**حفظ الأغذية بدرجات الحرارة العالية**

**المعاملات الحرارية للاغذية :** هي العملية التي يتم فيها تعريض الغذاء بالتسخين لدرجة حرارة معينة ولفترة زمنية محددة وذلك لتحقيق هدف او فائدة محددة في عمليات التصنيع الغذائي.

**انواع المعاملات الحرارية** : السلق، الطبخ، التبخير، التجفيف، البسترة والتعقيم.

البسترة والتعقيم والتجفيف هي المعاملات الحرارية التي تهدف الي المحافظة علي الغذاء من التلف.

تعتبر البسترة معاملة حرارية خفيفة او متوسطة الشدة مقارنة بالتعقيم وهي معاملة حرارية انتقائية بالنسبة للقضاء علي البكتريا خاصة الممرضة منها كما هو الحال في بسترة الحليب للقضاء علي البكتريا الممرضة والمسببة للسل كما انها تقضي علي الانزيمات ولا تقضي علي كل الكائنات الدقيقة الاخري الموجودة بالغذاء مما يتطلب حفظ الحليب المبستر في الثلاجة في عبوات محكمة القفل. وان العمر التخزينى له في حدود اسبوع.

**البسترة عند درجات الحرارة العالية ( HTST )**. يعرض الحليب لدرجة حرارة 71.5 م لمدة 15 ثانية. تتميز هذه الطريقة عن البسترة البطيئة في كونها تحافظ علي الخصائص الحسية للغذاء والقيمة الغذائية.

يطبق هذا النوع من البسترة علي الاغذية السائلة ذات اللزوجة المنخفضة وتتم في المبادلات الحرارية. شدة المعاملة الحرارية للبسترة من حيث درجة الحرارة والزمن تعتمد علي طبيعة المنتج ورقم الاس الايدروجيني للغذاء وعدد الكائنات الدقيقة الموجود اصلا بالغذاء ونوعية المعاملة الحرارية المطبقة وطبيعة الكائنات الدقيقة المقاومة للحرارة والموجودة بالغذاء والتي يطلق عليها الكائنات الدقيقة المصاحبة للغذاء.

**التعقيم التجارى :** وهى المعاملة الحرارية التي تعرض لها الاغذية وتتم بغرض تحقيق هدفين :

1. ضمان سلامة الغذاء من مخاطر البكتريا الممرضة والمفرزة للسموم.

2. ضمان سلامة الغذاء من البكتريا او جراثيمها والتي يمكن ان تنمو وتتسبب في فساد الغذاء تحت ظروف التداول العادية وتثبيط الانزيمات المسببة للفساد.

كما يجب ان تبرمج هذه المعاملة الحرارية من حيث درجة الحرارة والزمن بما يحقق الهدفين المشار اليهما اعلاه مع ضمان المحافظة علي الخصائص الحسية للغذاء والقيمة الغذائية بقدر الامكان. وبالتالي فإن هذه المعاملة الحرارية لا تعني مفهوم التعقيم الطبي والذي يهدف الي القضاء علي كل اثر للحياة. مع انه يمكن تحقيق ذلك في الغذاء الا انه سيكون علي حساب فقدان جودة الغذاء الحسية والقيمة الغذائية ، ولهذا اتفق علي استخدام مصطلح التعقيم التجاري علي المعاملات الحرارية التي تحقق التعقيم كما هو الحال في صناعة التعليب.

**UHT** هي المعاملة الحرارية الفائقة والتي تطبق علي الاغذية السائلة والتي من ضمنها الحليب والعصائر في المبادلات الحرارية حيث يعرض الحليب في هذه المبادلات الحرارية لدرجة حرارة 126.7 م ولمدة 4 ثواني ثم التبريد المفاجيء لدرجة 5 م ومن تم التعبئة واحكام القفل للعبوات تحت ظروف معقمة.

**pH وعلاقتها بشدة المعاملة الحرارية :**

قسمت الاغذية الي مجموعتين من حيث شدة المعاملة الحرارية التي تعرض لها وذلك علي اساس رقم الاس الايدروجيني ( pH )

أغذية حامضية الـ pH لها = او اقل من 4.5 وتعامل عند درجة حرارة 100 م او اقل.

أغذية غير حامضية أو اغذية منخفضة الحموضة والـ pH لها أعلي من 4.5 وتعامل عند درجة حرارة اعلي من 100م.

في مجال تعليب الاغذية المنخفضة الحموضة مثل الخضروات والاسماك فإن اكثر الاحياء الدقيقة اهمية من الناحية الصحية هي بكتريا *Clostridium botulinum* المتجرثمة وعليه فإن جل الاهتمام في صناعة تعليب الأغذية ينحصر حول تحديد المعاملة الكافية للقضاء علي جراثيم هذا الكائن. جرثومات هذا الكائن لا تستطيع النمو وافرازالسموم عند pH 4.5 او اقل كما ان هذا الكائن ضعيف المقاومة للحرارة عندما يكون متواجدا في وسط غذائي له pH اقل من 4.5 .

