مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2008) ــ المجلد (24) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 159 -177

مقاومة السالمونيلا على قشور حبوب الكاكاو والبندق للتسخين الجاف

صياح أبو غرة[1] و ولتر بينالوزا[2]

الملخص

يعدُّ غياب السالمونيلا من أهم عناصر السلامة الميكروبية في صناعة الشوكولا وتعدُّ حبوب الكاكاو والبندق الخام المصدر الأساسي للسالمونيلا وتشكل عملية التحميص لهذه المواد مرحلة التصنيع الأساس في صناعة الحلويات. قدرت مقاومة *S.typhimurium* و *S. seftenberg* في قشور الكاكاو والبندق الجافة ذات نشاط مائي (Aw) 0.24. تمت تنمية خلايا السالمونيلا على أطباق بتري ثم جمعت المستعمرات البكتيرية في زيت الكاكاو لتشكيل معلق بكتيري كما مُزج المعلق البكتيري لزيت الكاكاو مع قشور حبوب الكاكاو والبندق الجافة. درس ثبات السالمونيلا في القشور الجافة أثناء تخزينها مدة 90 يوماً في كل من حرارة الغرفة 25 مْ وحرارة البراد. استُخدمت أنابيب زجاجية ذات قطر 0.7 مل. وارتفاع 10 سم لتسخين القشور الجافة في حمام زيتي لتقدير مقاومة البكتريا في القشور الجافة لحبوب الكاكاو وأعطت نتائج أفضل وأسرع لمنحنيات التسخين الحرارية والتكرارية مقارنة بالتسخين في الفرن وباستخدام أطباق معدنية.أبدت خلايا السالمونيلا الموجودة على القشور الجافة والمحفوظة في البراد ثباتاً نسبياً حيث لوحظ انخفاض بسيط (1 لوغاريتم) وكذلك المحفوظة في حرارة الغرفة حيث بلغت نسبة الانخفاض في عدد البكتريا بمقدار 3 لوغاريتم خلال 90 يوماً من التخزين.

كانت المقاومة للحرارة في قشور حبوب الكاكاو والبندق الجافة متشابهة إلى حد ما ضمن مجال حراري تراوح بين 90 -110مْ وكانت أعلى قليلاً لـ *S.typhimurium* من *S. seftenberg* فقد بلغت قيم D110 1.7 و1.4 دقيقة على التوالي. في حين بلغت قيم Z 21 مْ لكلتا السلالتين. ربما تسهم معايير المقاومة الحرارية في تحديد شروط تحميص حبوب الكاكاو والبندق بشكل أكثر دقة.

الكلمات المفتاحية: سالمونيلا شوكولا تحميص حبوب الكاكاو بندق.

[1] أستاذ مساعد، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، ص. ب.30621، جامعة دمشق، سورية.
[2] باحث مركز أبحاث نستله 1000 لوزان 26 سويسرة.

Dry Heat Resistance of *Salmonella* on Cocoa Bean and Hazelnut Shells

S. AbouGhorrah[(1)] and W. Pe aloza[(2)]

ABSTRACT

The absence of Salmonella is the main microbiological safety concern in chocolate production. Raw cocoa beans and nuts have normally been considered as the main source of Salmonella. Roasting is therefore a key process step to control Salmonella in confectionery plants.

The heat resistance of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella seftenberg* was determined in dry cocoa beans and hazelnut shells with a_w 0.24.

Salmonella cells were grown on agar plates. The colonies were harvested with oil and mixed with ground shells of cocoa beans and hazelnuts. The stability of *Salmonella* on dry shells during storage was checked for a 90-day period at both room temperature and refrigeration. To determine the heat resistance of Salmonella on the dry shells, the use of glass tubes of 0.7 mm diameter and 10 cm height in an oil bath gave faster and more reproducible heating curves than metal plates heated in an oven.

The *Salmonella* populations stabilized on dry shells were relatively stable under refrigerative conditions. Only a small reduction of approximately 1 log was observed. Salmonella counts at room temperature were also relatively stable with a reduction of up to 3 logs after 90 days.

Heat resistance on dry cocoa and hazelnut shells at a temperature range between 90 and 110°C was similar and in some cases slightly higher for *S.typhimurium* than for *S. seftenberg,* (*e.g* .D110 was 1.7 and 1.4 minutes, respectively). Z values for both strains was about 21°C for the dry shells. These heat resistant parameters will enable to establish roasting conditions for cocoa beans and nuts more accurately.

Key words: Salmonella, Chocolate, Roasting, Safety, Cocoa beans, Nuts.

(1) Professeurr associé., Faculté d`agronomie, Dép., Sciences des aliments, Université de Damas, BP 30621, Syrie.
(2) Nestlé Research Center Lausanne, Vers chez les blanc, 1000 Lausanne 26, Switzerland.

المقدمة

لم تعرف المشكلة الحقيقية للسالمونيلا حتى عام 1970 -1973 وذلك بعد حادثين نجما بشكل أكيد عن استهلاك شوكولا ملوثة بالسالمونيلا ففي السويد أدى استخدام بودرة الكاكاو الملوثة بـ *S.durham* في صناعة الحلويات المشكلة لإصابة 110 أشخاص (Gastrin *et al*., 1972) وفي كندا والولايات المتحدة أصيب 200 شخص أغلبهم من الأطفال نتيجة تناولهم شوكولا ملوثة بـ *S.eastbourne* (Craven *et al*., 1975, D'Aoust *et al*., 1975). وفي عام 1982 1983 أصيب 245 شخصاً في انكلترا أغلبهم من الأطفال بسبب تناولهم قطعاً من الشوكولا ملوثة بـ *S. napoli* مستوردة من إيطاليا (Gill *et al*., 1983). كما سجلت بعض الإصابات بالسالمونيلا عام 1987 في كندا نتيجة استهلاك شوكولا ملوثة بـ *S.nima* مصنعة في بلجيكا (Hockin *et al*., 1989). وفي النرويج أصيب أكثر من 300 طفل نتيجة تناولهم شوكولا ملوثة بـ *S.typhimurium* (Kapperud *et al*., 1989 Kapperud *et al*., 1990). وحديثاً في ألمانيا ودول أوربية أخرى سجلت 439 إصابة بالسالمونيلا نتيجة تناولهم شوكولا ملوثة بـ *S.oranienburg* (Werber *et al*., 2005). ومؤخراً تم استرجاع أكثر من ثلاثة ملايين صندوق شوكولا أنتجت من قبل شركة Cadbury في إنكلترا من السوق لأنها ملوثة بالسالمونيلا (CT-QM /PTC York, 2006). تدل هذه الحوادث التي سجلت خلال أكثر من ثلاثين عاماً على أن السالمونيلا تمثل خطراً حقيقياً في صناعة الشوكولا مما يجعلها مجالاً مهماً للبحث.

قدرت الجرعة الممرضة للسالمونيلا في الشوكولا بشكل استثنائي برقم منخفض (20 - 90) خلية/100غ. شوكولا (D'Aoust, 1977) علماً أن Kirby و Davies (1990) قدرها بـ 2.5 خلية/غ. عندما تكون البكتريا هي *S.napoli* وبشكل عام تقدر الجرعة الممرضة بأقل من 100 خلية/100غ. ويمكن تفسير حالات المرض الناتجة عن استهلاك شوكولا تحتوي على حمولة جرثومية منخفضة بأنه ناتج عن حماية دهن الشوكولا للبكتريا من عصارة المعدة كما يعود السبب إلى سرعة مرور البكتريا في المعدة الفارغة حيث يتم استهلاكها من قبل الأطفال بين وجبات الطعام.

