تأثير حامض الخليك في نمو بعض أنواع البكتريا المرضية المعزولة من لحم العجل الطازج

رشيد محجوب المصلح* مهدي ضمد القيسي** عبد الستار خلف العبيدي***

الملخص

تناولت الدراسة عزل وتشخيص بكتريا ***Staphylococcus aureus; Bacillus subtilus; Salmonella typhimurium; Escherichia coli*** الملوثة للحم العجل الطازج. وكذلك دراسة تأثير حامض الخليك (**Acetic acid**) بدرجة حرارة المختبر ودرجة حرارة الثلاجة في نمو أنواع البكتريا المعزولة من لحم العجل الطازج. فقد ثبط تركيز الحامض **0.3%** نمو بكتريا ***Staph. aureus*** بعد **3** أيام من الحضن في حرارة المختبر، وثبط التركيز **0.4%** نمو بكتريا ***B. subtilis*** بعد اليوم الأول من الحضن، بينما ثبط التركيز (**0.4%**) نمو كل من بكتريا ***E. coli*** و***Sal. typhimurium*** بعد **3** أيام من الحضن.

أما عند الحضن في درجة حرارة الثلاجة فقد حدث تثبيط كلي لبكتريا ***Staph. aureus*** و***B. subtilis*** بعد اليوم الأول من الحضن عند استخدام حامض الخليك بتركيز **0.3** و**0.4%**. في حين تم تثبيط بكتريا ***E.coli*** و***Sal.typhimurium*** كليا بعد اليوم الأول من الحضن بالثلاجة باستخدام الحامض بتركيز **0.4%**. لذا فان حامض الخليك يمتلك فعالية تثبيطية للبكتريا قيد الدراسة في درجة حرارة الثلاجة أعلى من فعاليته في درجة حرارة المختبر.

المقدمة

يعد اللحم مصدراً أساسياً لإمداد الإنسان بالبروتينات والدهون وبعض الفيتامينات والعناصر المعدنية حيث تعتمد القيمة الغذائية للحوم بمحتواها الجيد من هذه المكونات وبسبب رقم الهيدروجين (**pH**) القريب من التعادل. كما تعد اللحوم وسطاً مناسباً لنمو الأحياء المجهرية وخاصة البكتريا، وهي المسؤولة عن تلف اللحوم في أثناء الخزن أو التسويق، مما يجعلها غير مناسبة للاستهلاك. يحصل التلوث البكتيري للحوم الطازجة من المحيط الخارجي ومن الحيوان نفسه والعدد والأدوات والعاملين وعمليات تحضير اللحوم والخزن والنقل وغيرها من مصادر التلوث (**3**، **15**، **16**).

تمتلك البكتريا خصائص فسلجية ووراثية لمقاومة الظروف البيئية المتطرفة أو العوامل والمركبات المثبطة للنمو. لذلك اهتمت الدراسات ذات الصلة بالأغذية بآلية المقاومة والتطبع البكتيري لهذه الظروف، وعند فهم هذه الآلية يمكن منع نمو البكتريا في الأغذية. وتعد الأحماض العضوية المستخدمة كمواد حافظة احد هذه العوامل، حيث يظهر تأثيرها في خلايا البكتريا بمختلف الإشكال منها التأثير في بروتينات الخلية والارتباط ببعض الإنزيمات وتثبط عملها، وتؤثر في توازن الرقم الهيدروجيني (**pH**) من خلال خفضه إلى اقل من المستوى الطبيعي مما يؤدي إلى تعطيل نقل المركبات الكيميائية داخل الخلية، ومن ثم توقف المسارات الأيضية، كما يؤدي إلى إطالة طور التطبع (**lag phase**) ومن ثم تثبيط النمو (**5**).

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

* كلية العلوم– جامعة بغداد– بغداد، العراق.

