**عزل الاحياء المجهرية من المخللات**

تنتج المخللات بواسطة التخمر اللاكتيكي عن طريق بكتيريا حامض اللاكتيك للخضروات السليمة او المقطعة قطعا صغيرة مع نسبة من ملح الطعام تتراوح من 15-2 % حسب نوع الخضار حيث تصل نسبة الحموضة (حامض اللاكتيك) الى 1.5-1% هذا الحامض يعمل على اعطاء الناتج نكهة مميزة بالاضافة الى كونه مادة حافظة.

**دور بكتيريا حامض اللاكتيك في المخللات**

بكتيريا حامض اللاكتيك لها دور مهم في الاغذية ,ففي مخلل اللهانة تسيطر بكتيريا *Leuconostic* *mesenteroides* في المرحلة الاولى من التخمر حيث يزداد نموها الى ان تصل نسبة الحموضة الى 1-0.1 % ,بعد ذلك تنشط المتحملة للحموضة وهي *Lactobacillus* *plantarum* على حساب البكتيريا الاولى وتستمر في انتاج حامض اللاكتيك الى ان يصل تركيزه الى 2% وعند ذلك تنشط بكتيريا *Lactobacillus* *brevis* وتقوم بتحويل ما تبقى من سكر الى حامض اللاكتيك الى ان تصل نسبته الى 2.4%.

**فساد المخللات :**

تفسد المخللات غير المبسترة بواسطة انواع مختلفة من الاحياء المجهرية مثل *Bacillus*,*Clostridium*, *Enterobacteriaceae* والخمائر والاعفان .اما المبسترة فقد تتلف بسبب حدوث خلل اثناء التعبئة او في العلب والقناني.

عند بدأ عملية التخليل تنمو البكتيريا غير المرغوب بها والتي يكون مصدرها الخضر او الفواكه المستعملة في التخليل او الماء او التربة مثل اجناس *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium* اذ تكون بعضها غازات ومواد اخرى غير مرغوبة خاصة عندما تكون كمية الملح قليلة , بعدها تحدث التخمرات في المخللات اهمها التخمر اللاكتيكي نتيجة نشاط بكتيريا حامض اللاكتيك والذي يكون على شكل تخمر غير متجانس فينتج عنه بالاضافة الى حامض اللاكتيك حامض الخليك والايثانول وCO2 اذ تصل الحموضة الى 1%. بعد هذه المرحلة تنشط البكتيريا المحبة للحموضة والملوحة وهي عصيات الحليب وخاصة *Lactobacillus* *brevis* والتي ترفع الحموضة الى 3-2%.

**انواع تلف المخللات:**

1. فساد المخللات بالخمائر المؤكسدة الغشائية Oxidative film yeast :

تنمو هذه الخمائر على سطح المخللات بشكل اغشية وتؤكسد حامض اللاكتيك الى ماء وCO2 وبذلك تهيء الضروف لنمو البكتيريا المعفنة والمفسدة للمخللات و مثال الخمائر الغشائية *Candida* .

1. فساد المخللات بالخمائر المخمرة Fermentative yeast:

تنمو الخمائر داخل المخللات مكونة كمية كبيرة من الغازات مؤدية الى طوفان المخللات الى الاعلى فتسمى (Floated pickles) وخاصة خميرة *Torulopsis*.

1. مخللات لزجة Slimy pickles: بسبب نمو بكتيريا *Leuconostic*.
2. مخللات سوداء Black pickles: بسبب نمو بكتيريا *Bacillus* *subtilis* وتكون غاز H2S الذي يتفاعل مع معدن العلبة مكونا كبريتيد الحديدوز المسئول عن اللون الاسود.
3. مخللات متهتكة Soft pickles: نتيجة نمو الاعفان والبكتيريا المنتجة لانزيم Protease مثل و *Cladosporium , Penicillium, Bacillus,* *Leuconostic* مسببة تهتك انسجة المخللات واعطاءها المظهر الطري .

**المواد وطريقة العمل:**

1. الفحص المجهري المباشر :يعمل تعداد كلي مباشر بطريقة Bread.
2. تقدير الحموضة: ينقل (10)مل من المخلل الى بيكر مناسب ثم يضاف اليه 10مل من الماء المقطر ويسخن لطرد CO2 ويضاف بعد ذلك قطرات من فينوفثالين Phenophthaline كدليل ويسحح مع (NaOH) عيارية (0.1 N) ثم تقدر نسبة الحموضة على اساس حامض اللاكتيك ويطبق القانون التالي:

حجم القاعدة xعياريتها x ملم مكافئ (90)

النسبة المئوية للحامض =

حجم العينة

100

x

1. تعداد البكتيريا المحبة والمقاومة للملوحة باستخدام وسط Glucose Tryptone Yeast Extract Agar مضافا له 15% ملح الطعام او وسط Staph 110 ويحضن بظروف 30م لمدة 5ايام.
2. تعداد بكتيريا القولون باستعمال طريقة الانابيب المضاعفة ووسط الماكونكي وتحضن بدرجة 37م لمدة 48 ساعة وبعد ظهور العكورة في احد الانابيب يخطط طبق الماكونكي من الانابيب الموجبة.
3. تعداد الخمائر والاعفان باستعمال وسط .Malt Extract Agar
4. تعداد بكتيريا حامض اللاكتيك باستعمال وسط Regosa.
5. التحري عن الاحياء المجهرية التي تسبب لزوجة المخللات:

ينقل 0.1 مل من عصير المخلل الى طبق معقم ويصب فوقه الجيلاتين الصلب المذاب ثم يحضن الطبق بدرجة 30م وتفحص النتائج بعد يومين.