لم يحدد مصدر تلوث الشوكولا المسببة لحالات التسمم الغذائي بالسالمونيلا ومن المعروف أيضاً أن تلوث الشوكولا بالسالمونيلا يعود إلى المواد المضافة الأخرى والتي ربما تكون ملوثة بالبكتريا كما أن لبيئة الصناعة دوراً مهماً، ولاسيما عندما لا تراعى الشروط الصحية السليمة للتصنيع. ومع هذا يعدُّ فول الكاكاو مصدراً مهماً لتلوث الشوكولا بالسالمونيلا في منشآت تصنيع الشوكولا.

يراوح المحتوى الميكروبي في حبوب الكاكاو الجاف من بلد المنشأ 10^5 -10^7خلية/غ. (Barille *et al.*, 1970). تمثل *Bacillus* spp. 90% منه فضلاً عن وجود مجموعات بكتيرية أخرى مثل *Enterobacteriaceae* و*Lactobacillus* كما توجد بعض الخمائر والفطور.

على الرغم من وجود السالمونيلا بشكل مؤكد في الكاكاو لم تُشر الدراسات التي تعرضت لتقدير عددها إلى ذلك يعتقد بأن السبب يعود إلى أن تكرارية وعدد السالمونيلا في الكاكاو يتبدل بشكل معنوي (Bell and Kyriakides, 2002).

يُعدُّ تحميص فول الكاكاو من أهم العمليات المؤدية إلى خفض أعداد البكتريا الملوثة كالسالمونيلا وعلى الرغم من أهمية هذه المرحلة فإن الدراسات حولها بقيت محدودة فقد بيّن Barille وزملاؤه (1971) أن تحميص حبوب الكاكاو على 135 -165مْ مدة 30 دقيقة يؤدي إلى خفض المحتوى الميكروبي 1 -4 لوغاريتم على التوالي.

ولا يتعلق مستوى القتل الحراري هذا بالسالمونيلا ولكن ربما ببكتريا *Bacillus* spp. وقد ينخفض عدد السالمونيلا بشكل أكبر ولكن هذا غير مؤكد كما لم يكشف عن وجود *Enterobacteriaceae* في حبوب الكاكاو الذي تعرض لحرارة 135 مْ مدة 30 دقيقة.

يعتقد Kirby و Davies (1990) أن تعريض الكاكاو صناعياً للدرجة 135 مْ مدة 20 دقيقة يؤدي إلى خفض بكتيريا *Enterobacteriaceae* بمعدل 1 -2 لوغاريتم كما يشير إلى إمكانية تلوث حبوب الكاكاو المعامل حراريا للدرجة 145 مْ بسالمونيلا مقاومة للحرارة بواسطة الأشخاص كما درس إمكانية قتل *S.typhimurium* بعد تجفيفها على غشاء محب للماء فحصل على منحنيات مقاومة الحرارة غير خطية وإنما ثلاثية الطور ولهذا السبب فإن تفسير نتائج التجارب تبعاً للوغاريتم الحركية الخطي معقد لذا لم يتمكن الباحث من حساب قيمة كل من D و Z.

وجد (Archer *et al.*, 1998) في دراسته لـ *S.weltevreden* الملقحة في الطحين والمعرض لهواء حرارته تراوح بين 57 77 مْ أن قيمة D60-62 كانت بحدود 875 دقيقة وكان النشاط المائي للطحين 0.4 كما بلغت قيمة Z 34.7 مْ و19.6 مْ عند نشاط مائي للطحين يراوح بين 0.25 0.3 و0.41 -0.45 على التوالي.

ولدى مقارنة الانخفاض في حيوية ثمانية أنماط من السالمونيلا الملقحة على طحين الذرة الحاوي على 10 15% رطوبة ضمن درجات حرارة 25 و49 مْ بلغت قيمة D49 0.3 ساعة لـ *S.newington* إلى 0.9 ساعة لـ *S.tennessee* وكانت قيمة D25 أطول بـ 5 10 أضعاف. كما كانت قيمة D أكبر عند مستوى رطوبة منخفض (Van Cauwenberge *et al.*, 1981).

المقاومة الحرارية لـ *S.typhimurium* المجفدة كانت أكبر منها لـ *S.seftenberg* 775w المجفدة المختبرة في الشوكولا السائلة حيث بلغت قيمة D90 = 1.25 ساعة D80 =3.7 ساعة و D70 =12 -18 ساعة وبلغت قيم D تلك 0.6 1.6 2.4 و6 8 ساعة على التوالي لـ *S.seftenberg* وكانت قيم Z متشابهة تقريباً 19 مْ لـ *S.typhimurium* و18 مْ لـ *S.seftenberg* (Goepfert and Biggie, 1968).

وفي الشوكولا السائلة أيضاً بلغت قيم D90 0.7 ساعة D80 3.5 ساعة و D70 11.5 ساعة لـ *S.typhimurium* بينما كانت 0.9 ساعة 3.2 ساعة و11.5 ساعة لـ *S.seftenberg* على التوالي في حين بلغت قيم Z 19.5 مْ لكلتا السلالتين.

قدر Kovalj (2003) قيم D في مزارع حديثة للسالمونيلا في ماس الكاكاو فكانت قيمة D90 = 0.25 ساعة D80 = 1 2.5 ساعة و D70 = 4 12 ساعة.

أشار Kirby و Davies (1990) إلى أن تعريض خلايا *S.typhimurium* LT2 المجفدة لبخار هواء جاف تماماً أدى إلى بلوغ قيمة D أعلى من 20 دقيقة.

وفي دراسة Laroche وزملاؤه (2005) لمقاومة حرارة خميرة *Saccharomyces Cerevisiae* وبكتيريا *Lactobacillus plantarum* في الطحين والحليب المجفف بنشاط مائي يتراوح بين 0.1 0.7 كانت المقاومة الحرارية لـ *S.cerevisiae* عظمى في درجة حرارة 150 200 مْ عند نشاط مائي 0.3 -0.5 و0.2 0.5 لـ *L.plantarum* كما تبين أن أقل معدل قتل حراري كان عندما بلغ النشاط المائي 0.3 مهما كانت درجة الحرارة المستخدمة .

بين Archer وزملاؤه (1997) أن انخفاض النشاط المائي للطحين الملقح بـ *S.weltevreden* أدى إلى زيادة قيم D وقد بلغت قيمة D العظمى عند أقل قيمة للنشاط المائي 0.2 0.3 ولدى دراسة القضاء على *S.typhimurium* الملقحة لمواد حاوية على نسب مختلفة من المواد الصلبة والسكريات ضمن درجات حرارة 58 60 63 65 و68 مْ، لوحظ ازدياد ملحوظ في المقاومة للحرارة عند ازدياد نسبة المواد الصلبة وانخفاض قيمة النشاط المائي.

خلاصة لما سبق فإن المعطيات المتوافرة تعطي فكرة عن شروط قتل السالمونيلا في أثناء التحميص وبناء على ذلك فقد هدفت الدراسة لاختيار نظام تسخين مناسب للمواد الصلبة وكذلك تقدير المقاومة الحرارية للسالمونيلا في حبوب الكاكاو والبندق الجاف.