** وزارة الزراعة– بغداد– العراق.

*** وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق.

أن للأحماض العضوية تأثيرا حتى في تلك البكتريا التي تقاوم أقسى الظروف البيئية، وتناولت الدراسة التي قام بها Siragusa وDickson (17) تأثير الأحماض العضوية في نمو بعض أنواع البكتريا الملوثة للحوم الطازجة التي بينت أن حامض الخليك بتركيز 1.7% أو حامض اللاكتيك بتركيز 2% يمكن أن يثبط نمو بكتريا *E. coli* O57: H7، *Listeria monocytogenes* و *Sal. typhimurium* في لحوم البقر ذات الدهون القليلة ولمدة 7 أيام. أما حامض الفيوماريك Fumaric acid بتركيز 2% فيعد اشد فعالية على بكتريا *E. coli* O57: H7 و *L. monocytogenes* الملوثة للحوم من حامض اللاكتيك وحامض الخليك بتركيز 1% (12). يمتلك حامض اللاكتيك بتركيز4 % فعالية تثبيط جيدة تجاه نمو البكتيريا (7). أما عند إضافة حامض الاسكوربيك Ascorbic acid بتركيز 0.1% إلى لحوم البقر فانه يمنع تغير لون اللحم عند معاملته بالإشعاع، بسبب حمايته لصبغة الهيم heme pigment من جهد الأكسدة والاختزال، وكذلك له دور في حماية الدهون من الأكسدة بالإشعاع (4، 13).

لذا فقد هدفت هذه الدراسة تقويم الفعالية التثبيطية لحامض الخليك تجاه بعض أنوع البكتريا المرضية المعزولة من اللحم الطازج.

المواد وطرائق البحث

جلبت نماذج لحم (قطع) العجل طازجة من السوق المحلية في أكياس بلاستيكية معقمة ومزجت هذه العينات مع بعضها للحصول على عينة ممثلة. وزن 50 غم من اللحم الطازج وأضيف أليه 450 مل من ماء البيتون 0.1 % المعقم وخلط لمدة دقيقتين بوساطة Stomacker المعقم، بعدها حضرت منه عدة تخافيف ثم زرعت على الأوساط *Staphylococcus* 110 لعزل بكتريا *Staph. aureus*, أكار الدم Blood Agar (BA) لاختبار قدرة البكتريا على تحلل الدم، الاكار المغذي Nutrient agar (NA) لزرع البكتريا وحفظها, أما الوسط التفريقي Eosin Methylene Blue Agar (EMB) فقد استخدم لعزل بكتريا *E. coli*، وحضنت في 37 مْ لمدة 24 ساعة. ولغرض عزل بكتريا السالمونيلا تم الزرع في وسط التتراثايونيت السائل Tetrathionat Broth وحضن في درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة, بعدها تم نقل 0.1 مل منه إلى وسط Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD) وزرع بطريقة النشر، ثم حضن في درجة 37م لمدة 24 ساعة. ولتشخيص الأنواع البكتيرية المعزولة أجريت عليها بعض الاختبارات المظهرية، وتضمنت شكل المستعمرات البكتيرية وحجمها ولونها على الأوساط المعزولة منها وشكل حافاتها ورائحتها وسطوحها وقوامها وهل هي محلله أم غير محلله للدم (10). اتبعت الطرائق التي وصفها العبيدي (1) والتي تضمنت الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests لتشخيص بكتريا *Staph. aureus* والتي شملت اختبار تخمر سكر المانيتول والنمو في تركيز 10% كلوريد الصوديوم والكشف عن أنتاج أنزيم الكاتليز Catalase والكشف عن أنتاج أنزيم اليوريز، أما تشخيص بكتريا *B. subtilis* فتضمن فحص النمو في 50 مْ وفحص الفوكس– بروسكاور Voges Prausker test والكشف عن أنتاج أنزيم الكاتليز وكشف السترات وتسيل الجيلاتين، بينما شملت الفحوص الكيموحيوية لتشخيص بكتريا *E. coli* فحص الاندول وفحص الفوكس– بروسكاور و اختبار المثيل الأحمر والكشف عن تخمر السكر وأتناج الغاز والكشف عن أنتاج أنزيم الكاتليز، وكذلك أجريت الفحوص الكيموحيويه لتشخيص بكتريا *Sal. typhimurium* وهي اختبار المثيل الأحمر وفحص الاندول وإنتاج كبريتيد الهيدروجينH_2S وكشف استهلاك السترات والكشف عن أنتاج أنزيم الكاتليز.

