الفصل السادس

الخمائر وفساد الأغذية
Yeasts and food-spoilage

(٦,١) مقدمة Introduction

إن الأغذية الطازجة والمصنعة غالباً ما تفسد بوجود طعم ورائحة غير مقبولة تسببها الميكروبات. وبالطبع فإن معظم المستهلكين الذين يلاحظون الروائح غير المقبولة للأغذية الفاسدة سواء أكانت لحوم أو ألبان يدركون أن هذه المواد إذا تم استخدامها يكون لها تأثير ضار. ومن حسن الحظ وجود رائحة مميزة لمعظم أنواع الفساد، حيث أنها دليل على الفساد الميكروبي، وهذه الروائح نواتج تمثيل للميكروبات المسببة للفساد وعلى ذلك فإن وجود الروائح غير المرغوبة هو دليل على نمو الميكروبات وبالتالي دليل على فساد الأغذية . ونظراً لأن إنتاج الروائح الكريهة والطعم الكريه غالباً ما يصاحبه إنتاج سموم فإن مصطلح "فساد" غالباً ما يطلق على الأغذية التي يكون لها رائحة أو طعم غير مقبول أو كلاهما معاً. والميكروبات التي تسبب فساد الأغذية هي البكتيريا والفطريات (الأعفان) والخمائر. يعتمد نمو هذه الميكروبات في الأغذية

بشكل أساسي على التركيب الكيماوي والفيزيائي لهذه الأغذية ، كما يعتمد على الظروف البيئة المحيطة بهذه الميكروبات .

إن دراسة الخميرة بالنسبة لعلاقتها بميكروبيولوجيا الأغذية ينقصها كثير من النقاط الأساسية. وبصفة عامة فليس من المرغوب فيه أن يؤدي تخزين المواد الغذائية مثل الحبوب إلى تكون ما يعرف بنظام حيوي من صنع الإنسان والذي يكون غير ثابت ونتيجة ظروف متداخلة يصاب بعدد كبير من الميكروبات غير شديدة التخصص، ولكن قابلة أن تتكاثر بمعدلات كبيرة مسببة فساد هذا النظام الحيوي. وسوف تناقش في هذا الفصل أمثلة عديدة لذلك. وعمليات إعداد منتجات الأغذية تجعلها جاهزة، بل وميسرة لأن تهاجم بسهولة من قبل الميكروبات ، ربما بسبب هدم بناء المواد التي صنعت منها الأغذية ، فتصبح أكثر عرضة لفعل الميكروبات . وقد يتعايش الكائن الحي مع خطوات عمليات التصنيع دون أن يموت بل إن بعض الميكروبات تكتسب مقاومة لعمليات التعقيم التجاري التي أحيانا ما تكون غير كاملة لأسباب اقتصادية. أو قد يكتسب المنتج الغذائي ميكروبات من خلال الإهمال في بعض خطوات التصنيع أو التعبئة. ومن الناحية الحيوية فإن المنتجات الغذائية يجب أن تكون بيئة مزعجة بالنسبة للميكروبات، فإذا لم يحتوي الغذاء على مادة حافظة أو ظروف تخزينه تتسم بصفات صارمة فإن كثير من الميكروبات سوف يسعدها أن تستهلك بسرعة ذلك المصدر الجيد سهل التمثيل من العناصر الغذائية مخلفة ورائها أضراراً جمة. البكتيريا هي الميكروبات السائدة في فساد الأغذية، ولكن تسود الخميرة في كثير من الحالات في فساد الأغذية بدرجة لا تقل عن سيادة البكتيريا. كما أن هناك

ظروف ولو أنها قليلة تجعل الخميرة تساهم في سيادة البكتيريا. فوجود الخميرة على سبيل المثال قد يجعلها تنتج بعض الفيتامينات التي تؤدي إلى سيادة بعض أنواع البكتيريا. إلا أنه لا توجد أمثلة كثيرة موثقة على مثل هذا التعاون الذي قد ينشأ بين الخميرة والبكتيريا في فساد الأغذية. والمعروف في ميكروبيولوجيا الأغذية أن كثير من الأغذية تعتبر بيئة لكثير من الخمائر دون أن تشترك هذه الخمائر في فساد هذه الأغذية كما سوف يتضح من بعض الأمثلة في هذا الفصل.

(٦,٢) عزل وتقدير أعداد الخمائر في الأغذية

Isolation and determintion of yeast numbers in foods

(٦,٢,١) بيئات العزل Isolation media

تم تطوير بيئات جديدة للتقدير الكمي للخميرة في المواد الغذائية بصفة عامة خلال الثلاث عقود الماضية. وعلى مدى فترة من الزمن تم استبدال البيئات الحامضية التي كانت تستخدم في الماضي لعزل الخميرة ببيئات أخرى تحتوي على مواد مضادة للبكتيريا مثل الأوكسي تتراسيكلين Oxytetracycline والروز بنجال Rose bengal والداي كلوران Dichloran ..الخ (الجدول رقم ٥,١)، وتمنع المادتان الأخيرتان النمو المتشعب لمستعمرات الأعفان امضية أصبح الآن غير موجود. وكل الدراسات تقريباً أوضحت أن هذا الجيل الجديد من البيئاالدقيقة الأخرى وبالتالي فإن نمو هذه الأعفان الذي كان يحجب رؤية مستعمرات الخميرة في البيئات الحت يفوق البيئات الحامضية في تقدير عدد مستعمرات الخميرة الموجودة في عينة ما.

الجدول رقم (٦،١). أمثلة لبعض البيئات المستخدمة لتقدير أعداد الخميرة في المواد الغذائية.

البيئة	المواد المضافة
آجار مستخلص المولت	حامض لاكتيك (١٠٪) ، pH نهائي ٣،٥
آجار دكستروز-البطاطس	حامض طرطريك (١٠٪) ، pH نهائي ٣،٥
آجار العد على الأطباق (جلوكوز - مستخلص خميرة - كازين مهضوم- آجار)	حامض ستريك (١٠٪) ، pH نهائي ٣،٥
أجار مستخلص النبات	لا شيء pH نهائي ٤،٨
آجار العد على الأطباق (pH. 7)	كلورامفينيكول وكلوراتيتراسيكلين
أجار جلوكوز- مستخلص الخميرة (pH. 7)	أوكسي تيتراسيكلين أو جينتاميسين أو كلاهما
أجار دكستروز البتوز (pH. 7)	آجار الروز بنجال-كلورامفينيكول

و لا يوجد حتى الآن ما يؤكد تفضيل أي من البيئات الجديدة بالنسبة للنمو ولا يوجد ما يؤكد بالضبط على أي درجة يتم التحضين. ولكن لا توجد حاجة عاجلة لتحديد أحسن بيئة واحسن درجة حرارة لأن استخدام أي من البيئات الجديدة وخصوصاً في الأغراض العامة سوف يوضح بصفة عامة أعداد الخميرة الموجودة في الغذاء أو في أحد مكوناته. هذا العدد من الخميرة يكون متناسب مع العدد الكلي للبكتيريا الحية على أطباق الآجار ولذلك يساعد في تقدير كل من نوعية الميكروبات في مكونات الغذاء والمعايير الصحية الواجب مراعاتها في وقت الإنتاج. وفي بعض الحالات يتطلب الأمر استخدام بيئات اختيارية تفريقية خصوصاً إذا ما أريد تحديد كمية الفساد الذي تقوم به الخميرة في الغذاء بالمقارنة بالفساد الذي تقوم به الميكروبات

الأخرى في نفس الغذاء . ويوجد كثير من البيئات التفريقية التي تشمل عوامل مجهدة وقاسية بالنسبة للبكتيريا ولكن قليل منها موجود بالنسبة للخميرة (الجدول رقم ٦،٢).

وأوضحت دراسة حديثة بجامعة Bath التي توجد في مدينة Bath بالمملكة المتحدة أن بيئة Violet-red bile agar التي تحتوي على Oxytetracycline ويشار إليها بالأحرف VRBGO هي بيئة ممتازة جداً لفحص توزيع الخميرة في أجهزة مصانع المشويات وبالتالي مدى وجودها في المنتجات. وبالإضافة إلى أن بيئة الـ VRBGO تعطي أعداد عامة عن عدد الخميرة يمكن مقارنتها بالأعداد التي تعطيها بيئة الروز بنجال–كلورامفينيكول Rose bengal-chloramphenicol medium على سبيل المثال، فإن هذه البيئة تسمح بملاحظة المستعمرات النامية للأجناس الستة الموجودة في اللحوم على أساس اللون حيث أن لكل جنس لون معين يظهر به على هذه البيئة.

وهناك بيئة أخرى أمكن تطويرها بواسطة الميكروبيولوجيين العاملين في شركات البيرة . في هذه البيئة قام العلماء بإدخال محلول كشاف يسمى كشاف شيف Schiff's reagent يقوم بالتفرقة بين الخمائر المرتبطة بالكبريت والخمائر غير المرتبطة بالكبريت في عينات من البيرة. وقد وجد أن استخدام هذا الكشاف عديم اللون يساعد في تقديم دراسات تفصيلية عن التغيرات التي تحدث في نسب الخميرة المرتبطة بالكبريت والخميرة غير المرتبطة في الكبريت وذلك في اللحوم ومنتجات اللحوم أثناء فترة التخزين.

الجدول رقم (٦،٢). أمثلة لبعض البيئات المستخدمة لتقدير أعداد الخميرة المتحملة للظروف الإجهاد القاسية وخمائر مفسدة أخرى.

البيئة	الغرض
١- نيتروجين من الخميرة + كلوريد صوديوم (١٠٪) + جلوكوز (٥٪).	عزل الخميرة معتدلة التحمل
٢- ٥٠٪ أجار جلوكوز – مستخلص الخميرة	عزل الخميرة شديدة التحمل
٣- أجار مستخلص النبات + سكروز (٣،٥٪) + جلوكوز (١٪).	عزل الخميرة شديدة التحمل من الأغذية التي بها تركيز عالي من الملح أو السكر بغرض التخزين.
٤- أجار دكستروز البطاطس + سكروز (٦٠٪ وزن/ حجم).	عزل الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii*
٥- أجار مستخلص المولت + جلوكوز (٢، ٢٠، ٤٠ أو ٥٠٪ (وزن/ حجم)	عزل وزراعة الخميرة شديدة التحمل
٦- أجار الجلوكوز–حامض ستريك– تريبتون.	عزل الخميرة من عصير البرتقال المحتوي على تركيز عالي من السكر
٧- أغشية Oxoid المحضنة على مرق Sabouraud (pH. 4.4)	عزل الخمير شديدة التحمل والموجودة بأعداد قليلة
٨- بيئة Schwarz التشخيصية	عزل الخمائر البرية من مصانع البيرة

(٦،٢،٢) تقدير عدد الخميرة بطريقة الأطباق

Plating method for yeast number determination

ذكر Curiale سنة ١٩٩٨ أن عدد الميكروبات المطلوب لكي يسبب فساد للأغذية يختلف باختلاف نوع الغذاء ونوع الميكروب. ففي حين أن هذا العدد هو

مليون خلية من البكتيريا لكل جرام من المادة الغذائية، فإن وجود ١٠٠.٠٠٠ (مائة ألف) خلية من الخمائر لكل جرام هو عدد كافي لإحداث الفساد وإنهاء الصلاحية. وقبل تقدير عدد الخمائر في الأغذية يجب مراعاة توقيت أخذ العينة ذلك، أن الخمائر والميكروبات عموماً تمر في دورة حياتها بأربعة مراحل، المرحلة الأولى هي طور النمو اللاجي Lag phase وتسمى أيضاً مرحلة التكيف مع الوسط الجديد (الغذاء) ، المرحلة الثانية هي مرحلة النمو اللوغاريتمي بمعنى أن الخلية تصبح اثنين، والاثنين تصبح أربعة وهكذا، والمرحلة الثالثة هي مرحلة الثبات أي ثبات عدد الميكروب أما المرحلة الرابعة فهي مرحلة الموت أو تناقص عدد الميكروب، ولابد من وجود مواد غذائية طازجة وظروف مناسبة حتى تبدأ دورة حياة جديدة. وعلى ذلك فعندما نقول أن وجود مائة ألف خلية خميرة لكل جرام من غذاء معين يكفي لفسادة وإنهاء صلاحيته فلابد أن يكون مفهوم أن توقيت تواجد هذا العدد هو قرب نهاية مرحلة النمو اللوغاريتمي.

معظم طرق تقدير عدد الميكروبات في الأغذية تعتمد على طريقة أطباق الأجار المصبوبة كما يلي:

١- يؤخذ جرام من المادة الغذائية ويضاف إلى أنبوبة اختبار تحتوي على ٩ مل من الماء المقطر المعقم تحت ظروق تعقيم .

٢- يتم عمل سلسلة من التخفيفات من هذا المعلق بأخذ ١ مل منه وإضافته إلى أنبوبة اختبار أخرى تحتوي على ٩ مل ماء مقطر معقم ثم أخذ ١ مل من التخفيف الجديد وإضافته إلى ٩ مل ماء مقطر معقم وهكذا حتى نصل إلى

التخفيف المطلوب الذي عادة ما يكون التخفيف السادس أو السابع (إذا كان الباحث يتوقع وجود عدد كبير جداً من الميكروبات في المادة المراد اختبارها).

٣- يتم تلقيح عدد من أطباق بتري المعقمة بإضافة ١ مل من التخفيف المرغوب إلى كل طبق تحت ظروف تعقيم.

٤- تصهر بيئة مستخلص الخميرة-مانيتول-آجار ثم تترك لتبرد حتى حوالي ٤٥ درجة مئوية ثم تصب البيئة في الأطباق بمعدل ١٠ مل في كل طبق.

٥- تترك الأطباق حتى تتصلب ثم تحفظ مقلوبة في الحضان الهوائي على درجة حرارة ٣٥ درجة مئوية لمدة ٤٨ ساعة.

٦- بعد ٤٨ ساعة تحصى المستعمرات النامية وتضرب في مقلوب التخفيف للحصول على عدد خلايا الخميرة الحية لكل جرام من المادة الغذائية، فمثلاً إذا كان عدد المستعمرات النامية ٣٠ في أطباق ملقحة من التخفيف السادس فهذا معناه أن عدد الخلايا يساوي ٣٠ × ١٠٦ خلية لكل جرام.

٧- يتم تقدير الرطوبة في المادة الغذائية ثم يتم حساب عدد خلايا الخميرة على أساس الوزن الجاف.

الطريقة السابقة تصلح لتقدير الخمائر الهوائية المحبة للحرارة المتوسطة ولكن هناك خمائر لا تنمو في درجة حرارة منخفضة أو مرتفعة، وعلى ذلك فإن تحديد نوع البيئة المستخدمة لتقدير العدد وظروف التحضين من درجة الحرارة والتهوية يتوقف على نوع الخميرة المراد تقدير وجودها في الغذاء. وعلى الرغم من أن هناك طرق كثيرة

لتقدير أعداد الخمائر إلا أن طريقة العد بالأطباق ما زالت هي السائدة حيث تعطي فكرة جيدة عن عدد الخمائر الحية في الغذاء .

(٦,٢,٣) مظاهر الفساد بالخميرة Manifestation of yeast spoilage

لا توجد مراجع كثيرة للفساد الذي تسببه الخمائر للأغذية، حيث ما زال حتى الآن يعتبر مجالاً جيداً وخصباً للبحث العلمي. على كل حال، فقد أصبح من المؤكد الآن بالنسبة لاثني عشر نوع من الخميرة أنها مسئولة عن فساد الأغذية التي تصنع وتعبأ طبقاً للطرق القياسية العادية (الجدول رقم ٦،٣) .

الجدول رقم (٦،٣). أكثر خمائر الفساد الغذائي شيوعاً وأمثلة على الأغذية التي تفسدها.

الخميرة	أمثلة للمواد التي تفسدها الخميرة
Brettanomyces intermedius	البيرة-المرطبات-الزبادي
Candia holmii	المخلل الحامضي-المرطبات-اللحوم-الأغذية البحرية.
Candida krusei	الحليب-الجبن-الزبادي-صلصة الطماطم
Debaryomyces hansenii	اللحم القديد والمتخمر-عصير البرتقال-الحليب-القشدة-الأيس كريم-الجبن-الزبادي-الخبز-الأغذية البحرية.
Kloeckera apiculata	الطماطم-الكريز الأسود المعلب-الزبادي
Pichia membranaefaciens	الزيتون-مواد حامض الخليك الحافظة-صلصة الطماطم-الجبن-اللحوم.
Rhodotorula spp	التفاح والفراولة بعد المعاملة الحرارية-القشدة-الزبدة-الأيس كريم-الزبادي-الخبز-اللحوم-الأغذية البحرية.

تابعالجدول رقم (٦٠٣).

الخميرة	أمثلة للمواد التي تفسدها الخميرة
Saccharomyces cerevisiae	المرطبات-عصائر الفاكهة-الجبن-الزبادي-الخبز.
Schizosaccharomyces pombe	شراب السكر-شراب الفاكهة-عصائر الفاكهة المركزة-الخمور
Zygosaccharomyces bailii	صلصة الطماطم-المايونيز-الخبز
Zygosaccharomyces bisporus	صلصة الطماطم-المايونيز-الخبز
Zygosaccharomyces rouxii	الشراب المركز-عصائر الفاكهة-المايونيز الأغذية البحرية.

استنتج العلماء أن معظم الخميرة التي توجد في الأغذية وتسبب فسادها هي ببساطة ملوثات من مصادرها الطبيعية. ولا يمكن لهذه الميكروبات أن تنمو في الأغذية إلا إذا كانت هناك خطوة أو أكثر من خطوات التصنيع أجريت بإهمال والتي عادة ما تكون عدم كفاءة الإجراءات الصحية أو عدم التحكم الجيد في الحرارة أو البسترة لوقت غير كافي أو عدم التحكم الجيد في نوع وكمية المواد الحافظة المضافة..الخ. وبصفة عامة يمكن تلخيص أسباب الفساد في ثلاثة عوامل وهي:

١- الإهمال المشار إليه سابقاً .

٢- التغييرات التي يتم إدخالها على الأغذية التقليدية مثل إنتاج الزبادي الحلو.

٣- انتشار التكنولوجيا الحديثة في البلاد النامية بغرض زيادة الربح من خلال إضافة بعض المميزات للمنتج، حيث أن كثير من التلوث العارض قد يحدث إذا لم يستوعب العملون طرق التصنيع الحديثة .

وأول حالة أو حادثة يمكن ملاحظتها نتيجة فساد الغذاء هو تكون كتل حيوية من الخميرة. والكتل الحيوية وخصوصاً إذا كانت تنتج صبغات ملونة هي بالطبع السبب الوحيد للفساد. وإذا كانت الخميرة توجد بأعداد ضخمة ولا تنتج صبغات ملونة ووجودها مخفي عن الأعين فإن نواتج التمثيل التي تقوم به تكون هي السبب الوحيد للفساد. والجدول رقم (٦٠٤) يلخص مظاهر الفساد التي تحدث لمختلف الأغذية. ومن الناحية العملية فإن المعلومات المتاحة في هذا الجدول يمكن أن تساعد بدرجة كبير في دراسة الفساد الناتج من الخميرة. وعموماً فإن الدراسة تبدأ بالفحص الميكروسكوبي الذي يتبعه عزل الميكروب المتسبب في الفساد، وهذا يؤدي إلى دراسة تفصيلية عن الطريقة المتبعة ويمهد لممارسة طرق تصنيع جيدة .

الجدول رقم (٦٠٤). مظاهر الفساد الذي يحدث نتيجة نمو الخميرة في الأغذية المختلفة.