أجريت هذه الدراسة في مركز بحوث نستله في لوزان في سويسرا خلال الفترة الواقعة من آذار حتى نهاية آب 2006.

مـــواد البحث وطرائـــقه

استُخدمت سلالتان فـــي هـــذه الدراســـة همـــا - *S.typhimurium*ATCC.*14028*. و*S.seftenberg* من مركز بحوث شركة نستلة في سويسرا. اختبرت الـــسلالة الأولـــى لأنها كانت مصدراً لتلوث الشوكولا وسببت عدة إصابات مرضية (Kapperud *el al.*, 1989) أما الثانية فلأنها مقاومة لدرجات الحـــرارة العاليـــة (Doyle and Mazzota, 1999) و(Kirby and Davies, 1990). حفظت السلالات النقية في -24 مْ على مـــواد جافة معقمة بالإشعاع (Cryo preservative fluid technical service UK) نشطت البكتريا في وسط (Brain Heart Infusion) (BHT) مدة 24 ساعة في درجـــة 37 مْ وبواسطة إبرة تلقيح تم الزرع بالتخطيط على سطح طبق بتري يحتوي على آغار مغـــذ وحضن الطبق مدة 24 ساعة في الدرجة 37 مْ وتم التأكد من هوية السلالات باســـتخدام نظام API 20. ومن مستعمرة وحيدة تم تلقيح أنبوب اختبار يحتوي على وســـط BHI وحضن أيضاً بالطريقة نفسها. نشر 0.5 مل من الوسط على سطح طبق بتري ذي قطـــر 13 سم يحتوي على الآغار المغذي وحضنت الأطباق مدة 24 ساعة في 37 مْ.

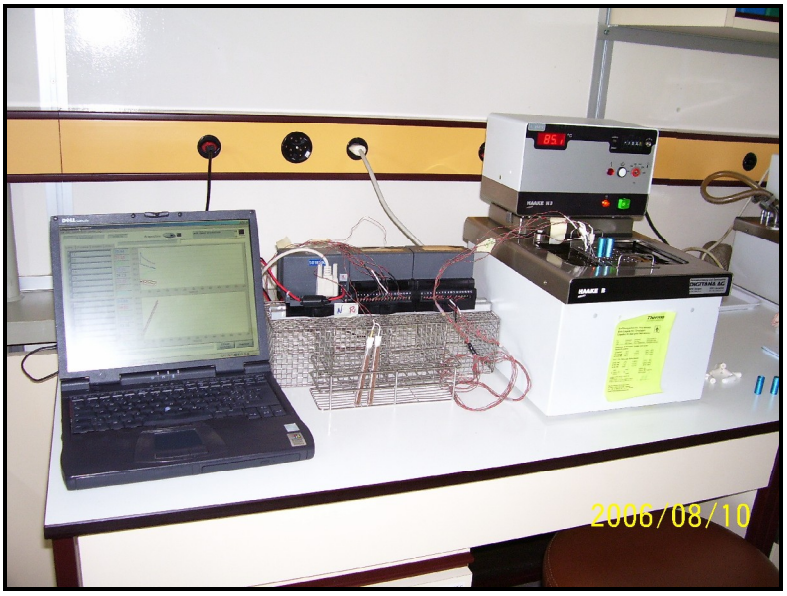
جمعت الخلايا بعد إكثارها بإضافة 5 مل من زيت الكاكاو إلى كل طبق ثم جمعـــت الخلايا من سطح الآغار المغذي لتشكل محلولاً معلقاً بكتيرياً زيتياً مركزاً تم استخدام هذا المعلق لتلقيح مسحوق قشرة الكاكاو والبندق.

تم الحصول على قشور البندق والكاكاو من معمل Borc لصناعة الشوكولا بسويسرا بعد التحميص (Roasting) طحنت القشور الجافة للحصول على حبيبات صغيرة ولقحت بإضافة 5مل من المعلقات البكتيرية المركزة الزيتية لـ 45 غ مـــن المـــساحيق الجافـــة ومزجت خلال ساعة على الأقل للحصول على 10^8 خلية/غ. خزنت المساحيق الملقحـــة في درجتي حرارة 4 و25مْ.

اختيار نظام التسخين

للحصول على معاملة حرارية سريعة ودقيقة تم استخدام نظامي تسخين:

التسخين باستخدام فرن Kallenkamp متصل بنظام قياسي آلي للحرارة مزود بـــستة عشر حساساً لقياس الحرارة في الوقت نفسه ومرتبط بحاسب مزود ببرنامج يمكنه مـــن قراءة درجات الحرارة في كل ثانية (شكل1).



الشكل (1) النظام التجريبي لضبط درجة الحرارة

ولمعاملة المساحيق بحرارة الفرن استخدم نوعان من الأدوات:

- أطباق معدنية ذات قطر 9 سم و1 سم ارتفاع مزودة بغطاء له ثلاث فتحات مثبتة في مركز الطبق وجانبيه لتثبيت المجسات الحرارية.
- أنابيب زجاجية ذات قطر 0.7 سم وطول 10 سم ذات غطاء معدني .

التسخين باستخدام حمام زيتي (Haake N3)

وضع 1 غ من المسحوق الجاف في الأنبوب الزجاجي و10غ في كل طبق معدني المساحيق كانت محفوظة مدة 3 ساعات في البراد ثم ساعة واحدة في درجة حرارة الغرفة قبل معاملتها بالحرارة.

وضعت الأنابيب والأطباق في الفرن بعد أن تصل حرارة الفرن إلى الدرجة المطلوبة أغلق الفرن بسرعة وبُدئ بتسجيل درجة حرارة المساحيق في كل ثانية يوقف تسجيل درجات الحرارة بعد وصولها إلى الدرجة المطلوبة وثباتها بقليل ثم يحسب الزمن اللازم لوصول حرارة المسحوق إلى الدرجة المطلوبة وقد تم اختبار ثلاث درجات هي 90 و120 و150 مْ.

ولاختبار نظام التسخين في الحمام الزيتي غمرت الأنابيب الحاوية على 1غ من المسحوق في الحمام الزيتي بحيث يكون مستوى الزيت أعلى من مستوى المسحوق في الأنبوب بقرابة 2 سم على الأقل ثم سجلت حرارة المسحوق في كل ثانية وحسب الزمن اللازم لوصول الحرارة إلى الدرجة المطلوبة وقد تم اختبار درجات الحرارة في مجال يتراوح بين 90 و150 مْ.

طرق تقدير مقاومة البكتيريا للحرارة

مقاومة البكتيريا للحرارة في المساحيق الجافة:

وضع 1غ من مسحوق قشرة الكاكاو المحفوظة في البراد بدرجة حرارة 4 مْ في كل أنبوب زجاجي معقم ضمن جو عقيم وحفظت الأنابيب مدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم وضعت في حمام زيتي في درجات حرارة تتراوح بين 90 - 110 مْ ولفترات زمنية مختلفة تعتمد على درجات حرارة التسخين أخذت الأنابيب بسرعة من الحمام بعد المعاملات الحرارية ثم نظفت بورق مبلل بالكحول الإيثيلي الذي يساعد في التبريد السريع للأنابيب. تمت إضافة 9 مل من محلول T.S (Tryptose Saline) (1غ تربتوز و8.5 غ Na Cl/لتر). إلى 1غ من المسحوق المعامل حرارياً والمزج مدة لا تقل عن دقيقة ثم حضرت سلسلة تمديدات عشرية.