حضر محلول حامض الخليك بتركيز 1% لاستعماله كمحلول خزين وباستخدام الماء المقطر المعقم، بعدها حضرت التراكيز المطلوبة بمزج حجم معين من محلول الخزين مع وسط المرق المغذي Nutrient Broth (NB). اتبعت الطريقة التي أوردها شفيق (2)، وذلك بتحضير 4 دوارق من وسط المرق المغذي (NB) احتوت على التراكيز

0.1، 0.2، 0.3 و0.4% من حامض الخليك، وحضر دورق من وسط المرق المغذي دون إضافة حامض لغرض المقارنة (سيطرة). تم تلقيح الدوارق بمزروع فتي بعمر (18–24) ساعة بكثافة خلوية (1.5×10^5 خلية/مل) من بكتريا ***Staph. aureus, B. subtilis , E. coli*** و***Sal. typhimurium***، وحضنت النماذج في درجة حرارة المختبر ودرجة حرارة الثلاجة ولمدة 5 أيام تم خلالها عد البكتريا وقياس رقم الهيدروجين في فترات 0، 1، 2، 3، 4 و5 ايام كل منها على انفراد للكشف عن تأثير الحامض في نمو البكتريا.

النتائج والمناقشة

عزلت بكتريا ***B. subtilis***، ***Staph. aureus***، ***E. coli*** و***Sal. typhimurium*** من عينات لحم العجل الطازج، وجرى تشخيص البكتريا بالاعتماد على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية (9) وكما موضح في جدول (1).

جدول 1: نتائج الفحوص البيوكيميائيه لتشخيص البكتريا المعزوله من اللحم الطازج

نوع البكتريا	نوع الفحص		نتيجة الفحص
Staph. aureus	تخمر سكر المانيتول	Mannitol fermentation	+
	النمو على كلوريد الصوديوم 10%	Growth on NaCl agar 10%	+
	أنتاج الكاتليز	Catalase production	+
	أنتاج اليوريز	Urease production	+
B. subtilis	النمو في درجة حرارة 50م	Growth at 50C°	+
	فوكس–بروسكاور	Voges Prausker (VP)	+
	الكاتليز أنتاج	Catalase production	+
	السترات استهلاك	Citrateutilization	+
	تسييل الجيلاتين	Gelatine lequification	+
E. coli	انتاج الاندول	Indole productionأ	+
	فوكس–بروسكاور	Voges Prausker (VP)	+
	المثيل الأحمر	Methyl Red (MR)	+
	تخمر الكلوكوز	Glucose fermentation	+
	أنتاج الغاز	Gas production	+
	الكاتليز أنتاج	Catalase production	+
Sal. typhimurium	المثيل الأحمر	Methyl Red (MR)	+
	أنتاج الاندول	Indole production	–
	أنتاج كبريتيد الهيدروجين	H_2S production	+
	السترات استهلاك	Citrate utilization	+
	ا نتاج الكاتليز	Catalase production	+

(+) النتيجة موجبة ، (–) النتيجة سالبة.

تبين نتائج جدول (2) أن لجميع تراكيز حامض الخليك تأثيرا مثبطا في نمو بكتريا ***Staph. aureus*** وبنسب متفاوتة. ففي تركيز 0.1% نجد أن أعداد البكتريا انخفض من 1.5×10^5 إلى 6.5×10^4 وحده مكونة للمستعمرات/مل بعد اليوم الأول من الحضن، بينما أعداد السيطرة ارتفعت إلى 5.2×10^6 وحده مكونة للمستعمرات/مل وانخفض العدد في اليوم الثاني لهذا التركيز إلى 5.4×10^4 وحده مكونة للمستعمرات/مل ، ثم ارتفع عدد البكتريا في الأيام اللاحقة إلى أن وصل في اليوم الخامس إلى 1.46×10^5 وحده مكونة للمستعمرات/مل ، بينما وصلت أعداد السيطرة في اليوم الخامس إلى 2.8×10^8 وحده مكونة للمستعمرات/مل. أما تركيز 0.2% استطاع

