وزارة التخطيط

الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية

دراسة الحمولة المايكروبية للشاي في الأسواق المحلية

الجهـــــــــاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية (قسم البصرة)

اعداد

بيادر عبدالامير قاسم حمزة – ماجســـــــــتير علوم حياة

حســـــــن حسين عباس – بكلوريوس هندســـــة زراعية

2024-2023

المحتويات

ت	*الموضوع*	*رقم الصفحة*
1	المحتويات	i
2	اهداف الدراسة	iii
3	الخلاصة	iv
4	المقدمة	v
	الفصل الأول	
5	استعراض المراجع	2
6	الشاي	2
7	فوائد الشاي	3
8	المكونات الفعاله في الشاي	4
9	السموم الفطرية في الشاي	4
10	تأكيد جودة الشاي	6
11	الأنواع المايكروبية في الشاي	6
	الفصـــــــــل الثاني	
12	المواد وطرق العمل Methods and Materials .	10
13	جمع العينات Sample collecting	10

14	الاختبارات المايكروبايلوجية	10
15	تقدير عدد بكتريا القولون Bacteria form Coli : تقدير عدد الخمائر والاعفان	12
16	الفصـــــــل الثالث / النتائج والمناقشة	
17	. التعداد العام للمايكروبات	14
18	التعداد العام لبكريا القولون	14
19	التعداد العام للخمائر والاعفان	15
20	الاستنتاجات	17
21	التوصيات	17
22	المصادر	18

الجداول والاشكال

1	جدول رقم (2-1) الأجهزة المستخدمة	10	
2	جدول (1-3) الفحوصات المايكروبية للبكتريا لنوعين من الشاي الأسود والاخضر	14	
3	جدول (2-3) الفحوصات المايكروبية للخمائر والاعفان لنوعين من الشاي الأخضر والأسود	16	
4	صورة رقم (1) (a) الفطريات (الخمائر والاعفان) لاحد الأنواع المدروسة (b) وسط Violet Red Bile agar يخلو من بكتريا *coliform*	16	

اهـــــداف البحث

هدفت هذه الدراســـة إلى تقدير الحمـــولة المايكروبية للشـــاي في الأسواق المحلية في محافظة البصرة ودراسة مدى تطابقها مع المواصفة القياسية العراقية الخاصة بالشاي من خلال عد وتشخيص الاحياء المجهرية ومن أهمها الفطريات والخمائر *Mold and yeast* , وبكتريا *E.coli* .

الخلاصة

يعد الشـــاي احد أكثر أنواع الشراب الشـعبية في أنحاء العالم. أذ ان التركيب الكيميائي للشـــاي يعتبر مهم بســـبب علاقته الوثيقة بالصحة .لذا تم دراسة تقدير الحمولة المايكروبية في الشاي بنوعية الأسود والاخضر ومدى مطابقتها مع المواصفة القياسية العراقية وتضمنت العلامات التجارية للشـــــاي الأسود

(احمد , البراري , العطور , حســـن , الوزة , , مريم) والشـــاي الأخضـــر (لبتون واحمد). وأظهرت الفحوصات الميكروبية (العد الكلي لبكتريا القولون وعد الخمائر والاعفان) لكلا النوعين من الشاي وبعلاماته التجارية المدروســـة خلو ها من بكتريا القولون الكلية مع ظهوربعض الخمائر والاعفان وكان اعلى تلوث للخمائر والاعفان 1.3×10^{1} cfu/gr للشـاي الاسـودعلامة مريم بينما اقل عدد كان 2×10^{1} cfu/gr للشـاي الأسـود علامة حسـن في حين أظهرت نتائج الشـاي الأخضـر اعلى نسـبة تلوث 1.4×10^{1} cfu/gr لشـاي علامة لبتون بينما اقل نسبه كانت 6×10^{1}cfu/gr لشاي علامة احمد .

1 -المقـــــــــدمة

يعد الشـــــاي احد اهم المشـــروبات الشـــعبية في العالم ويختلف التوزيع التجاري لاســـتهلاك الشاي بانواعه ، اذ يشـكل اســـتهلاك الشـــاي الاخضـــــر والاســـــود حـــــوالي 20-78 % علـــــى التـــوالي (Jung,Y.D. and Ellis, L.M.(2001 ، يعود الشـــاي الاســـــود والشـــــــاي الاخضـــــــر للنبات نفسه *Camellia sinensis* الا انهما يختلفان في عملية الانتاج اذ تؤثر عمليات تحضـــير الشـــاي في محتواه من الفينولات المتعددة ، فبعد قطف الاوراق الفتية تذبل ثم تلف بشـــكل أســـطوانة وتخمر تخميرا كاملا وتخبز وتجفف لتحضـــير الشـــاي الاســـود ، في حين تعرض الأوراق للبخـار لتثبيط فعاليتـه انزيم البولي فينول اوكسيديز PPO ثم تجفف لتحضير الشاي الاخضر. اما النوع الثالث Oolong tea فيحضر برص الأوراق بعد تذبيلها وتخمر جزئياً ثم تجفف (Brown,M.D. (1999 .