تم نشر 0.1 مل من التمديدات العشرية على سطح أطباق بتري تحتوي على وسط (B.G.A Brillant Green Agar). حضنت الأطباق في 37 مْ مدة 24 ساعة وتم عد المستعمرات النامية زهرية اللون تم اختبار ثلاثة أنابيب لكل مدة تسخين.

حسبت قيم D من كل منحنى مقاومة للحرارة بالاعتماد على عاملين بواسطة خط مستقيم من جميع القيم الناتجة من النقاط المختبرة عدا النقاط التي لم يكتشف فيها مستعمرات بكتيرية ورسم الخط المستقيم الذي يعبر الحرارة عن علاقة اللوغاريتم العشري لقيم D مع درجات الحرارة المستخدمة وحسبت قيم Z من المنحنى الناتج. حسبت النتائج من القيم الناتجة عن خمس نقاط مدروسة.

قيس النشاط المائي (A_w) Water Activity لمسحوق الكاكاو الملقح بالبكتريا قبل التسخين وبعده للدرجة 100 و110 مْ مدة 15 دقيقة باستخدام جهاز Rotronic ذي خلية معاير بمحاليل ملحية مشبعة مختلفة.

تقدير النشاط المائي للمساحيق الجافة:

قدر النشاط المائي لمسحوق قشور الكاكاو باستخدام جهاز Rotronic ذي خلايا معايرة بمحاليل ملحية مشبعة مختلفة قبل المعاملة الحرارية للمسحوق الملقح بالسالمونيلا وبعدها، في درجات حرارة 100 و110 مْ مدة 15 دقيقة.

عد بكتيريا مجموعة Enterobacteriacae والتعداد الكلي Total count للمساحيق الجافة:

وضع 1 مل من التمديدات العشرية للمساحيق في محلول T.S في طبق بتري ثم أضيف وسط (VRBG)(Violet Red Bile Glucose Agar) على مرحلتين. حضنت الأطباق في 37مْ مدة 24 ساعة لعد مجموعة Enterobacteriaceae. للتعداد العام للبكتيريا أضيف إلى وسط P.C.A (Plat Count Agar) في أطباق تحتوي 1 مل من التمديدات العشرية ثم حضنت مدة 48 ساعة في 24 مْ.

النتائج والمناقشة

التعداد الكلي للبكتيريا ولمجموعة Enterobacteriaceae

وضح الجدول (1) العد الكلي للبكتيريا ولمجموعة *Enterbacteriaceae* لثلاثة أنواع من المساحيق الجافة.

الجدول (1) العد الكلي للبكتيريا ولمجموعة Enterobacteriacae لمساحيق البندق والكاكاو

المنتج	عد كلي خلية/غ	Enterobacteriacae خلية/غ
قشور البندق بعد التحميص	<10	<10
قشور الكاكاو بعد التحميص	$1.0X10^2$	<10
غبار البندق قبل التحميص	$3.2X10^4$	40

بينت النتائج خلو مساحيق قشور البندق والكاكاو المحمصة الجافة من بكتيريا Enterobacteriacae. حيث كانت المعاملة على 130مْ مدة 20 دقيقة كافية للقضاء على هذه المجموعة البكتيرية في حين بلغ محتوى مسحوق البندق من هذه المجموعة قبل التحميص على 40 خلية/غ وعلى أقل من $3.2 x 10^4$ خلية/غ .

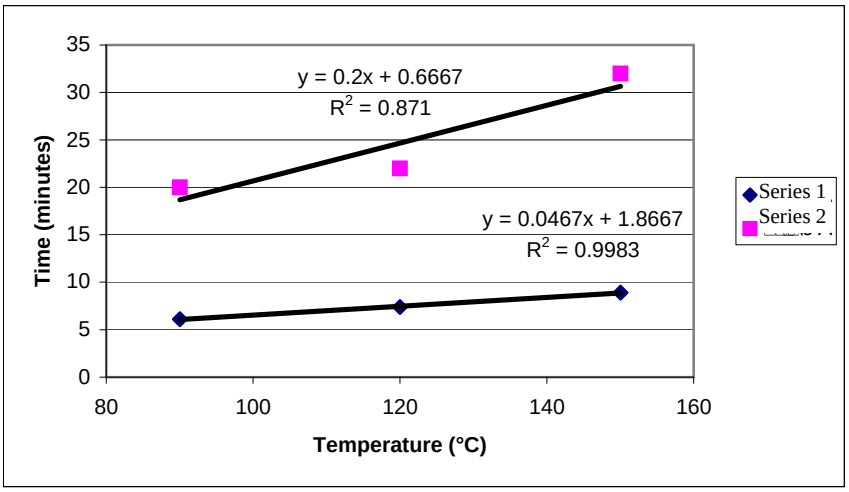
ولدراسة مقاومة البكتيريا للحرارة في المنتجات الجافة تم استخدام قشور البندق والكاكاو الجافة بعد التحميص لتلقيحها بالسالمونيلا.

مقارنة طرائق المعاملات الحرارية

المعاملة الحرارية بالفرن: توضح النتائج المبينة في الشكل (2) تأثير معاملة قشور فول الكاكاو والبندق الجافة بدرجات حرارة 90 120 و150 مْ في فرن باستخدام الأطباق المعدنية والأنابيب الزجاجية.

يلاحظ من الشكل أن الزمن اللازم لوصول درجة حرارة المسحوق الجاف في الأطباق المعدنية إلى درجة الحرارة المرغوب فيها كان أطول بثلاث مرات على الأقل من الزمن اللازم لوصول حرارة المسحوق في الأنابيب الزجاجية إلى درجة الحرارة نفسها وكانت المعاملة الحرارية في الأنابيب أفضل من الأطباق حيث لوحظ أن R^2 يساوي 0.99

للأنابيب الزجاجية في حين كان 0.87 في حالة الأطباق المعدنية مما يشير إلى أن المعاملة الحرارية باستخدام الأنابيب كانت أفضل لسببين الأول هو قصر الزمن اللازم للوصول إلى الحرارة المطلوبة فضلاً عن أن تكرارية النتائج كانت أفضل.



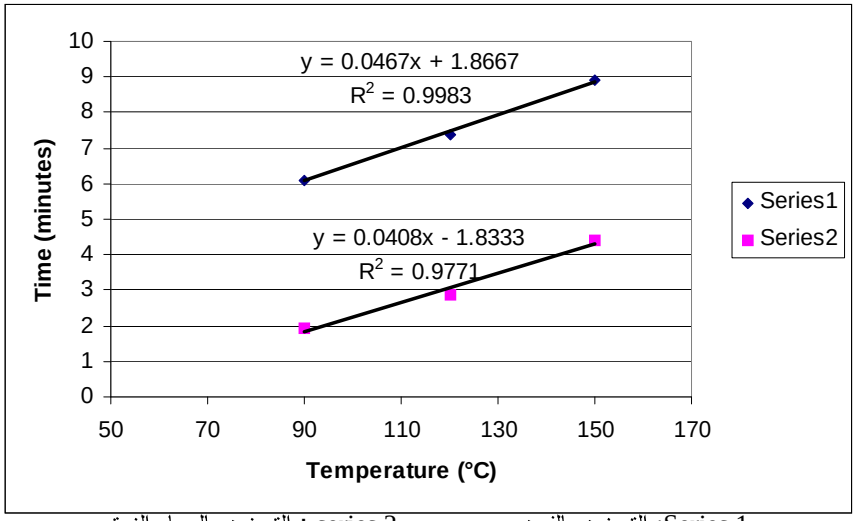
Series 1 : التسخين بالأنابيب الزجاجية Series 2 : التسخين بالأطباق المعدنية

الشكل (2) المعاملة الحرارية بالفرن باستخدام الأطباق المعدنية والأنابيب الزجاجية.