جدول **2**: فعالية حامض الخليك في نمو بكتريا ***Staph. aureus*** ، (أ) في درجة حرارة المختبر، (ب) في درجة حرارة الثلاجة

(أ): الحضن في درجة حرارة المختبر

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)									
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.90	$6$10×5.2	6.95	$7$10×2.20	7.05	$7$10×7.7	7.20	$8$10×2.20	7.30	$8$10×2.8
0.1	3.45	$5$10×1.5	3.45	$4$10×6.5	3.50	$4$10×5.4	3.50	$4$10×6.3	3.50	$4$10×7.1	3.60	$5$10×1.46
0.2	3.40	$5$10×1.5	3.40	$4$10×1.35	3.45	$4$10×4.1	3.45	$4$10×6.1	3.45	$4$10×4.7	3.45	$4$10×3.4
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.35	$2$10×4.8	3.35	$2$10×2.15	3.35	----	3.35	----	3.35	----
0.4	3.30	$5$10×1.5	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----

(ب): الحضن في درجة حرارة الثلاجة

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)									
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.90	$5$10×1.60	6.90	$5$10×2.0	6.95	$5$10×3.1	6.95	$5$10×6.2	7.0	$6$10×1.52
0.1	3.45	$5$10×1.5	3.45	$2$10×5.7	3.45	$2$10×5.4	3.50	$2$10×6.6	3.50	$2$10×7.0	2.50	$2$10×7.5
0.2	3.40	$5$10×1.5	3.40	$2$10×1.06	3.45	$1$10×7.8	3.45	$1$10×5.6	3.45	----	3.45	----
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----
0.4	3.30	$5$10×1.5	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----

(--): عدم وجود نمو

تثبيط النمو البكتيري إلى 1.35×10^4 خلية/مل، وتذبذبت الأعداد في الأيام اللاحقة حتى استقر العدد في اليوم الخامس إلى 3.4×10^4 خلية/مل. أما في تركيز 0.3% فقد حدث تثبيط شديد لنمو البكتريا في اليوم الأول واليوم الثاني حيث كانت الأعداد 4.8×10^2 و2.15×10^2 وحده مكونة للمستعمرات/مل على التوالي، ثم اختفى النمو نهائيا في الأيام اللاحقة، في حين تركيز0.4% استطاع تثبيط النمو نهائيا من اليوم الأول إلى نهاية التجربة.

أما عند الحضن في درجة حرارة الثلاجة نلاحظ من نتائج جدول (2 ب) أن هناك تأثيرا شديد الفعالية لجميع تراكيز حامض الخليك في نمو بكتريا ***Staph. aureus***، ففي تركيز 0.1% حصل تثبيط للنمو من 1.5×10^5 وحده مكونة للمستعمرات/مل إلى 5.7×10^2 وحده مكونة للمستعمرات/مل في اليوم الأول من الحضن، بينما ارتفعت أعداد السيطرة إلى 1.60×10^5 وحده مكونة للمستعمرات/مل، واستمر تثبيط النمو في اليوم الثاني لهذا التركيز إلى 5.4×10^2 خليه/مل، ثم عاود الارتفاع في الأيام اللاحقة إلى أن وصل في اليوم الخامس إلى 7.5×10^2 خلية/مل. أما تركيز 0.2% فكان اشد فعالية حيث انخفضت الأعداد في اليوم الأول إلى 1.06×10^2 خليه/مل، واستمرت بالانخفاض في اليوم 2 و3 بعدها اختفى النمو نهائيا. أما التركيزان 0.3 و0.4% فقد ثبطا النمو نهائيا من اليوم الأول إلى نهاية مدة التجربة.