ويحتوى الشاي الاخضرعلى نسبة جيدة من معدن الفلورين المعروف بمفعولة المقاوم لتسوس الأسنان ويكافح الأورام الســـرطانية إذ يمنع نموالاورام التي تتغذى على الأوعية الدموية ، ويتميز أيضـــا بمفعوله المضـاد للأكسـدة أى المحافظة على الخلايا من المواد المدمرة .ويعمل على خفض ضـغط الدم المرتفع وذلك لأنه يؤدى الى استرخاء العضلات المتحكمة في درجة انقباض الشرايين ، كما ويمتلك فعالية ضد مايكروبية (Jin, Y. *et al* 2006). كما يفيد الشـــاي الاخضـــر في زيادة القدرة على مكافحة الأمراض ويخفض من مستوى الكوليسترول ويحافظ على سيولة الدم ويقاوم حدوث الجلطات .

تحوي اوراق الشـــاي مجاميع كيميائية عدة ، قســـم منها مجاميع فعالة حيويا تتمثل بالقلويدات البيورنية التي تضـــم الكافيين الذي يوجد بنســـبة تتراوح بين (-2.5 4.5)%: من الوزن الجاف ، والتربينات الثلاثية Triterpene، والفلافونات Flavanols التي تمثل الكاتشينات Catechins الجزء الرئيس فيها ، فضـلا عن المعادن والفيتامينات مثل الفلورايد والبوتاسيوم والالمنيوم وفيتامين C وفيتامين Aوفيتامين E .

تلعـــب الفينولات المتعددة للشـــــاي دورا مهما في العـــديد من الفعاليات الحيوية ، فقـــد وجد ان لكاتشـــينات الشـــاي الاخضر و EGCG (gallate Epigallocatechin) فاعلـــية لمعـــادلة الجـــذور الحـــرة تـــزيد بمقدار (25،100) مرة عن الفعـــالية المضادة للاكـــسدة لفيتامين C و Eعلى التوالي . Kim,S.H. and Lee, C.S.(1992)

يعد الشـــاي بيئة ملائمة لمختلف أنواع الاحياء المجهرية والتي من الممكن ان تدخل اليه وان اعداد وأنواع الاحياء المجهرية في المنتوج النهائي تعتمد بدرجة كبيرة على اســـتلام المادة الخام وعلى عملية الإنتاج والظروف الصـحية في المعمل (Gottlieb,2002) , لذلك هدفت الدراسـة الى تقدير الحمولة المايكروبية في الشاي لكثرة استهلاكة وعدم استغناء كثير من الناس عنه .

الفصل الأول

1-1استـــــــــتعراض المراجع

2-1 نبتة الشـــــــــاي

اسم صيني يطلق على شجرة او شجيرة وعلى اوراقها وعلى المشروب الذي يصنع من الأوراق , ونباته دائم الخضرة ينسب الى فصيلة الكاميليا , وموطنه الأصلي شرق اسيا ويوجد أربعة أنواع مستخدمة من الشاي وهي :

1- الشاي الأسود Black tea
2- الشاي الأخضر Green tea
3- الشاي الالونج Oolong tea
4- الشاي الأبيض White tea

أوراق الشـاي الأسـود عطرية وهو يحضـر من أوراق الشـاي الأخضـر بعد القيام بعملية الاكسـدة وكلا النوعين يحتويان على الكافيين وهو من المركبات الضـــارة كما يحتويان على مركبات مضـــادة للاكسدة اما الشاي الأخضر فقد اكتشف من قبل الصينين قبل نحو خمسة الاف سنة وأوراقه تشبه أوراق نبات الشاي الأسود *Camellia Sinensis* (ISO.,(2005 لكن يختلف بطريقة تحضيره اذ يجفف بالبخار بينما الشـاي الأسـود تفرم الأوراق وتعجن وتخمر ثم تجفف اما الشـاي الالونج هو أيضـا شـاي صـيني يتعرض الى عمليات اكسدة خفيفة وليست كامله مثل الشاي الأسود ويكتسب خصائص معتدلة بين الشاي الأخضـر الذي لايتعرض الى اكسـدة والشـاي الأسـود الذي يتعرض الى اكسـدة كاملة .اما الشـاي الأبيض يعد من اندر أنواع الشـــاي وهو خفيف الطعم اذ ينتج بعد قطف البراعم الصـــغيرة لشـــجرة الشـــاي ويتم تجفيفها بعناية .