المعاملة الحرارية باستخدام الأنابيب الزجاجية:

سُخن 1غ من مسحوق قشور الكاكاو الجافة ضمن أنابيب زجاجية إلى درجة حرارة 90 -150مْ في الفرن وفي حمام زيتي. وضعت الأنابيب في الحمام الزيتي أو في الفرن بعد وصول درجة الحرارة المطلوبة وبُدئ في الوقت نفسه تسجيل درجة حرارة المسحوق بواسطة نظام ضبط الحرارة الآلي مع زمن التسخين. وتم حساب الوقت اللازم لوصول درجة حرارة المسحوق إلى درجات الحرارة المرغوب فيها كما هو مبين في الشكل (3).

يلاحظ في هذا الشكل أن الزمن اللازم لوصول درجة حرارة المسحوق إلى الدرجة المطلوبة في الحمام الزيتي كانت أقصر في الحقيقة إن درجة حرارة التسخين بواسطة الفرن لم تكن ثابتة والسبب هو انخفاض درجة حرارة الفرن عند فتحه لإدخال العينات. لذا فقد تم استخدام التسخين بالحمام الزيتي لأن انتقال الحرارة للمسحوق كان متجانساً كما أن زمن التسخين كان أقصر.



Series 1: التسخين بالفرن series 2 : التسخين بالحمام الزيتي

الشكل (3) المعاملة الحرارية للمساحيق الجافة في الأنابيب الزجاجية في الفرن وفي الحمام الزيتي

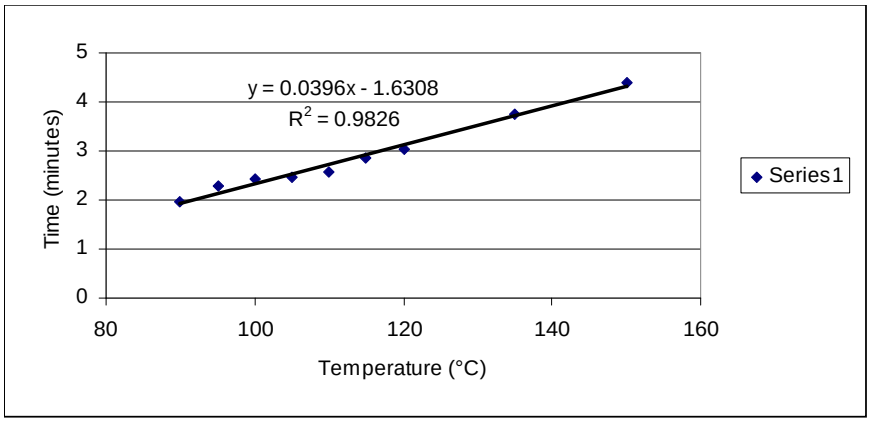
كما نلاحظ أن نتائج التسخين في الحمام الزيتي ضمن أنابيب زجاجية كانت مقبولة في حين لم تكن النتائج مرضية عند استخدام الفرن كوسيلة للمعاملات الحرارية لذا فقد اعتمدنا هذا النظام لتقدير تأثير الحرارة في السالمونيلا الملقحة للمساحيق الجافة.

العلاقة بين درجة الحرارة وزمن التسخين للمساحيق الجافة عند التسخين في الحمام الزيتي:

يوضح الشكل 4 اللازم لوصول حرارة 1غ من مسحوق الكاكاو في الأنبوب الزجاجي إلى درجة حرارة التسخين المطلوبة للأنابيب ضمن حمام زيتي في درجات حرارة تتراوح بين 90 150 مْ.

حيث يلاحظ أن تسخين المادة الجافة في الأنابيب إلى الدرجة 90 ْ يحتاج إلى دقيقين تقريباً في حين كان الزمن اللازم لوصول درجة حرارة المسحوق إلى 120 مْ أقل من ثلاث دقائق.

لم يحتسب الزمن اللازم لوصول درجة حرارة المسحوق إلى الدرجة المطلوبة من زمن المعاملات الحرارية عند تقدير مقاومة السالمونيلا للحرارة.

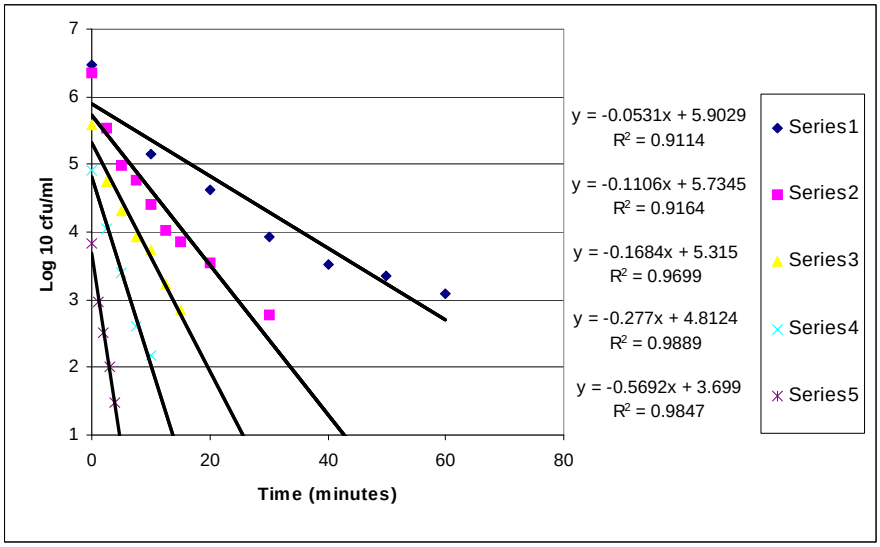


الشكل(4)العلاقة بين درجة الحرارة وزمن التسخين للمساحيق الجافة عند التسخين في الحمام الزيتي

مقاومة السالمونيلا للحرارة في مسحوق قشور الكاكاو الجافة:

