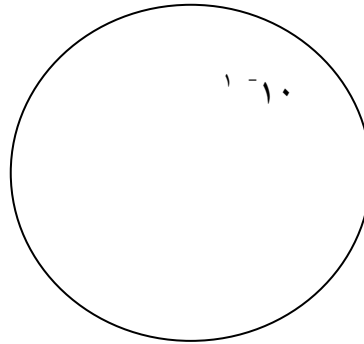


شكل رقم (٤-٣) جهاز عداد كوبيك



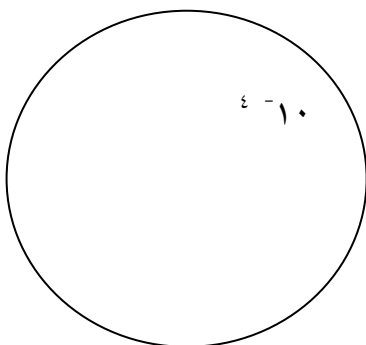
العدد هو

عدد البكتيريا



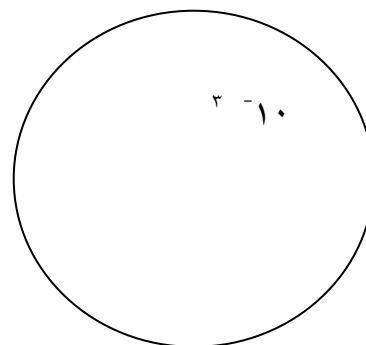
العدد هو

عدد البكتيريا



العدد هو

عدد البكتيريا



العدد هو

عدد البكتيريا

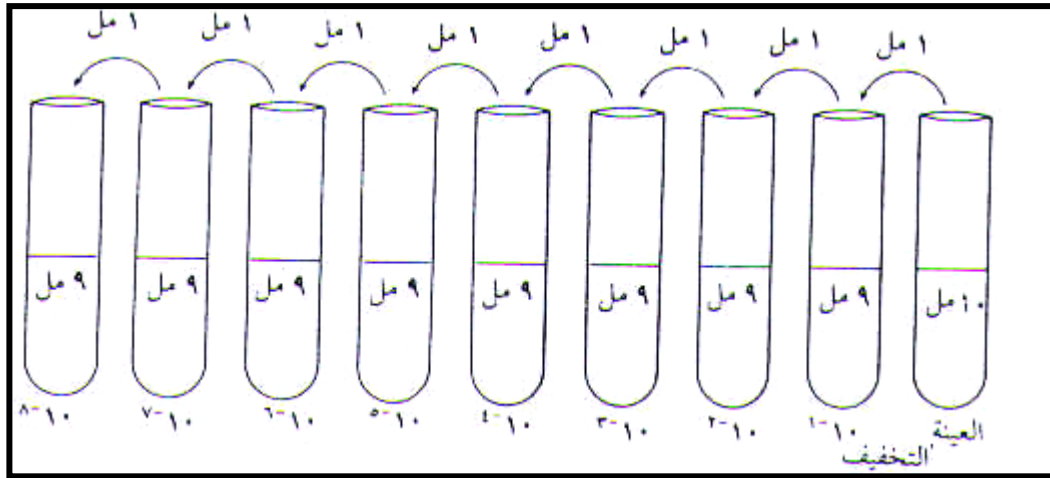
التقدير الكمي للنمو الفطري :

الأدوات المطلوبة :

- ١ - عينة تربة .
- ٢ - أنابيب زجاجية سعة ٩ مل .
- ٣ - ماصات زجاجية سعة ١٠ مل .
- ٤ - بيئة آجار البطاطس PDA .

طريقة العمل :

- ١ - خذ ١ جرام من التربة المراد فحصها وضعها في ٩ مل ماء مقطر تحصل على تخفيف 10^{-1} ثم كرر العملية السابقة بأخذ ١ مل من التخفيف 10^{-1} وضعه في ٩ مل تحصل على تخفيف 10^{-2} كرر العملية السابقة حتى تحصل على التخفيفات 10^{-3} ، 10^{-4} ، 10^{-5} ، 10^{-6} .
- انظر الشكل (٤ - ٤) .



شكل (٤ - ٤) رسم تخطيطي يوضح الخطوات المتبعة لإجراء تقدير النمو على أساس عدد الخلايا ذات القدرة على التكاثر (طريقة العد بالأطباق)

- ٢ - انقل بواسطة ماصات معقمة ١ مل من كل تخفيف من التخفيفات السائلة إلى أطباق بتري (طبقين من كل تخفيف) .
- ٣ - صب عينة آجار البطاطس في الأطباق ثم حركة دائرية برفق واترك الأطباق حتى تتصلب .
- ٤ - حضن الأطباق عند درجة الأطباق المناسبة ٢٥ ° م لمدة أسبوع ثم افحصها .
- ٥ - بواسطة عداد كويبيك أحص عدد المستعمرات في كل طبق

بطريقة العدد الأكثر احتمالا : (MPN) MOST PROBABLE NUMBER

وهي طريقة كمية تعتمد على أسس إحصائية لتقدير عدد الميكروبات ، حيث من الممكن تقدير عدد بكتريا القولون في الماء والحليب والسوائل الأخرى بطريقة العد التقريبي وذلك بأخذ تخافيف من النموذج المراد فحصه ثم تلقيح سنتيمتر مكعب واحد من كل تخفيف في الوسط الغذائي (ماکونكي السائل) M acconkey broth أو استعمال lactose broth وبيئة Brilliant Green Bile Broth وتكرار ذلك خمس مرات لكل تخفيف وتحضن الأنابيب على درجة ٣٧م^٥ لمدة ٤٨ ساعة ثم يتم كشف وجود حامض وغاز وبمساعدة جداول خاصة (توجد في نهاية الكتاب) يمكن تقدير عدد بكتريا القولون في النموذج .

الأدوات والمواد اللازمة :

- ١- النموذج المراد فحصه (ماء - حليب - سوائل مختلفة)
- ٢- أنابيب وسط ماکونكي السائل
- ٣- أنابيب تخفيف تحتوي على ٩ سم ٣

طريقة العمل :

- ١- عمل تخافيف من النموذج السائل من ١٠/١ إلى ١٠٠٠٠ /١
- ٢- بواسطة الماصة لقح خمس أنابيب من الوسط ماکونكي السائل من آخر تخفيف النموذج بمقدار سنتيمتر مكعب واحد .
- ٣- كرر ماسبق بنفس الماصة مع كل تخفيف من التخافيف الأخرى مبتدأ من الأعلى فالأقل تركيز .
- ٤- حضن جميع الأنابيب الملقحة مع الكنترول على درجة ٣٧م^٥ لمدة ٤٨ ساعة.
- ٥- تفحص الأنابيب وتدوّن النتائج التي يظهر فيها غاز وحامض من كل تخفيف ، اما الأنابيب السالبة مع الكنترول فلا تحتوي على غاز وحامض . ومن الجدول تقدر عدد بكتريا القولون بطريقة العد التقريبي .
- ٦- ينظر في الجدول إلى الأرقام الموجبة من التخافيف ويستخرج الرقم العددي ولإيجاد العدد التقريبي يضرب الرقم العددي في مقلوب التخفيف الوسطي ثم يقسم الناتج على الرقم الثابت (١٠٠) فنحصل على عدد بكتريا القولون في السنتيمتر المكعب الواحد من النموذج .