المنتج	التغير	أمثلة للخمائر المسببة للفساد
شرائح الخبز	نمو على السطح	*Pichia butonii* *Saccharomyces cerevisiae* *Candida parapsilosis* *Torulaspora delbrueckii*
السجق غير المغلف	نمو على السطح	*Candida zeylanoides* *Debaryomyces hansenii*
الجبن كامل الدسم	سطح لزج مع أو بدون صبغة	*Sporobolomyces roseus* *Candida sake*
بكتين المربى	عكارة	لم يحدد اسم الميكروبات
منتجات البرتقال	عدم ثبات العكارة	*Saccharomyces cerevisiae*
الحليب الحلو المكثف	تكون غاز	*Candida globosa* *Candida lactis-condensi*

تابع الجدول رقم (٦٠٤).

المنتج	التغير	أمثلة للخمائر المسببة للفساد
الكريز	تشوه شكل العلبة	*Zygosaccharomyces rouxii*
بيض شم النسيم	تشوه شكل المنتج ورائحة كريهة	*Zygosaccharomyces rouxii*
الزبادي	تشوه شكل العلبة	*Torulaspora delbrueckii* *Pichia fermentans* *Kluyveromyces marxianus* *Kloeckera apiculata*
الخيار المخلل	تشوه شكل المنتج ونمو الخميرة	*Candida holmii* *Hansenula subpelliculosa* *Torulaspora delbrueckii*
منتجات الرمان	رائحة كريهة	*Hanseniaspora guilliermondii* *Metschnikowia pulcherrima* *Debarymyces hansenii*
منتجات الأعشاب	تحلل الأنسجة النباتية	*Trichosporon cutaneum*

(٦,٣) فساد المنتجات الغنية بالسكر Spoilage of sugar-rich products

أكثر أسباب فساد المنتجات المضاف إليها سكر شيوعاً هو تخمر هذه المنتجات والتي يعرف كثير منها اليوم بالأغذية متوسطة المحتوى من الرطوبة Intermediate-moisture foods . وقد أكدت الدراسات منذ زمن طويل أن السبب الرئيسي لفساد جميع الأغذية المحتوية على نسبة عالية من السكر بدون استثناء هي الخمائر التي تتحمل ظروف إجهاد قاسية مثل المقدرة على النمو البطيء في محاليل تحتوي على تركيز عالي من السكر يصل إلى ٦٥٪ سكروز على سبيل المثال وذلك عند درجة حرارة

٢٥°م . وكما أشار Rose سنة ١٩٨٧م فإن المتخصصين في علم دلالات الألفاظ أو علم المصطلحات اختاروا المصطلح Xerotolerant ليعبر عن هذه المجموعة من الميكروبات. وهذا المصطلح معناه الميكروبات شديدة التحمل للظروف القاسية. اختار المختصون في علم المصطلحات المصطلح Osmophilic في الماضي ليعبر عن هذه الميكروبات ومازال هذا المصلح ومعناه الميكروبات المحبة للضغط الأسموزي المرتفع يستخدم بواسطة بعض علماء الميكروبيولوجي ولكنه استبدل في المراجع الحديثة بالمصطلح Xerotolerant.

هناك نقطتان أساسيتان لتجنب فساد الأغذية بواسطة خمائر الـ Xerotolerant. تشمل النقطة الأولى اتخاذ الاحتياطات التي تمنع التلوث ،وتشمل النقطة الثانية ممارسة طرق تصنيع جيدة في كل مراحل الإنتاج.

إن ملاحظة مصدر التلوث للمنتجات عالية التركيز من السكر يعتبر هام جداً فعلى سبيل المثال فإن خمائر الـ Xerotolerant توجد في رحيق الأزهار ولذلك فإن النحل والحشرات الأخرى التي تتغذى على الرحيق تنقل هذه الخمائر إلى بقية الأزهار المنتشرة في المنطقة ثم يكون النحل هو مصدر التلوث بالنسبة للعسل كما يكون النحل وبقية الحشرات الممتصة للرحيق مصدر تلوث الفاكهة الناضجة في أسواق الفاكهة بهذه الخمائر. ولذلك فإن خلايا النحل والفاكهة يعتبران ملجآن هامان لهذا النوع من الخميرة. تعتبر بعض المواقع أيضاً مصدر هام آخر للتلوث بخميرة الـ Xerotolerant، فعلى سبيل المثال فإن تربة المناحل ومزارع الفاكهة والأجهزة المستخدمة في تصنيع السكر والعسل..الخ بل ومباني هذه المصانع تعتبر مصادر للتلوث بالخميرة

Xerotolerant. ويتحمل هذا القسم من الخمائر ظروف قاسية جداً ولذلك لابد من اتباع طرق تصنيع قياسية جداً لتجنب التلوث بهذه الخمائر وفيا يلي نتناول باختصار فساد المنتجات الغنية بالسكر.

(٦,٣,١) عسل النحل Honey

يختزل النحل محتوى الرحيق من الماء من ٣٠-٦٠٪ إلى ١٥-١٩٪ ، ويحدث النحل تحولات في السكروز عن طريق إنزيم الإنفرتيز كما يفرز النحل أيضاً مواد مضادة للميكروبات. وهناك اتفاق عام على أن إنزيم الجلوكوز أكسيديز الذي ينتج فوق أكسيد الهيدروجين قد يكون أكثر المواد المضادة للميكروبات تواجداً في عسل النحل. وهناك ادعاءات بأن إنزيم الليزوزايم Lysozyme يلعب دوراً في الدفاع عن عسل النحل ضد العدوى بالميكروبات ولكن كثير من العلماء فشلوا في إثبات هذه الادعاء. ومن ناحية أخرى فإن هناك مادة مضادة للميكروبات تسود في عسل النحل بدرجة كبيرة ولم تكن معروفة من قبل وهي مادة الـ Falvone pinocembrine ، وهي مادة مقاومة للحرارة والضوء ، وهي أكثر المواد المضادة شيوعاً بالنسبة للميكروبات التي يجلبها النحل من المواد الراتنجية الشمعية من براعم الأشجار، كما تعتبر هذه المادة أيضاً مضاد عام للميكروبات التي تصيب الخلية.

ومن الناحية العملية فإن المواد المضادة للميكروبات لا تكون فعالة نسبياً في حماية عسل النحل من التلوث والفساد بواسطة الخمائر الـ Xerotolerant . كما أن

هذه المواد المضادة للميكروبات لا تمنع حدوث التخمر في العسل الذي يحتوي على رطوبة بنسبة أكثر من ١٧٪ .

تشمل الطرق الحديثة في إنتاج العسل، الترشيح لإزالة المواد الخارجية (حبوب اللقاح وبقايا الشمع) وبلورات الجلوكوز، وتشمل أيضاً المعاملة الحرارية والتي يكون لها هدفين وهما إذابة بلورات الجلوكوز الصغيرة المتبقية وقتل الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* وهي أكثر خمائر المسببة للفساد التخمري للعسل. ولهذا العسل المعامل حراريا عمر تخزيني طويل إلا إذا حدث تلوث بالخميرة أثناء عملية التعبئة ثم تم تخزين المنتج تحت ظروف حرارية غير متحكم فيها. وعلى أية حال فإن هذه الخميرة يجب أن تتواجد بأعداد لا تقل عن ٥١٠ خلية / جرام حتى يمكنها أن تبدأ عملية تخمر وفساد العسل. أما إذا كان العسل محتويا على أعداد أقل من ذلك فإن الخميرة قد تحتاج إلى وقت طويل جداً لإحداث التخمر والفساد مع توفر درجة الحرارة المناسبة للنمو.

(٦,٣,٢) السكريات والشرابات Sugars and syrups

قد يكون مصدر تلوث المحاليل السكرية والسكر من نباتات القصب نفسها أو العصير المستخلص بالإضافة إلى التلوث من أجهزة التصنيع. وقد لاحظ الباحثون أن ورقة نبات قصب السكر التي تشبه الحشائش تنشق طوليا عند قاعدة الغمد. وتتواجد الخميرة بكثافة في هذه المنطقة. كما يخترق بعض من هذه الخمائر النبات ويتكاثر في المسافات البينية للنسيج. ولقد تم دراسة تلوث السكر المستخدم في إنتاج شراب

سكري ووجد أن العينات المأخوذة من قصب السكر المجروش والقنوات التي تحمل العصير إلى المخمرات تحتوي على أنواع تابعة لأجناس الخمائر *Candida* و*Endomyces* و *Hansenula* و *Saccharomyces* و *Schizosaccharomyces* . وربما يكون مصدر هذه الخمائر هو التربة التي تكون عالقة بسيقان القصب أو الخميرة التي قد توجد في أنسجة القصب أو أجهزة التصنيع. وقد وجد أنه مع بداية فساد السكريات تسود الخمائر *Saccharomyces cerevisiae* والخميرة *Schizosaccharomyces pombe* ثم بعد ذلك يكون السبب الرئيسي في الفساد هي الخمائر *Zygosaccharomyces rouxii* و *Candida famata* . وجدير بالذكر أن الحفظ الجيد للسكر الملوث في البيت لا يحل مشكلة التلوث بالخميرة. وحديثاً أمكن عزل سلالات خميرة تتحمل درجات حرارة عالية من مصانع سكر القصب في أستراليا.

قام علماء الولايات المتحدة الأمريكية منذ أكثر من خمسين سنة بعزل عدد كبير من الخمائر من السكر الخام المستورد من دول البحر الكاريبي وأفريقيا واستراليا. وقد وجدوا أن هذه الملوثات ترتبط بغشاء من المولاس يحيط بكل بلورة سكر. ولوحظ موت هذه الخمائر عندما تم تخزين السكر الخام في صومعة منخفضة الرطوبة. أما في مرحلة إنتاج السكر المبلور المكرر فإن طبيعة هذه المرحلة لا تسمح بوجود مستويات عالية من التلوث ، فقد تكون مستويات التلوث منخفضة جداً أو قد لا يكون هناك تلوث على الإطلاق .

وقد وجد العلماء أن السكر الأبيض عادة لا يكون عرضة للفساد بواسطة خمائر الـ Xerotolerant إلا أن وصول الرطوبة إلى صومعة التخزين تعرض

هذا السكر للفساد غالباً بواسطة الخميرة *Candida apicola* . فعلى الرغم من أن الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* هي السبب الرئيسي في فساد السكريات غير النقية فإن الخمائر المنتجة لإنزيم الإنفرتيز يبدوا أنها أكثر أهمية في إصابة السكريات النقية نسبياً. وعلى ذلك فقد عزلت أجناس عديدة من الخمائر (الجدول رقم ٦،٥) من أشربة السكر الأبيض والبني .

وقد وجد العلماء أن التعقيم بالبخار للخزانات والأوعية الضخمة والذي يعقبه إزالة جيدة للماء من هذه الخزانات يقدم حلاً جيداً بالنسبة للمصانع الضخمة. أما الماء المتكاثف على جدر الخزانات فيمكن تعقيمه عن طريق الأشعة فوق البنفسجية. كما أن الهواء يعقم عن طريق المرشحات.

وعلى الرغم من أن المولاس يعتبر من الناحية الميكروبيولوجية معقماً إلا أنه لوحظ حالات تخمر للمولاس لوحظت أثناء تخزينه أو نقله . وأكثر الخمائر التي وجدت في المولاس هي الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* التي يمكنها بالفعل أن تفسد براميل من المولاس ولكن على مدى فترة تخزين طويلة نسبياً .

(٦،٣،٣) الفاكهة المتبلورة أو المضاف إليها شراب

Syruped and crystallized fruit

كما هو واضح من الجدول رقم (٦،٥) فإن الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* هي السبب الرئيسي في فساد الفاكهة المحفوظة عن طريق التسكير. وقبل ظهور تقنية الأوعية المفرغة مع دوران وتركيز السكر آلياً، لم يكن

توزيع السكر متجانس في بعض المنتجات مثل الكريز مما ينتج عنه تخمر بواسطة الخميرة (غير معروفة الاسم) في الأجزاء التي لم يصلها السكر. والأكثر من ذلك أن الغاز الناتج من التخمر يتسبب في وجود جيوب أو ما يشبه التجاويف في داخل الوعاء المحتوي على الكريز. ومن ناحية أخرى فقد وجد أن الكريز المنتج بالطرق الحديثة يتعرض أيضاً للفساد بواسطة الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* مع إنتاج غاز قد يؤدي إلى انفجار الثمرة. كما وجد أن الثمار التي استخدمت في تصنيعها بعض المواد المضافة المحتوية على كبريت تنتج غاز كبريتيد الهيدروجين عندما تتعرض للفساد بواسطة الخميرة *Zygosaccharomyces pombe* . وقد عزلت هذه الخميرة أيضاً من الفراولة المحفوظة والتي كان لها رقم pH ٣ وتحتوي على ثاني أكسيد الكبريت (٢٥٠ مليجرام/ كيلوجرام).

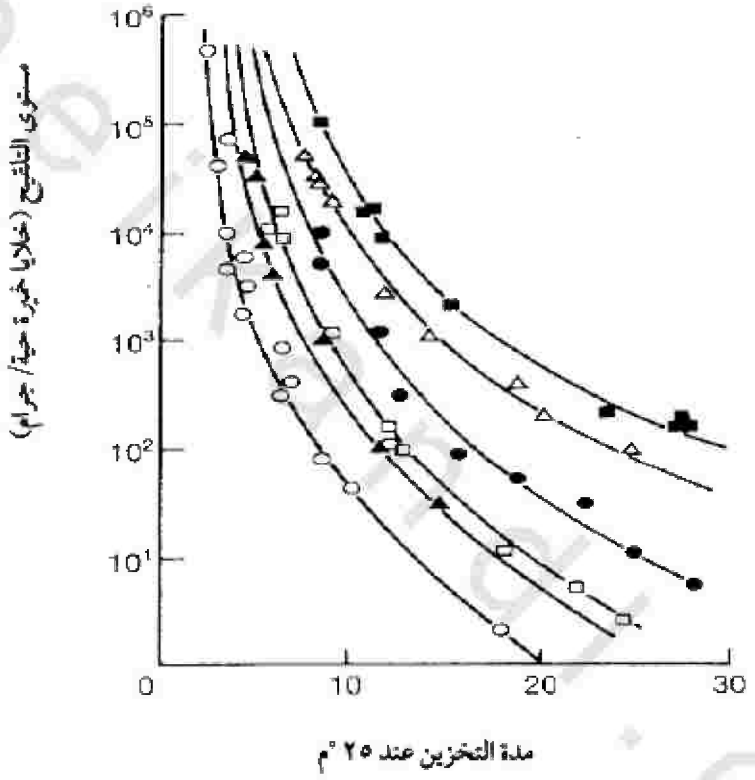
وقد وجد أن الزنجبيل المتخمر يحتوي على مستويات عالية من التلوث حيث قد يحتوي على حوالي ٤ × ٧١٠ خلية من الميكروبات الملوثة / مل. وبعد إزالة الزنجبيل من هذه الشرابات عن طريق الطرد المركزي وجد أنه قد يحتوي على ٧ × ١٠٬ خلية من الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii*/ جرام . ولكن أكدت الدراسات أن بسترة الزنجبيل قبل تخزينه تؤدي إلى حفظة فترة طويلة بدون فساد، حيث وجد أن ٢٤ عينة فقط من ١٢٨ عينة احتوت على بعض الخميرة الحية بعد التخزين لفترة سنتين.

(٦,٣,٤) الحلويات Confectionery

تتعرض المنتجات السكرية (المربى والحلوى والعجائن السكرية..الخ) إلى الفساد إذا لم تتبع طرق تصنيع جيدة وأجهزة غير ملوثة وتخزين سليم. وكما يتضح من جدول (٦٠٥) فإن الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* ، المسبب الرئيسي للفساد، سوف تجد الظروف المناسبة لوجودها من حيث توفر المواد الكربوهيدراتية بتركيز عالي وسوف تنتقل من منتج إلى آخر. وقد يحدث نمو الملوثات في مكونات هذه المواد الغذائية أثناء فترة التخزين خصوصاً إذا كانت هناك إضافات خارجية تتم بعد التصنيع. ولذلك فإن فتات حلوى المرزبانية Marzipan وهي حلوى اللوز والسكر عند إعادة استخدامها سوف يمد الخميرة بالظروف المناسبة لنموها بشكل غزير. كما أن التغييرات التي تحدث في ممارسة التصنيع قد تؤدي أيضاً إلى الفساد. فعلى سبيل المثال فإن نقل كميات ضخمة من المربى خلال أنابيب التوصيل ومع حدوث تهتك في المواد البكتينية المكونة للهلام قد يتسبب في الفساد إذا لم تكن أنابيب التوصيل والمضخات نظيفة وغير ملوثة. ويجب أن يكون معلوماً أن نتيجة الفساد في الحلويات تقدر عن طريق تداخل عوامل كثيرة. وهذا يتضح من الشكل رقم (٦٠١) والذي يوضح أن مستوى التلوث وكمية الرطوبة يؤثران بشكل كبير على مدى الفساد الذي يحدث للمربى .

ويتضح من هذا الشكل أن تلقيح المربى بمستوى منخفض من الخميرة حوالي ١٠٠ خلية خميرة/ جرام وعند درجة حرارة ٢٥°م يقلل العمر التخزيني للمربى ذات

المحتوى الرطوبي المرتفع إلى ١٠ أيام في حين أن خفض المحتوى الرطوبي أطال العمر التخزيني إلى ٢٥ يوم .



الشكل رقم (٦٠١). تأثير قيمة aw والمستوى الابتدائي لتواجد الخميرة على معدل فساد المربى.

قيم aw في المربى: ٠.٧٣–٠.٧٤ (■)، ٠.٧٤–٠.٧٥ (Δ)، ٠.٧٦–٠.٧٧ (●)، ٠.٧٧–٠.٧٨ (□)، ٠.٧٨–٠.٧٩ (▲)، و ٠.٨٢–٠.٨٣ (○).

المصدر: Rose, and Harrison (1993)

الجدول رقم (٦،٥). الخمائر المرتبطة بفساد السكر ، الشرابات ، الحلويات والعصائر المركزة.

المنتج	نوع الفساد	الخمائر
العسل	تخمر	*Zygosacch. rouxii*
شراب البرقوق	تخمر	*Saccha. behrensianus* *Zygosacch. rouxii*
سكر القصب أو البنجر الخام	تخمر	*Zygosacch. rouxii*
سكر مكرر، بلورات	تخمر	*Can. apicola*
شراب السكر الأبيض	لم يحدد	*Zygosacch. rouxii* *Saccha. cerevisiae*
شراب السكر البني	لم يحدد	*Zygosacch. rouxii* *Han. anomala*
سكر لتحضير الزنجبيل	تخمر	*Zygosacch. rouxii*
سكر مكبرت (به كبريت)	تخمر وإنتاج كبريتيد هيدروجين	*Schizosacch. pombe*
المولاس	تخمر	*Saccha. cerevisiae* *Can. holmii*
مستخلص المولت	لم يحدد	*Zygosacch. rouxii*
عصير الفاكهة	تخمر	*Zygosacch. bisporus* *Zygosacch. baillii*
شراب الشيكولاتة	تخمر	*Han. Subpelliculosa*
سكر الفاكهة	تخمر	*Zygosacch. rouxii*
الكريز	غازات	*Zygosacch. rouxii*
المشروبات غير الكحولية	تخمر	*Saccha. cerevisiae* *Can. inconspicua*
	أغشية رقيقة ورواسب	*Can. famata* *Can. krusei*
بيض شم النسيم	تخمر	*Zygosacch. rouxii*
حلوى المرزبانية الطرية	تخمر	*Zygosacch. rouxii* *Can. dattila*
الكمك المثلج	تخمر	*Zygosacch. rouxii*
المربى التقليدية	تكون غاز	*Zygosacch. rouxii*
	تخمر	*Torula. delbrueckii*
المربى منخفضة السكر	لم يحدد	Zygosacch. bisporus

(٦,٤) فساد الفاكهة والخضراوات Spoilage of fruits and vegetables

كما يتضح من الجدول رقم (٦،٦) هناك ملاحظتان هامتان وهما الكم الكبير من السلع المتعلقة بالفاكهة والخضر، وكذلك العدد الكبير من أنواع الخميرة التي تسبب فساد هذه السلع . وقد حدث تقدم كبير في تقنية تصنيع الخضر والفاكهة وممارسة طرق التصنيع الجيدة لتجنب التلوث بالميكروبات المفسدة وخصوصاً بالنسبة للسلع التي تحفظ لفترات طويلة حتى تستخدم في غير موسمها. يصاحب فساد الفاكهة في معظم الحالات عمليات تخمر وتكسير للأنسجة.