3-1 فوائد الشـــــــاي

استخدم الصينيون الشاي لعلاج السرطان ويعدونه أيضا مضادا للتخلص من البلغم ومحفز للمعدة اذ أن الشاي اثبت فعاليته الطبية في علاج الزحار الأميبي و الزحار البكتيري والتهاب الكبد. وأيضاً يستخدم لعالج الخدوش والحروق وبعض أنواع السرطان و نزلات البرد و عضة الكلب و علاج الصرع و الطفح الجلدي والحرارة و الم الرأس و نزف الدم الرئوي ويستخدم الشاي الأخضر ومستخلصاته الحاوية على المكونات الكيميائية مثل epigallocatchingallate لمعالجة بعض أنواع السرطانات مثل سرطان الثدي و سرطان المعدة و سرطان الجلد ويساعد في فقدان الوزن , وخفض مستوى الكولسترول وحماية الجلد من تأثيرات أشعة الشمس وأوراق الشاي الأخضر لأنها لم تخمر فتظل موادها كما هي (Punyasiri et al.,2005). ولذلك فهو أنفع قليلاً من الشاي الأسود وأقل ضرراً منها. إلا أن بعض الصينيين يستخدم الشاي الأخضر كعلاج للصداع النصفي . وهناك اعتقاد أن الشاي له بعض الفوائد للأسنان لوجود مادة الفلوريد ، كما أن الشاي يساعد علي حرق الدهون بالجسم وينظم سكر الدم ومعدل هرمون الأنسولين، وبعض الناس يضع أكياس الشاي الأخضر بعد غليها تحت العين لاعتقادهم أنها يمكن أن تعالج الانتفاخ ، وبعض الناس يعتقد أن محلول الشاي يمكن أن يستخدم كحمام يرش فوق الجلد ليلطفه من حروق الشمس أو للتلطيف ضد لدغات الناموس والحشرات. لكن الشاي يمكن أن يرفع ضغط الدم بسبب الكافيين. وتوجد به مركبات Epigallocatechin Polyphenole Gallate (EGCG) و .Bioflavonoide وبه مادة تانين وزيت عطري وثيوفيللين. وشرب كميات منه تسبب التوتر العصبي والأرق ،و هو مفيد في الوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية، والجلطات الدماغية .كما ان الشاي الأخضر يستهلك أكثر من الشاي الأسود في اليابان والصين وبعض الدول الآسيوية الأخرى وأصبح أكثر شعبية من الشاي الأسود في الدول الغربية (Simonetti et al.,2000) .

كما يتميز بأنه يمتلك تأثيرات صحية متنوعة في حالة استهلاكه , اذ يعد مضاد للالتهابات معالج لالتهاب المفاصل , وان المستخلص منه ذو تأثير مانع لحصول التليف الكبدي كما ان وجود البولي فينول في تركيبه له تأثير واسع ضد حصول الطفرات والتسرطن كما ان له دور في علاج الاسهال والتيفوئيد ومضاد للفطريات و يستخدم في تحضير المستحضرات الصيدلانية ومواد التجميل ومعجون الاسنان.

4-1 المكونات الكيميائية الفعالة

تحتوي الأوراق الطرية للشـــاي علـــى متعـدد الفينول و صابونين و كافائيـــن و بروتيـــن و بـكتـين و على و epigallocatechin و catechin ألياف و نـشأ وســـكـــريات مخـتزلة وتحـتـوي أيـضـاً عـلى الكاروتين و رايبو فالفين و نيكوتينك أسيد و بانتوثنك أسيد و اسكوربيك أسيد ,ومن أكثر المكونات الفعـــالة هما الكـافائيـين و البولي فينول الذي يعد المكون الرئيس للشاي اذ يمثل تركيزه مايقارب 25 الى 30 % على أساس الوزن الجاف وتتأثر تراكيز المواد الفعاله في الشـــاي باختلاف ظروف النمو كالمناخ وموســـم الزراعة ونوع التربه وغيرها من الظروف والعمليات الزراعية وكذلك طريقة التصـنيع والتعبيئة . وتعد أوراق الشـاي مصـدرا غنيـا للعنـاصـــر المعـدنيـة مثـل المغنســـيوم والحـديـد والصـــوديوم والزنـك والنحـاس والبوتـاســـيوم وغيرها.