تمرين:

عند تقدير عدد بكتريا القولون في نموذج من الماء الملوث بواسطة طريقة العد التقريبي استنتجت النتائج التالية :

تخفيف ١ / ١٠ للماء يعطي ٥ أنابيب موجبة

تخفيف ١ / ١٠٠ للماء يعطي ٤ أنابيب موجبة

تخفيف ١ / ١٠٠٠ للماء يعطي ٣ أنابيب موجبة

تخفيف ١ / ١٠٠٠٠ للماء يعطي ٢ أنابيب موجبة

تخفيف ١ / ١٠٠٠٠٠ للماء يعطي صفر أنابيب موجبة

قدر عدد بكتريا القولون في نموذج الماء الملوث .

الجواب :

ينظر في الجدول أعلاه إلى الأرقام ٢ - ٣ - ٤ فنجد الرقم الذي يقابلها هو ٣٩٠ .

٣٩٠ × مقلوب التخفيف ثم يقسم الناتج على الرقم الثابت ١٠٠

يكون العدد التقريبي للبكتيريا = $1000 \times 390 = 39000$

١٠٠

إذا العدد التقريبي لبكتيريا القولون في ١ سم^٣ من الماء الملوث = ٣٩٠٠ خلية .

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

فحص الكائنات الحية الدقيقة المهمة في الأغذية

الجدارة : التعرف على طرق فحص البكتيريا والأعفان والخمائر .

الأهداف : أن يتعرف المتدرب على فحص البكتيريا بالصبغة المركبة والفطريات والخمائر .

بالصبغة البسيطة .

مستوي الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ٤ ساعات

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة

- مزارع ميكروبية .
- الميكروسكوب .

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على فحص البكتيريا بالصبغة المركبة والتفريق بين أنواع البكتيريا وفحص الأعفان والخمائر.

طريقة فحص الكائنات الحية الدقيقة :**الهدف من التجربة :**

- ١ . خلايا البكتيريا شفافة لذلك فهي تصبغ حتى يسهل رؤيتها .
- ٢ . التعرف على التركيبات الخلوية الخارجية والداخلية مثل الأسواط والغلاف والحبيبات والجراثيم للبكتيريا والفطريات .
- ٣ . تساعد في عملية التفريق بين أنواع البكتيريا وأنواع الأعفان .

الصفات الظاهرية للبكتيريا :**أ . شكل البكتيريا**

- ١ . كروي . ٢ . عصوي ٣ . حلزوني ٤ . وأوي .
- ب . حجم الخلية البكتيرية :
 - ١ . قصير . ٢ . طويل .
- ج . نظام التجمع :
 - ١ . مفرد . ٢ . ثنائي . ٣ . عنقودي . ٤ . رباعي . ٥ . سلاسل .
- د . نتيجة الصبغة (جرام) موجبة أو سالبة .

الصفات الظاهرية للأعفان :

- ١ . الكونيدات . ٢ . تقسيم الهيفات . ٣ . الحامل الجرثومي .

الصفات الظاهرية للخمائر :

- ١ . شكل الخلية (بيضاوي - ليموني - مستطيل) .
- ٢ . حجم الخلية .
- ٣ . طريقة التكاثر (متبرعمة - انقسام ثنائي) .

أولاً : طريقة فحص الفطريات .

الأدوات المطلوبة :

- ١ . مزرعة حديثة من الفطر .
- ٢ . إبرة تلقيح بدون عقدة .
- ٣ . لهب بنزن .
- ٤ . شرائح زجاجية .
- ٥ . غطاء الشرائح الزجاجية .
- ٦ . صبغة اللاكتوفينول .
- ٧ . طبق سميك من بيئة Malt extract agar .

أ. تحضير الغرف الرطبة لتنمية مزارع الفطريات :

- ١ . مرر شريحة زجاجية نظيفة على لهب بنزن .
- ٢ . عقم إبرة البلاتين على لهب بنزن .
- ٣ . قطع سطح الطبق السميك من البيئة إلى مكعبات .
- ٤ . بواسطة الإبرة المعقمة انقل أحد المكعبات إلى وسط الشريحة الزجاجية .
- ٥ . بواسطة الإبرة المعقمة اعمل شقوق في أطراف المكعب وفي الوسط .
- ٦ . لقح السطح المكعب بالفطر في داخل الشقوق ثم ضع غطاء الشريحة .
- ٧ . ضع ورق ترشيح رطب في قاع طبق بتري فارغ معقم .
- ٨ . ضع الشريحة التي تحتوي على المكعب الملقح في الطبق البتري .
- ٩ . غط الطبق البتري ثم ضعه في الحضانة على درجة ٢٥ ° م لمدة ٣ - ٧ أيام واستمر في ترطيب ورقة الترشيح يومياً حتى ينمو الفطر .

ب. طريقة الصبغ :

- ١ . عقم شريحة زجاجية باللهب .
- ٢ . ضع عدة قطرات من اللاكتوفينول .
- ٣ . بعد فترة التحضين ونمو العفن انزع غطاء الشريحة وضعه في الشريحة المحتوية على الصبغة .
- ٤ . افحص بالعدسة الصغرى ثم الكبرى الجافة .
- ٥ . ارسم ما تشاهده .

ثانياً : صبغ البكتيريا بالصبغة المركبة :

سوف ندرس طريقة صبغة جرام حيث تقسم البكتيريا إلى مجموعتين موجبة الجرام وسالبة الجرام. ويعتقد أن سبب الاختلافات في الصبغ بين صنفين النوعين من الخلايا يعود إلى وجود طبقة سميكة من مادة الببتدوجليكان لا تسمح بمرور الصبغات في البكتيريا الموجبة ووجود طبقة رقيقة من مادة الببتدوجليكان تسمح بمرور الصبغات .