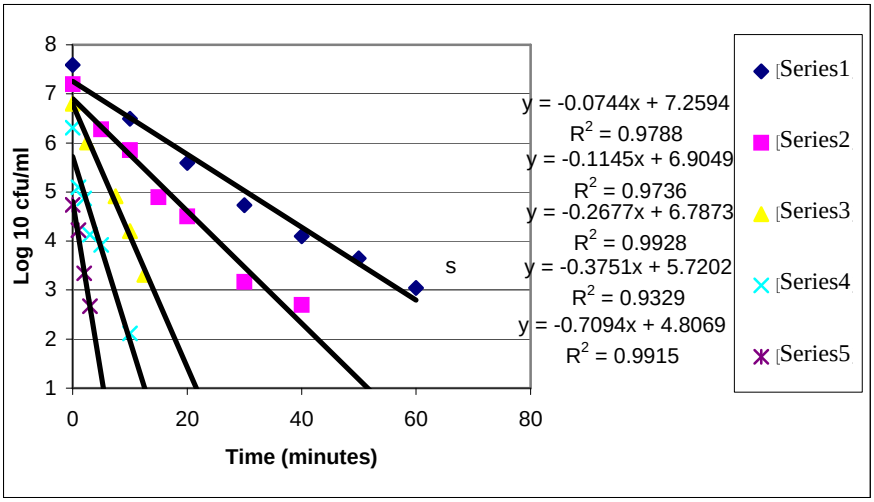
يبين الشكل (5) نتائج معاملة مسحوق قشور الكاكاو الجافة الملقحة بـ *S.typhimurium*، كما يبين الشكل (6) نتائج معاملة قشور الكاكاو الملوثة بـ *S.seftenberg* كما يبين الشكل (7) منحنيات زمن القتل الحراري للسلالتين. يتضح من هذه الأشكال أن نتائج المعاملات الحرارية للسلالتين الملقحتين لقشور الكاكاو الجافة كانت متشابهة إلى حد كبير حيث نلاحظ أن معاملة المساحيق الجافة بدرجة حرارة 110مْ مدة 5 دقائق كان كافياً للقضاء على البكتيريا لكلتا السلالتين في حين تطلب الأمر أكثر من ساعة باستخدام درجة حرارة 90 مْ. لم يتم العثور على دراسات تناولت المقاومة للحرارة للسالمونيلا في منتجات الكاكاو الجافة ومع ذلك لاحظ Barille وزملاؤه (1971) أن تحميص حبوب الكاكاو مدة 40 دقيقة في الدرجة 150 مْ أدى إلى غياب السالمونيلا في حبوب الكاكاو المحمص.

وفي دراسة أجراها McDonough و Hargrove (1969) عن المقاومة الحرارية للسالمونيلا في الحليب المجفف ضمن مجال من درجات الحرارة يراوح بين 60 -150مْ في فرن و87.8 148.8 مْ بتعريض سير من المسحوق المجفف لبخار هواء كانت قيمة D85 60 دقيقة في حين كانت 20 دقيقة لـ D115.5 لمزيج من *S.typhimurium* TM1 و *S.seftenberg* 775w و *S.brunswick*, 1608.



Series 1: 90 °C. Series 2: 95 °C. Series 3: 100°C Series 4: 105°C Series 5: 110°C

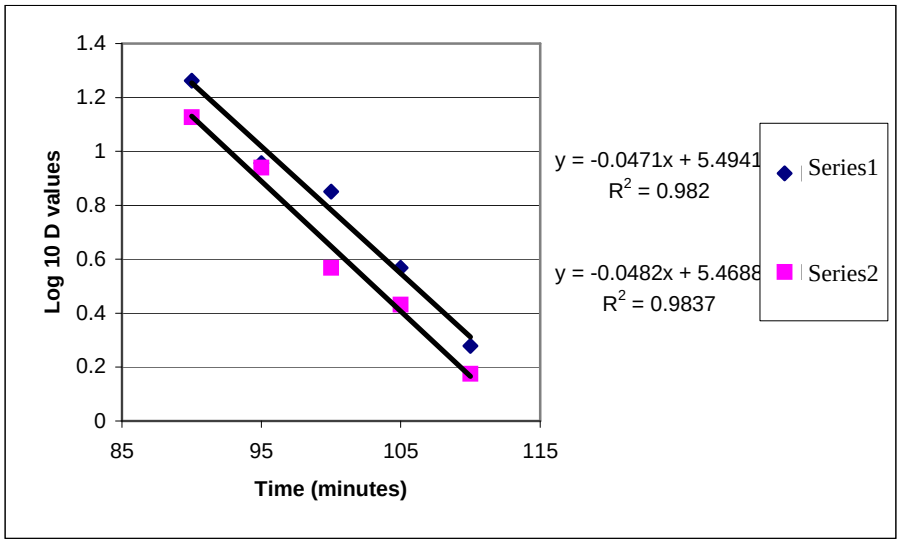
الشكل(5)منحنيات المقاومة للحرارة لقشور الكاكاو الملقحة بـــ *S.typhimurium* 14028 ATCC



Series 1: 90 °C. Series 2: 95 °C. Series 3: 100°C Series 4: 105°C Series 5: 110°C

الشكل (6) منحنيات المقاومة للحرارة لـــ *S.seftenberg* 775w ATCC 43854 الملقحـــة على قشور الكاكاو

حسبت منحنيات المقاومة للحرارة من المنحنيات الخطية لجميع النقاط عدا النقاط التي لم تظهر فيها مستعمرات بكتيرية.



Series 2*: S. typhimurium* Series 1*: S. Seftenberg*

الشكل (7) منحنيات زمن القتل الحراري لـ *S.typhimurium* ATCC 14028 و*S.seftenberg* 775w ATCC 43854 في مسحوق قشور الكاكاو.

قيم D لـ *S.typhimurium* و *S.seftenberg* في مسحوق قشور الكاكاو:

حسبت قيم D *S.typhimurium* ATCC *14028* و *S.seftenberg* 775w ATCC 43845 من كل منحنى مقاومة لخمس درجات حرارة النتائج مبينة في الجدول (2).

بلغت قيمة D90 لـ *S.typhimurium* 18.83 دقيقة D95 =9.04 D100 = 7.13 D105 = 4.16 و D110 = 1.67 دقيقة. في حين بلغت قيم D لـ *S.seftenberg* 11.44 8.73 3.83 2.66 1.4 دقيقة على التوالي.

الجــدول (2) قــيم D لــ *S.typhimurium* ATCC 14028 و *S.teftenberg* 775w ATCC 43845 في مسحوق قشور الكاكاو على درجات حرارة مختلفة

درجة الحرارة مْ	S.typhimurium قيمةDدقيقة	S.seftenberg قيمةD/ دقيقة
90 C	18.83	13.44
95 C	9.04	8.73
100 C	7.13	3.83
105 C	4.16	2.66
110 C	1.67	1.40

نلاحظ أن قيم لــ D *S.typhimurium* كانت أعلى من *S.seftenberg* في جميــع درجات الحرارة وهذا يعني أن الأولى كانت أكثر مقاومة للحرارة في مــسحوق قــشور الكاكاو. هذه النتائج تتفق مع نتائج (Goepfert and Biggie, 1968) في دراسة مشابهة للبكتيريا المجفدة الملقحة للشوكولا السائلة.

قيم Z لـ *S.typhimurium* و*S.seftenberg* في مسحوق الكاكاو:

من الجدول 3 نلاحظ أن قيم Z لـ *S.typhimurium* كانت 21.23 مْ في حين بلغت 20.23 مْ لـ *S.seftenberg* مما يدلُّ على أن مقاومة *S.typhimurium* أعلى بقليــل من مقاومة *S.seftenberg* في مسحوق قشور الكاكاو.

الجدول (3) قيم Z لـ *S.typhimurium* و*S.seftenberg* في مسحوق قشور الكاكاو حــدد Goepfert وBiggie (1968) قيمة Z بـ 19 مْ لــ *S.typhimurium* و18 مْ لــ *S.seftenberg* على التوالي في الشوكولا السائلة في حين كانت 19.5 مْ لكلتا السلالتين في المادة نفسها (Foster, 1968).