5-1 السموم الفطرية في الشاي

على الرغم من الاثار الصـــحية المفيدة للشـــاي , الا ان هناك خطرا كبيرا لتلوث الشـــاي بمســـببات الامراض الضـارة والسـموم الفطرية , اذ تشـكل السـموم الفطرية بأنواعها المختلفة سـواء الطبيعيه منها او المصنعة خطراً على صحة الانسان كونها تؤثر في النظم الحيوية بتراكيز منخفضة , ومن هذه السموم ماهو ملوث للأغذية اذ ان السموم الفطرية تعد احدى مجاميع السموم الطبيعية والتي تنتج بواسطة كائنات حية دقيقة متباينة التغذية وهي الفطريات والتي تنتج خلال دورة حياتها مركبات ايضـــية ثانوية مختلفة ذات اوزان جزيئية واطئة تعرف بالسـموم الفطرية Mycotoxins تنتج خلال طور النمو الثابت وممكن ان تتواجد في ابواغ الفطر أيضا (Hussein and Brasel, 2001) .

وقد تم اكتشاف العديد من السموم الفطرية واهمها الافلاتوكسينات Aflatoxin والزيرالينيوم Zeralinon والتريكوثيســينات Trichothecins والاركوت Erygot وجميعها ســامة تؤثر في الفعاليات الحيويه لجسـم الكائن الحي وقد تؤدي في نهاية الامر الى هلاكه اذ ما تناولت بمسـتويات تفوق الحدود التي اتفق دوليا على السماح بوجودها في المواد الأولية سواء تلك المستخدمة في غذاء الانسان او التي تدخل في صناعة الاعلاف الخاصة بالحيوانات الزراعية (Magan and Olsen ,2002) .

سـموم الافلاتوكسـينات لها تأثير كبير في الانسـان والحيوان اذ تعد من اهم مسـببات سـرطان الكبد في الانســـان(FAO,2003) كما لها تأثيرات مثبطة للجهاز المناعي فضـــلاً عن تأثيراتها المطفرة واحداثها

للتشوهات الخلقية ولها تأثير كذلك على الأطفال خصوصا الأطفال الرضع مسببه بما يدعى التحلل الدهني الداخلي لامعاء الأطفال (Sassahara et al.,2005).

كما تأثر على الاجنة اثناء فترة الحمل مثل احداث تشوهات للاجنة ولها تأثيرات محدثة للطفرات اذ ان لها تأثير على التركيب الكروموسومي والاحماض النووية للخلية وبالتالي تسبب في تغيير مسار الشفرات الوراثية كما ان لها تأثيرات نسيجية اذ تأثر على الانسجة والخلايا حيث ان التأثير يكون غير عكسي بمعنى انه بمجرد حدوثها لايستطيع الجسم بما يمتلك من قدرات مناعية الرجوع والعودة الطبيعية مرة أخرى (Krishnamachari et al.,1975)

كما وجدت الأبحاث ان هناك علاقة تأزرية Synergism بين الإصابة بفيروس الالتهاب الكبدي الوبائي وهضم الأغذية الملوثه بالافلاتوكسينات ومدى حدوث السرطان الكبدي من النوع(B) , وهو ينتشر في الدول التي يزداد بها حدوث السرطان الكبدي الاولي , وكان سبب ذلك وجود الافلاتوكسينات أي اذ تعد سبب رئيسي لحدوث حالات السرطان الكبدي الاولي بينما كان دور فايروس الالتهاب الكبدي ب كعامل مساعد بيئي وقد اكد ذلك الفحوصات المختبرية وجود الافلاتوكسينات في انسجة المرضى المصابين بالسرطان (Qinghua et al.,2009) .

1-6 تأكيد الجودة للشاي

من اجل ضمان الحصول على متعة الشاي الحقيقي فأن صناعة الشاي تدخل بالعديد من تدابير مراقبة الجودة وذلك عن طريق الضوابط الحسية والتحليلية والضوئية على الشاي على حد سواء في الدولة التي تزرع الشاي وفي الدول المستورده له , ونظراً للاهمية السابق ذكرها فقد تم دراسة الحمولة المايكروبية للشاي وذلك تأكيداً على خلوها من البكتريا والفطريات الضارة وللتأكيد من سلامة المنتج بالاعتماد على المواصفة القياسية العراقية وتضمنت الفحوصات العد الكلي لبكتريا القولون والخمائر والاعفان.