تبين نتائج جدول (3) أن لحامض الخليك فعالية تثبيطية في نمو بكتريا ***B. subtilis*** في جميع تراكيز الحامض وبنسب متفاوتة. وقد حدث تثبيط كلي لنمو البكتريا عند استخدام الحامض بتركيز 0.4% ابتداءً من انتهاء اليوم الأول من الحضن في حرارة المختبر. أما الحضن في حرارة الثلاجة فقد كان التأثير واضحا عن انتهاء اليوم الأول من الحضن عند استخدام الحامض بكلا التركيزان 0.3 و0.4% (جدول 3 ب)، بينما تباين التأثير باستخدام التراكيز الأخرى من حامض الخليك.

يبين جدول (4) تأثير حامض الخليك في نمو بكتريا ***E. coli*** عند الحضن في درجة حرارة المختبر, فقد تباين تأثير تراكيز الحامض في تثبيط نمو البكتريا خلال مدة الحضن. وقد حدث تثبيط كلي لنمو البكتريا باستخدام حامض الخليك بتركيز 0.4% بعد الحضن لمدة 3 أيام في حرارة الغرفة. أما الحضن في حرارة الثلاجة فقد اظهر حامض الخليك تأثير تثبيط عالٍ بالمقارنة مع الحضن في حرارة المختبر مع التراكيز المستخدمة نفسها. إذ حدث تثبيط كلي لنمو البكتريا في اليوم الأول من الحضن عند استخدام حامض الخليك بتركيز 0.4% (جدول 4 ب). يستدل من هذا بان بكتريا ***E. coli*** تمتلك مقاومة عالية تجاه حامض الخليك وبكافة التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة، وان لحرارة الحضن تأثيراً واضحاً في نمو البكتريا. فقد ظهر الانخفاض واضحا في أعداد البكتريا عند الحضن في الثلاجة.

يبين جدول (5) فعالية حامض الخليك في نمو بكتريا ***Sal. typhimurium*** عند الحضن في درجة حرارة المختبر، فقد حدث انخفاض في نمو البكتريا في التراكيز المستخدمة من الحامض كافة بالمقارنة مع نماذج السيطرة. وكان لتركيز الحامض 0.4% تأثير تثبيطي عالٍ، حيث كانت أعداد خلايا البكتريا في اليوم الأول من الحضن 3.8×10^2 وحده مكونة للمستعمرات/مل، ثم انخفضت في اليوم الثاني إلى 8.3×10 وحده مكونة للمستعمرات/مل، وفي الأيام اللاحقة اختفى النمو نهائيا حتى نهاية التجربة.

أما فعالية حامض الخليك في نمو بكتريا السالمونيلا عند الحضن في الثلاجة فيوضحها جدول (5 ب) والتي تبين أن تركيز 0.1% عمل على خفض النمو في اليوم الأول من الحضن إلى 5.7×10^3 وحده مكونة للمستعمرات/مل، مقارنة مع أعداد السيطرة 1.65×10^5 وحده مكونة للمستعمرات/مل، وفي الأيام اللاحقة حدثت زيادة في النمو عند استخدام تركيز 0.1% إلى أن وصل العدد في اليوم الخامس إلى 2.15×10^4 وحده مكونة للمستعمرات/مل، في حين وصلت أعداد السيطرة إلى 8.8×10^5 وحده مكونة للمستعمرات/مل. أما تركيز 0.2% فقد أدى إلى خفض الأعداد إلى 3.2×10^3 وحده مكونة للمستعمرات/مل، وفي الأيام اللاحقة من الحضن ازداد عدد الخلايا قليلا ليصبح العدد في

جدول 3: فعالية حامض الخليك في نمو بكتريا *B. subtilis*، (أ) في درجة حرارة المختبر، (ب) في درجة حرارة الثلاجة

(أ): الحضن في درجة حرارة المختبر

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)											
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.95	$6$10×5.0	7.0	$6$10×8.8	7.05	$7$10×3.5	7.10	$8$10×1.23	7.10	$8$10×2.7
0.1	3.50	$5$10×1.5	3.50	$4$10×8.4	3.50	$4$10×8.6	3.55	$5$10×4.9	3.60	$6$10×1.06	3.60	$6$10×2.8
0.2	3.45	$5$10×1.5	3.40	$4$10×2.40	3.40	$4$10×5.8	3.45	$4$10×6.4	3.45	$4$10×7.2	3.50	$4$10×7.6
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.35	$2$10×8.0	3.35	$2$10×7.8	3.4	$2$10×6.50	3.40	$2$10×2.0	3.40	$2$10×1.36
0.4	3.25	$5$10×1.5	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----