وتحتاج صبغة جرام لأربعة محاليل:

١. الصبغة الأساسية وهي الكريستال البنفسجي .
٢. المثبت أو المرسخ (اليود) يساعد على تثبيت الصبغة على سطح الخلايا .
٣. عامل مزيل اللون وهو الكحول حيث يقوم بإزالة الصبغة من الخلية .
٤. الصبغة المضادة وهي السفرانين وتقوم بإعطاء الخلايا التي أزيلت منها الصبغة الأساسية لونا يختلف عن لون الصبغة الأساسية وعلى ذلك فإن الخلايا التي لم تزل منها الصبغة الأساسية تحتفظ بلونها أما الخلايا التي أزيلت منها الصبغة الأساسية تأخذ لون الصبغة المضادة .

الأدوات المطلوبة :

١. مزرعة بكتيرية حديثة عمرها ١٨ - ٢٤ ساعة .
٢. إبرة تلقيح ذات عقدة .
٣. شرائح زجاجية .
٤. ماء مقطر .
٥. لهب بنزن .
٦. ميكروسكوب .
٧. زيت السيدر .
٨. زيت الزيلول .

طريقة العمل :

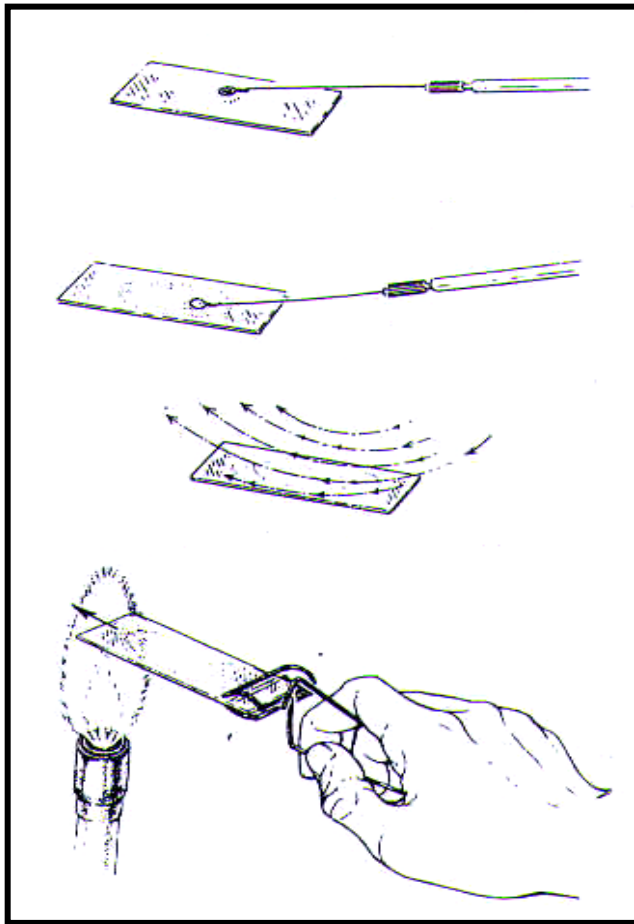
أولا : تحضير الغشاء البكتيري

والغرض منها تثبيت الخلايا بالشريحة وإذا لم تثبت بشكل جيد فإن غشاء البكتيريا سيزول مع الصبغ .
١. عقم إبرة التلقيح ذات العقدة وذلك بإمرارها على لهب موقد بنزن حتى الإحمرار ثم اتركها حتى تبرد .

٢. بواسطة إبرة التلقيح المعقمة ضع نقطة من الماء المعقم في مركز الشريحة الزجاجية النظيفة ثم عقم الإبرة مرة أخرى واطرها لتبرد .

٣. انقل قليلا من النمو البكتيري بواسطة إبرة التلقيح المعقمة إلى الشريحة ثم اخلطه مع الماء حتى تتكون عكارة خفيفة ثم انشرها حتى يتكون غشاء رقيق منتظم ثم اتركه يجف في الهواء .

٤. مرر الشريحة عدة مرات على لهب بنزن حتى يثبت الغشاء وفي هذه الحالة يكون الغشاء البكتيري جاهز للصبغ انظر شكل (٥ - ١)



١. ضع غمسة إبرة من المزرعة على سطح شريحة نظيفة

٢. انشر لتكون غشاء رقيقا على سطح الشريحة

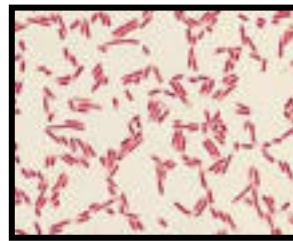
٣. جفف بالهواء

٤. ثبت الغشاء بتمرير الشريحة بسرعة في لهب بنزن ثلاث مرات

شكل (٥ - ١)