أوضحت دراسة ان تواجد الاحياء المجهرية في الشاي يعتمد على الشروط الصحية للتعبئة وشروط السلامة الإنتاجية فضلاً عن فترة التخزين وطريقة تسليمها بشكل خام . Gobttlieb,M.(2002)

وفي دراسة أخرى قام(حسين ,2011) بأجراء فحوصات مايكروبية على نوعين من الشاي لعدة علامات تجارية مدروسة في مدينة البصرة والتي تضمنت العد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون والخمائر والاعفان لكلا النوعين من الشاي وبعلاماته التجارية تبين خلوها من بكتريا القولون الكلية مع ظهور اعداد قليلة من البكتريا والخمائر والاعفان.

1-7 الأنواع المايكروبية الملوثة للشاي

1- بكتريا القولون

بكتريا *Escherichia coli* هي احدى افراد العائلة المعوية Enterobacteriaceae السالبة لصبغة كرام، عصو ية الشكل، متحركة او غير متحركة، هوائية او لاهوائية اختيارية anaerobic facultative، مخمرة لسكر الالكتوز lactose واغلبها مخمرة لسكر الرامنوز ramenose وسكر السوربتولSorbetole ، منتجة إلنزيمβ-glucoronidase ، درجة الحرارة المثلى لنموها(37 *al et 2016)*.,Jawetz ;2017 ,*et al*.Wanger)، موجبة لاختبار الكتاليز catalase وسالبة لاختبار الاوكسديزoxidase ، منتجة للاندول indole وغير مستهلكة للسترات citrate ، موجبة الاختبار المثيل الاحمر وسالبة لاختبار فوكس بروسكاورVogase-Proskauer (Hemraj et al., 2013).

تعيش بصـــورة طبيعية في امعاء الانســـان والحيوان وهي في الوقت نفســـه تعد بكتريا انتهازية pathogens opportunistic، مســـببة للعديد من الامراض مثل الاســـهالdiarrhea ، التهاب الســـحايا meningitis، تسمم الدمsepsis ، تجرثم الدم bacteremia و تعد من اكثر الانواع البكتيرية شيوعا مسببة لإصابات المسالك البولية infections tract urinary اذ تسبب حوالي 90% من اصابات المسالك البولية في العالم، وتكون اكثر شـيوعا في مرحلة الطفولة (Hadi et a., 2014) تعود امراضـية هذه البكتريا الى امتلاكها العديد من عوامل الضـــراوة ، ومن هذه العوامل هي امتلاكها لمخلبات الحديدsiderophores ، عامل التنخر الســـميcytotoxic factor necrotizing ، التي تزيد من قابليتها على الاصـــابة بالامراض اهمها اصـــابات المســـالك البولية، ومن هذه العوامل هو القدرة على تحليل كريات الدم الحمر وذلك لامتلاكها انزيم الحال للدم hemolysin الذي يكون على عدة انو اع حســـب شـــكل التحلل هي الفا ، بيتا ،كاما، اذ ان النوع الاول الفاهيمولايســـين hemolysin-α يمنح البكتريا القدرة على تحلل كريات الدم الحمراء للإنســـان تحلل جزئيا، والنوع الثاني بيتـاهيمولاســـين hemolysin-β يمنح البكتريا القدرة على تحلل كريات الدم الحمراء تحلل كامل، اما النوع الثالث وهو كاماهيمولايسـين hemolysin-γ فيمنح البكتريا القدرة على تحلل كريات الدم الحمر للحيوانات الاخرى وليس الانسان. وتمتلك البكتـــــــريا ايضا عامل التنخر الســـــــمي cytotoxic factor necrotizingالذي يعمل على تحليل كريات الدم الحمراء (Jaweetz *et al.*,2016) .

2- الخمائر والاعفان

فطريات العفن Molds تنتشر فطريات العفن انتشارا واسعا في الطبيعة فهي توجد في التربة الرطبة والجافة وفي المياه العذبة والمالحة. تسبب فطريات العفن أمراض النبات, كما أنها المسؤولة عن فساد الأغذية , تتميز فطريات العفن بأنها أقل احتياجا للماء من الخمائر والجراثيم, وهي هوائية إجبارية, وتنمو جيدا في الأوساط الحامضية (pH 3.5-4.5) كما أنها بطيئة النمو وتتنحى عندما تكون الظروف البيئية المحيطة ملائمة لنمو الخمائر والجراثيم, وتعيش في وسط غذائية ذي تركيز عال من السكر يتراوح ما بين 50-60%.

اما الخمائر Yeasts تنتشر الخمائر في اماكن مختلفة من الطبيعة, لكنها أقل انتشارا من الجراثيم, تحتاج الخمائر إلى كميات من الماء, اكثر مما تحتاجه فطريات العفن وأقل من الجراثيم. تنمو جيدا في الأوساط الحامضية (pH 4-4.5), وتقسم حسب احتياجها للأوكسجين إلى خمائر سطحية أو غشائية تنمو على سطح المادة الغذائية معطية غاز الفحم CO_2, وخمائر تنمو وتتكاثر بغياب الأوكسجين ويطلق عليها خمائر لا هوائية وتمسى بالخمائر المخمرة أو القاعية.