S.typhimurium			*S. seftenberg*		
درجة الحرارة مْ	قيم لوغاريتمD دقيقة/	Z قيمة مْ	درجة الحرارة مْ	قيم لوغاريتمD دقيقة/	Z قيمة مْ
90	1.26245	21.23	90	1.12711	20.74
95	0.95617		95	0.93952	
100	0.85126		100	0.5682	
105	0.5682		105	0.43136	
110	0.27875		110	0.17609	

القدرة على بقاء السالمونيلا حية في قشور الكاكاو والبندق:

خُزّن مسحوق قشور الكاكاو والبندق الملقحة بـ *S.typhimurium* ATCC 14028 و*S.seftenberg* 557w ATCC 43845 في درجات حرارة 4 مْ و25 مْ مدة 90 يوماً ثم أجري عد للبكتيريا كل 15 يوماً النتائج مبينة في الجدول (4).

الجدول (4) تأثير حرارة التخزين في بكتيريا *S.typhimurium* و *S.seftenberg* الملقحة لقشور الكاكاو والبندق.

زمن يوم	قشور الكاكاو		قشور البندق		قشور الكاكاو		قشور البندق	
	عدد/غ 22 C	عدد/غ 22 C	عدد/غ 22 C	عدد/غ 22 C	عدد/غ 4 C	عدد/غ 4 C	عدد/غ 4 C	عدد/غ 4 C
	S.TYPH	S.SEFT.	S.TYPH	S.SEFT.	S.TYPH.	S.SEFT.	S.TYPH	S.SEFT.
0	$3.1X10^{8}$	$7.1X10^{8}$	$1.1X10^{8}$	$2.1X10^{9}$	$3.1X10^{8}$	$7.1X10^{8}$	$1.1X10^{8}$	$2.1X10^{9}$
15	$5.1X10^{6}$	4.1X107	$5.5X10^{6}$	$9.1X10^{7}$	$3.1X10^{7}$	$9.1X10^{7}$	$2.0X10^{7}$	$9.1X10^{7}$
30	$3.2X10^{6}$	$5.2X10^{7}$	$9.8X10^{6}$	$1.7x10^{8}$	$8.6X10^{7}$	$2.1X10^{8}$	$4.5X10^{7}$	$3.0X10^{8}$
45	1.6X10	$1.7X10^{7}$	$4.2X10^{6}$	$8.1X10^{7}$	$4.4X10^{7}$	$1.4X10^{8}$	$5.1X10^{7}$	$1.8X10^{8}$
60	$3.5x10^{5}$	$6.7x10^{7}$	$3.8x10^{6}$	$8.5x10^{7}$	$2.3x10^{7}$	$1.1x10^{8}$	$5.7x10^{7}$	$2.4x10^{8}$
75	$1.9x10^{5}$	$3.0x10^{6}$	$2.2x10^{6}$	$6.9x10^{7}$	$2.3x10^{7}$	$1.1x10^{8}$	$5.0x10^{7}$	$1.1x1^{-8}$
90	$1.8x10^{5}$	$1.5x10^{6}$	$2.0x10^{6}$	$7.2x10^{7}$	$2.6x10^{7}$	$1.23x10^{8}$	$4.7x10^{7}$	$1.2x10^{8}$

S.SEFT = S.seftenberg *S.TYPH=S.typhimurium*

يتضح من الجدول أن تخزين مسحوق الكاكاو والبندق في درجتي حرارة 4 و25 مْ أدى إلى انخفاض عدد الأحياء الدقيقة بمعدل 1 لوغاريتم خلال الخمسة عشر يوما الأولى من التخزين. ثم انخفض عدد البكتيريا بشكل بطيء جداً عند التخزين في درجة 4 مْ لكلتا السلالتين مدة 90 يوماً أما التخزين في 25 مْ لكل من مسحوق قشور الكاكاو والبندق فقد لوحظ انخفاض بلغت قيمته 2-3 لوغاريتم وانخفض بشكل أكبر في قشور الكاكاو الملقحة بـ *S.typhimurium* (3 لوغاريتم) بعد 90 يوماً من التخزين.

وهذا ما يتفق مع ما وجده Beuchat و Heaton (1974) من أن تخزين قشور المكسرات الملقحة بـ *S.anatum* في 21 مْ مدة 16أسبوعاً أدى إلى قتل كلي للبكتيريا في حين انخفض قليلاً عدد بكتيريا *S.seftenberg* و *S.anatum* و *S.typhimurium* عند التخزين في 5 مْ.

وكذلك Davies وزملاؤه (1990) الذين وجدوا أن التجفيف البطيء لـ NCTC 5771 *S.eastbourne* و NCTC 6853 *S.napoli* في مسحوق الكاكاو وتخزين المسحوق 19 يوماً في 4 مْ و37 مْ أدى إلى اختفاء تام للبكتيريا بعد التخزين في 37 مْ مدة 19 يوماً في حين انخفض العدد بمعدل 1 لوغاريتم عند التخزين على 4 مْ و37 مْ مدة أسبوع وانخفض بالمعدل نفسه بعد 19 يوماً في 4 مْ .

النشاط المائي Aw لمسحوق قشور الكاكاو:

بلغت قيمة النشاط المائي A_W للمسحوق غير المعامل حرارياً 0.43 وكانت 0.19 و0.17 للمسحوق المعامل في 100 و110 مْ على التوالي. وقد لوحظ انخفاض بسيط في قيمة النشاط المائي بعد معاملة المسحوق في 100 و110 مْ.

وهذا متعارف عليه للتأثير المهم لكمية الماء المتاح في المقاومة الحرارية للأحياء الدقيقة حيث تبلغ المقاومة الحرارية للأحياء الدقيقة المجففة بشكل تام أكبر بعدة مرات

من مقاومة الأحياء الدقيقة نفسها الموجودة على شكل معلق مائي ذي نشاط مائي يساوي 1.0. وهذا يتفق مع ما وجده Riemann (1968) من أن مقاومة *S.typhimurium* و775w *S.seftenberg* الملقحة على لحمٍ ذي نشاط مائي يتراوح بين 0.6 0.9 لدرجة حرارة 90 مْ لوقت قصير سبب انخفاضاً في عدد الخلايا الحية حتى 10^6 عند التسخين مدة 20 دقيقة لعينة ذات نشاط مائي 0.88 في حين انخفض العدد حتى 10^4 بعد التسخين مدة 40 دقيقة لعينة ذات نشاط مائي 0.77. كما يتفق أيضاً مع ما وجد Barille و Cone (1969) من أن إضافة 2% رطوبة إلى شوكولا سائلة ملقحة بـ *S.anatum* أدى إلى انخفاض قيمة D71 من 20 دقيقة إلى 4 دقيقة. وقد بين VanCacuwenberge وزملاؤه (1981) أن *S.seftenberg* الملقح لطحين يحوي 15 % رطوبة تطلب 2.2 ساعة لقتل 99% من عدد الأحياء الدقيقة في حين تطلب زمناً مضاعفاً 5.8 ساعة في طحين ذي رطوبة 10% لقتل العدد نفسه من البكتيريا.

يتضح من هذه الدراسة أن النشاط المائي للمساحيق المعاملة حرارياً كان في حدوده الدنيا مما يدلُّ على أن معدل القتل الحراري كان في حدوده الدنيا أيضاً وهذا يتفق مع ما وجده Laroche وزملاؤه (2005) ومع ما وجده Archer وزملاؤه (1997) في دراساتهم لمقاومة الأحياء الدقيقة في المنتجات الغذائية الجافة.