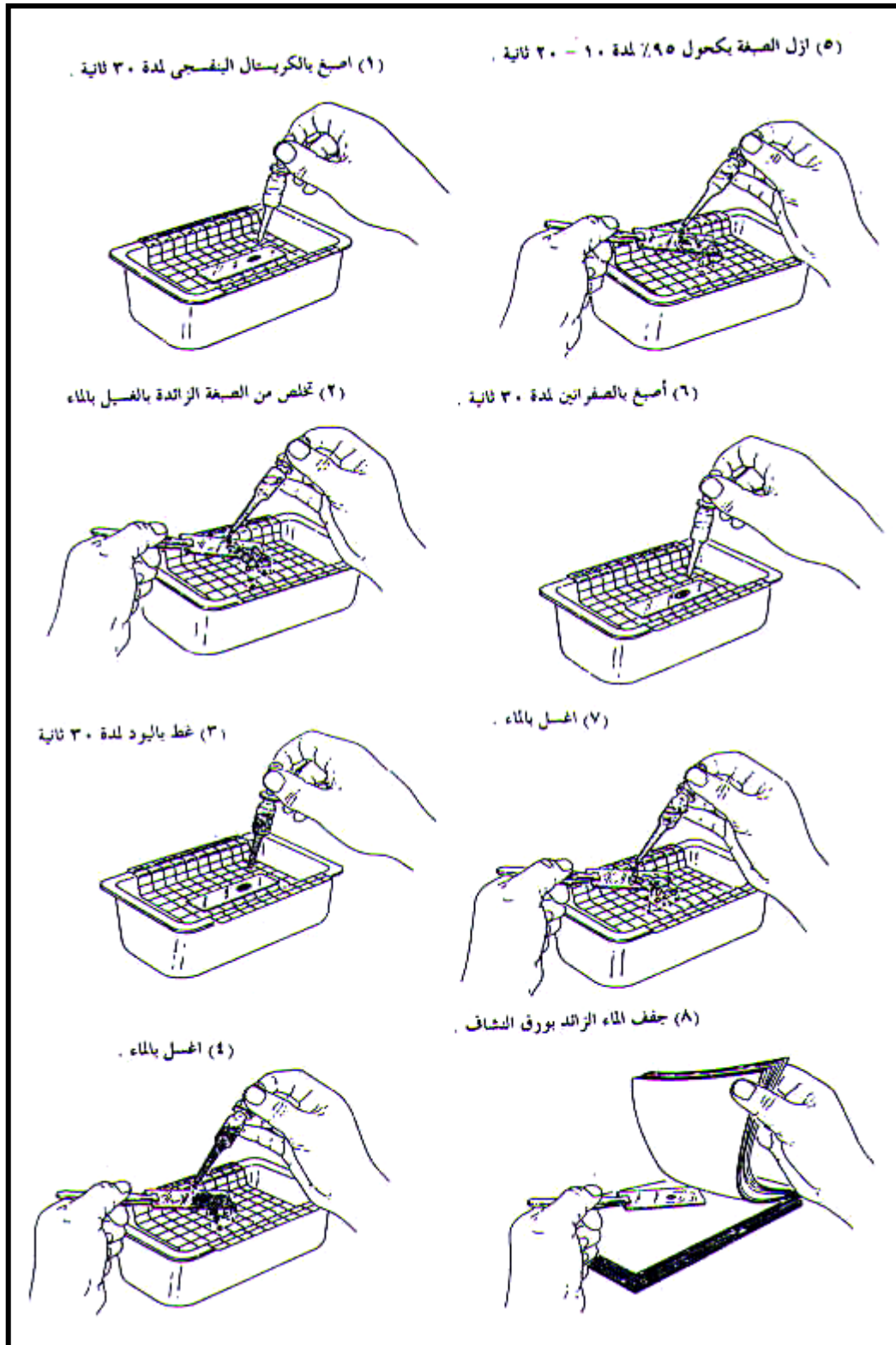
ثانياً : طريقة الصبغة المركبة

١. بعد تحضير الغشاء البكتيري ضع عدة قطرات من صبغة الكريستال البنفسجي لمدة دقيقة.
 ٢. اغسله بتيار مائي خفيف مع وضع الشريحة بشكل مائل .
 ٣. ضع محلول اليود على الغشاء واتركه لمدة دقيقة للتفاعل .
 ٤. اغسله بتيار مائي خفيف مع وضع الشريحة بشكل مائل .
 ٥. أضف كحول ٩٥٪ لإزالة اللون في حالة أن البكتيريا تحتوي على طبقة رقيقة من مادة الببتدوجليكان والذي تساعد على نفاذ الصبغة الأساسية ، أما إذا كانت تحتوي على طبقة سميكة من مادة الببتدوجليكان فإنها لن تسمح بمرور الصبغة الأساسية وتبقى باللون البنفسجي ويمكن وضع الكحول بإضافته إلى الشريحة نقطة نقطة مع إمالة الشريحة ليتساقط منها الكحول بعد مروره على الغشاء لمدة ١٠ - ٢٠ ثانية .
 ٦. اغسله بتيار مائي خفيف مع وضع الشريحة بشكل مائل .
 ٧. اغمر الشريحة بالصبغة المضادة الصفرايين ولمدة نصف دقيقة .
 ٨. تخلص من محلول الصبغة الزائد وذلك بالغسل بتيار مائي خفيف .
 ٩. اترك الشريحة حتى تجف تماماً بالهواء ويمكن الإسراع في التجفيف بتعريض الشريحة إلى الهواء الساخن فوق لهب بنزن .
 ١٠. ضع نقطة من زيت السيدر على الغشاء ثم افحص ميكروسكوبيا باستعمال العدسة الزيتية.
- ثم ارسم ما تشاهده (إذا كانت الخلايا بنفسجية تكون البكتيريا موجبة الجرام وإذا كانت حمراء تكون البكتيريا سالبة الجرام) انظر شكل (٥ - ٢) .



الموجبة جرام

شكل (٥-٢) السالبة جرام



شكل (٥ - ٣) طريقة الصبغ بجرام

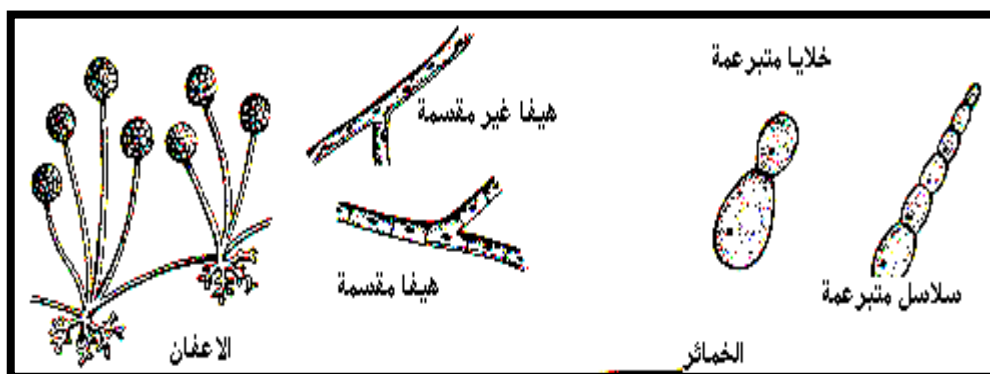
ثالثا : فحص الخمائر

الأدوات المطلوبة :