الفصل الثاني

المواد وطرق العمل

الفصل الثاني

2 - المواد وطرق العمل

2-1 الأجهزة

جدول (2-1) الأجهزة المستعملة في اجراء البحث

ت	الأجهزة المستخدمة	الشركة المصنعة
1	ميزان حساس sensitive balance	KORIA
2	حمام مائي water bath	GERMANY
3	جهاز التعقيم Autoclave	JABAN
4	حاضنة incubator	GERMANY
5	مقياس الرقم الهيدروجيني pH	GERMANY

2-2جمع العينات

جمعت ثمانية علامات تجارية من الشاي الأسود والاخضر الشائعة الاستهلاك من أسواق مدينة البصرة خلال شهر حزيران وتموز لعام 2023 وتضمنت العلامات التجارية (احمد , البراري , العطور , حسن , الوزة , , مريم) والشاي الأخضر لبتون واحمد .

2-3 الاختبارات المايكروبايلوجية

تم تحضير أوساط النمو تبعاً لطريقة تحضير كل منها حسب ماذكر وعقمت بالاوتوكليف على درجة حرار121 م° لمدة 15 دقيقة وضغط 1 جو وبعد انخفاض درجة حرارتها الى 45 م ° استخدمت في الاختبار , وشملت خطوات البجث البدأ بعملية الزرع ثم العد البكتيري والعزل والتشخيص في مختبر المايكروبايلوجي التابع الى الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية – قسم البصرة وكما يلي :

1- اضيق 11 غم من كل عينة الى 99 مل الوسط السائل Maximum Recovery Diluent

2- اضيف 1 مل من التخفيف الاول بعد سحبه بالمايكروبايبيت الى انبوبة تحتوي على 9 مل من وسط Maximum Recovery Diluent للحصول على التخفيف المطلوب .

3- نقل 1 مل من النموذج الاصلي الى طبق بتري وفي ظروف معقمة وبمكررين لكل تخفيف .

4- تم اضافة الوسط الزرعي وفي ظروف معقمة لكل طبق بتري بطريقة الصب وتم مزجه مع النموذج بطريقة جيدة وذلك بتحريك الطبق باتجاه عقرب الساعة وبعكس اتجاه عقرب الساعة ثم يترك حتى يتصلب الوسط .

5- وضعت الاطباق بشكل مقلوب في الحاضنة وبدرجة حرارة 35 درجة مئوية لمدة 24 ساعة , بالنسبة لبكتريا القولون , اما الخمائر والاعفان فقد وضعت على درجة حرارة 25 م° لمدة 5 أيام

6- بأنتهاء مدة الحضن , حسبت عدد الوحدات المكونه للمستعمرات(Colony forming unit (CFU

7- حسبت عدد المستعمرات في كل من المكررين (300-30 مستعمرة) واستخرج المعدل الحسابي لها في الطبقين وضرب في معكوس معامل التخفيف .

8- شـــخصت العزلات البكتيرية باستخدام الاختبارات التشخيصية الكيموحيوية Garrity and (Castenholz, 2001) .

9- الاوساط المسخدمة POTATO DEXTROSE AGAR- , Violet Red Bile agar , tartaric acid

3-2تقدير عدد بكتريا القولون Coliform Bacteria:

استخدم وسط Violet red Bile agar للكشف عن بكتريا القولون اذ وضع 1 مل من التخفيف المناسب في طبق بتري ثم صب الوسط في الأطباق مع التحريك لكي تتوزع العينة وترك يتصلب ثم صب فوقه طبقه اخرى من الوسط وذلك لتوفير ظروف لا هوائية وتركت تتصلب الأطباق ثم قلبت وحضنت على درجة حرارة 35م لمدة 24 ساعة وحسبت المستعمرات النامية على الوسط لتقدير عدد بكتريا القولون

4-2 تقدير اعداد الخمائر والاعفان MOLD AND YEAST

استخدم وسط POTATO DEXTROSE AGAR للكشف عن الخمائر والفطريات اذ اخذ 1 مل من التخفيف المناسب ووضع في طبق بتري معقم ثم صب الوسط الزرعي على الاطباق مع التحريك لكي تتوزع العينة وترك يتصلب ثم حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 م° لمدة 5 أيام وحسبت المستعمرات النامية على الوسط لتقدير عدد الخمائر والاعفان .