(٦,٤,١) الفاكهة Fruits

بالنسبة لفساد الفاكهة بواسطة الخميرة فإن هناك ملاحظة يجب أن تؤخذ في الاعتبار وهي الخميرة التي تكتسبها الفاكهة الناضجة أثناء قطف الثمار أو تعبئتها إلى الأسواق أو تخزينها أو نقلها من مكان إلى آخر. كما قد يحدث تلف في غلاف الثمرة أو يحدث تغير في بناء الثمار الناضجة كما يحدث في ثمار التين وهذا بالطبع سوف يضيف مصدر جديد من مصادر الكربوهيدرات الميسرة بالنسبة للميكروبات المتحملة للحموضة. تزداد هذه الحالة خطورة عندما تتعرض الثمار لمزيد من التكسير أثناء عمليات حفظها. ومما لا شك فيه وكما نؤكد في كل الحالات فإن عدم نظافة الأجهزة المستخدم تؤدي إلى زيادة التلوث. فقد وجد أن أجهزة الحفظ في كثير من الأحوال كانت مصدر للخميرة *Trichosporon cutaeum* الهادمة للسليلوز وسكريات الزيلان. ويبدو أن هذه الخميرة هي ملوث عام لبعض الأعشاب البطاطية الهامة مثل الروائد

Rhubarb، حيث توجد في هذه العشبة المحفوظة بأعداد تتراوح من ٤١٠-٥١٠/ جرام. وإذا لم تنظف السكاكين المستخدمة في تقطيع سويقات هذه العشب إلى قطع صغيرة قبل تغليفها فإن الخميرة *Trichosporon cutaeum* تصيب الأسطح المقطوعة وتسبب الفساد أثناء الحفظ على درجة حرارة الغرفة. كذلك فإن اختيار المادة الحافظة الصحيحة له دور كبير وهذا يدخل تحت العنوان الذي طالما ذكرناه وهو "ممارسة طرق تصنيع جيدة". فعلى سبيل المثال فقد وجد أن سلالة الخميرة *Zygosaccharomyces bailii* var. bailii المقاومة للبنزوات عند تركيز ٠,٠٠٨٪ (وزن/ حجم) كانت المسئولة عن فساد مزيج البرتقال. وعلى الرغم من أن حامض السوربيك يعتبر أكثر كفاءة من حامض البنزويك كمادة حافظة إلا أن ثاني أكسيد الكبريت يعتبر المادة الوحيدة التي أصبحت مقبولة كمادة حافظة.

(٦،٤،١،١) الفاكهة الطازجة Fresh fruit

لقد قام Rosini وآخرون منذ سنة ١٩٨٢م بدراسة تأثير نضج الثمار على وجود الخميرة وذلك بالنسبة لثمار العنب كما درسوا أيضاً مدى مساهمة أجهزة الحفظ على تلوث العصير. وقد وجدوا أن مستويات التلوث تختلف في مناطق سطح ثمار العنب حيث تزداد مستويات التلوث بالقرب من ساق أو عنق العنقود وتزداد أيضاً في المناطق التي بين حبات العنب. وقد عزلت سلالات خميرة لها نشاط تخمري تتبع النوع *Kloeckera apiculata* وبمستوى أقل سلالات تتبع النوع *Metschnikowia pulcherrima* من العنب أثناء قطف الثمار ولكن اختفت

هذه السلالات بعد ثلاث أسابيع من القطف أما الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* فلم تعزل من على أسطح حبات العنب ولا حتى من العصير إلا بعد التخمر بواسطة الخميرة *Kloeckera apiculata*، مما جعل هؤلاء الباحثون يعتقدون أن مصدر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* الأجهزة المستخدمة في عملية العصر . ولكن الحقيقة أن هناك مدى أوسع من الخمائر يمكن أن تسود في عصير العنب الأبيض ، كما أن الخميرة *Kloeckera apiculata* والخميرة المطابقة لها تماماً *Hanseniaspora uvarum* كانتا أكثر الأنواع سيادة من بين ٨٧٣ نوع تمثل ١٦ جنساً تم عزلها من ٥٤٠ عينة عنب طازج. وقد أوضحت الدراسات أن نفس الخميرة *Kloeckera apiculata* تسود في ثمار الفراولة الطازجة وأن ثمار الفراولة مهتكة الأنسجة والمخزنة على درجة حرارة ٢٥ تحولت إلى كتلة حيوية ملونة من هذه الخميرة . ولكن دراسة أخرى لكل من Dennis و Buhagiar (١٩٩٠م) أكدت أن هذه الخميرة لا توجد في الفراولة الطازجة ولا في الفراولة المتهتكة طبيعياً.

الجدول رقم (٦،٦). الخمائر المرتبطة بفساد الفاكهة والخضراوات.

المنتج	نوع الفساد	مثال للخمائر
طماطم طازجة	تخمر	*Candida krusei*
تين كاليفورنيا طازج	تخمر/ حموضة	*Candida stellata*
تين أفريقي طازج	حموضة	*Candida sorboxylosa*
بلح طازج	حموضة	*Candida guilliermondii*
فراولة طازجة	ليونة وفقد اللون	*Kloeckera apiculata*
أناناس طازج	عفن طري	*Candida spp*

تابع الجدول رقم (٦٠٦).

المنتج	نوع الفساد	مثال للخمائر
عشب الراوند الطازج	عفن	*Trichosporon cutaneum*
البقوليات، البن، التوت الطازجة	عفن أنسجة	*Nenmatospora spp*
الموالح الطازجة	تعفن	*Nenmatospora coryli*
مزيج عصير الموالح الطازج	تخمر	*Zygosaccharomyces ballii*
عبوات الرمان	رائحة نفاذة	*Pulcherrima spp*
مخلل مشكل	لون قرمزي	*Candida krusei*
مخلل الخيار	رائحة غير مقبولة	*Candida holmii*
مخلل الزيتون	أنسجة طرية	*Rhodotorula glutinis*
	جيوب على السطح	*Hansenula anomala*
مخلل المانجو	انتفاخ الوعاء	*Candida krusei*
مخلل مضاف له حامض الخليك	تكون غاز، ورواسب	*Zygosaccharomyces bailii* *Pichia membranaefaciens*
خضراوات معاملة بثاني أكسيد الكبريت (الفراولة)	تحلل	*Trichosporon pullulans* *Cryptococcus albidus*
برقوق مجفف	غلاف أبيض يشبه السكر	*Zygosaccharomyces rouxii*
تين مجفف	غلاف أبيض يشبه السكر	*Schizosaccharomyces octosporus*
فراولة مجمدة	لم يجدد	*Rhodotorula spp*
بازلاء مجمدة	تغير الطعم	*Rhodotorula glutinis*
صلصة التفاح	رائحة نفاذة، تكون غازات	*Candida lactis*
منتجات البرتقال المصنعة	عدم ثبات عتامة المحلول	*Saccharomyces cerevisiae*

وقد لوحظت حالات متفرقة من تحلل الفراولة المعاملة بالكبريت والمخزنة لإنتاج مربى منها في غير موسم إنتاجها. وعلى الرغم من أن إنزيم الـ

Polygalacturonase الذي ينتج بواسطة الفطريات الخيطية مثل عفن الـ Rhizopus يعتبر هو أكثر أسباب تحلل الفراولة شيوعاً، إلا أن الخميرة *Trichosporon pullulans* والخميرة *Cryptococcus albidus* var albidus تشتركان في فساد الفراولة الطازجة عن طريق إنتاجهما للإنزيمات المحللة للبكتين والتي تظل ثابتة ولا تتغير بالمعاملة بثاني أكسيد الكبريت. تم تعريف ٤٢٤ عزلة من الخميرة أخذت من ٩٥٦ عينة فراولة واتضح أن هذه العزلات المعرفة تتبع الخميرة *Cryptococcus albidus* var albidus. كما وجد العلماء أيضاً أن العفن الطري الذي يصيب فاكهة الأناناس والفاكهة المشابه تتبع أنواع من الخميرة التابعة للجنس Candida على الرغم من أنه لم يمكن إثبات إنتاج هذه الخميرة للمواد المحللة لجدر خلايا الفاكهة.

وعلى عكس الغموض الذي ما زال يحيط بفساد الفراولة عن طريق الخمائر فلا يوجد أي شك على أن الخمائر تشترك بشكل رئيسي في الفساد التخمري الذي يحدث للطماطم والتين المنتج في كاليفورنيا. فقد تأكد لدى العلماء أن الخمائر *Hanseniaspora uvarum* و *Pichia kluyveri* على سبيل المثال تفسد الطماطم التي تعرضت لجروح في القشرة. وقد لاحظ Rose و Harrison (١٩٩٣م) أن ذباب الفاكهة له دور هام في نشر الخمائر التي لها نشاط تخمري في حقول الطماطم. كما تأكدوا أن مثل هذه الخمائر تأتي إلى محصول الطماطم عن طريق الذباب المهاجر من حقول الخوخ والبرقوق. كما لاحظ العلماء تشابه الخميرة التي توجد في البرتقال والخميرة التي توجد في معدة ذبابة الدروسيفلا التي تتغذى على هذه الفاكهة.

كما توجد أيضاً علاقات أكثر تداخلاً بين الحشرات وخمائر الفساد التي تفسد تين كاليفورنيا. وفي تين كاليفورنيا مثل بقية أصناف التين فإن قمة الثمرة بها تجويف مبطن ببقايا الأزهار ، ويتم التلقيح من خلال الحشرات التي تأخذ حبوب اللقاح إلى العين التي توجد في التجويف الذي يكون مغلق بقشرة حرشفية في الثمار غير الناضجة . ويتم تلقيح أصناف التين بواسطة دبابير الـ Blastophaga التي تعيش داخل ثمار التين . لا تنقل هذه الدبابير فقط حبوب اللقاح ولكنها تنقل أيضاً الخميرة *C. guilliermondi* var. carpophila والبكتيريا *Serratia ficaria*. وكلا الميكروبين ينمو بدون أن تظهر أي أعراض للفساد، لكن وجد العلماء أن نمو هذه الخميرة ينتج عنه جذب لذبابة الدروسيفلا التي تبحث عن عش آمن لوضع البيض. وتدخل ذبابة الدروسيفلا من الفتحة العليا لثمرة التين الناضجة والغنية بالعصير وتنقل معها الخمائر *Candida stellata* و *Kloeckera apiculata* وهي ضمن الخمائر التي تفسد التين عن طريق التخمر الكحولي لسكر التين. وينتج عن تطور الفساد ظهور سائل يتقطر من عين ثمرة التين له رائحة الخل بسبب أكسدة الإيثانول الناتج عن التخمر الكحولي إلى حامض خليك بواسطة بكتيريا حامض الخليك.

كما يعتبر التين المتساقط على أرضية البستان مصدر هام أيضاً للعدوى بالخميرة لأن خنفساء الفاكهة تنقل الخمائر من هذا المصدر إلى التين السليم على الأشجار. نفس توالي الميكروبات يحدث بالنسبة للتين الأفريقي حيث تستعمر الخميرة Candida fructus ثمار التين غير الناضجة ثم تأتي ذبابة الدروسيفلا لتتغذى على هذه الخميرة محضرة معها الخمائر *Pichia membranaelaciens* و *Hanseniaspora uvarum*

و *Kloeckera apiculata* و *Candida sorboxylosa* وبكتيريا حامض الخليك. وتقوم هذه الخمائر عند نضج الثمار بفساد التين عن طريق إنتاج أحماض وكحولات من سكريات التين. ونظراً لأن ذباب الفاكهة يستخدم الأجزاء المتعفنة من الثمار للتغذية فإنه ينقل ميكروبات الفساد من الفاكهة الفاسدة إلى الفاكهة السليمة. ومنذ زمن بعيد نسبياً (١٩٤٢م) وجد العلماء أن الحشرات تنقل العدوى من البلح الحامض في مزارع كاليفورنيا إلى البلح السليم.

أصبحت الأغذية الطازجة المعبأة في أوعية مغلفة مع تعديل في الغلاف الجوي لهذه الأوعية سائدة في الأسواق الأوروبية. وتركيب هذا الغلاف الجوي المنقول للأوعية له دور كبير في اختيار نوع الملوثات التي قد تصل إلى هذه الأوعية. واتضح في دراسات حديثة أن نمو الخميرة المسببة للفساد يمكن أن يسبب مشكلة لبعض ولكن ليس لكل الفاكهة المعبأة بهذه الطريقة. وقد تم عزل أنواع من الخمائر *Rhodotorula* و *Pichia* و *Cryptococcus* من على أسطح الأنواع المختلفة من البطيخ. ولم يتم العثور على خمائر في عصير شرائح البطيخ غير المغلفة والمحفوظة لمدة ثمانية أيام على درجة حرارة ٥°م. وعلى عكس ذلك فقد وجدت الخمائر *Pichia norvegensis* و *Cryptococcus laurentii* بأعداد قليلة جداً (٢٥٠ خلية/ مل) في عصير البطيخ المغلف بورق الألومنيوم والمحفوظ على درجة حرارة ٥°م. وعلى أية حال فلم يثبت تورط أي من هاتين الخميرتين في التغيرات غير المرغوبة التي نتجت عن تخزين البطيخ على درجة حرارة ٢٥°م رغم زيادة عددهما بشكل ملحوظ عند هذه الدرجة سواء في الشرائح المغلفة (٢ × ١٠^٨/ مل) أو غير المغلفة (١.٣ × ١٠^٨/ مل).

وقد تم أيضاً دراسة تغير أعداد الخميرة وبكتيريا حامض الخليك في الجزء المأكول من الرمان والموضوع في أطباق من البولي ستايرين ومغلف من أعلى بغشاء له معدلات نفاذية منخفضة من الأكسجين وثاني أكسيد الكربون وتم استبدال الغلاف الجوي في داخل الوعاء بغاز النيتروجين . ولم يحدث تغير كبير في عدد الخمائر أو الفطريات الأخرى أو بكتيريا حامض الخليك عند تخزين هذه العبوات على درجة حرارة ١°م. ولكن عدد الخمائر نقص بشدة عند التخزين على درجة حرارة ٥ °م، وهذا يرجع إلى تراكم كمية من غاز ثاني أكسيد الكربون عند درجة حرارة ٥°م (٣٤.٥٪) أكبر من الكمية التي تراكمت عند درجة حرارة ١°م (٢٠٪). وقد وجد أن سلالات الخميرة *Hanseniaspora guilliermondii* و *Metschnikowia pulcherrima* و *Debaryomyces hansenii* بالإضافة إلى بكتيريا حامض الخليك تنتج نكهة حامضة وغير مقبولة في الرمان. وعلى الرغم من أن بعض العلماء أكدوا أن الخمائر تلعب دوراً أكثر أهمية من الدور الذي تلعبه بكتيريا حامض الخليك في فساد الرمان المحفوظ بهذه الطريقة إلا أنه من المعقول أن يتم الحكم على نسبة المساهمة الحقيقية لكل من الخمائر وبكتيريا حامض الخليك في فساد الرمان من خلال دراسة تستخدم فيها مزرعة مختلطة من هذه الميكروبات ثم مزارع نقية من كل منها ومقارنة النتائج. ولكن تقترح المعلومات المتاحة الآن حدوث تخمر كحولي بواسطة الخميرة ثم أكسدة الإيثانول الناتج إلى حامض خليك بواسطة بكتيريا حامض الخليك.

إن الاتجاه الحالي لخفض مستوى الملح في الأغذية أدى إلى ظهور فساد لهذه الأغذية بواسطة الخميرة. وقد اعتبرت الخمائر *Hansenula anomala* و *Candida* spp

و *Rhodotorula rubra* مسئولة عن فساد الأغذية منخفضة الملح على الرغم من سيادة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في هذه الأغذية المعبأة في أوعية تحتوي على غاز النيتروجين .

الفاكهة المجففة Dried fruits

يعتبر التجفيف وسيلة قديمة جداً لحفظ الفاكهة. ويتوقف نجاح هذه الطريقة على الطريقة المتبعة والتي تؤدي إلى أن يكون المنتج به محتوى مائي لا يسمح بنمو ميكروبات الفساد. وعلى سبيل المثال فقد وجد أن البرقوق المحتوى على ماء بنسبة ١٢-٢٢٪ لا يتعرض للفساد عند تخزينه . ولسنا في حاجة إلى القول أن ثبات الفاكهة المجففة في مقاومتها للفساد يكون مضموناً فقط في حالة منع رجوع الماء المأخوذ منها إليها مرة أخرى أثناء التخزين. فقد أكد العلماء أن فساد الفاكهة المجففة بواسطة الخميرة (غير محددة) قد يحدث في حالة التخزين في ظروف رطبة. وقد أمكن تحديد عدد كبير من العوامل المسئولة عن تخمر عدد من المنتجات المجففة في الشمس والتي من أهمها ما يلي :

١- التلف الميكانيكي للفاكهة أثناء الحصاد أو أثناء عملية التجفيف.

٢- سقوط أمطار غزيرة أثناء موسم التجفيف.

٣- استخدام فاكهة غير ناضجة أو فاكهة تعرضت للفساد أثناء الحصاد.

وقد لوحظ أن العامل الأخير كان له أهمية كبيرة في فساد التين والبلح المجفف وإن كان بعض الباحثون يروا أن الفساد يحدث في أصناف من البلح والتمور

ولا يحدث في أصناف أخرى. وعموماً إذا كانت الفاكهة الطازجة نظيفة وخالية من الإصابة عند تجفيفها فيجب أن تظل على هذه الحالة بعد إزالة الماء منها ولكن هذا ليس دائماً حقيقة عند التجفيف في حرارة الشمس.

والخميرة التي يمكن أن تسبب فساد الفاكهة المجففة لابد وأن تكون متحملة لتركيزات عالية من السكر أو متحملة للضغط الأسموزي. وعموماً فإن فساد الفاكهة المجففة غالباً ما يكون مصحوباً بحموضة ورائحة نفاذة و/ أو إنتاج غاز. وتتكون في بعض الحالات جيوب في الفاكهة ويتجمع فيها الغاز كما يحدث في الكريز المجفف. وقد تم دراسة تكون غلاف أبيض يشبه السكر على البرقوق والتين المجففان ولوحظ أن هذا الغلاف يتكون من خلايا خميرة وبلورات من السكر. ولكن باحثون آخرون ذكروا أن تكون هذا الغلاف لا يعتبر فساد بصفة عامة على الرغم من أنه ناتج من وجود الخميرة. ويمكن الوصول إلى ثبات الفاكهة الجافة أثناء التخزين باتباع تقنية متقدمة في التعبئة. أما الفاكهة التي تحتوي على مستوى عالي نسبيا من الماء مثل الخوخ المحتوي على ٣٥٪ ماء فإنها تتعرض للفساد إذا لم يتم بسترتها أو معاملتها بمواد حافظة.