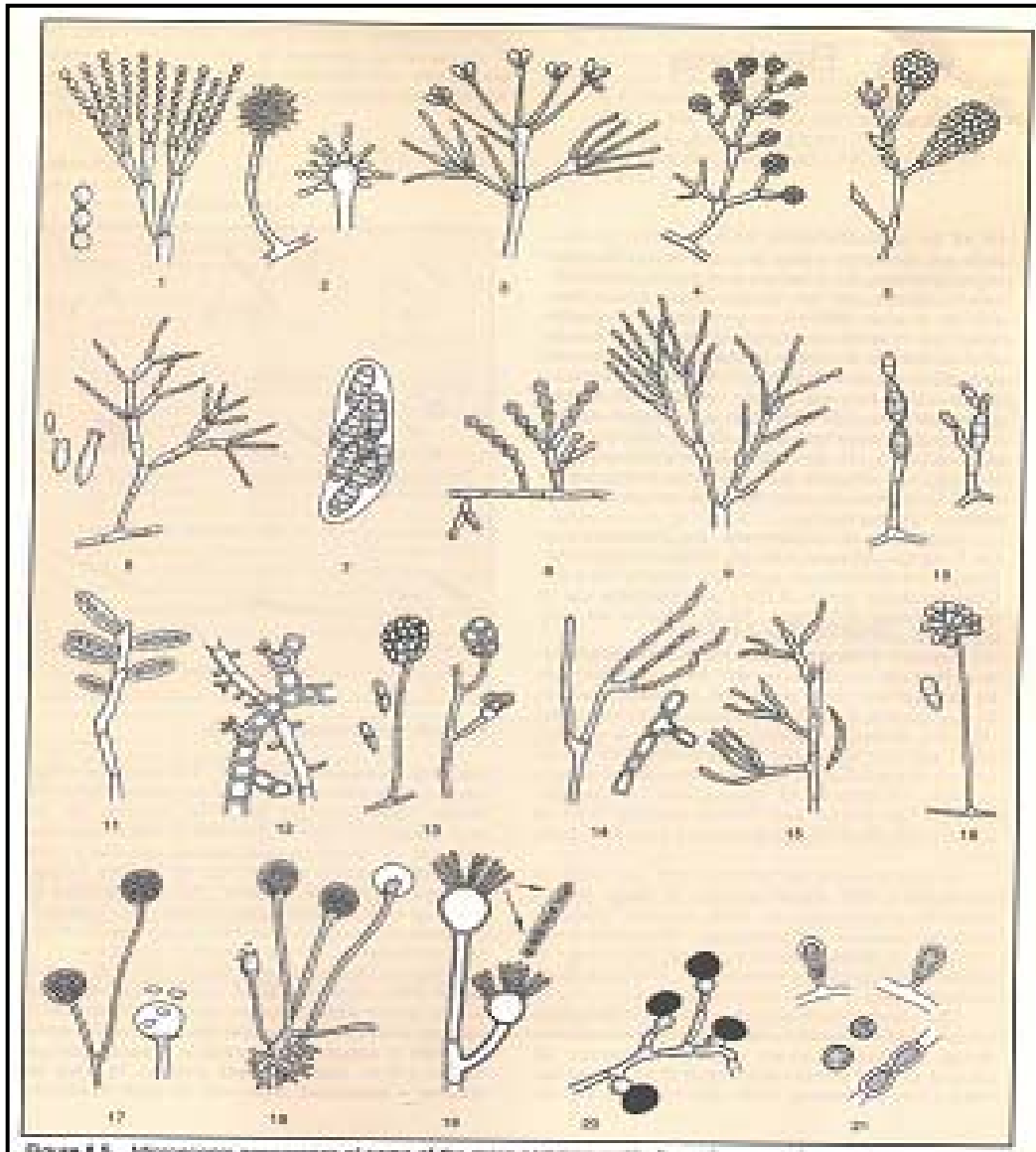
١. مزرعة من خميرة الخباز (حديثة) .
٢. شريحة زجاجية .
٣. ميكروسكوب .
٤. صبغة السفرانين .

طريقة العمل :

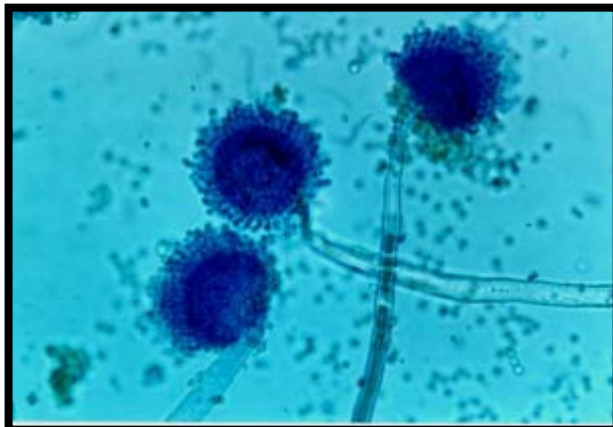
١. ضع قطرة صغيرة من صبغة السفرانين على منتصف الشريحة .
٢. عقم إبرة التلقيح ثم خذ جزءاً من المستعمرة وضعها على القطرة .
٣. افرد المستعمرة بواسطة إبرة التلقيح ثم ضع عليها غطاء الشريحة .
٤. افحص باستخدام العدسة الزيتية .
٥. ارسم ما تشاهده .



شكل رقم (٥-٤)



شكل رقم (٥-٥) أنواع الهيفات والجراثيم للاعفان



شكل رقم (٦-٥) الاسبرجلس تحت المجهر

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

العد المجهرى المباشر

العد المجهرى المباشر

١

الجدارة : التعرف على طريقة العد بواسطة شريحة العايرة stage micrometer.

الأهداف : أن يتعرف المتدرب على ميكانيكية شريحة العايرة stage micrometer .

مستوي الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ساعتان .

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة

- الأدوات المخبرية .
- الميكروسكوب - شريحة العايرة stage micrometer.

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على استعمال طريقة العد عن طريق شريحة العايرة stage micrometer .

العد المباشر بالمجهر

يمكن عد البكتيريا في عينة غذائية سائلة بطريقة العد المباشر بالمجهر وهذه الطريقة عادة ما تستعمل لفحص المواد الغذائية السائلة حيث تكون السرعة مطلوبة كما هي الحال في الحليب أثناء الاستلام من المزارع.

في هذه الطريقة يعاير المجهر أولاً بحيث تكون مساحة الحقل المجهرى معروفة ، وحينئذ تؤخذ عينة من الحليب تقدر بـ ٠,٠١ مل وتنتشر على مساحة تقدر بـ ١ سم ٢ من شريحة زجاجية نظيفة . تجفف الشريحة في حضان على درجة ٤٥ - ٥٠ م ومن ثم تصبغ بصبغة أزرق الميثيلين أو أي صبغة بسيطة مثل Levowitz ومن ثم تعد الميكروبات في عدد من المجالات يتحدد عددها حسب كثافة الميكروبات كما يلي :

متوسط عدد الخلايا لكل مجال	عد المجالات اللازم فحصها
أقل من ٠,٥	٥٠
من ٠,٥٠ إلى ١	٢٥
من ١ إلى ١٠	١٠
من ١٠ إلى ٣٠	٥
فوق ٣٠	تسجل النتائج على أنه غير قابل للعد يؤخذ متوسط المجال (عدد الميكروبات في المجال الواحد).

طريقة العمل :

أولاً : إيجاد مساحة المجال المجهرى :

. ضع شريحة المعايرة Stage Micrometer على وسط المسرح بحيث يكون التدرج في منتصف المجال للعدسة الشيئية الصغرى حرك الضابط الصغير fine adjustimer والكبير Coarse adjustment إذا لزم الأمر حتى تحصل على أوضح رؤية . ضع نقطة من الزيت ومن ثم غير وضع العدسات إلى الزيتية وحرك المسرح إلى أن تكون حافة المجال مطابقة لأحد الخطوط .

٢. عد الخطوط التي تعطي أقصى مسافة ممكنة وكل خط هو عبارة عن ٠,٠١ ملم ولهذا فإنه يضرب عدد الخطوط في ٠,٠١ نحصل على قطر المجال بالملم .

١. تحسب المساحة للمجال كدائرة على النحو التالي :

نق ٢ (حيث نق هو نصف القطر بالملم) .