(ب): الحضن في درجة حرارة الثلاجة

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)											
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد لبكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.90	$5$10×1.65	6.85	$5$10×2.10	6.85	$5$10×2.25	6.85	$5$10×4.1	6.90	$5$10×7.3
0.1	3.50	$5$10×1.5	3.40	$3$10×2.25	3.45	$2$10×8.4	3.45	$2$10×7.9	3.50	$2$10×6.2	3.50	$2$10×4.5
0.2	3.45	$5$10×1.5	3.40	$2$10×3.4	3.45	$2$10×1.13	3.45	$1$10×6.8	3.50	$1$10×6.2	3.50	$1$10×4.3
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----
0.4	3.25	$5$10×1.5	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----	3.30	----

(--): عدم وجود نمو

جدول 4: فعالية حامض الخليك في نمو بكتريا *E. coli*، (أ) في درجة حرارة المختبر، (ب) في درجة حرارة الثلاجة.

(أ): الحضن في درجة حرارة المختبر

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)									
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.90	$6$10×8.2	6.95	$7$10×6.3	6.90	$8$10×3.9	6.95	$8$10×4.5	7.0	$8$10×1.23
0.1	3.50	$5$10×1.5	3.50	$5$10×1.32	3.50	$5$10×6.4	3.55	$6$10×3.5	3.55	$6$10×6.8	3.60	$7$10×1.36
0.2	3.45	$5$10×1.5	3.45	$4$10×5.2	3.45	$5$10×4.4	3.45	$6$10×1.22	3.55	$6$10×1.21	3.50	$6$10×1.55
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.40	$3$10×4.1	3.40	$3$10×3.1	3.45	$3$10×4.1	3.50	$3$10×5.3	3.55	$3$10×8.4
0.4	3.25	$5$10×1.5	3.35	$2$10×7.2	3.35	$2$10×3.1	3.35	----	3.35	----	3.35	----

(ب): الحضن في درجة حرارة الثلاجة

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)									
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.80	$5$10×1.85	6.80	$5$10×2.55	6.85	$5$10×4.2	6.85	$5$10×7.8	6.85	$6$10×3.6
0.1	3.50	$5$10×1.5	3.45	$3$10×6.3	3.50	$3$10×6.9	3.50	$3$10×8.1	3.55	$3$10×8.7	3.55	$4$10×2.00
0.2	3.45	$5$10×1.5	3.40	$3$10×4.80	3.45	$3$10×3.3	3.45	$3$10×2.9	3.50	$3$10×2.6	3.50	$2$10×9.8
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.40	$1$10×7.8	3.45	$1$10×6.5	3.45	$1$10×5.6	3.45	$1$10×4.55	3.50	$1$10×2.10
0.4	3.25	$5$10×1.5	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----

(--): عدم وجود نمو

جدول 5: فعالية حامض الخليك في نمو بكتريا *S. typhimurium* ، (أ) في حرارة المختبر، (ب) في درجة حرارة الثلاجة.

(أ): الحضن في درجة حرارة المختبر

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)											
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.90	$6$10×6.2	7.0	$7$10×3.0	7.10	$7$10×6.6	7.15	$8$10×4.0	7.20	$8$10×2.10
0.1	3.50	$5$10×1.5	3.60	$5$10×4.3	3.60	$5$10×8.5	3.65	$6$10×1.95	3.65	$6$10×6.3	3.65	$6$10×7.2
0.2	3.45	$5$10×1.5	3.40	$4$10×7.6	3.45	$5$10×2.9	3.50	$5$10×5.5	3.50	$5$10×7.4	3.55	$6$10×1.16
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.35	$3$10×2.5	3.40	$3$10×2.8	3.40	$3$10×3.4	3.45	$3$10×5.6	3.45	$3$10×6.3
0.4	3.30	$5$10×1.5	3.35	$2$10×3.8	3.35	$1$10×8.3	3.35	----	3.35	----	3.35	----