(٢, ٤, ٦) الخضراوات Vegetables

ذكرت الدراسات وجود عدد كبير من الخمائر (حوالي ١٠/ جرام في بعض الحالات) في عدد من الخضراوات والتي شملت رؤوس الكرنب وبراعم الفاصوليا ورؤوس الخس والكرات و الجزر والقرنبيط. وجدت زيادة في أعداد الخميرة وصلت

إلى ١٠^ / جرام عند تخزين الكرنب . ولكن وبصفة عامة فإن الأبحاث المتاحة غير كافية لتوضيح دور الخميرة في فقد جودة هذه الخضراوات على افتراض أن لها دور في ذلك.

(٦،٤،٢،١) الخضراوات المملحة Brined vegetables

إن الفساد الذي تحدثه الخميرة في المجموعة الرئيسية من الخضراوات المملحة يجب أن يؤخذ في الاعتبار في سياق الكلام عن التخمر المقصود به إطالة العمر التخزيني لهذه المنتجات. وعدم الثبات التقليدي لهذا النظام الحيوي الصناعي قد شغل الإنسان على مدى آلاف السنين من أجل الوصول إلى منتجات نباتية لها عمر تخزيني طويل. فالخضراوات مثل الكرنب أو الخضراوات المختلطة مثل منتج الكيميشي (مخلل إندونيسي يتكون من خليط من الخضراوات) والثمار مثل الخيار والزيتون والزنجبيل تخلط بالملح في صورة بلورات أو محلول ملحي وتترك للتخمر.

ويقوم الملح باستخلاص سوائل من الخلايا حيث تقوم هذه السوائل بدعم النمو المتتالي للميكروبات بشرط أن لا تحتوي المواد النباتية على مثبطات للنمو. فعلى سبيل المثال فإن الزيتون الأخضر يحتوي على مادة الـ Oleuropein التي تثبط نمو بكتيريا حامض اللاكتيك. وبصفة عامة فإن البكتيريا التي توجد بشكل شائع في المخلل والكيميشي هي الأنواع السالبة لجرام الهوائية واللاهوائية اختياراً مثل *Enterococcus* spp و *Leuconostoc mesenteroides* و *Lactobacillus brevis* و *Pediococcus pentosaceus* و *Lactobacillus plantarum* . وفي أنواع أخرى من المخلل

المتكون من شرائح الكرنب والمنتج في إندونيسيا تشترك الخمائر *Candida sake* و *Candida guilliermondii* مع بكتيريا اللاكتوبسيلاي Lactobacilli والبكتيريا *Bacillus* spp في عملية التخمر. ومن الناحية العملية فإن هناك عوامل كثيرة وخصوصاً نوع الخضراوات وتركيز الملح ودرجة الحرارة و السعة التنظيمية للمحلول الملحي سوف تحدد المدة ومن ثم مدى مساهمة أنواع بكتيريا حامض اللاكتيك في عملية التخمر. ولذلك فإن التخمر الناجح يعتمد على الاختيار المناسب لمجموعة البكتيريا والتي تعمل بشكل متتابع أو متسلسل بحيث تؤدي إلى زيادة في تراكم حامض اللاكتيك وبدرجة أقل تراكم حامض الخليك. وهناك مجموعة مكثفة من الأبحاث استقرت على أن البكتيريا *Lactobacillus plantarum* هي التي يجب أن تكون موجودة في المحطة الأخيرة لهذا التسلسل.

ولم يعد هناك شك في أن الخميرة هي المسئولة عن "التخمر الثانوي" والذي يسود للأسف عندما تتوفر المواد القابلة للتخمر في الوقت الذي يكون الحامض المنتج له تأثير مثبط لنمو البكتيريا. وقد أظهرت دراسات مكثفة على الخيار وجود الخمائر *Candida holmii* و *Candida versatilis* و *Candida lactis-condensi* و *Hansenula subpelliculosa* و *Hansenula anomala* و *Torulaspora delbrueckii* و *Zygosacch. rouxii* . وقد لاحظ العلماء أن هناك تتابع في سيادة أنواع الخميرة فمثلا الخميرة *Candida holmii* يمكن أن تسود خلال ٢-٣٠ يوماً من بداية التخمر والخمائر *Torulaspora delbrueckii* و *Hansenula subpelliculosa* و *Zygosacch. Rouxii* تسود في المرحلة الوسطية أما الخميرة *Candida versatilis* فقد وجد أنها تسود بعد ٧٠-١١٠

يوم من بداية التخمر. وفي الحقيقة أن النوع الأخير تم عزلة من مخللات ملحية خزنت لمدة ١٢-١٤ شهر. كما أن تخمر أنواع معينة من الزيتون مثل النوع المسمى مانزانيلو Manzanillo olives يمكن أن تسود فيه الخمائر في حالة تعرف بتوقف التخمر Stuck fermentation أي توقف التخمر بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك فلا يكتمل التخمر بسبب وجود أي مواد سامة أو أي تأثيرات أخرى. طبيعة هذا النوع من الزيتون أنه لا يحتوي على نسبة كبيرة من المواد الكربوهيدراتية القابلة للتخمر، حيث يفقد كثير من الكربوهيدرات من الثمار الطازجة أثناء مراحل الغسيل المختلفة. وإضافة السكر إلى هذا النوع من الزيتون يزيد من تفاقم المشكلة و لا يكون هناك حل إلا بإزالة المحلول الملحي غير العادي أو الملوث واستبداله بمحلول آخر سبق تلقيحه بكمية كبيرة من بكتيريا التخمر.

بالنسبة لريزومات الزنجبيل فإنها تخزن في محلول ملحي (٧-٩٪) محمض له درجة pH تتراوح من ٣ إلى ٣.٥ مما لا يسمح بنمو بكتيريا حامض اللاكتيك. لكن المشكلة أن كثير من الخمائر التي لها نشاط تخمري شديد يمكن أن تنمو في خلال الستة عشر يوماً الأولى تحت هذه الظروف مسببة تخمر غير مرغوب فيه. وقد تم عزل عدد كبير من الخمائر من الزنجبيل المحفوظ في محلول ملحي مثل *Candida tropicalis* و *C. rugosa* و *C. hrusei* و *Pichia ohmeri* و *H. anomala* وقد وجد أن بعض من هذه الخمائر يسود في بداية التخمر والبعض الآخر يسود في نهاية التخمر. وقد حاول العلماء أن يحصلوا على أية ميزة من التخمر الذي تحدثه الخميرة للزنجبيل ولكن لم يلاحظوا

أي ميزة وإنما تحدث تغيرات غير مرغوبة في الطعم وفي بناء الأنسجة ولم يتم تجنب هذه التغيرات غير المرغوبة إلا عندما تم منع نمو الخميرة بواسطة الكبريتيت.

بالنسبة للقرنبيط المخلل (تمليح جاف)، فقد وجد أن حبوب الخردل المضافة تساهم في عملية الحفظ حيث أنها تنشط نمو بكتيريا حامض اللاكتيك على حساب الخميرة التي تسبب الفساد عن طريق النمو على أسطح المنتج. هذه الظاهرة لوحظت أيضاً في مخلل الكرنب واللفت والخيار ، مما يوضح أن الخردل له نشاط حفظي اختياري. وربما يعود تنشيط بكتيريا حامض اللاكتيك إلى إضافة كميات ضئيلة جداً (أثر) من المعادن خصوصاً أيونات المنجنيز بالإضافة إلى بعض المواد المضادة للخميرة التي توجد في الخردل.

وبالنسبة لمخلل المانجو وهو عبارة عن شرائح من المانجو الخضراء غير المكتملة النضج وملح وتوابل فقد وجدت فيه الخمائر *Candida krusei* و *Kloeckera apiculata* و *Hansenula subpelliculosa* و *Zygosaccharomyces bailii* و *Saccharomyces cerevisiae* وأحدثت هذه الخمائر فساد تخمري في مرحلة نضج المخلل. كما أن نمو الخميرة *Candida krusei* على سطح الزيت الذي يغطي منتجات مخلل المانجو يعتبر أيضاً مشكلة فساد .

أما بالنسبة للأبحاث الخاصة بمساهمة الخمائر في بقية الصفات الخاصة بتغيير تركيب الخضراوات المكونة للأنواع المختلفة من المخلل فالحقيقة أنها ما زالت مهملة، ولا يوجد في المراجع ما يؤكد أن الخميرة تلعب أدوار أخرى غير التي ذكرت مما جعل بعض العلماء يقررون أن تلوث مخلل الخضراوات بالخميرة هو أمر شائع وإذا لم يصل

مستوى تلوث هذه الخضراوات إلى تكوين غشاء سميك من الخميرة فقد يكون غير ضار.

بالنسبة للفساد الذي تحدثه الخميرة في مخلل الخضراوات فهو قد يكون إنتاج غازات من المواد الكربوهيدراتية وإنتاج صبغات وتصنيع إنزيمات البكتين أو إنزيمات أخرى تحلل المواد النباتية . وكمثال على سبب الفساد الناتج من تكون الغاز هو توقف التخمر المرغوب بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك. وتوقف التخمر كما سبق مناقشته في الفصل الثاني ينتج عنه عدم اكتمال إزالة المواد الكربوهيدراتية أثناء التخمر مما يتيح للخميرة الفرصة لكي تنمو وتكون غازات و عكارة ، وهذه المشكلة تظهر بوضوح في الخيار. ويختلف انتشار الغازات الناتجة في المحلول من غاز إلى آخر. فالنيتروجين وهو أكثر الغازات سيادة في أنسجة الخضراوات ينتشر ببطئ. من ناحية أخرى فإن ثاني أكسيد الكربون ينتشر بسرعة لدرجة أنه يسبب ضغط عالي فتتكون جيوب من الغازات في ثمار الخيار. وعلى ذلك فإن الخميرة التي تنتج غاز ثاني أكسيد الكربون في المخلل تم إدراجها ضمن خمائر الفساد.

ولكن مشكلة تكوين جيوب في ثمار الخضراوات أصبحت تاريخ بعد ظهور تكنولوجيا التطهير بالنيتروجين. إن كان الضرر الناتج عن نمو الخميرة لا يتعدى إنتاجها لغاز ثاني أكسيد الكربون فلم يعد ذلك أمراً ضاراً ولم تعد مثل هذه الخمائر ضمن مفسدات مخلل الخضراوات، بل إن ظهور هذه التكنولوجيا أدى إلى ظهور دراسات على استخدام مزرعة مختلطة من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* والبكتيريا *Lactobacillus plantarum* كبادئ لصناعة المخلل. إن استخدام هذه المزرعة

المختلطة أدى إلى اختصار الوقت اللازم للوصول إلى تخمر كامل للمواد الكربوهيدراتية القابلة للتخمر. ومما لا شك فيه أن غياب المواد الكربوهيدراتية سوف يمنع نمو خمائر الفساد الأخرى في المواد المعبأة. بالإضافة إلى ذلك فإن المزرعة المختلطة توفر فرصة لإنتاج منتج منخفض الحموضة والذي قد يكون له نكهة محببة وذلك بسبب نمو الخميرة.

وبالنسبة لظهور ما يعرف بعين السمكة Fish-eye في مخلل الزيتون فقد وجد أن يتسبب عن عدد من الخمائر من ضمنها الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. هذه المشكلة التي تظهر في الزيتون سببها أن المنتجين يخفضون مستوى الملح بشكل كبير وقد يستخدمون أحماض معدنية بدلاً من حامض اللاكتيك أو الخليك كمادة لخفض الـ pH. هذه الظروف تؤدي إلى نمو سريع للخمائر ونتيجة ذلك ينتج غاز ثاني أكسيد الكربون بمعدل يفوق انتشاره في الوسط فتتكون جيوب في الثمار مليئة بالغاز.

من ناحية أخرى فإن كثير من الأعمال قد درست ظاهرة تكون اللون الوردي في بعض أنواع المخلل. وهناك شبه إجماع عام على أن الخميرة (غير محددة) ذات النشاط التأكسدي أي التي تقوم بتفاعلات أكسدة هي المتورطة في هذه الظاهرة. كما أن هناك أيضا إجماع على أن نمو هذه الخمائر ينشط في درجات الحرارة المرتفعة وفي تركيزات الملح المرتفعة ونتيجة تعرض الخضراوات إلى الهواء. وعلى أية حال فإن هذه الظاهرة ما زالت إلى الآن تحتاج لمزيد من الدراسة وخصوصاً فيما يتعلق بتعريف الخمائر المتسببة.

أما بالنسبة لطراوة أو ليونة الخضراوات المخللة فإن هذا يرجع أيضاً لوجود الخميرة لأن هناك كثير من الخمائر تنتج إنزيمات محللة للمواد النباتية. وقد تم حصر كثير من هذه الخمائر التي تنمو على سطح المحلول الملحي وتسبب ليونة الزيتون الأخضر الأسباني وهي *Rhodotorula glutinis* و *Rhodotorula anomala* و *Rhodotorula rubra* كذلك فإن الخمائر *Saccharomyces* cerevisiae و *Saccharomyces* kluyveri تسبب ليونة للزيتون المخزن في محلول منخفض الملوحة (٣-٤٪) . فقد وجد أن كلا الخميرتان تنتجان إنزيمات الـ pectin estrases و Polygalacturonase (هذه الإنزيمات أيضا تسبب تدهور في ثبات عكارة أو اللون الداكن في منتجات البرتقال). وبالنسبة للمنتج المسمى كوخو Kocho وهو عبارة عن منتج متخمر ينتج عن طريق طحن بعض النباتات ويغلف في ورق خاص ويدفن تحت الأرض. فإذا لم تتم المحافظة على الظروف غير الهوائية في الحفرة فإن سطح الكوخو يصبح طري ولزج ويفقد لونه. وهذا يرجع إلى نمو الخميرة *Trichosporon* sp. وسوف يكون من المهم دراسة ما إذا كانت هذه الخميرة تنتج إنزيمات محللة للسليلوز وأخرى هادمة لسكريات الزيلان .

الخضراوات المخللة Pickled vegetables

منذ سنة ١٩٥٨م عرفت الخمائر *Zygosaccharomyces bailii* و Pichia membranaefaciens على أنها تسبب فساد للخضراوات المحفوظة عن طريق حامض الخليك مثل مخلل البصل وجذور البنجر والكرنب الأحمر. ومظاهر الفساد هي تكون

غاز مصحوب برائحة الكبريت أو رائحة الخميرة . وعندما تفسد في الخضراوات المحفوظة في سائل رائق تتكون رواسب لها قوام يشبه الكريمة ولونها بني.

الخضراوات المجمدة Frozen vegetables

من الحقائق المعروفة أن هناك بعض الخمائر يمكن أن تنمو على الخضراوات المحفوظة على درجة حرارة أقل من الصفر المئوي، بل إن بعض العلماء مثل Collins و Buick (١٩٨٩م) وجدوا أن الخميرة Rh. glutinis تنمو ببطء على البازلاء المحفوظة على درجة حرارة سالب ١٨°م وتسبب تغيرات كيماوية في هذه الخضراوات. ففي هذه التجربة تم تلقيح البازلاء بهذا النوع من الخميرة ثم مراقبة إمكانية نمو الخميرة وزيادة عددها ومدى التغيير الذي تحدثه وذلك على درجة حرارة سالب ١٨°م. وقد وجد أن عدد الخميرة ازداد بنحو عشرة أضعاف عدد خلايا اللقاح خلال ٢٨ أسبوع من التخزين على هذه الدرجة . كما وجد أن ٢٥٪ من المواد الكربوهيدراتية في البازلاء (غالباً سكروز) قد فقدت في نهاية فترة التخزين ، كما وجد أن كميات صغيرة جداً من الإيثانول والبروبانول والبنتانول قد تجمعت في الفراغ أعلى سطح البازلاء وذلك خلال الأسبوع الأول من التخزين.

السلاطات الجاهزة للاستخدام Ready-to-use salads

هناك مناقشات كثيرة دارت حول فساد بعض أنواع السلاطة الجاهزة مثل المايونيز. وطبيعة الميكروبات التي تصيب هذه المواد هي التي تحدد طول عمر التخزين

ومدى التغيرات التي تحدث لهذه المواد. ويظن البعض أن تغليف السلاطة الخضراء في أغشية مرنة لها معدلات نفاذية لانتشار الأكسجين وثاني أكسيد الكربون هو الذي يخلق نظام نمو حيوي داخل السلاطة . ومما لاشك فيه أن عدد الميكروبات الموجود في السلاطة الخضراء المغلفة يزداد عن طريق التداول غير السليم وأثناء إعداده ا. وقد وجد أن الملوثات السائدة هي البكتيريا وخصوصاً *Pseudomonas* و *Erwinia* والتي هي أصلاً من التربة . كما وجد أن البكتيريا *Lactobacillus* spp كانت هي الملوث الأكثر أهمية في السلاطة المخزنة وخصوصاً تلك المخزنة تحت تفريغ أو المخزنة عند درجة حرارة غير مناسبة. وفي دراسة أجراها Brocklehurst وآخرون (١٩٨٧م) وجد أن عدد الخمائر في السلاطة موضع الاختبار ، أقل قليلاً من عدد بكتيريا حامض اللاكتيك . ولكن في معظم الحالات فإن عدد هاتان المجموعتان من الميكروبات قد يكون متساو (حوالي ١٠^٦ جرام) وذلك بعد تخزين السلاطة على درجة حرارة ١٠°م لمدة ٧-١٤ يوماً .

هؤلاء الباحثون خلصوا إلى أن بكتيريا حامض اللاكتيك هي الميكروب الرئيسي المسبب لفساد السلاطة. ولكن بالنظر إلى عدد الخمائر الذي وجد في السلاطة المصابة والذي يمكن مقارنته بعدد بكتيريا حامض اللاكتيك فإن هناك احتمال لوجود علاقة تعاونية بين بكتيريا حامض اللاكتيك والخمائر في إحداث الفساد. ولكن سيبقى الحكم النهائي على ذلك مرتبطاً بوجود مزيد من الدراسة .

(٥,٦) فساد الحليب ومنتجات الألبان Spoilage of milk and dairy products

عادة ما تتأقلم الخميرة بدرجة كبيرة للمعيشة مع بكتيريا حامض اللاكتيك التي قد يكون لها السيادة في المنتجات اللبنية، أو قد تنموان معاً بشكل مكثف. وقد لوحظ في أبحاث كثيرة أن هناك ظروف نمو جيدة توفرها بكتيريا حامض اللاكتيك للخميرة بما تحدثه من تغير في رقم الـ pH . كما لوحظ أن الخميرة أيضاً قد تساعد في زيادة حيوية بكتيريا حامض اللاكتيك على النمو عن طريق إنتاجها للفيتامينات والإنزيمات والأحماض الأمينية..الخ. ومن جهة أخرى فإن هناك أيضاً أبحاث توضح أن الخميرة قد تتسيد بكتيريا حامض اللاكتيك عندما يتواجدان معاً في وسط واحد .

إن الحليب الطازج له قابلية شديدة للفساد على الرغم من أنه يحتوي على مواد مضادة للميكروبات مثل Agglutinins و Lactoferrin و Lysozyme و Lactoperoxidase. وغالباً ما يكون سبب فساد الحليب غير المبستر خصوصاً في الدول النامية هو نظام العمل في المزرعة وطرق نقل الحليب من مكان الإنتاج إلى مكان التصنيع . فكثيرا ما تحدث حموضة الحليب نتيجة نمو بكتيريا حامض اللاكتيك وخصوصاً البكتيريا *Lactococcus raffinolactis* وذلك قبل تبريد الحليب وأثناء نقله. واليوم فإن سلسلة تبريد الحليب من المزرعة إلى المصنع وحتى وصوله إلى المستهلك، جعل البكتيريا المحبة للبرودة وهي بكتيريا *Pseudomona fragi* تسود الميكروبات الأخرى في الحليب غير المبستر. كما أن الإنزيمات المحللة للدهون والمحللة للبروتين الثابتة لدرجات الحرارة المرتفعة تنتجها هذه الميكروبات عند عملية البسترة . هذه البكتيريا المحبة للبرودة وغير المخمرة لسكر اللاكتوز لا تساعد على نمو الخميرة لأنها لا تجعل الحليب

يتحمض. وإلى حد ما يمكن القول أن الخميرة نادراً ما تؤدي إلى فساد الحليب حيث يمكن القول أن سلسلة التبريد السابق ذكرها قد أنهت المشاكل التقليدية المصاحبة لوجود الخميرة في اللبن .