٢. تحسب معامل المجهر على النحو التالي :

معامل المجهر (م م) 100×100

مساحة المجال بالملم^٢

١- ١٠٠ الأولى هي عدد المليمترات المربعة في السنتيمتر المربع الواحد

٢- ١٠٠ الثانية هي عدد ٠١ ، ٠ مليمتر في المليلتر الواحد .

ثانيا : إيجاد عدد الميكروبات :

يتم ذلك بإيجاد متوسط العدد في المجال الواحد كما سبق ذكره ومن ثم يضرب هذا العدد في

معامل المجهر وبذلك نحصل على العدد الكلي للمل الواحد (ميكروب / مل) السلسلة تحسب واحد والمفرد تحسب واحد .

ثالثا : أسئلة على هذا التمرين :

١. ما هي مميزات الطريقة ؟

٢. ما هي عيوب الطريقة ؟

٣. هل تصلح لعد الميكروبات في اللبن المبستر ولماذا ؟

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

الفحص الميكروبي للأغذية

الجدارة : التعرف على أنواع الميكروبات الموجودة في الأغذية .

الأهداف : أن يتعرف المتدرب على أنواع البكتيريا والفطريات والخمائر الموجودة في الأغذية .

مستوى الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠ ٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ساعتان .

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة .

الأدوات المخبرية .

عينات غذائية متنوعة.

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على التعرف على الأنواع الميكروبية الموجودة في الأغذية

الفحص الميكروبيولوجي للأغذية

الأدوات والبيئات المستخدمة :

١. Nutrinet Agar (N.A)
٢. Jioler Rebil Agar (جم . j.e.) .
٣. محلول فسيولوجي معقم .
٤. M.E.A Malt extract agar , (P. D.A) Potato Dextroes Agar
٥. Staphylococcus 110 Agar (Scph. 110)
٦. أطباق تبري معقمة .
٧. خلاط
٨. ..ماصات.. معقمة
٩. ميزان

الطريقة :

إعداد العينة :

١. اللحم : ضع ١٠ جرام من عينة اللحم في خلاط معقم يحتوي على ٩٠ مل من محلول فسيولوجي معقم . اخلط العينة جيدا وتفادي أن تزيد في الخلط عن دقيقتين حتى لا يحدث overheating... للعينة.
- التخفيفات المطلوبة ١٠^{-١} - ١٠^{-٢} - ١٠^{-٤}
٢. الدقيق : زن ١٠ جرام من العينة في ٩٠ مل من المحلول الفسيولوجي ورج الخليط جيدا التخفيفات المطلوبة ١٠^{-١} - ١٠^{-٢} - ١٠^{-٤} ورج جيدا التخفيفات .
٣. التوابل زن ١٠ جرام من التوابل المطحونة وضعها في ٩٠ مل من المحلول الفسيولوجي ورج جيدا . التخفيفات المطلوبة ١٠^{-١} - ١٠^{-٢} - ١٠^{-٤} .
٤. الخضار المجمد : خذ ١٠ جرام من العينة وضعه في خلاط به ٩٠ مل محلول فسيولوجي معقم واخلط العينة جيدا . التخفيفات المطلوبة ١٠^{-١} - ١٠^{-٢} - ١٠^{-٤} .

ب . التحليل الميكروبيولوجي :

من كل تخفيف حضر طبقين مستعملا طريقة الأطباق المصبوبة .

بالنسبة لمكونات الجراثيم ضع التخفيف الأول في ماء يغلي لمدة ٥ دقائق قبل عمل التخفيفات التالية والوضع في الأطباق .

بالنسبة للحم اجري الاختبارات التالية :

١. العد الكلي للأطباق : البيئة N.A التحضين على ٣٠ م - التخفيفات المطلوبة $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}$
 ٢. الكشف عن البكتيريا القولون : البيئة المستخدمة JR. التحضين على ٣٥ م ° التخفيفات المطلوبة $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$
 ٣. الكشف عن Staphylococcus ، البيئة المستخدمة (N.A) التحضين على ٣٥ م ° التخفيفات المطلوبة $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$
- بالنسبة للدقيق:

١. العدد الكلي للأطباق : البيئة المستخدمة N.A التحضين على ٣٠ م التخفيفات المطلوبة $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}$
 ٢. الكشف عن الخمائر الأعفان: البيئة المستخدمة P.d.A التحضين على ٢٠ م ° التخفيفات المطلوبة: $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$
 ٣. البكتيريا المكونة للجراثيم : البيئة المستخدمة N.A التحضين على ٣٠ م التخفيفات المطلوبة $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$
- بالنسبة للتوابل :

١. العد الكلي للأطباق : $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}$
 ٢. البكتيريا المكونة للجراثيم $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}$
 ٣. الكشف عن الخمائر والأعفان $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$
- بالنسبة للخضار المجمد :

١. العد الكلي للأطباق $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}$
٢. الكشف عن الميكروبات المحبة للبرودة البيئة المستخدمة N.A التحضين على ٤ م ° التخفيفات $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$
٣. الكشف عن بكتيريا القولون البيئة المستخدمة JRB التحضين على ٣٥ م ° التخفيفات المطلوبة $10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$

النتائج دون النتائج بالجدول حسب كل اختبار .

ميكروبات من عينات السكر والمياه الغازية والعصير

المواد المستخدمة :

- بيئة plate count Agar (PCA) .
- بيئة Violet Red Bile Agar (VRBA)
- بيئة Malt Extract Agar (MEA)
- بيئة Lactose Broth (LB)
- Brilliant Green Bile Broth (BGGB)

محلول فسيولوجي معقم لعمل التخفيفات المطلوبة :

- ماصات معقمة .

- ميزان

طريقة العمل :

إعداد العينة :

- ١ / السكر: وزن ١١ جرام وأضفها إلى زجاجة تخفيف بها ٩٩ مل ثم رج جيدا
- ٢ / العصير: حيث أن العينات سائلة فيمكن اخذ الكميات المناسبة للتخفيف
- ٣ / المياه الغازية/بالماصة مباشرة والرج جيدا.

التحليل الميكروبيولوجي :

أ / السكر :

١ / العد الكلي بالأطباق SPC باستخدام بيئة (PCA)

٢ / الكشف عن البكتيريا المكونة للجراثيم Sporeformers باستخدام بيئة (PCA) والتحصين على ٥٥ م°.

٣ / الكشف عن الفطريات باستخدام بيئة (MEA)

العصير والمياه الغازية :

١ / العد الكلي بالأطباق .

٢ / الكشف عن بكتيريا القولون .

٣ / العد بطريقة MPN باستخدام بيئة (LB) وبيئة (BGGB)

٤ / يمكن إجراء اختبار الكشف عن الفطريات في العصائر باستخدام بيئة (MEA) .

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

الطرق الحديثة للتعرف على الميكروبات

الجدارة : دراسة الطرق الحديثة والسريعة للتعرف على أنواع الميكروبات.