(ب): الحضن في درجة حرارة الثلاجة

تركيز الحامض (%)	مدة الحضن (يوم)											
	0		1		2		3		4		5	
	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)	pH	تعداد البكتريا (خلية/مل)
سيطرة	6.80	$5$10×1.5	6.80	$5$10×1.65	6.85	$5$10×2.15	6.90	$5$10×3.2	6.95	$5$10×5.8	6.95	$5$10×8.8
0.1	3.50	$5$10×1.5	3.55	$3$10×5.7	3.55	$3$10×6.7	3.55	$3$10×8.1	3.60	$4$10×1.25	3.60	$4$10×2.15
0.2	3.45	$5$10×1.5	3.45	$3$10×3.2	3.40	$3$10×3.4	3.40	$3$10×3.6	3.45	$3$10×4.5	3.45	$3$10×5.3
0.3	3.35	$5$10×1.5	3.35	$2$10×6.3	3.35	$1$10×8.5	3.40	$1$10×8.3	3.40	$1$10×5.7	3.40	----
0.4	3.30	$5$10×1.5	3.30	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----	3.35	----

(--): عدم وجود نمو

اليوم الخامس إلى 5.3×10^{3} وحده مكونة للمستعمرات/مل. أما بالنسبة لتركيز 0.3% استطاع خفض النمو في اليوم الأول إلى 6.3×10^{2} وحده مكونة للمستعمرات/مل، ثم تضاءل العدد لاحقا ليصبح في اليوم الرابع 5.7×10^{1} وحده مكونة للمستعمرات/مل، وفي اليوم الخامس توقف النمو نهائيا. أما تركيز 0.4% فقد عمل على تثبيط كامل للنمو منذ اليوم الأول.

يستدل من هذه النتائج أن حامض الخليك يمتلك فعالية تثبيط عالية تجاه البكتريا الاختيارية، وقد تعزى فعاليته إلى قدرته على النفاذ عبر جدار الخلية البكتيرية ومن ثم تغيير طبيعة البروتين أو تحطيمه داخل الخلية (**14**)، أو بسبب جزيئات الحامض غير المتأينة التي لها القدرة على النفاذ إلى داخل الخلية ومن ثم التأثير فيها بشكل أسرع من الجزيئات المتاينة، إضافة إلى قدرة ذوبان الجزيئات غير المتاينة بالدهون الموجودة في جدار الخلية، مما يساعد على نفاذها إلى داخل الخلية (**10**). ومن ناحية درجة حرارة الحضن وجد أن للحامض قدرة على تثبيط نمو البكتريا في درجة حرارة الثلاجة أعلى من قدرته عند الحضن في درجة حرارة المختبر، وهذا يتفق مع ما أشارت أليه دراسات سابقة (**6**، **8**، **11**).

المصادر

1- العبيدي، عبد الستار خلف نواف (**2006**). دراسة مقارنة لتأثير مستخلص ثمار نبات السماق ***Rhus coriaria*** مع مواد حافظة كيميائية في البكتريا المرضية والمتلفة للحوم. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد، العراق.

2- شفيق، مي حاتم (**1982**). تأثير بعض الأحماض العضوية على نمو بعض أنواع البكتريا المعزولة من اللحوم. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد، العراق.

3- **Aslam, M.; F. Nattress; G. Greer; C. Yost; C. Gill and L. McMuller (2003). Origin of contamination and genetic diversity of Escherichia coli in beef cattle. Appl. Environ. Microbiol., 69(5): 2794-2799.**

4- **Ahn, J.; I.U. Grun and A. Mustapha (2004). Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. J. Food. Prot., 67(1): 148-155.**

5- **Beales, N. (2003). Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, Low pH and osmotic stress. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Institute of Food Technologists, 3:.1-25.**

6- **Buchanan, R.L.; M. H. Golden; J. G. Phillips (1997). Expanded Models for the non-thermal inactivation of Listeria monocytogenes. J. Appl. Microbiol., 82(5): 567-577.**