ولكن في حالات كثيرة فإن أنواع معينة من الخميرة تكون غير مرغوب فيها بالنسبة للمنتجات اللبنية. فكما هو شائع فإن المنتجات اللبنية تكون بيئة مفضلة لنمو الخمائر بسبب انخفاض رقم الـ pH في هذه المنتجات. كما أن الخميرة لها القدرة على النمو في درجات الحرارة المنخفضة. وبالتالي فإن كثير من الخمائر تسبب فساد المنتجات اللبنية رغم أن كثير منها لا تستطيع تمثيل سكر اللاكتوز ولكن وجود بكتيريا حامض اللاكتيك يحل هذه المشكلة بالنسبة لهذه الخمائر. وقد أشار Wood سنة ١٩٩٨م إلى أن الخمائر التي تسبب فساد المنتجات اللبنية بصفة عامة تتبع الأجناس، *Candida* ، *Debaryomyces* ، *Mycoderma*، *Saccharomyces* ، و*Rhodotorula* ، فقد وجد أن بعض أنواع من جنس *Rhodotorula* تنتج ألوان في المنتجات اللبنية وتكسبها الطعم المر، كما وجد أن *Candida sphaerica* تنتج غازات في المنتجات اللبنية. كما أن زياد عدد الخمائر في المنتجات اللبنية تعطيها طعم الخمائر .

وبالنسبة للخمائر التابعة للجنس *Mycoderma* فهي لا تخمر المواد الكربوهيدراتية ولكنها تؤكسد الإيثانول المتكون بواسطة خمائر أخرى إلى حامض كما أنها تحلل حامض اللاكتيك إلى ثاني أكسيد الكربون والماء. ولذلك فإن نموها على سطح الجبن الطري يسبب فسادها.

وقد قام بعض العاملون منذ زمن طويل في هذا المجال بعمل حصر للخمائر التي تسبب فساد المنتجات اللبنية. وبناء على المعلومات المتاحة فإن هذه الخمائر يمكن وضعها في أقسام كما يلي :

١- القسم الأول: الخمائر *Candida diffluens* و *Candida famata* هي الأنواع الرئيسية لتلوث الحليب المبستر

٢- القسم الثاني : الخمائر *Rh. glutinis* و *Rh. rubra* توجدان في المنتجات اللبنية المعتمدة على دهون اللبن.

٣- القسم الثالث : وهو عبارة عن أنواع تنتمي إلى اثنتا عشر جنساً من الخميرة توجد في الجبن الخام والجبن المضاف إليها قشدة والزبادي.

ولكن الدراسات الحديثة تناقض إلى حد ما تلك المعلومات فعلى سبيل المثال لم يمكن التأكد إلا من وجود أنواع ممثلة لخمسة أجناس من الإثنا عشر جنس الذين ذكروا في القسم الثالث، ويوجد ثلاث تفسيرات لهذا التناقض وهي :

١- أن التكنولوجيا المتبعة في الحصر القديم قد تكون غير حساسة بالدرجة التي تفرق فيها جيداً بين أنواع الخميرة .

٢- أن وجود عدد كبير من الأجناس قد يكون سببه تلوث الأجهزة والتي تكون مصدر هام في تلوث المنتجات اللبنية معقدة التصنيع مثل الجبن .

٣- أن إضافة مواد غير لبنية إلى منتجات الألبان قد تجلب معها أنواع مختلفة من الخمائر .

وهناك نجاح بسيط صاحب المحاولات التي أجريت لعزل الخمائر من عينات الحليب التي تعرضت للبسترة في المعمل باستخدام درجات حرارة مختلفة. والحقيقة أن ما تم الوصل إليه هو خميرة غير محددة الاسم وجدت بنسبة ضئيلة جداً في الحليب الذي تعرض لدرجة حرارة ٦٣°م لمدة نصف ساعة. وربما كانت أيدي عمال المصانع هي مصدر هذه الخميرة .

وعلى العموم فإن أقصى ضرر أمكن توثيقه من وجود الخميرة في الحليب هي أنها قد تشترك مع البكتيريا المحبة للبرودة في تقصير عمر تخزين الحليب، حيث أثبتت التجارب أن الحليب الطازج ، قد يحتوي على حوالي ١٠ خلايا فقط/ مل في يوم الإنتاج، ولكن بعد ١٠ أيام من التخزين على درجة حرارة ٧°م يصل عدد الخميرة إلى ٩.٢ × ١٠^٦/ مل.

(٦,٥,١) القشدة Creams

إن المنتجات التي تحتوي على بعض الأحماض تكون مناسبة لنمو الخميرة. وبالنسبة للقشدة المعدة لصناعة الزبد توجد مشكلة وخصوصاً في خلال أشهر الصيف وذلك بسبب نمو الخمائر *Candida kefyr* و *Kluyveromyces marxianus* var lactis وتخميرها لسكر اللاكتوز مما يؤدي إلى رائحة كريهة في القشدة مع إنتاج غاز. وتشترك بكتيريا حامض اللاكتيك في الفساد عن طريق إنتاجها لكميات من الحامض والتي تؤدي إلى تخثر الكازين. ولكن على أية حال فإن فساد القشدة بواسطة الخميرة لم يعد مشكلة بالنسبة للمصانع الكبرى التي تتبع تكنولوجيا متقدمة وتراعي النواحي

الصحية والتحكم الجيد في درجات الحرارة. وما زال هناك تضارب في النتائج المتعلقة بحدوث فساد القشدة بواسطة الخميرة ولكن يمكن القول أن نسبة فساد القشدة بواسطة الخميرة بصفة عامة لا تتعدى ٥٪ وأن القشدة المحتوية على سكروز تفسد بواسطة البكتيريا في حين تنشط الخميرة (غير محددة) في القشدة الحامضية Sour cream ويصل عددها إلى أكثر من ١٠/ مل مسببة طعم ورائحة غير مقبولة. كذلك فإن تلوث القشدة بواسطة الخميرة *Rhodotorula mucilaginosa* قد يكون هو السبب في الطعم المر الذي يوجد في القشدة الفاسدة .

(٦,٥,٢) الحليب المحلى المركز Sweetened condensed milk

الحليب المحلى المركز هو لبن يحتوي على نسبة رطوبة معينة ويخزن لفترات طويلة. وأثناء التصنيع فإن الحليب يسخن لمدة ١٠–٣٠ دقيقة على درجة حرارة ٨٢–١٨٨°م ويضاف إليه شراب السكروز ٦٥٪ (وزن/ حجم) وذلك قبل أن تتم إزالة الماء عن طريق التبخير تحت تفريغ على درجة حرارة ٤٩–٥٧°م. بعد ذلك تتم عملية تحويل اللاكتوز في الحليب إلى بلورات وذلك عن طريق الرج العنيف لمدة ساعة ثم يعبأ المنتج النهائي في صفائح معقمة باستخدام الغاز. يتضح من هذه الفكرة العامة والمختصرة عن طريقة التصنيع أن هناك فرص عديدة لحدوث التلوث والذي قد يكون مصدره الهواء أو الأجهزة المستخدمة إذا لم تتخذ الإجراءات اللازمة لتنفيذ طرق تصنيع جيدة. أما إذا حدث تلوث بالخمائر *Candida globosa* و *Candida lactis-condensi* فينتج عن ذلك تشوه في شكل الصفيحة ويصبح الحليب ذو رغوة شديدة.

ومن المعروف أن كل من هاتين الخميرتين لهما المقدرة على تخمير تركيزات عالية من السكروز مع إنتاج غاز. وربما يتذكر القارئ أن هاتين الخميرتين كما ورد سابقاً هما من الملوثات الشائعة في السكر والشرابات وعينات التكرير. ولذلك فإنه من المهم أن يعرف المنتجون أن هذه الخمائر سوف تتكيف لتنمو وتعيش في الوسط والأجهزة التي تحتوي على سكر.

(٣, ٥, ٦) الجبن Cheese

إن الدراسات الميكروبيولوجية القديمة أظهرت أن الجبن القريش وهي إحدى أبسط أشكال الجبن الموجودة في الأسواق يحدث لها فساد عن طريق الخمائر. وقد عرف منذ مدة طويلة نسبياً أن نمو الخمائر على الجبن القريش يسبب تغير في لونها ويسبب تخمر لسكر اللاكتوز وتفقد الجبن رائحتها الطبيعية وتكتسب رائحة الخميرة. وفقدان الجبن لرائحتها يعود إلى تحلل مادة الـ Acetylmethylcarbinol بواسطة الخميرة. (تحلل هذه المادة يحدث أيضاً عندما تتلوث الزبدة بالخمائر). وتعتبر الخمائر *Rh. rubra* و *Candida famata* هي أكثر الخمائر شيوعاً في تغيير لون الجبن، حيث تقوم الخميرة الأولى بإنتاج بقع ذات لون وردي فاتح على سطح الجبن، والتي تتطور إلى بقع وردية لزجة بعد ذلك. أما الخميرة *Candida famata* وهي من أكثر الخمائر تواجداً في معظم المنتجات اللبنية فتنتج أيضا بقع صفراء لزجة على سطح الجبن الملوثة. وقد ذكر Fleet (١٩٩٠م) أن تلوث الجبن القريش وربما بقية أنواع الجبن غير الناضجة بعدد من الخميرة يتراوح من ١٠٢ إلى ١٠٦/ جرام، يجعل هذه الخمائر قادرة على إحداث الفساد

حتى أثناء تخزين هذه الجبن في الثلاجة. هذا النمو في الثلاجة ينتج عنه غازات ورائحة كريهة وطعم غير مقبول ويمكن رؤية مستعمرات الخميرة النامية على سطح الجبن بالعين المجردة. هذه المظاهر من فساد الجبن تسببها مجموعة كبيرة من الخمائر وأهمها *Candida lipolytica* و *Candida valida* و *Cryptococcus laurentii* و *Kluyveromyces marxianus* و *Sporobolomyces roseus*. ومن المفروض أن تكون الجبن القريش خالية من الخمائر بسبب المعاملة الحرارية التي تحدث مرتين أثناء تصنيعها، الأولى هي بسترة الحليب والثانية هي طبخ الخثرة المتكونة (٤٠-٦٠°م لمدة ١.٥-٢ ساعة). ولذلك فإن مصدر تلوث الجبن القريش قد يكون عدم اتباع طرق صحية صحيحة أثناء التصنيع أو قد تكون الأجهزة المستخدمة هي مصدر التلوث أو قد يكون الماء المستخدم في غسيل الخثرة هو مصدر التلوث. كما قد يكون إضافة بعض الخضراوات إلى بعض أنواع الجبن هو مصدر لعدد قليل من الخمائر.

وأكثر من ٥٠٪ من الجبن القريش المنتج في المملكة المتحدة يضاف إليه خضراوات أو فاكهة أو لحوم أو أسماك. وهذه الأنواع المختلفة من الجبن تكون بيئة جيدة لنمو أنواع كثيرة من الخمائر حتى أثناء التخزين على درجة حرارة منخفضة. ففي ٢٨ عينة تم تجميعها من ثلاث مصانع في المملكة المتحدة لهذه الأنواع من الجبن وجدت خمائر تنتمي إلى الجنس *Candida* في ١٥ عينة وخمائر الجنس *Cryptococcus* في ١٠ عينات وخمائر الجنس Pichia في عينتين، وخمائر الجنس *Sporobolomyces* في عينة واحدة . ومن كل هذه الخمائر كانت الخميرة *Pichia onychis* هي الوحيدة التي لها قدرة تخميرية. أي أن انتشار الخمائر ذات النشاط التخمري غير شائع بدرجة كبيرة في أنواع

الجبن القريش المدعمة بالخضراوات أو غيرها من المواد الغذائية. في حين أن هذه الخمائر تسود في الزبادي المدعم بمثل هذه المواد غير اللبنية . ويتراوح عدد الخمائر في الجبن المدعمة من ١٠٠ إلى ١.٢٦ × ١٠/ جرام. ففي العينات التي أخذت مباشرة من المصنع كان العدد الأولي للخميرة منخفض جداً ولم يتعدى ١٠٠ خلية/ جرام ولكن بعد التخزين إلى درجة حرارة ٧°م أخذت معظم الخمائر في النمو .

وبصفة عامة يبدأ نمو الخمائر المختلفة على الجبن من اليوم الرابع للتخزين ولكن نادراً ما يصل عدد الخمائر إلى أن يتساوى مع عدد البكتيريا .

أما بالنسبة للجبن الجاف فإن طرق التصنيع غير الصحية قد تؤدي إلى تلوث الجبن بالخمائر التي تخمر سكر اللاكتوز مثل الخميرة *Candida kefyr*. ونمو مثل هذه الخمائر مع التخمر المنتج للغازات قد يؤدي إلى تطور رائحة غير مقبولة وفقاعات غازية في الجبن التشيدر والجبن السويسري . كذلك فإن هناك خمائر غير محددة الاسم قد تسبب روائح تشبه رائحة الفاكهة أو رائحة الخميرة في كثير من الجبن الهولندي وخصوصاً تلك المصنعة من الحليب الخام. كما أن هناك أيضاً خمائر غير محددة الاسم تسبب انتفاخ للجبن الفيتا المصنع من لبن الأغنام. وعلى أي حال فإن هذه المشاكل غالباً ما تكون مرتبطة بها بالجبن "زائدة السكر عند تعبئتها في الصفائح". بمعنى آخر فإن فشل بكتيريا حامض اللاكتيك في استهلاك كل سكر اللاكتوز الموجود أثناء تصنيع الجبن يترك فرصة لنمو الخمائر على بقايا هذا السكر وإحداث التلوث.

وفي دراسة حديثة على الجبن الإيطالي الطرية اتضح أن الخمائر *Candida humicola* و *Kl. marxianus* var. marxianus و *Kl. marxianus* var. lactis و *Candida*

krusei و *Deb. hansenii* و *Rh. rubra* توجد في الغلاف الجوي للمصنع وعلى أسطح أماكن العمل وفي المحاليل وعلى أسطح الجبن المنتجة ولكن أكثر الخمائر تواجداً في كل المواقع السابق ذكرها كانت هي الخميرة *Candida humicola*، كما أن أكثر خميرة وجوداً في المحاليل كانت هي الخميرة *Deb. hansenii*. ومن الممكن أن يكون مصدر الخميرتان الأخيرتان هو أيدي العمال الذين يعملون في هذه المصانع. ومن الشائع أن مصدر تلوث الشرش المعامل حرارياً هو الغلاف الجوي للمصنع و أيدي العمال. وعلى ضوء هذه الدراسات الخاصة بمصادر التلوث فليس من المستغرب أن تحتوي مختلف أنواع الجبن الجافة على عدد من الخمائر يصل إلى ١٠/ ١٠ جرام وربما أكثر.

وقد عزلت الخمائر *Debaryomyces hansenii*, وسلالات من الخميرة *Kluyveromyces marxianus* وبدرجة أقل الخميرة *Pichia* spp والخميرة *Saccharomyces cerevisiae* من الجبن الروكفورت والكامبرت والكابرالس. وفي هذه الحالة فإن هذه الخمائر ربما تساهم في بناء خواص جيدة لهذه الجبن على شرط أن لا يكون نموها زائداً عن الحد وأن تنمو في المرحلة المناسبة من عملية التصنيع. والخواص المميزة المقصودة هنا هو أن نمو هذه الخمائر بالدرجة المعتدلة سوف ينتج عنه تخمر سكر اللاكتوز وينتج عن ذلك غاز ثاني أكسيد الكربون في خلال الأيام القليلة الأولى لعملية إنضاج الجبن الركفورت وهذا ينتج عنه ثقوب صغيرة في قوالب الجبن وهذه الثقوب مميزة لهذا النوع من الجبن ومن فوائدها أنها تساعد على تغلغل فطر *Penicillium roqueforti* (المستخدم في صناعة هذه الجبن) إلى داخل قوالب الجبن. إلا أنه ومن ناحية أخرى فإن إنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون بشكل غزير يؤدي إلى تضخم هذه الثقوب وبالتالي

انتفاخ في الجبن ويعتبر ذلك أحد أخطاء التصنيع. وعلى ذلك فإن وجود هذه الخمائر بالدرجة المعقولة لا يسبب فساد لها عند التخزين تحت الظروف العادية. ولكن إذا كانت هذه الجبن سوف تستخدم في إنتاج أنواع أخرى من الأغذية فمن المحتمل ظهور الفساد، فعلى سبيل المثال فإن هذه الخمائر تنمو على سطح البيتزا التي تدخل هذه الجبن في تصنيعها إذا لم تخزن جيداً.

(٦,٥,٤) الألبان المتخمرة Fermented milks

تنتشر أنواع متعددة من الألبان المتخمرة في أوروبا والشرق الأوسط وأفريقيا . وتستخدم بكتيريا حامض اللاكتيك المحبة للحرارة المتوسطة والمحبة للحرارة المرتفعة في تخمير اللاكتوز في إنتاج هذه الألبان التي تتميز بقيمة غذائية عالية وطعم محبب. وفي بعض الحالات تشارك الخمائر أيضاً في إنتاج عدد من أنواع الألبان المتخمرة وفي حالات أخرى فإن الخمائر تساعد في أن تفقد هذه الأغذية صفاتها المرغوبة . وهكذا فإن نمو الخميرة (غير محددة) في زبد الحليب يؤدي إلى فقد النكهة والمواد الأروماتية نتيجة لتحلل مادة الـ Acetylmethylcarbinol .

وقد كان هناك جدل كبير بين العلماء منذ زمن طويل حول دور الخميرة في تخمر الزبادي. وكانت خلاصة الدراسات التي قام بها هؤلاء العلماء هي أن وجود الخميرة في الزبادي هو مجرد تلوث جاء بالمصادفة. كما أنهم خلصوا إلى أن الخميرة المحللة لسكر اللاكتوز هي التي تسبب فساد الزبادي الطبيعي وقد ذكر علماء هذه

الفترة أن تلوث الزبادي بالخميرة يسبب وجود غازات وتخمر كحولي ويجعل الزبادي الطبيعي له رائحة تشبه رائحة الفاكهة .

ومن خلال المراجع يمكن القول أن فساد الزبادي بواسطة الخمائر لم يكن معروفاً قبل إنتاج الزبادي المدعم بمختلف أنواع الفاكهة أو جوز الهند أو السكر أو المواد التي تعطيه نكهة معينة. ولكن بعد انتشار هذه المنتجات أمكن عزل أنواع مختلفة من الخميرة التي تسبب فساد الزبادي مثل *Candida famata* و *C. versatilis* و *C. pelliculosa* و *C. intermedia* و *H. anomala*. من الناحية العملية فإن الزبادي يجب ألا يحتوي على خمائر بعدد أكثر من خلية واحدة/ جرام، وفي هذه الحالة فإنه إذا تم تخزينه بطريقة صحيحة على درجة حرارة ٥°م فمن المتوقع أن يكون له عمر تخزيني يتراوح من ٣ إلى ٤ أسابيع. وفي معظم المراجع التي شددت على أهمية حماية الزبادي من التلوث بالخميرة التي تسبب الفساد ، ذكر العلماء مصدرين أساسيين لتلوث الزبادي بالخميرة. ففي بعض الحالات النادرة يتلوث الزبادي من المخازن والمستودعات التي توجد في مصانع الزبادي والتي غالباً ما توجد بها الخميرة *Kluyveromyces marxianus* var marxianus ، أما المصدر الرئيسي لتلوث الزبادي بالخميرة فهي شرابات الفاكهة. وقد يكون محتوى هذه الشرابات المرتفع من السكر ومحتواها المنخفض من الماء مانعاً لنمو الخميرة ولكنها سرعان ما تنمو بعد عملية التخفيف المتبعة أثناء إضافة هذه الشرابات إلى الزبادي .