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

النتائج والمناقشة

3 – التعداد العام للمايكروبات

1.3 التعداد العام لبكتريا القولون

تبين من خلال التحري عن المستعمرات المايكروبية النامية على الطبق الزرعي الكونترول خلوه من اي نمو مايكروبي اي ان الوسط المستخدم معقم بشكل جيد ولم يتلوث عند صبه في الاطباق , ويبين الجدول (1-3) نتائج التعداد العام لبكتريا القولون في عينات الشاي الأسود والاخضر. اذ أظهرت النتائج عدم تلوث عينات الشاي ببكتريا القولون , وهذا يتفق مع دراسة على نوعين من الشاي لعدة علامات تجارية مدروسة في مدينة البصرة والتي تضمنت العد الكلي لبكتريا القولون لكلا النوعين من الشاي وبعلاماته التجارية تبين خلوها من بكتريا القولون الكلية (حسين سنة 2011) اذ أظهرت نتائج بحثه عدم تواجد بكتريا القولون الكلية وأيضا اتفقت النتائج في هذا البحث مع ماتحصل عليه (أبو شعالة, العصاوي 2020) اذا أظهرت نتائج الفحص المايكروبي خلو جميع العينات من بكتريا القولون الكلي وربما يعود السبب الى ان الشاي يحتوي على المواد الفعاله المثبطة التي تثبط النمو المايكروبي لهذه العينات .

جدول رقم (1-3) النموات البكتيرية لبكتريا *Coliform*

نوع الشاي	العلامة التجارية	مكرر 1	مكرر 2	مكرر 3
الأسود	حسن	0	0	0
	الوزة	0	0	0
	البراري	0	0	0
	احمد	0	0	0
	مريم	0	0	0
	العطور	0	0	0
الأخضر	لبتون	0	0	0
	احمد	0	0	0

*الحدود المايكروبية لبكتريا القولون للشاي في المواصفة العراقية جزء 16 -2018 هي $10^2 \times 1$ - $10^1 \times 5$ cfu/gr

2.3التعداد العام للخمائر والاعفان

يوضح الجدول رقم (2-3) العد الكلي للخمائر والاعفان لكلا نوعي الشاي الأسود والاخضر اذ تبين ان الاعداد الكلية للخمائر والاعفان متباينة مابين العينات المدروسة وكان اعلى عدد قيمة في المكرر 2 للشاي الأسود علامة مريم اذ كانت تبلغ $10^1 \times 1.3$ CFU/GR بينما في الشاي الأخضر كانت اعلى قيمة $10^1 \times 1.4$CFU/GR للعلامة التجارية لبتون , بينما كانت اقل قيمة في الشاي الأسود في مكرر 3 للعلامة التجارية شاي حسن اذ بلغت$10^1 \times 2$ CFU/GR بينما كانت في الشاي الأخضر للعلامة التجارية احمد بلغت $10^1 \times 6$CFU/GR

من المعروف ان أوراق الشاي تمتلك فعالية تثبيطية ضد العديد من أنواع الخمائر والاعفان , وان الاختلاف في الفعالية التثبيطية تكون متعلقة بنوع الشاي الا ان تواجد الاعداد القليله من الخمائر والاعفان يعزى الى مجموعة من العوامل أهمها التربة التي تعد العامل الأول المؤثر في النبات من الاحياء المجهرية اذا تعتمد اعداد الاحياء المجهرية على تلوث المادة الخام للنبات بالعديد من الاحياء المجهرية والعامل الثاني الذي يؤثر في محتوى النبات من الاحياء المجهرية هو التلوث الناتج عن مراحل الإنتاج اذ تمر عملية انتاج ورق الشاي بمراحل مختلفة من تجفيف وخزن وتعبئة .

وان مصدر المايكروبات يكون غالبا من وجود السبورات التي تتواجد في الهواء اكثر من الخلايا الخضرية لانها تقاوم الظروف الصعبه مدة أطول وكلما زاد عدد السبورات كلما تطلب للقضاء عليها معاملة حرارية اكثر وان مقاومة هذه السبورات للحرارة يعتمد على مرحلة نموها وحسب عمر سبوراتها.