7- **Gill, C. O. and M. Badoni (2004). Effects of peroxyacetic acids acidified sodium chlorite or lactic acid solutions on the microflora of chilled beef carcasses. Int. J. Food Microbiol., 91, Issue 1: 43-50.**

8- **Gill, C. O.; G.G. Greer and B. D. Dilts (1997). The aerobic growth of Aeromonas hydrophila in brooks and on pork. Int. J. Food Microbiol., 35(1): 67-74.**

9- **Holt, J. W.; N. R. Krieg; P. H. Sneath; J. T. Stalely and S. T. Williams (1994). Berege's Manual of Determinative Bacteriology, Williams & Wilkins, 9th ed.**

10- **Ita, P. S. and R. W. Hutkins (1991). Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric and hydrochloric acids. J. Food. Prot., 54(1): 15-19.**

11- Jorgensen, F.; T. B. Hansen and S. Knochel (1999). Heat shock induced thermotolerance in *Listeria mopnocytogenes* is dependent on growth phase, pH and Lactic acid. Food Microbiol., 16(2): 185-194.

12- Podolak, R. K.; J. F. Zayas; C. L. Kastner and D.Y. Fung (1996). Inhibition of *Listeria monocytogenes and Escherichia coli 0157: H7* on beef by application of organic acids. J. Food Prot., 59(4): 370-373.

13- Realini, C. E.; S. K. Duckett and W. R. Windham (2004). Effect of vitamin C addition to ground beef from grass-fed or grain-fed sources on color and lipid stability, and predication of fatty acid composition by near–infrared reflectance analysis. Meat Sci., 68, Issue 1: 35-43.

14- Reynolds, A. E. (1975). The mode of action of acetic acid on bacteria. Dissertation Abstract Int., 35(10): 4935-4936. (Fd. Sci. Technol. Abst.).

15- Shale, K.; J. F. lues; P. Venter and E. M. Buys (2005). The distribution of *Staphylococcus sp.* on bovine meaty from abattoir deboning rooms. Food Microbial, 22, Issue 5: 433-438.

16- Schlegelova, J.; E. Naprarnikova; M. Dendis; R. Harrath; J. Benedick; V. Babak; E. Elimova; P. Navratilova and A. Sustakova (2004). Beef carcass contamination in a slaughterhouse and prevalence of resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species. Meat Sci., 66, Issue 3: 557-565.

17- Siragusa, G. R. and J. S. Dickson (1993). Inhibition of *Listeria monocytogenes, Salmonella typhimurium and Escherichia coli 0157:H7* on beef muscle tissue by lactic or acetic acid contained in calcium alginate gels. J. Food Safety, 13(2): 147-158.

Iraqi J. Agric. (Special Issue) Vol.14 No.4 2009

EFFECT OF ACETIC ACID ON GROUP OF SOME PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM FRESH VEAL

R. M. Al-Muslih* M. T. Al-KaiseyA. K. Al-Obaidi*****

ABSTRACT

This study is aimed at isolation and identification of *Staphylococcus aureus; Bacillus subtilus; Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*, from fresh veal. The obtained results complete inhibition of *Staph. aureus* at 0.3% of acetic acid after 3 days of incubation at room temperature, and after one day for *B. subtilus.* Meanwhile, at the same acid concentration (0.4%) complete inhibition was also achieved for *E. coli* and *Sal. typhimurium* after 3 days of incubation.

While, incubation at refrigeration temperature resulted complete growth inhibition for *Staph. aureus and B. subtilus* after one day of incubation with 0.3 and 0.4% of acetic acid. Meanwhile, both *E. coli* and *Sal. typhimurium* were completely inhibited with 0.4% acetic acid after one day storage at refrigeration temperature. The results showed that the activity of acetic acid in refrigeration temperature was obvious as compared with that at room temperature.

Part of M. Sc. Thesis of the third author.

*** College of Sci. - Baghdad Univ.-, Baghdad, Iraq.**

**** Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.**

***** Ministry of Sci. and Tech., Baghdad, Iraq.**