الأهداف : معرفة الطرق الحديثة للتعرف على الميكروبات

مستوي الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ١٠٠٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ٤ ساعات

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة وجهاز المجهر وبيئات خاصة.

متطلبات الجدارة : أن يقوم المتدرب بمعرفة الطرق الحديثة والسريعة للتعرف على أنواع الميكروبات

الطرق السريعة للتعرف على الميكروبات :

استحدثت عدة طرق ووسائل للتشخيص السريع للميكروبات خاصة الممرضة منها ولقد اهتمت كثير من الشركات بتطوير الاختبارات النوعية للتعرف على أجناس وأنواع الميكروبات المختلفة . من ضمن هذه الطرق السريعة نظام إحدى الشركات المسمى api هو تكتيك متخصص لأفراد عائلة أو جنس أو مجموعة من الميكروبات فهناك ما هو متخصص للخمائر وهناك ما هو متخصص للعصويات المعوية وكذلك للاهوائيات سوف نختار أحد الأنظمة الخاص بأفراد العائلة Enterobacteriaceae والعصويات الأخرى السالبة لصبغة جرام .

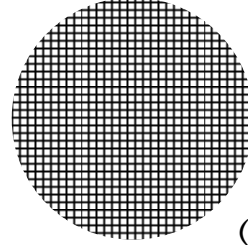
يسمى هذا النظام api 20E ويختص بالتعرف على مجموعة الميكروبات أعلاه أساس الاختبار . يحتوي نظام api 20E على ٢٠ أنبوبة صغيرة على شكل شريط تحتوي كل أنبوبة على مادة كيميائية مجففة خاصة باختيار معين تلقح كل أنبوبة بمعلق بكتيري ذو تركيز معلوم حيث يعمل هذا المعلق على استرجاع المادة المجففة أثناء فترة التحضين . وكنتيجة نواتج أيضا الميكروبات تحدث تفاعلات كيموحيوية مع المواد الكيميائية الموجودة في الأنابيب مما يؤدي إلى حدوث تغيرات لونية عند اضافة وعدم اضافة الادلة اللونية .

تقرأ النتائج لكل اختبار عن طريق ملاحظة حدوث تغير لوني من عدمه حول هذه القراءات إلى أرقام حسب الطريقة المنصوص عليها من قبل الشركة المصنعة .

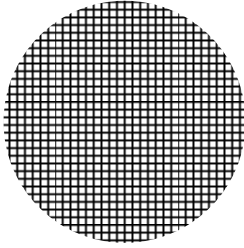
من هذه الأرقام يتم الرجوع إلى مرجع فهرس يسمى Arolytical profile Indxe وفيه تم تصنيف أفراد العائلة Enterobacteriaceae..... العصويات السالبة لجرام بناء على ما تحدثه من نتائج ايجابية وسلبية اختبارات الكيموحيوية السابقة الذكر.

تم تصميم هذه الفهرس المصنف باستخدام الكمبيوتر بعد إجراء آلاف التجارب على أنواع وسلالات مختلفة من الميكروبات.

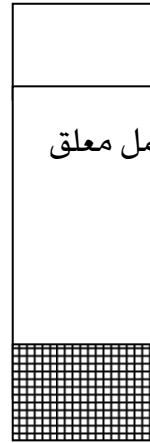
طريقة العمل



(طبق به مستعمرات)



محلول فسيولوجي لعمل معلق
بكتيري



طبق يحتوي آجار مغذي بغرض:
١- التأكد من نقاوة المعلق البكتيري
٢- لإجراء اختبارات اضافية لمزيد من
التأكد.



تحضن على ٣٧° لمدة ١٨ - ٢٤ ساعة

قراءة النتائج (اتبع التعليمات الخاصة بإضافة
الأدلة

شريط أنابيب الخاص يوضع في
الحوض المعقم وضع فيه ماء مقطر
معقم

تحويل النتائج إلى أرقام:

تم تقسيم الاختبارات البالغ عددها ٢٠ مضافا إليها اختبار تقييم الأوكسيديز (يصبح العدد ٢١) إلى ٧ مجموعات كل مجموعة تحتوي ٣ اختبارات كما تظهر على ورقة التقرير المرفقة .

يعطي الرقم ١ للاختبار الأول الموجب لكل مجموعة .

يعطي الرقم ٢ للاختبار الثاني الموجب لكل مجموعة .

يعطي الرقم ٤ للاختبار الثالث الموجب لكل مجموعة .

يعطي الرقم صفر للاختبار السالب الموجب لكل مجموعة .

يتم تجميع القيم الناتجة لكل مجموعة وبالتالي يتم الحصول على ٧ أرقام هذه الأرقام السبعة تسمى القطاع الرقمي .

والخاصة بميكروب معين .

بواسطة القطاع الرقمي يتم الرجوع إلى الفهرس المصنف ومن ثم يتم التعرف على الميكروب المجهول .

Identification :

REF.: Patient: .
Date: Origin/Source:
Dr: Service/Dept:

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
UNPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VPI	IGEL	GLU	MAN	IND	SCR	CHA	SAC	MEL	AMY	ARA

1	2	4	1	2	4
NO ₂	N ₂	MDE	MED	OFD	O ₂

ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

فحص المعلبات التالفة

الجدارة : أن يتعرف المتدرب على فحص المعلبات التالفة .

الأهداف : معرفة أنواع الميكروبات الموجودة في المعلبات

مستوى الأداء المطلوب : أن يصل إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٠ ٪ .

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة : ٤ ساعات.

الوسائل المساعدة : معمل الأحياء الدقيقة .

الأدوات المخبرية .

عينات من معلبات مختلفة.

متطلبات الجدارة :

أن يكون المتدرب قادراً على عزل بعض الميكروبات الموجودة في المعلبات التالفة واختبار قابلية الحفظ.

فحص الأغذية المعلبة

أولاً: فحص المظهر الخارجي للعلب وطريقة تحضير العينة:

- ١- سجل في دفترك جميع المعلومات المكتوبة على علبة الطعام ، ثم سجل أي تلف ظاهري على علبة الطعام .
- ٢- صنف علب الطعام كما يلي :
Flat, Flipper, Springer , Soft swell or hard swell
- ٣- اغسل العلبة بالماء والصابون . اذا كانت منتفخة النهايتين فلا تستعمل اللهب لتعقيم سطحها احسن طريقة آمنة هي أن تستعمل ١ / ١٠٠٠ كلوريد الزئبق لعدة ثواني ثم تجفف بقطعة قماش معقمة أو اغسلها بالماء المعقم .
- ٤- لكي تفتح العلبة المنتفخة ، ضع قماش معقم حول المسامير المعقم أو مفتاح العلب قبل ان تعمل ثقب في الغلاف .
- ٥- بعد رفع غطاء العلبة اسكب محتوياتها في صحن معقم واغسل وجفف العلبة الفارغة . افحص العلبة الفارغة فحصاً دقيقاً من ناحية وجود أي تغير على اللون أو الشكل أو التأكد على الجدار الداخلي .