ولكن الدراسات الحديثة أوضحت أنه ليس دائماً ما يحتوي الزبادي على عدد قليل من الخمائر . فعلى سبيل المثال فإن Varabioff سنة ١٩٩٣م وجد أن ٧٢٪ من

عينات الزبادي التي فحصها وعددها ١٠٠ كانت تحتوي على أعداد من الخميرة تتراوح من ١٠ إلى ١٠٬ خلية/ جرام. وعند تخزينها على درجة ٧°م فإن ٢٤٪ منها كانت تحتوي على عدد من الخمائر يزيد عن ١٠٬ خلية/ جرام. وعلى أية حال فإن عدد الخمائر التي تلوث الزبادي يختلف باختلاف ظروف التصنيع وظروف التخزين، ففي عينات الزبادي التي أخذت من أحد مصانع الزبادي بالمملكة العربية السعودية وجد أنها تحتوي على أقل عدد ممكن من خمائر التلوث وأن تخزين هذه العينات على ٧°م لم يسمح للخمائر القليلة الموجودة بالنمو وإفساد الزبادي ولكن حدث نمو شديد لهذه الخمائر عند تخزين الزبادي على ١٠ أو ١٥°م لمدة ١٤ يوماً.

ويجب ألا يكون هناك اعتماد على أن درجة الحرارة المنخفضة وحدها كافية لمنع فساد الزبادي الملوث بالخميرة، فلابد من مراعاة أن يكون عدد الخميرة في الزبادي إما منعدم أو قليل لأن بعض الباحثين وجدوا أن بعض أنواع الخمائر الملوثة للزبادي يمكنها أن تنشط عند درجة حرارة ٣°م وبالتالي فإن وجود هذه الخمائر بأعداد كبيرة قد يؤدي إلى فساد الزبادي حتى ولو كان مخزن على درجة حرارة منخفضة. وبالطبع فإنه ليس من الصعب على القارئ أن يعرف كيف تقوم الخمائر بإفساد الزبادي، فهي ببساطة شديدة تخمر سكريات الجلاكتوز والجلوكوز الناتجة من تحلل سكر الحليب (اللاكتوز) ومن تحلل السكروز الموجود في مواد التحلية المضافة أثناء تصنيع الزبادي. وقد درس المؤلف (Zayed and Foley 1987) التخمر المتقطع للشرش بواسطة الخميرة المفسدة للزبادي *Kluyveromyces fragilis* ووجد أن هذه الخميرة تستهلك سكر اللاكتوز في مستهل عملية التخمر، وعندما ينفد هذا المصدر للكربون فإن الخميرة

تحول نشاطها إلى استهلاك منتجات التخمر المتراكمة مثل الإيثانول والإسترات والألدهيدات والجليسرول.

(٦,٥,٥) الزبد والسمن الصناعي Butter and margarine

من المعروف أن هذه المنتجات تتكون من وجهين أساسيين وهما الدهن والوجه المائي أو السائل . وغالباً ما يكون نمو الميكروبات سائداً في الوجه السائل لهذه المنتجات. وفي دراسة سجلت على أنها براءة اختراع قام بها Mossel سنة ١٩٧٠م اتضح أن هناك عاملين رئيسيين يلعبان الدور الهام في نمو الميكروبات في هذه المنتجات، العامل الأول هو تركيب الوجه السائل من حيث درجة الـ pH والعناصر الغذائية وتركيز كلوريد الصوديوم، ووجود أو عدم وجود العوامل المضادة لنمو الميكروبات مثل حامض البروبيونيك والعامل الثاني هو مدى انتشار الوجه السائل .

وخلاصة هذه الدراسة أن نمو الميكروبات يمتنع إذا كان الماء الموجود في صورة عدد كبير جداً من القطرات صغيرة الحجم جداً والمنتشرة في الدهون. وقد توالت الدراسات بعد ذلك وتولد عنها ، وجود نماذج تصف النمو الكمي للميكروبات في الماء المختلط بالزيوت. وفي أثناء تصنيع السمن الصناعي يحدث ما يمكن أن يطلق علية تمزيق للوجه المائي حتى أن قطرات الجليسريد المغلفة بالماء لا يتعدى نصف قطرها ٣ ميكرومتر. وكل واحد جرام من المنتج النهائي يحتوي على 10^{11} من هذه القطرات .

وقد درس العلماء مساهمة حجم قطرات الماء في الثبات الميكروبي للماء في المزيج المكون من الماء والدهن والذي يستخدم في صناعة الزبد. وقد وجد أنه عندما يكون نصف قطر غالبية قطرات الماء يتراوح من ٣ إلى ٢٠ ميكرومتر يزداد عدد البكتيريا بمعدل عشرة أضعاف فقط عند التخزين على درجة ٧.٢ لمدة أربعة أسابيع. ولكن عندما يكون عدد كبير من القطرات له نصف قطر أكبر من ٥٠ ميكرومتر فإن عدد الميكروبات يزداد بمعدل ١٠^١٠ ضعف عند التخزين على نفس الدرجة ونفس المدة.

أما بالنسبة للخمائر على وجه الخصوص فإن وجودها في هذه المنتجات هو دليل على عدم المعالجة الصحيحة للقشدة أو عدم نظافة الأجهزة المستخدمة أو نقص عمليات التبريد اللازمة أو عدم إجراء البسترة بطريقة صحيحة. وفي سبعينيات القرن الماضي لم يكن دور الخمائر في فساد الزبد معروف جيداً. وحتى الآن ورغم أن مظاهر وكيمياء الفساد أصبحت معروفة إلا أن كثير من خمائر فساد الزبد لم يتم تعريفها. وعلى سبيل المثال فإن الخمائر المحللة للدهون (غير محددة) هي السبب في تزنخ الزبد، كما أن الخمائر المنتجة للصبغات تكون ألوان لزجة على سطح قطع الزبد. وقد حدد الباحثون مصادر عديدة لتلوث الزبد بمثل هذه الخمائر ومنها الحليب الخام والقشدة غير المبسترة و الممخضات الخشبية و ماكينات التغليف و مواد التغليف وأيدي العمال. وفي دراسة Mossel سنة ١٩٧٠م التي أشرنا أليها اتضح أن السمن الصناعي الذي له وجه مائي له pH على الأقل ٤،٩ ومحتوى من ملح كلوريد الصوديوم حوالي ٦٪ ومحتوى منخفض جداً من العناصر الغذائية سوف يشجع نمو الخمائر بدرجة أكبر من نمو

بكتيريا حامض اللاكتيك . وقد كان رأي Mossel أن زيادة عدد الخمائر غير المحللة للدهون (غير محددة) بمقدار عشرة أضعاف في السمن الصناعي لا ينذر بخطر. إلا أن زياد العدد عن ٦١٠ خلية / جرام يؤدي إلى أن يكون السمن الصناعي له طعم الخميرة. وبالطبع فإن الوضع يختلف إذا كان هذا العدد من الخميرة هو كله من الأنواع المحللة للدهون، حيث أن وجود هذا العدد يسبب تزنخ للسمن الصناعي أو ملمس صابوني بسبب تحلل الجليسريدات. وعلى أية حال فإن كثيراً من الدراسات أشارت إلى أن الخميرة المحللة للدهون *Candida lipolytica* قد تكون هي المسئولة عن فساد السمن الصناعي. هذه الخميرة تغير من ثبات مزيج الماء والدهن من خلال تحليلها للدهون وتتسبب في بداية هجوم بميكروبات أخرى، حتى أن كثير من العلماء يعتقدون أن أي ميكروبات تلوث أخرى لن تنمو إذا فشلت الخميرة *Candida lipolytica* في النمو.

(٦,٦) فساد المنتجات المعتمدة على الحبوب Spoilage of cereal-based products

إن اصطلاح "المنتجات المعتمدة على الحبوب" تم اختياره كعنوان لهذا الجزء بدلاً من اصطلاح "منتجات الخبيز" وذلك لأن الاصطلاح الأخير يعني لفت الانتباه إلى الفساد الذي تحدثه الخميرة في العجين والفطائر وبعض أنواع الكعك. أما اصطلاح المنتجات المعتمدة على الحبوب فيشمل مدى أوسع من المنتجات. إن الابتكارات الجديدة في صناعة المخبوزات وخصوصاً التوسع في المنتجات المضاف إليها التوابل وفواتح الشهية أدت إلى خلق نواتج لها تركيب بيئي يساعد على نمو كثير من الميكروبات . فعلى سبيل المثال فإن البيتزا وهي منتج واسع الانتشار لم تكن

موجودة من قبل. هذا المنتج يضاف إليه الجبن والزيتون..الخ مما يساعد على نمو الخمائر على السطح أثناء فترة التخزين على درجة حرارة باردة والتي تسبق الخبيز. كذلك فإن تسرب عصير الطماطم إلى داخل العجين لملأ الفراغات الموجودة قد يشجع نمو كل من الخمائر وبكتيريا حامض اللاكتيك في داخل العجين مما يفسد هذا المنتج عن طريق إنتاج الغازات المختلفة وعن طريق التخمر الكحولي. وقد وجد Legan و Voysey سنة ١٩٩١م أن بعض أنواع الكعك المضاف إلية مربى يفسد عن طريق الخمائر التي تقوم بنشاط تخمري لسكريات هذه المربى.

من الناحية النظرية فإن إصابة المنتجات التي تعتمد على الحبوب بالخمائر يمكن أن يحدث في أي مرحلة من الطريق الأتي :

الحبوب في الحقل ← الحبوب في المخازن ← مطاحن الدقيق والصومعات ← أماكن الخبيز.

وقد أسفرت الدراسات التي أجريت على عينات من الشوفان والقمح والشعير والذرة والراي عن تعريف عدد كبير من الخمائر التي تنتمي إلى الأجناس *Candida* و *Hansenula* و *Kloeckera* و *Pichia* و *Rhodotorula* و *Saccharomyces* و *Trichosporon* والتي وجدت بأعداد كبيرة في هذه الحبوب . وقد ورد ذكر بعض الأنواع الممثلة لهذه الأجناس في بعض المواضع في هذا الفصل. وبالنسبة لوجود رائحة غير مقبولة في الخبز وطعم غير مقبول فقد وجد أن هذا يرجع إلى نمو خمائر أخرى (ليست محددة) غير خمائر الخبيز في العجين. وقد وجد أن هذه المشكلة غير الشائعة

دائماً ما تكون مصحوبة باستعمال مواد خام غير جيدة أو عدم نظافة الأجهزة أو طول مدة تخمير العجين .

ومشكلة فساد الفطائر بواسطة الخمائر يمكن أن تتفاقم بإعادة استخدام الأدوات المستخدمة في تزيين هذه الفطائر دون التأكد من نظافتها وخصوصاً في شهور الصيف. كذلك فإن مستوى عمليات الخبيز تلعب دوراً هاماً في عملية التلوث، ففي المخابز الصغيرة حيث يتم تخزين الدقيق في نفس المخبز، غالباً ما يوجد ما يسمى بتراب الدقيق Flour dust وهو مصدر للتلوث، كذلك فإن تعدد أماكن التخزين، حتى ولو كانت منفصلة عن أماكن الإنتاج في المخابز الكبيرة ينتج عنها تنوع في خمائر التلوث .

كذلك فإن عملية الخبيز لها دور هام في التحكم في التلوث بالخميرة ومن ثم التحكم في مشكلة فساد المخبوزات. ومن الأمور التي تحتاج إلى مزيد من لفت الانتباه أن الثبات البيولوجي للرغيف يرتبط بدرجة كبيرة بالطرق الحديثة المتبعة في تقطيع الأرغفة إلى شرائح تلائم المستهلك حيث أن استخدام سكاكين غير نظيفة يؤدي إلى إصابة الأرغفة بأنواع مختلفة من الخمائر خصوصاً وأن التقطيع يتم عندما تكون الأرغفة ما زالت طرية. كما وجد أن القشرة المتكونة على سطح الرغيف تكون حامل فعال للخمائر المسببة للفساد . والواقع وكما ذكرنا عدة مرات فإن مراعاة النواحي الصحية في المخابز تحد إلى درجة كبيرة من الفساد بواسطة الخميرة. وقد وجد أن بعض البقايا الرطبة التي تترك على رفوف المخابز وعلى سيور النقل وعلى آلات عمل الشرائح تكون مصادر هامة للتلوث بالخمائر التي تسبب الفساد. وكمثال على أن

مصادر التلوث قد تكون استخدام لبعض الأجهزة فإن مستوى التلوث بالخمائر والذي يكون مصدرة الزيت المستخدم في تزييت شفرة ماكينة التقطيع يزداد مع طول الوقت إن لم تراعى النواحي الصحية أثناء عملية التزييت. وبما أن كثير من الميكروبات المسببة لفساد شرائح الخبز توجد في العجين الخام فإن العمال الذين يقومون بتحضير العجين لا يجب أن يتعاملوا مع المنتجات المخبوزة. ومن خلال المراجع يمكن تحديد ثلاثة مظاهر للفساد الذي يحدث للمنتجات المعتمدة على الحبوب وهي الرائحة الكريهة، ونمو فطريات العفن ، والنمو الطباشيري للعفن الأبيض (الجدول رقم ٦،٧). وقد وجد أن الخمائر وفطريات العفن تنمو بسرعة شديدة على الفطائر المصنعة من دقيق الذرة والمخزنة على درجة حرارة الغرفة. كما وجد أن أكثر الطرق شيوعاً وكفاءة من الناحية الاقتصادية لتطويل فترة العمر التخزيني هي إضافة بعض المواد التي تؤدي إلى زيادة رقم الـ pH أعلى من ٩ ولكن هذه الطريقة تؤدي إلى إكساب المنتج لون أصفر غير مقبول. ولذلك وجد أن البديل المناسب المستخدم في إطالة العمر التخزيني على درجة حرارة الغرفة هو التحميض باستخدام حامض السوربيك أو حامض البروبيونك .

وقد حدد Legan و Voysey سنة ١٩٩١م في دراستهما الخاصة بفساد المخبوزات بواسطة الخمائر مظهرين غير عاديين لهذا الفساد أولهما هو تحلل أنواع من الكعك المضاف إليه قرفة Cinnamon ، وقد وجد أن هناك طفرات من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تنتج هذا النوع من التحلل عن طريق استفادتها من مادة توجد في القرفة وتسمى Cinnamaldehyde. أما المظهر الثاني من الفساد فقد تم رصده

في أنواع مختلفة من الكعك المضاف إليه فاكهة أو الكعك الاسفنجي. هذا المظهر هو التحلل الناجم عن خلات الإيثايل التي تنتج بواسطة الخميرة *Hansenula anomala* عندما تنمو على مثل هذه الأنواع من الكعك. وقد وجد أن المصدر الرئيسي لهذه الخميرة هي الفرشاة المستخدمة في تنعيم الكعك بواسطة دهنه ببعض شرابات السكر وبالتالي فإن هذه الشرابات تصبح وسيلة لانتشار هذه الخميرة .

الجدول رقم (٦٠٧). الخمائر المرتبطة بفساد الخبز.

مظهر الفساد	أمثلة للخمائر
رائحة كريهة	*Saccharomyces cerevisiae*
النمو على السطح	*Saccharomyces cerevisiae* *Pichia burtonii*
نمو العفن الأبيض الطباشيري	*Pichia burtonii* *Candida humicola*
غير محدد	*Rhodotorula rubra* *Debaryomyces hansenii*

(٦,٧) فساد الصلصات والسلاطات Spoilage of sauces and salads

هذا الجزء يتعرض للمنتجات الحامضية (الجدول رقم ٦٠٨) التي قد تعاني من الفساد بسبب ممارسة خطوات تصنيع غير جيدة أو بسبب التلوث أثناء الاستعمال .

(٦,٧,١) المايونيز والسلاطة الفاتحة للشهية Mayonnaise and salad dressings

المايونيز هو مزيج شبه صلب له رقم pH يتراوح من ٣.٦-٤ ويحتوي على

٠.٢٩-٠.٥٪ حامض خليك. والوجه السائل لهذا المنتج يحتوي على ملح (٩-١١٪) وسكر (٧-١٠٪) . أما السلاطة المتبلة في الأساس عبارة عن مايونيز مدعم بعجينة النشا المطبوخة، ويحتوي الوجه السائل فيها على ملح (٣-٤٪) وسكر (٢٠-٣٠٪). ولذلك فإن هذا المنتجان يشجعان نمو الميكروبات التي تتحمل ظروف قاسية وذلك لأنه من المعروف أن وجود حامض الخليك بنسبة ٠.٥٪ يثبط نمو الخمائر في البيئات المعملية. ولكن الدراسات أثبتت وجود الخمائر وبكتيريا حامض اللاكتيك وبعض أنواع من جنس *Bacillus* في المايونيز وسلاطة المقبلات الفاسدة. وقد وجد أن الخميرة *Zygosaccharomyces bailii* تسبب فساد هذه المنتجات بنسبة قد تزيد عن ٦٥٪ أما النسبة الباقية فتفسد نتيجة نمو البكتيريا *Lactobacillus fructivorans*. أما بالنسبة لسلاطة المقبلات المحتوية على نشا فإن الخميرة وحدها تقريبا هي المسئولة عن فسادها. وبصفة عامة فإن تلوث أجهزة التصنيع هو المسئول عن وصول هذه الميكروبات إلى المنتجات النهائية. ويجب ملاحظة أن إنتاج الغاز بواسطة الخمائر الملوثة لهذه المنتجات قد يتأخر بعض الوقت ولا يبدأ إلا بعد مغادرة المنتج للمصنع بفترة وذلك بسبب تأخر تخمر السكروز بواسطة الخميرة *Zygosaccharomyces* spp .

الجدول رقم (٦،٨). الخمائر المرتبطة بفساد السلاطات والصلصات.

المنتج	مظهر الفساد	الخمائر
السلاطة المقبلة	تكون غاز	*Zygosaccharomyces bailii* *Torulaspora delbrueckii*
المايونيز	تكون غاز	*Zygosaccharomyces bailii*
سلاطة مايونيز الكرنب	رائحة كريهة تكون غاز	*Saccharomyces exiguus* *Zygosaccharomyces rouxii*

تابع الجدول رقم (٦،٨).