الاستنتاجات

المعاملة الحرارية للمساحيق الجافة في أنابيب زجاجية باستخدام حمام زيتي أفضل من المعاملة باستخدام الفرن حيث كان زمن التسخين أقصر وتكرارية النتائج أفضل. *S.typhimurium* ATCC 14028 أكثر مقاومة للحرارة في مسحوق قشور الكاكاو من *S.seftenberg* 775wATCC43845. بلغت قيم D لـ *S.typhimurium* D90 = 18.83 دقيقة D95 = 9.04 دقيقة D100 = 7.13 دقيقة D105 = 4.16 دقيقة و D110 =1.67 دقيقة. في حين بلغت قيم D لـ *S.seftenberg*: 13.44 8.73 3.83 2.66 و1.40 دقيقة على التوالي. اختلاف بسيط في قيم Z للسلالتين المدروستين حيث بلغت لـ *S.typhimurium* 21.23 مْ وكانت20.74 مْ لـ *S.seftenberg* .

-انخفض عدد البكتيريا بمقدار1 لوغاريتم بعد 90 يوماً من تخزين مسحوق قشور البندق والكاكاو الملقحين ببكتيريا *S.typhimurium* و *S.seftenberg* في الدرجة 4 مْ وانخفض بمعدل 2 3 لوغاريتم بعد التخزين في 25 مْ للمدة نفسها.

-لوحظ انخفاض بسيط في قيمة النشاط المائي لمسحوق قشور الكاكاو الملقحة بالسالمونيلا بعد المعاملة مدة 15 دقيقة في 100 و110 مْ.

REFERENCES

Archer, E.; Jervais, T.; Bird, J. and Gaze, E. (1997). The effect of water activity and relative humidity on the heat resistance of *Salmonella* Weltevreden in a low moisture environment. R & D repots No53. Project number No 17728. CCFRA. 1- 27.

Archer, E.; Jervais, T.; Bird, J. and Gaze, E. (1998). Heat resistance of *Salmonella* weltevreden in low-moisture environments. J. Food Protection. 61(8): 969-973.

Barrile, J. C. and Cone, J. F. (1969). Effect of added moisture on the heat resistance of *Salmonella anatum* in milk chocolate. Applied Microbial. 19:177-178.

Barrile. J. C.; Cone, J. F. and Keeney, P. G. (1970). A study of salmonella survival in milk chocolate. Manufacturing confectioner. 50: 34-39.

Barrile, J. C.; Ostovar, K. and Keeney, P. G. (1971a). Effect of added moisture on the heat resistance of *Salmonella anatum* in milk chocolate. J. Milk Food Technol. 34(7): 369371.

Barrile, J. C.; Ostovar, K. and Keeney, P. G. (1971b). Microflora of cocoa beans before and after roasting at 150°C. J. Milk Food Technol. 34(7): 369-371.

Bell, C. and Kyriakides, A. (2002*). Salmonella*.London.Blackwell Science.

Beuchat, L. R. and Heaton, E. K. (1975). *Salmonella* survival on pea cans as influenced by processing and storage conditions. Appl. Microbiology. 29(6): 795-801.

Craven, P. C.; Baine, W. B. and Makel, D. C. (1975). International outbreaks of *Salmonella Eastbourne* infection traced to contaminated chocolate. Lancet I. 788-793.

CT-QM/PTC York. (2006). *Salmonella* in chocolate due to leaking water pipe. Quality Brief No. 6

D`Aoust, J. Y. (1977). *Salmonella* and chocolate industry. A. Review. J. Food Protection. 40: 718-727.

D`Aoust, J. Y.; Aris, B. J. and Thisdele, P. (1975). *Salmonella* Eastbourne outbreak associated with chocolate. Can. Inst. Food Science Technol. J. 6:41–44.

Davies. A. R.; Blood, R. M. and Gibbs, P. A. (1990). Effect of moisture level on the heat resistance of salmonellae in cocoa liquor. The British food manufacturing industries research association. Research reports No. 666. April.1-40

Doyle, M. E and Mazzota, A. S. (1999). Review of studies on the thermal resistance of salmonellae. J. Food Protection. 63:779-795.

Foster, E. (1968). Candy industry and confectioners journal. 131: 66 - 69.

G strin, B.; Kaempe, A. and Nystroem, K. A. (1972). *Salmonella* Durham epidemi spridd genom kakao pulver. Lackartidigen. 69: 5335–5338.

Gill, O. N.; Bartlett, C. L. L. and Sockett, P. N. (1983). Outbreak of *Salmonella Napoli* infection caused by contaminated chocolate bars. Lancet I. 575–577.

Goepfert, J. M. and Biggie, R. A. (1968). Heat resistance of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella* senftenburg775w in milk chocolate. Appl. Microbiol. 16: 1939-1940.

Hockin, J. C.; Oust, D. A. and Bowering, J. J. (1989). An international outbreak of *Salmonella nima* from imported chocolate. J. Food Protection. 52, 51-54.

Kapperud, G.; Gustavsen, S.; Hellesnes, J.; Hansen, A. H.; Lassen, J.; Hirn, J.; Jahkola, M.; Montenegro, M. A. and Helmuth, R. (1990). Outbreak of *Salmonella typhimurium* infection traced to contaminated chocolate and caused by a strain lacking the 60- mega Dalton virulence plasmid. J. Clinical Microbiology. 2597-2601.

Kapperud, G.; Lessen, J.; Gustavsen, S. and Hellesnes, J. (1989). Sjoko ladeepidemien I 1979. Tidsshr. Nor. Loegeforen. 109: 1982-1985.

Kirby, R. M. and Davies, R. (1990). Survival of dehydrated cells of *Salmonella* typhimurium LT2 at high temperatures. J. Appl. Bacteriol. 65: 241-246.

Kovalj, T. (2003). Inaktivierungsbedingungen von *Salmonella* spp. *in* abhangigkeit verschiedener schokoladekomponenten. diplomarbiet, universitat fur bodenkultur Wien.

Laroche, C.; Fine, F. and Gervais, P. (2005). Water activity affects heat resistance of microorganisms in food powders. International J. Food Microbiology. 97:307-315.

McDonough, F. E. and Hargrove, R. E. (1969). Heat resistance of salmonella in dried milk J. Dairy Science. 51(10): 1587-1591.

Riemann, H. (1968). Effect of water activity on the heat resistance of salmonella in dry materials. Appl. Microbiology. 16(10): 1621-1622.

Van Cauwenberge, J. E.; Bothast, R. J. and Kwolek, W. F. (1981). Thermal inactivation of *Salmonella* serotypes on dry corn flour. Appl. And Environmental Microbiology. 42(4): 688-691.

Werber, D.; Dreesman, J.; Feil, F.; Treeck, V.; Fell, A.; Gerhard, U.; Ethelberg, S. M.; Hauri, A.; Roggentin, A.; Prager, R.; Fisher, I.; Bartlet, S.; Weise, E.; Ellis, A.; Siit, A.; Anderson, Y.; Tschape, H.; Kramer, M.; and Ammon, A. (2005). International outbreak of *Salmonella oranienburg* due to German chocolate. BioMed Central. 1-14.

Received	**2006/10/15**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2007/04/30**	**قبول البحث للنشر**