ثانياً: فحص معلبات الطعام لمعرفة سبب التلف :

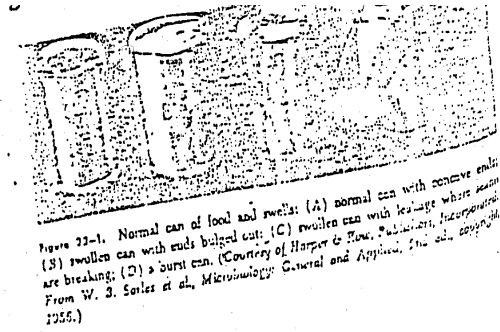
- ١- كل متدرب سوف يستعمل نوعين مختلفين من علب الطعام واحدة تالفة والأخرى سليمة .
- ٢- اتبع نفس الخطوات المذكورة في أولاً عند فحص علبة الطعام وكيفية نقل العينة ثم صف العلبة من ناحية المظهر الخارجي .
- ٣- افتح العلبة بطريقة صحيحة ومعقمة كما هو في السابق وغطها بغطاء صحن معقم . اعمل شريحة واصبغها بصبغة جرام للطعام الموجود بداخلها . لاحظ الرائحة ومظهر الطعام ولكن يجب عدم تذوقه . يقاس أيضاً الرقم الهيدروجيني له PH .
- ٤- من عينة الطعام لقح الأنابيب التالية :

- 1 -Liver Broth
- 2- Glucose yeast water broth
- 3- Glucose yeast water agar slant
- 4- Sulfite agar
- 5-Bromcresol purple dextrose tryptone agar

فالأول يستعمل لمعرفة T.A التي تتلف المعلبات . والثاني لمعرفة البكتيريا اللاهوائية
وبعض الخمائر والثالث لمعرفة الخمائر والرابع لمعرفة البكتيريا المنتجة للكبريتيد .
والخامس لمعرفة Flat sour spoilage.

٥- حضن جميع الأنابيب في درجة حرارة ٥٥°م لمدة أسبوع واحد .

٦- دون النتائج في جدول وبين نوعية التلف .



ميكروبيولوجيا الأغذية - عملي

الملاحق

الملاحق

١٠

الملاحق

١ . بيئة آجار اللاكتوز .

مستخلص اللحم	٣ جم .
بيتون	٥ جم
لاكتوز	٥ جم .
بروموثيمول الأزرق	٠,٠١٦ جم
ماء مقطر	١٠٠٠ مل .
آجار	٢٠ جم

٢ . بيئة نيتريت آجار .

مستخلص اللحم	٣ جم .
بيتون	٥ جم .
آجار	٢٠ جم .
ماء مقطر	١ لتر .

٣ . بيئة دكستروز البطاطس .

مستخلص مائي للبطاطس	٢٠٠ جم
دكستروز	٢٠ جم
آجار	٢٠ جم
ماء مقطر	١ لتر

٤ . بيئة ماكونكي آجار .

بيتون	٢٠ جم
لاكتوز	١٠ جم
أملاح الصفراء	٥ جم
كلوريد الصوديوم	٥ جم

كاشف الأحمر المتعادل	٠,٠٧٥ جم
آجار	١٢ جم
ماء مقطر	١ لتر

٥. آجار مستخلص الشعير Malt extract agar

مستخلص الشعير	٢٠ جم
آجار	٢٠ جم
ماء مقطر	١٠٠٠ مل (لتر)

Brilliant green lactose broth

٦. بريلينت جرين لاکتوز بروث

برويتوز ببتون	١٠ جم
مستخلص الخميرة	٣ جم
لاكتوز	١٠ جم
سكروز	١٠ جم
كلوريد الصوديوم	٥ جم
أحمر الفينول	٠,٠٨ جم
ابرسلينت جرين	٠,٠١٢٥ جم
ماء مقطر	لتر

٧. صبغة اللاكتوفينول .

فينول	٢٠ جم
حمض اللاكتيك	٢٠ مل
جليسرول	٢٠ مل
ماء مقطر	٢٠ مل

٨. صبغة الكريستال البنفسجي.

كريستال بنفسجي	٤ جم	محلول أ
كحول إيثايل ٩٥ %	٢٠ مل	محلول أ

أكسالات الأمونيوم	٠,٨ جم	محلول ب
ماء مقطر	٨٠ مل	محلول ب

اخلط محلول أ ، ب بكميات متساوية .

٩. محلول اليود .

يود	١ جم
يود يد باتوسيوم	٢ جم
ماء مقطر	٣٠٠ مل

اسحق اليود ويود يد البوتاسيوم في هاون ثم يذاب في الماء مع ملحوظة حفظ المحلول في زجاجات ملونة أو زجاجات مغطاة بورق الألومنيوم .

١٠. صبغة السفرانين .

سفرانين	٢٥ جم
كحول ٩٥ %	١٠ مل
ماء مقطر	١٠٠ مل

أذب السفرانين في الكحول ثم أضف الماء ورشح.

المراجع

١. الكائنات الدقيقة عمليا
هاري - و. سيللي ، بول - ج - فإن ديمارك
ترجمة د / عبد الوهاب محمد عبد الحافظ
د / محمد الصاوي محمد مبارك
٢. علم الأحياء الدقيقة للمهن الصحية
اليزابيث فوج ، الفيراب . فيرس
ترجمة د / على حسن عبد الرحمن بهكلي .
٣. التجارب العملية في أسس الأحياء الدقيقة
د / عبد الوهاب رجب هاشم بن صادق .
٤. الدراسة العملية للبكتريا والفطريات الطبية
د / سيف الدين أحمد جميل .
د / الزروق مصباح السنوسي .
د / صلاح محمد الزوي .
٥. البكتيريا (الجزء الثاني التمارين العملية الأساسية
د / مصطفى كمال أبو الذهب .
د / محمد عبد القادر العراني .
٦. دليل العاملين في حوادث التسمم الغذائي
د. تماضر سعيد كردي

المشاركون أ.د. عبدالمجيد محمد كمبال

أ.محمد حسن احمد محمد

د. محمد علي الزهلراني

التجارب المختبرية في ميكروبات الأغذية والألبان

الدكتور / جودت سامي الشихلي

المراجع الأجنبية

American Public Health Association Inc., (1971) . Recmm- ended Methods for the Microbiological Examination of Foods 2nd.Ed American Public Helth Assoc-iation Inc., New York .

Collins, C.H. and Lyne P.M. (1976) .Microbiological Methods. 4th. Ed. Butterworth, London.