المنتج	مظهر الفساد	الخمائر
سلاطة مايونيز البطاطس	تكون غاز	*Saccharomyces exiguus* *Candida sake* *Candida lambica* *Candida lipolytica*
سلاطة مايونيز الخضراوات	تكون غاز تكون غشاء	*Saccharomyces exiguus* *Pichia membranaefaciens*
سلاطة مايونيز فلوريدا	تكون غاز	*Saccharomyces exiguus*
سلاطة مايونيز مخلوط	تكون غاز،	*Saccharomyces spp*
الخضراوات والفاكهة	رائحة كريهة	
صلصة الطماطم	غير محدد تكون غشاء	*Candida krusei* *Pichia membranaefaciens*
كاتشب الطماطم	غير محدد	*Zygosaccharomyces bailii*
صلصة فول الصويا الخام	تكون غاز غشاء أبيض جاف	*Zygosaccharomyces spp.* *Pichia spp.*

(٦,٧,٢) السلاطة المعتمدة على المايونيز Mayonnaise-based salads

في خلال السنوات الأخيرة حدثت زيادة شديدة في إنتاج السلاطات التي أساسها المايونيز. هذه المنتجات لها عمر تخزيني يتراوح من ٦-١٤ يوماً عند التخزين على درجة حرارة ٤-٦°م. وفي كثير من الدول الأوربية أمكن الوصول إلى عمر تخزيني أطول من خلال استخدام المواد الحافظة . وهناك تغيرات فسيولوجية معقدة تحدث أثناء تخزين هذه المنتجات متعددة الأوجه. فعل سبيل المثال في سلاطة الكرنب Coleslaw، فإن الكرنب والبصل والجزر يتم وضعهم في مزيج من الماء والزيت . وبعد

الإعداد يحدث انتقال للماء من أنسجة الخضراوات إلى المايونيز. وفي خلال ٦ ساعات من التصنيع تنتشر كمية معتبرة من حامض الخليك في الاتجاه المعاكس وبالتالي يحدث تغير في درجة pH المايونيزويقل تركيز حامض الخليك. ونتيجة ذلك تزداد فرص الفساد بواسطة الخمائر. وللدلالة على ذلك قام بعض الباحثين بتنمية الخميرة *Zygosaccharomyces rouxii* في المايونيز في وجود أو عدم وجود خضراوات سلاطة الكرنب. وكانت النتيجة أن هذه الخميرة قتلت في المايونيز ولم تنمو وذلك بفعل حامض الخليك وبدرجة أقل بفعل كلوريد الصوديوم وقد وجد أن معدل موت الخميرة يزداد بارتفاع درجة الحرارة. ومن ناحية أخرى فقد وجد أن الخميرة نمت بشكل جيد في المايونيز المضاف له خضراوات سلاطة الكرنب وذلك بسبب نقص حامض الخليك كما أشرنا. ويجدر الإشارة إلى أن نمو الخميرة يمكن أن يثبط بإضافة البصل المبشور إلى هذا الخليط وذلك بسبب المواد المتطايرة التي توجد في البصل.

وهناك دراسات كثيرة تؤكد أن الخميرة لا تنمو في المايونيز الذي يحتوي على كمية كافية من حمض الخليك فعلى سبيل المثال فإن السلاطة الأسبانية والتي لها رقم pH يساوي ٣،٧ أي أن تركيز حامض الخليك فيها ٠،٠٦٪ لا تتعرض للفساد بواسطة الخميرة. وقد لوحظ تكون الغاز في السلاطة التي تسمى سلاطة فلوريدا وهي عبارة عن مخلوط من الأناناس والبرتقال مع الخضراوات وذلك بعد التخزين لمدة ١٣ يوماً على درجة حرارة ١٠°م. في هذه الحالة كان تركيز حامض الخليك حوالي ٠.٤٪ .

وقد وجد أن عدد كبير من الخميرة *Saccharomyces exiguus* وبكتيريا اللاكتوباسيلاي ينمو في سلاطة الخضراوات عند درجة حرارة ١٠°م وقد كان هذا

النمو مصحوبا بتكون غاز وظهور مستعمرات النمو على السطح وذلك بعد ثمانية أيام من تخزين السلاطة. ولكن لم يلاحظ أي نمو عند التخزين على درجة حرارة ٥°م. كما لوحظ تكون غاز في سلاطة البطاطس التي تحتوي على حامض خليك بنسبة ٠.١٪ بعد تخزينها لمدة ٢١ يوم على درجة حرارة ١٠°م وكان السبب الرئيسي لهذا الفساد هي بكتيريا اللاكتوباسيلاي بالإضافة إلى أنواع مختلفة من الخمائر والموضحة في جدول (٥-٩)، كما حدث نفس الفساد بعد التخزين على درجة حرارة ٥°م ولكن لمدة أطول (٢٨ يوم).

وقد أجابت الدراسات على السؤال الذي يطلب تفسيراً لتكون الغاز في السلاطة التي أساسها المايونيز. فهناك دراسات تؤكد أن إنتاج الغاز يتم بواسطة الخميرة في حالة السلاطة الأسبانية ودراسات أخرى تؤكد تكون الغاز في سلاطة الخضراوات بواسطة الخميرة وبكتيريا اللاكتوباسيلاي. وعلى أية حال فإنتاج الغاز بواسطة بكتيريا اللاكتوباسيلاي ليس بمستغرب حيث أن من المعروف أن بكتيريا التخمر المتجانس لحامض اللاكتيك تنتج ثاني أكسيد الكربون من خلال نزع مجموعة الكربوكسيل من كل من حامض الماليك وحامض الستريك.

(٦,٧,٣) الصلصات Sauces

أكدت الدراسات أن الخميرة هي الميكروب المسبب لفساد أنواع مختلفة من الصلصة . وقد تم تعريف كثير من هذه الخمائر فعلى سبيل المثال فإن الخميرة التي غالباً ما تسبب فساد الكاتشب الياباني هي *Zygosaccharomyces bailii* . وبصفة عامة فإن

الخمائر التي تسبب فساد الصلصة هي خمائر تتحمل تركيزات عالية من حامض الخليك. لأن كثير من أنواع الصلصة لا تعالج حرارياً أثناء الإنتاج ولكن يتم الاعتماد على وجود الحامض وانخفاض الـ pH كعوامل لحفظ الصلصة من الفساد . وإذا ما كانت الصلصة ملوثة بخمائر الفساد فإنها في الواقع تفسد في خلال ٣ إلى ٥ أيام من تاريخ إنتاجها وذلك عند تخزينها على درجة حرارة الغرفة .

(٦,٨) فساد اللحوم والدجاج وأغذية بروتينية أخرى

Spoilage of meat, poultry and other proteinaceous foods

نادراً ما تتورط الخمائر في إفساد اللحوم الحمراء أو الدجاج. ولكن الخمائر تدخل بشكل قوي ضمن الميكروبات المسببة لفساد اللحوم المملحة.

وإذا حدث فساد في اللحوم الحمراء فإن تلوث سطح اللحوم هو السبب الرئيسي لفسادها. والمصدر الرئيسي لهذا التلوث هو الأتربة وبقايا البراز التي تصاحب الذبائح من المزرعة إلى المجازر. هذه الميكروبات تنتقل بعد ذلك إلى اللحوم أثناء الذبح وأثناء عمليات التصنيع المختلفة.

وفي هذا الجزء نناقش ظروف التخزين والتصنيع لمنتجات اللحوم والتي تجعل الفرصة مواتية للخمائر لكي تنمو وتنافس البكتيريا في فساد هذه المنتجات .

(٦,٨,١) تواجد الخمائر Occurrence of yeasts

تسود أنواع كثيرة من الخمائر في البيئات التي توجد بها لحوم الحيوانات حيث

توجد على أو في النباتات والهواء والماء والتربة. وكثير من هذه الخمائر محبة للحرارة المنخفضة ولذلك فإن كثير منها يكون مرتبط بفساد اللحوم المخزنة على درجة حرارة باردة. وقد عزلت الخمائر *Bullera alba* و *Cryptococcus laurentii* و *Rhodotorula ingeniosa* و *Rh. glutinis* و *Rh. Graminis* و *Rh. minuta* و *Rh. mucilaginosa* و *Sporobolomyces roseus* من حشائش الراي ونباتات العلف مع اختلاف عددها من موسم إلى آخر . أما الخمائر *Candida famata* و *Candida sake* و *Cryptococcus albidus* فقد وجد أنها توجد بأعداد كبيرة في تربة حظائر الأغنام.

ولقد أمكننا تجميع عدد كبير من الأبحاث التي تتناول تواجد الخمائر في اللحوم، ونستطيع القول أن الخمائر التي أمكن عزلها من على اللحوم الحمراء والسجق والدجاج تنتمي إلى ١٤ جنساً من أجناس الخمائر. وأكثر أجناس هذه الخمائر شيوعاً هي جنس *Candida* ويليه جنس *Debaryomyces* ثم جنس *Rhodotorula* ثم جنس *Cryptococcus* ثم جنس *Pichia* ثم جنس *Hansenula*. وقد وجد أن أنواع الخمائر التابعة للأجناس *Cryptococcus* و*Candida* هي الملوثات الرئيسية للحوم الأغنام المذبوحة في أماكن غير صحية. وفي دراسة لأحد المجازر وجد أن الثلاثة أجناس الأولى من هذه الخمائر لها توزيع غير عادي داخل المجزر. فقد وجد أن هذه الخمائر تسود على السطح الأعلى للذبيحة كما توجد على أسطح المراوح ووحدات التبريد وسقف المجزر. في حين أن البكتيريا وخصوصا التابعة لمجموعة بكتيريا القولون كانت سائدة على أرضية المجزر وعلى الجزء الأسفل من الجدران. كما وجد أن الخميرة *Debaryomyces hansenii*

وهي أحد الملوثات الرئيسية لمصانع منتجات اللحوم تسود حول خزانات المحاليل المستخدمة في إنضاج منتجات اللحوم. كذلك وجد أن الخمائر في أحد مصانع السجق البريطاني الطازج كانت سائدة في الأجهزة في كل أنحاء المصنع. وفي كثير من الأحوال توجد أعداد من الخمائر في لحم الضأن المفروم في بعض المجازر وفي المراعي التي تسمن فيها الأغنام قبل الذبح. كذلك الحال بالنسبة لمجازر الدواجن، حيث وجدت أعداد من الخميرة تنتشر على الأجهزة المستخدمة.

وبصفة عامة وجد أن الخميرة تتواجد بشكل كبير في اللحوم ومنتجاتها عندما تكون هذه المواد مصابة بكمية كبيرة من البكتيريا. فقد أكدت الدراسات أن الخميرة من الأجناس السابق الإشارة إليها وخصوصا جنس *Candida* تسود في اللحوم المفرومة التي توجد في السوبر ماركت أو عند الجزار ، ويكون عددها كبير عندما تكون هذه اللحوم فاسدة، حيث عزلت خمائر هذا الجنس من الطبقة اللزجة التي تتكون على اللحوم. هذا الحصر المختصر الذي تناولناه، يبين بصفة عامة أن اللحوم الحمراء والدواجن تتلوث بأنواع من الخمائر تنتمي إلى عدد قليل نسبيا من الأجناس وكلها توجد على الأجهزة والأدوات المستخدمة في التصنيع بالإضافة إلى انتشارها في أرضيات المصانع وجدرانها وأسقفها.

(٦,٨,٢) الفساد Spoilage

إن ظروف التخزين تسمح بنمو عدد قليل من الميكروبات الملوثة للحوم والتي كانت متواجدة في بداية التخزين وبعد انتهاء عمليات التصنيع مباشرة. والحرارة هي

أهم عناصر اختيار الأنواع التي تنمو أثناء تخزين اللحوم. وميكروبات الفساد يمكن أن تنمو في مدى واسع من درجات الحرارة (من سالب ٥ إلى ٧٠ °م). إلا أن الانتشار الكبير لعمليات التبريد أثناء مراحل إنتاج اللحوم المختلفة يؤدي إلى اختيار ميكروبات معينة قادرة على النمو بشكل جيد في درجات الحرارة المنخفضة عن ذلك (سالب ٧°م). ومنذ سنة ١٩٦٠م تم معرفة أن أنواع الخميرة المنتمية للجنس Candida تنمو في اللحوم المثلجة ثم توالت الأبحاث التي أكدت سيادة أنواع هذا الجنس في اللحوم المفرومة. إن خلاصة القول في هذا الجزء هو أن الحرارة المنخفضة تشجع نمو الخمائر إذا كانت ملوثة لمنتجات اللحوم أثناء التصنيع أو التخزين .

وبصفة تقليدية عرف الفساد بواسطة الخميرة في اللحوم المجففة والسجق المتخمر..الخ والتي فيها لا تنمو البكتيريا بسبب انخفاض الرطوبة وأحياناً بسبب الحموضة المرتفعة. كذلك فإن منع نمو البكتيريا على الدواجن المحفوظة على درجة حرارة باردة بسبب إضافة بعض المواد الحافظة ينتج عنه نمو مكثف للخميرة. ونادراً ما تذكر الخمائر كأحد مسببات فساد اللحوم التي تحفظ باردة في السوبر ماركت حتى أن بعض الدراسات تؤكد أن نمو الخميرة على اللحوم الحمراء في السوبر ماركت لا يصاحبه فساد هذه اللحوم. ما نريد توضيحه هو أن الخميرة تفشل في منافسة البكتيريا سريعة النمو والتي غالباً ما تكون تابعة للجنس *Pseudomonas* بالنسبة للحوم المعرضة للغلاف الجوي العادي، كما تفشل في منافسة بكتيريا حامض اللاكتيك والبكتيريا *Brochothrix thermosphacta* بالنسبة للحوم المخزنة في غلاف جوي مزود بثاني أكسيد الكربون. وبالطبع فإن هذه النظم غير ثابتة وقابلة للتغير مما قد يتيح الفرصة للاختيار

الطبيعي لبعض أنواع الخمائر لكي تنمو. وهذا ما يحدث في لحم الضأن المحفوظ على درجة حرارة ٥°م تحت الصفر حيث أن تكون الثلج في أنسجة اللحم يمنع نمو البكتيريا ولكن تستطيع بعض الخمائر أن تنمو.

وبعض الدراسات الحديثة أوضحت أن نسبة الخميرة إلى البكتيريا في بداية تلوث هذه النظم غير الثابتة تحدد بدرجة كبيرة حجم الأجناس النامية من كل مجموعة أثناء فترة التخزين، ولذلك تحدد بدرجة كبيرة نوع الفساد الذي يمكن أن يحدث. وقد اتضح أن تعقيم اللحم المفروم بواسطة أشعة جاما يؤدي إلى قتل البكتيريا السالبة لجرام، والتي تعتبر الملوث الرئيسي في وقت الفرم ولكن هذه الأشعة تقتل الخمائر بدرجة أقل نسبياً. ولذلك فإن أعداد كبيرة من الخمائر المنتمية للجنس Candida تنمو بأعداد كبيرة أثناء فترة التخزين. وقد وجد أنه إذا كانت نسبة الخميرة مساوية تقريباً لنسبة البكتيريا في وقت تصنيع السجق فإن عدد كبير من الخميرة ينمو على السجق يفوق عدد بكتيريا حامض اللاكتيك وفي هذه الحالة فإن الخميرة تكون هي السبب الرئيسي لفساد السجق، وتتمثل مظاهر الفساد في إنتاج رائحة غير مقبولة ونفاذة ، ويتكون غشاء سميك من الخميرة على سطح السجق. وعلى أية حال فإن تساوي نسبة الخميرة إلى البكتيريا في السجق الطازج هو أمر غير شائع.

إن فساد اللحوم الحمراء بواسطة الخميرة لا يكون له أهمية كبيرة إلا إذا كانت الظروف تناسب نمو الخميرة ولا يوجد منافسة من جانب بكتيريا الفساد . وفي منتجات اللحوم يزيد عدد الخمائر على حساب البكتيريا السالبة لجرام وذلك عند اتباع طرق معينة من المعالجة مثل التشعيع وإضافة المضادات الحيوية والتجفيف والتمليح

والتجميد وإضافة المواد الحافظة. ولقد تأكد العلماء من أن الرائحة الكريهة التي تنبعث من السجق المخزن على درجة حرارة الغرفة واصفرار سطح السجق مع تكون طبقة لزجة ما هو إلا في الغالب فساد بواسطة الخميرة .

(٦,٨,٣) اللحوم المكبرتة (المضاف إليها كبريتيت) Sulphited meats

الكبريتيت له تأثير شديد على التركيب الميكروبي المتكون في اللحوم المفرومة. وقد وجد أن المجتمع الميكروبي في اللحوم المفرومة غير المضاف لها مواد حافظة والمخزنة على درجة حرارة ٤-٧°م تسود فيه البكتيريا السالبة لجرام وخصوصاً تلك التي تنتمي للجنس *Pseudomonas*. كما وجد أن نمو هذه البكتيريا في مرق البيئات المغذية يمنع بواسطة الكبريتيت إذا ما أضيفت بتركيز ٣٥٠ ميكروجرام/ مل. أما بالنسبة للبكتيريا *Lactobacillus* spp و البكتيريا *Brochothrix thermosphacta* فهي تنمو ببطئ في اللحوم المعاملة بالكبريتيت ولذل فإن نموها البطيء هذا يعطي الفرصة للخميرة التي تتحمل الكبريتيت لتنمو بسرعة وتساهم بدرجة كبيرة في تركيب المجتمع الميكروبي لهذه اللحوم. وعلى الرغم من هذه المساهمة الكبيرة في التركيب الميكروبي فما زال القدر الذي تساهم به الخمائر في التغير الكيماوي وفساد هذه اللحوم غير معروف على وجه الدقة. وقد وجد أن مساهمة الخميرة في تلوث اللحم المفروم يقل مع التخزين على درجة حرارة ٥°م. ولكن إضافة الكبريتيت بتركيز ٥٠٠ ميكروجرام/ جرام من هذا اللحم المفروم يؤدي إلى نمو مكثف للخميرة حتى أنه بعد أربعة أيام من التخزين على درجة حرارة ٥°م، قد يصل عدد الخميرة إلى ٨

×١٠^٦/ جرام لحم في حين أن عدد البكتيريا يكون في حدود ٤ ×١٠^٦/ جرام. وحتى في اللحم الملوث بدرجة كبيرة في السوبر ماركت فإن إعادة إضافة الكبريتيت مرة أخرى تشجع نمو الخميرة ولكن تبقى السيادة للتلوث البكتيري وهذا يوضح أيضاً أهمية نسبة الخميرة إلى البكتيريا في بداية عملية التصنيع.

إن تركيز الكبريتيت يقل تدريجياً أثناء تخزين اللحوم ومنتجاتها المضاف إليها هذا العنصر كمادة حافظة للتلوث البكتيري. وفي أبحاث عديدة على السجق اتضح أن هناك علاقة بين وجود الكبريتيت وبين نمو الخمائر وتراكم الأسيتالدهيد حيث أن الكبريتيت يشجع إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة أجناس الخميرة التي عزلت من السجق والتي تنتمي للأجناس *Candida* و *Pichia* و *Debaryomyces*. كما وجد أيضاً أن وجود مادة أولية مناسبة من الجلوكوز أو الفركتوز ودرجة pH أعلى من ٥.٤ كانت ضرورية لإنتاج الأسيتالدهيد بواسطة الخمائر المعزولة من اللحوم المفرومة. ويجب توضيح أن الفعل التثبيطي للكبريتيت على البكتيريا السالبة لجرام ينعدم بمجرد انخفاض تركيز عن مستواه في بداية التصنيع. وعندما يقل تركيز الكبريتيت تبدأ هذه البكتيريا في النمو بأعداد ضخمة. وتجديد النمو بهذه الطريقة يسبب فساد سريع للمنتجات وخصوصاً السجق واللحم المفروم.

أما بالنسبة للسجق البريطاني منزوع الجلد فإن الخميرة هي المسبب الرئيسي للفساد. ففي تصنيع هذا المنتج فإن لحوم السجق الملفوفة في أنابيب من السلوفان تعرض لدرجة حرارة ٧١°م لمدة دقيقتين وعشرة ثوان وبذلك يتخثر بروتين لحم السجق ويأخذ شكل أنبوبة السلوفان بعد أن يتم إخراجه منها . وقد وجد أن السطح

الخارجي لهذا النوع من السجق يكون ملوثاً بالخمائر حيث تنمو عليه بعد فترة مستعمرات من الخمائر *Candida zeylanoides* و Deb.*hansenii* و *Cryptococcus* spp و *Rhodotorula* spp و *Candida lipolytica* ويتحول السجق نتيجة هذا النمو إلى عجينة صفراء لها صفات غير مقبولة.