جدول (2-3) الفحوصات المايكروبية للخمائر والاعفان لنوعين من الشاي الأخضر والأسود

نوع الشاي	العلامة التجارية	مكرر 1	مكرر 2	مكرر 3
الأسود	حسن	5×10^1	4×10^1	2×10^1
	الوزة	8×10^1	6×10^1	5×10^1
	البراري	3×10^1	4×10^1	6×10^1
	احمد	9×10^1	8×10^1	6×10^1
	مريم	1.1×10^1	1.3×10^1	1.2×10^1
	العطور	4×10^1	5×10^1	7×10^1
الأخضر	لبتون	1.2×10^1	1.4×10^1	1.1×10^1
	احمد	8×10^1	9×10^1	6×10^1

*الحـــدود المايكروبية للخمائر والاعفان للشـــاي في المـــواصفة العراقية جزء 16 -2018 هي $10^3\times1$ - $10^2\times1$cfu/gr

(b) (a)

صورة(1)

رقم (a) توضح الفطريات (الخمائر والاعفان) لاحد الأنواع المدروسة

(b)وسط Violet Red Bile agar يخلو من بكتريا *coliform*

الاستنتاجات

- يتضح من خلال النتائج للعينات المدروسة أن هناك تفاوت في اعداد الخمائر والفطريات
- تبين ان العدد الكلي للخمائر والاعفان في عينات الشاي بكلا نوعيه اقل من الحدود المسموح بها في المواصفة القياسية العراقية .
- لم يتم عزل بكتيريا القولون المعوية من العينات .

التوصـــــيات

1- دراسة المحتوى الكيميائي ومدى تلوث الشاي بالعناصر المعدنية
2- عزل المركبات الكيميائية الفعالة الموجودة في الشاي ودراسة فعاليتها ضد المايكروبات والاكسدة
3- دراسة تأثير المبيدات الحشرية على الشاي وطرق تخزينه .

المصادر

1- Jung,Y.D. and Ellis, L.M.(2001). Inhibition of tumor invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. Int. J. Exp. Path., 82, 309-316.

2- Brown,M.D. (1999). Green Tea (Camellia Sinensis) Extract and its Possible Role in Prevention of Cancer. Altern. Med. Rev, 4(5): 360-370

3- Kim,S.H. and Lee, C.S.(1992). The effect of caffeine on diethylnitrosamine - initiated hepatic altered foci in a midterm induction system. In vivo. P6:223-226.

4- Gottlieb, M. (2002). Czynniki determinujace zdolność bakterii zrodzaju pseudomonas do kolonizacji systemu korzeniowego roślin.postepy Milkobiologii,41,3.277÷ 297.

5- ISO.,(2005). Determination of substances characteristic of green and blck tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using FolinCiocalteu reagent 14502-1

6- Punyasiri PA, Abeysinghe SB, Kumar V., (2005). “Performed and induced chemical resistance of tea leaf against Exobasidium vexans infections”. Journal of Chemistry and Agriculture 31(6), pp 1315-1324.

7- Simonetti G, Simonetti N, Villa A.,(2000). “Increased microbicidal activity of green tea (Camellia sinensis) in combination with butylated hydroxyanisole”. Journal of Chemotherapy 16 (2), pp 122-127.

8- Hussein, S. and Brasel, (2001). Toxicity , metabolism and impact of mycotoxin on humans and animals . Toxicology . 15: 101- 134 .

9- Magan, N. and Olsen, M. (2002) . Mycotoxin in food . wood head publishing limited .Cambridge England . pp.700 .

10- FAO, Food and Agriculture Organization.(2003).World regulation for mycotoxin in food and feed . Food and Nutrition paper 81.

11- Sassahara, M. ; Pontesnetto, D. and Yanaka, E. K. (2005). Aflatoxin Occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M1 in raw milk in the north of parana state . Food Chem. Toxicol. 43:981- 984 .

12- Krishnamachari, K.A.V. ; Bhatt, R. V. ; Nagarajan, V. and Tilak, T.B.G. (1975) . Investigation into an break of hepatitis in part of western India . Indian J. Med. Rej. 63:1036- 1048 .

13- Qinghua, W.U. ; Alena, J. ; Zonghni, Y. ; Lucie, P. ; Vlastimil, D. and Kamil, K. (2009).Biological degradation of aflatoxin. Drug Metabolism Reviews. 41(1): 1-7 .

14- Gobttlieb,M.(2002).Czynnikideterminujacedolnos'c'bakteriizrodzaju pseudomonas do kolonizacji system korzeniowegoros'lin.

15- حسين (2011). دراسة المحتوى الميكروبي وتقدير بعض العناصر المعدنية النزرة لبعض العالمات التجارية للشـاي الأسـود والأخضـر. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. المجلد)3(، العدد)2(، ص: 17.

16- أبو شعالة, العصاوي (2020) , التلوث البكتيري لبعض العالمات التجارية للشاي المنتشرة قسم الأحياء، شعبة الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبا في مدينة مصراته ـ ليبيا,

17- المواصفة القياسية العراقية جزء 16 -2018