وفي أحيان كثيرة تسود الخميرة في اللحوم المصنعة بدرجة أكبر من سيادة البكتيريا السالبة لجرام وذلك بسبب انخفاض محتوى هذه المنتجات من الماء على الرغم من أن هناك بعض من هذه البكتيريا يتحمل انخفاض المحتوى المائي (aw = ٠.٩٧) ولكن ليس إلى المدى الذي يوجد في اللحوم الجافة والذي تتحمله الخميرة حيث يمكنها أن تنمو في وسط له aw = ٠.٦٢). وقد ذكر Dillon سنة ١٩٩٨م أن نسب توزيع الخمائر التي عزلت من اللحوم الجافة كانت ٤٣٪ *Pichia ciferrii* و ٣٦٪ *P. holstii* و ٢١٪ *P. sydowiorum* و١٩٪ *Rh. glutinis* و ٩٪ *Cr. albidus* و ٥٪ *Deb. hansenii*.

(٦,٩) فساد الأغذية البحرية Spoilage of seafood

لا يمكن بالطبع حصر الفساد الذي يحدث للأغذية البحرية في هذا الجزء من الكتاب والسبب ببساطة أنه يوجد أكثر من ٣٠٠٠ نوع من الأغذية البحرية التي لها أهمية تجارية. لكن المراجع المتاحة جعلتنا نعتقد أن البكتيريا السالبة لجرام هي أكثر مسببات فساد الأغذية البحرية شيوعاً للدرجة التي جعلت كثير من الباحثين يعتقدون أنه لا توجد دراسات على الإطلاق تهتم بفساد الأغذية البحرية بواسطة

الخمائر، ونحن بدورنا نعتقد أن هذا القول يمكن تعديله بأن هناك دراسات قليلة جداً على فساد الأغذية البحرية بواسطة الخمائر. ذلك لأن بعض الأغذية البحرية تحتوي على نسبة كبيرة من الجليكوجين الذي يمكن أن يتخمر بواسطة أنواع مختلفة من الخمائر مسبباً فسادها.

(٦,٩,١) السمك الخام Raw fish

هناك اعتقاد عام أن أنواع البكتيريا التي توجد في السمك هي انعكاس للبكتيريا التي توجد في المياه التي يعيش فيها هذا السمك. وهناك دراسات محدودة بالنسبة للخمائر التي تعيش في مياه البحار تدعم هذا القول جزئياً. فالخمائر *C. parapsilosis* و *Rh. rubra* و *C. tropicalis* و *Deb. hansenii* و *Cr. albidus* و *C. famata* و *C. guilliermondii* تعيش في مياه البحر ولذلك عزلت معظم أنواع هذه الخمائر من أنواع عديدة من الأغذية البحرية في بريطانيا. وبالإضافة إلى هذه الأنواع من الخمائر فقد عزلت أنواع أخرى ممثلة للأجناس *Pichia*، *Saccharomycopsis*، *Trichosporon*، *Hansenula*، *Leucosporidium*، و *Sporobolomyces* من أسماك البحر الأبيض المتوسط. وعلى الرغم من ذلك ما زال دور الخمائر في فساد الأسماك ليس له أهمية في نظر العلماء بالمقارنة بدور البكتيريا. وعلى أية حال فلا يجب الاعتماد على نتائج الدراسات السابقة والاكتفاء بالقول بأن الخمائر ليس لها دور هام في فساد الأغذية البحرية وإنما يجب الاستمرار في الدراسة وذلك لأن هناك دراسات وإن كانت قليلة تؤكد أن بعض الخمائر لها نشاط في تحليل بروتين الأسماك وتفسد الأغذية البحرية

بنفس مظاهر الفساد الذي تسببه البكتيريا. ومن هذه الدراسات ما قام به Kobatake وآخرون سنة ١٩٩٢ حيث وجدوا أن الخمائر توجد في بعض أنواع الأسماك بأعداد تتراوح من ٢١٠ إلى ١٠٪ جرام وأن هذه الخمائر تسبب روائح كريهة وتكون طبقة لزجة في أسماك الماكريل والتونة وبرغوث البحر ومن أكثر الخمائر نشاطاً في إحداث الفساد كانت الخميرة *C. lipolytica* وعلى ذلك فإنه يمكن القول أن الخميرة قد تلعب دوراً هاماً في فساد الأسماك إذا ما توفرت لها الظروف المناسبة التي تجعلها تنمو بوفرة على حساب نمو البكتيريا وذلك أثناء فترة التخزين.

(٦,٩,٢) الأسماك المصنعة Processed fish

يبدوا أن الخمائر لها دور أكبر في تلوث المنتجات السمكية بالمقارنة بالأسماك الخام. ففي الفلبين على سبيل المثال توجد منتجات تسمى Burong isda وهي عبارة عن مخلوط من الأسماك المتخمرة والأرز المطبوخ. هذه الأغذية وجد أنها تتلوث بأنواع الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*، *C. tropicalis*، *Pichia strasburgensis*، *Zygosaccharomyces rouxii* و *P. carsonii*.

وقد وجد أن النوعين الأخيرين يسودان أيضاً في منتجات الأسماك التي تحتوي على تركيز عالي من الملح. وقد وجد الباحثون أن التلوث بهذه الخمائر يحدث أثناء التصنيع نتيجة اتباع طرق غير صحية. ومن أهم مظاهر الفساد التي تحدث في منتجات الأسماك بواسطة الخمائر هو إنتاج رائحة تشبه رائحة الفاكهة وإنتاج صبغات حمراء في هذه المنتجات. كما وجد أيضاً أن الخميرة *P. carsonii* هي المسئولة عن فساد المنتج

الذي يسمى Chikuwa وهو عبارة عن عجينة سمك، حيث تتسبب هذه الخميرة في تغير لون هذه العجينة إلى اللون البترولي ويصبح لها رائحة كريهة. وقد وجد أن أعداد الخميرة تصل في هذه العجينة إلى حوالي ٦ × ١٠^٦ خلية/ جرام وربما تكون بعض الأحماض والتوابل المضافة لهذا المنتج هي مواد أولية تستخدمها الخميرة للنمو وإحداث الفساد.

(٦,١٠) مقاومة فساد الأغذية بطريقة تعديل الغلاف الجوي لتعبئة الأغذية

Resistance of food spoilage by modified atmosphere packaging

لقد ذكر Skandamis و Nychas سنة ٢٠٠١م أن تعبئة الأغذية بطريقة التغليف في الجو المعدل Modified atmosphere packaging (MAP) أي تعديل تركيب الغلاف الجوي داخل الأوعية التي تحوي الأغذية المحفوظة، قد اكتسب أهمية شديدة خلال السنوات الأخيرة كأحد الطرق الحديثة في حفظ الأغذية. والسبب في ذلك هو أن تعديل تركيب الغازات داخل الأوعية بحيث يحتوي على مزيج من ثاني أكسيد الكربون والنيتروجين والأكسجين في طريقة الـ MAP يؤدي إلى تثبيط ميكروبات الفساد الهوائية بالنسبة للأغذية القابلة للفساد مثل اللحوم والأسماك ومنتجاتها. وفساد هذه الأغذية يمكن تقديره عن طريق الحواس أو عن طريق التحليل الميكروبيولوجي. والتقدير عن طريق الحواس يحتاج إلى خبراء فوق العادة في هذا المجال كما أن التقدير عن طريق التحليل الميكروبي يحتاج إلى عمالة ووقت ومعلومات مكثفة عن الميكروب المسبب للفساد. ولذلك فإن الطريقة البديلة لهذه الطرق هي

تحليل التغيرات الكيماوية التي تحدث نتيجة نمو ميكروب الفساد على اللحوم ومنتجاتها. ومن أهم هذه التغيرات التي يتم قياسها هو تقدير الجلوكوز وحامض الجلوكونيك وحامض اللاكتيك وحامض الخليك والإيثانول وهي كلها مركبات تدل على حدوث الفساد. واليوم فإن تقدير الفساد عن طريق هذه المواد ما زال يترك ورائه أسئلة عند التطبيق في الناحية العملية بسبب الحقيقة التي مؤداها أن هذه التقديرات يمكن أن تتأثر بطريقة التعبئة أو باستخدام مواد حافظة مثل بعض الزيوت الأساسية والتي هي عبارة عن مواد طبيعية تستخدم كبدائل للمواد الحافظة الكيماوية وليس لها جوانب ضارة كمادة حافظة. إلا أن تطبيق إضافة هذه الزيوت على الجانب العملي ما زال محدود بسبب النكهة .

(٦,١١) مواد جديدة لحماية الأغذية من الفساد New agents for food protection

(٦,١١,١) الأليسين

مادة الأليسين توجد في الثوم والخضراوات المشابهة. وقد وجد أن الأليسين له تأثير مثبط للبكتيريا السالبة لجرام والبكتيريا الموجبة لجرام عند تركيز ١: ٨٥٠٠٠ في بيئة المرق المغذي في المعمل.

والحقيقة أن أنسجة الثوم والخضراوات المماثلة مثل البصل لا تحتوي على مادة الأليسين عندما تكون الثمرة سليمة ولكنها تحتوي على نواة الأليسين أو المادة المولدة لها وهي مادة الألين Alliin (S-allyl-L-cysteine-S-oxide). هذه المادة تتحلل وينتج عنها الأليسين والبيروفات والأمونيا وذلك بفعل إنزيم Allinase وذلك عندما يتم هرس

وتقطيع أنسجة الثوم. وقد وجد أن مستخلص الثوم له نشاط تثبيطي عالي لكثير من الإنزيمات حيث يثبط بدرجة كبيرة إنزيمات الـ Phosphatase و الـ Invertase و الـ Urease و الـ Papain ، كما وجد أن مادة الأليسين تثبط بشدة الإنزيمات المحتوية على مجموعة الكبريت وهذه الإنزيمات تشمل Succinic dehydrogenase و Urease و papain و Xanthine oxidase و Choline estrase و Hexokinase و Choline oxidase و Glyoxylase و Triose phosphate dehydrogenase و Alcohol dehydrogenase ولكن هناك بعض الإنزيمات المحتوية على كبريت لا يحدث لها تثبيط خصوصاً عند التركيزات المنخفضة من ماد الأليسين وذلك مثل إنزيم Carboxylase و Adenosine triphosphatase .

وقد وجد العلماء أن الخمائر التي تسبب فساد الأغذية تثبط بواسطة مستخلص مادة الأليسين ، حيث وجد أن مستخلص الثوم كان له تأثير فعال جداً ضد الخميرة *Candida albicans*. هذه الخميرة تم تثبيط نموها بعصير الثوم المخفف بنسبة ١: ٥١٢ وتم قتلها عندما كان تركيز العصير بنسبة ١: ٢٥٦ . وقد يرجع تثبيط الثوم لخمائر الفساد إلى نواتج هدم مواد الـ Thiols التي توجد في الثوم مثل مواد L-cysteine و Glutathione، حيث أن هذه المواد ثبطت نمو ٣٩ سلالة من أصل ٤١ سلالة اختبرها العلماء. وبالإضافة إلى تثبيط مادة الأليسين لإنزيمات الخمائر فإنها قد يكون لها تأثير قاتل للخمائر أيضاً عن طريق تحويل بروتين الخلايا إلى صورة غير نشطة بواسطة أكسدة مواد الـ Thiols الضرورية وربط هذه المواد الكبريتية بحيث تصبح غير نشطة. ويجدر الإشارة إلى أن مستخلص الثوم يصبح غير فعال عند تعرضه لدرجة حرارة

١٢١°م لمدة عشرة دقائق ولكن نشاط هذا المستخلص لا يتأثر عند رقم pH منخفض (٢-٦) في حين يقل تأثير مستخلص الثوم عند pH ٩، وينتهي تماماً عند pH ١٢.

كذلك فإن خمائر الفساد الأخرى قريبة الشبه من الفطريات مثل الأجناس *Cryptococcus* و *Rhodotorula* و *Trichosporon* يتم تثبيطها بمستخلص الثوم المخفف بنسبة ١: ١٠٢٤.

وقد درس التأثير المثبط للزيوت الأساسية (٣٢ زيت) المستخلصة من الثوم والبصل على ١٣ نوع من الخمائر المسببة لفساد الأغذية ووجد أن زيت الثوم كان له تأثير فعال جداً على الخمائر عندما استخدم بتركيز ٢٥ ميكروجرام/ مل. كما وجد أن زيت البصل كان له أيضاً تأثير مثبط قوي بل إن زيت البصل كان له تأثير أفضل بالنسبة للخمائر Candida lipolytica و *Debaryomyces hansenii* و *Hansenula anomala* و *Saccharomyces cerevisiae* و *Rhodotorula rubra*. كما وجد أن زيوت الثوم والبصل تعطل تجرثم الخمائر المسببة لفساد الأغذية .

(٦,١١,٢) التوابل والأعشاب

كثير من التوابل والأعشاب لها تأثير مضاد لخمائر فساد الأغذية والمركبات الموجودة في التوابل والأعشاب والمسئولة بشكل رئيسي عن تثبيط النشاط الميكروبي تشمل كثير من المواد البسيطة ومشتقات الفينول المعقدة والتي تتطاير على درجة حرارة الغرفة. ويجدر الإشارة إلى أن التركيز المطلوب من هذه المواد لكي تثبط نمو الخمائر المسببة لفساد الأغذية أو تعطل نشاطها التمثيلي يفوق التركيز المستخدم من

هذه المواد في الأغذية.

ومن بين التوابل التي لها تأثير مثبط قوي على النشاط الميكروبي توجد القرفة والفلفل الحلو . وقد وجد أن التأثير الرئيسي لهذه المواد يكمن في الزيت الأساسي لهذه النباتات .

وقد اهتم العلماء بمادة Cinnamic aldehyde (3-phenyl-2-propenal) المستخلصة من القرفة ووجدوا أنها هي المادة الفعالة في تثبيط نمو خمائر فساد الأغذية، وكذلك خمائر تخمر الكحول حيث أن هذه المادة بتركيز قليل (٢٥ ميكروجرام/ لتر) تضعف نمو كثير من خمائر فساد الأغذية. كذلك فإن مادة الفانيلين (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) وهي أحد المكونات الرئيسية في اللوبيا والفاصوليا لها تأثير مثبط لنمو خمائر فساد الأغذية .

وبصفة عامة فإن الزيوت الأساسية الموجودة في القرفة والفلفل الحلو والتوابل الفاتحة للشهية تؤدي إلى تعطيل حصول الخميرة على الطاقة كما وجد أنها أيضاً تعطل تنفس وتجرثم خمائر فساد الأغذية.

(٦,١١,٣) الصبغات النباتية

توجد خواص تثبيط نمو الخمائر في بعض المواد المسئولة عن ألوان أنسجة النباتات فمثلا صبغات الأنثوسيانين توجد تقريباً في كل النباتات الراقية وتسود في الأزهار والثمار. هذه الصبغات تتكون غالباً من (Anthocyanidin) المرتبط بسكر أو أكثر. وكل الـ Anthocyanidins مشتقات لكاتيون الـ Flavylium ولها درجات مختلفة

من القدرة على تثبيط النشاط التمثيلي للميكروبات، حيث لوحظ أن هذه المواد كان لها تأثير مثبط قوي على الخمائر.

(٦,١١,٤) الأحماض العضوية

إن حموضة الوسط الذي تعيش فيه الميكروبات تلعب دوراً رئيسياً في نمو هذه الميكروبات. وبالنسبة للبكتيريا فإنها بصفة عامة لن تنمو عند رقم pH أقل من ٣,٩-٤ ولذلك فإن أي غذاء يحتوي على كمية كافية من الأحماض لخفض رقم الـ pH إلى أقل من ٤، سوف يكون محمي ضد فعل البكتيريا بصفة عامة. وقد وجد أن حامض البنزويك الذي يوجد في التوت البري والبرقوق والبلح والتفاح والفراولة ، كما يتم تخليقه صناعياً له تأثير مثبط على نشاط الخمائر المسببة لفساد الأغذية بدرجة أكبر من تأثيره على البكتيريا بل إن هذا الحامض لا يؤثر على كثير من البكتيريا الممرضة. كذلك فإن حامض السوربيك الذي يوجد طبيعياً في بعض أنواع الفاكهة له أيضاً تأثير مثبط على نمو خمائر فساد الأغذية.

(٦,١١,٥) البن والشاي والكولا والكاكاو

توجد مشروبات كثيرة من أصل نباتي وتحتوي على مواد مضادة للميكروبات وبالنسبة لمادة الكافيين (1, 3, 7-trimethylxanthine) فهي توجد في البن والكاكاو وبعض البقوليات والشاي والكولا والفول السوداني. وهذه المادة مضادة لنمو الخمائر، حيث تعطل تنظيم عملية الجليكوليسيز Glycolysis التي تقوم بها الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في بداية نموها .

(٦,١٢) المراجع

Brpcklehurst, T.; Zaman-Wang, C. and Lund, B. (1987) Growth of yeasts in ready to use salads. The Journal of Applied bacteriology, 63: 409-415.

Collins, M. and Buick, R. (1989) Growth of yeasts in the frozen vegetables. Food Microbiology, 6: 135-142.

Curiale, M. (1998) Limiting grpwth: Microbial shelf-life testing. http://www.foodproductdesign.com/articles/462/462_0298QA.html

Deak, T. and Beuchat, I. (1987) Identification of spoilage yeasts. Journal of Food protection, 50:243-247.

Dennis, C. and Buhagiar, R. (1980) Biology and Activities of Yeasts. Eds F. Skinner, S. Passmore and R. Davenport, Academic Press, London.

Dillon, V. (1998) Yeasts and moulds associated with meat and meat products. In The Microbiology of Meat and Poultry

Ed. A. Davies and R. Board, Blackie Academic & Professional. London, 85-117

Fleet, G. (1990) Yeast Technology. Eds J. Spencer and D. Spencer, Springer-Verlag, Berlin.

Kobatake, M.; Kreger-van Rij, N.; Placido, M. and vaUden, N. (1992) Spoilage of fish by certain yeasts. Letters in Applied Microbiology. 14: 37-39.

Legan, J., and Voysey, P. (1991) Growth of yeasts on backing products. Journal of Applied Bacteriology, 70: 361-369.

Mossel, D. (1970) Margarine Today: Technological and Nutritional Aspects. Proceedings of a seminaar held at Dijon University, Central Institut voor Voedingsnderzoek Tno Publikatie, 654.

Pitt, J. and Hocking, A. (1985) Fungi and Food Spoilage. Academic Press, London.

Rohm, H. and Lechner, F. (1990) Growth of yeast strains in dairy products. Applied and Environmental Microbiology, 56:1290-1296.

Rose, A. and Harrison, J. (1993) Yeast Technology, Academic Press, New York, 5 5th ed.

Rose, A. (1987) The Yeasts. Eds A. Rose and J. Harrisson, Academic Press, London, 2: 5-40.

Rosini, G.; Federic, F. and Martini, A. (1982) Microbial Ecology. 8, 83.

Skandamis, P. and Nychas, G. (2001) Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. Journal of Applied Microbiology, 91: 1011-1017

Torok, T. And King, A. (1991) Identification of yeasts growing on some vegetables and fruits. Applied and Environmental Microbiology, 57: 1207-1213.

Varabioff, Y. (1993) Occurrence of yeast strains in dairy products. Dairy Products, 11: 8-13.

Wood, B. J. (1998) Microbiology of Fermented Foods, 2nd edn, vol. 1, London: Blackie Academic Professional.

Zayed, G. and Foley, J. (1987) The influence of the fermentation conditions on ethanol yields from whey permeate. Irish J. Food Sc. Technol 11, 109-118.