**العوامل المحددة لاختيار المعاملة الحرارية :**

1) نوع الغذاء 2) التركيب الكيميائي للغذاء 3) نوع الكائنات الدقيقة المتواجدة بالغذاء

4) العدد الابتدائي للكائنات الدقيقة 5) منحنى هلاك الكائن الدقيق

6) حساسية المغذيات الموجودة للحرارة.

**حساب زمن المعاملة الحرارية** **: يتطلب توافر معلوماتين** :

1) مقدار المقاومة الحرارية للكائنات الدقيقة الحية المستهدفة.

2) الانتقال الحراري للغذاء المعلب

D : تعبر عن الزمن بالدقائق اللازم لمنحني البكتريا المتبقية ليعبر دورة لوغاريتمية واحدة. وهي تعرف بزمن الخفض العشري وهو عبارة عن الوقت اللازم عند اية درجة حرارة قاتلة لهلاك 90% من الجراثيم او البكتريا الخضرية. اما عدديا فهو يساوي عدد الدقائق المطلوبة لمنحني البكتريا المتبقية ليتخطي او يعبر دورة لوغلريثمية واحدة اما رياضيا فهو يساوي مقلوب الميل ( الانحدار ) لمنحني البكتريا المتبقية. اما الميل نفسه لهذا المنحني فيمكن التعبير عنه بالمعادلة الاتية :

t = D ( لوغاريتم A - لوغاريتم B )

t = زمن التسخين علي درجة حرارة ثابتة

D = الزمن بالدقائق علي درجة حرارة ثابتة لقتل 90% من الخلايا البكترية

A = عدد الخلايا عند زمن بداية التسخين

B = عدد الخلايا بعد نهاية زمن التسخين

تستخدم هذه المعادلة في ايجاد قيمة D عند توفر المعلومات الاخري في المعادلة او ايجاد قيمة (t ) وهو الزمن اللازم لاحداث خفض بعدد دورات لوغاريثمية معينة لعدد ما من البكتريا عند درجة حرارة ثابتة بمعرفة قيمة D عند هذه الدرجة.

قيمة D لا تتأثر بعدد الخلايا او الجراثيم الاصلية ولكنها تتأثر فقط بدرجة حرارة وسط التسخين اي علاقة عكسية بين قيمة D ودرجة الحرارة. كذلك فإن لكل نوع من البكتريا قيمة D خاصة بها عند درجة حرارة ثابتة وان هذه القيمة تتغير بتغير درجة الحرارة وكذلك الوسط الغذائي.

**منحني الوقت اللازم للموت الحراري ( TDT ) :**

ان استخدام المعادلة المشار اليها اعلاه والمستنبطة من منحني البكتريا المتبقية عند تعريضها لدرجة حرارة ثابتة وقاتلة في ايجاد الزمن اللازم بالدقائق لتحقيق خفض معين في عدد البكتريا عند تعريضها لدرجة حرارة ثابتة وقاتلة لا يتمشي مع الواقع اثناء تسخين الاغذية حيث ان هذه المعادلة تفترض التسخين الفجائي وبسرعة لدرجة الحرارة المطلوبة ومن ثم التبريد الفجائي وهذا في الحقيقة لا يحدث حيث ان الغذاء وبالتالي الكائنات الدقيقة المتواجدة به تتعرض لدرجات حرارة مختلفة حتي تصل الي درجة الحرارة المطلوبة وبالتالي لزم الامر البحث عن قيم D لهذا الكائن الدقيق بتغير درجات الحرارة اثناء التسخين والاستفادة منها في حساب شدة المعاملة الحرارية. وبالتالي لواخدنا المقاومة الحرارية ( D ) للكائن الحى الدقيق المستهدف علي عدة درجات حرارة تعرض لها اثناء عملية التسخين وتم ثمثيلها علي ورقة رسم بياني نصف لوغارتمية نحصل علي علاقة خطية ويسمي هذا المنحني الجديد بمنحني الوقت للموت الحراري. وهو يعتبر افضل مقياس لمقاومة الكائنات الحية للحرارة ومن هذا المنحني نتحصل علي عدة نقاط وكل نقطة تمثل اصغر وقت كافي علي اية درجة حرارة علي هذا المنحني لقتل الميكروبات الموجودة ( spores ).

هذا المنحني ( TDT ) يستنبط منه قيمتين مهمتين وهما Z و F .

Z: تعبر عن حساسية قيمة D لدرجات الحرارة وتعرف بـ ( ثابت المقاومة الحرارية ) وهي تعبر عن عن عدد الزيادة في درجات الحرارة التي تؤدى الى خفض في قيمة D بمقدار 90% وعدديا عبارة عن عدد درجات الحرارة المطلوبة لمنحني ( TDT ) ان يعبر دورة لوغاريثمية واحدة. اما رياضيا فهي تساوي مقلوب الميل لهذا المنحني ويمكن ايجادها بتطبيق المعادلة :

Z =T2 - T1 / log D1 - log D2

حيث D1  و D2  = زمن الخفض العشري عند درجة حرارة T1 و T2

وهي بمعني اخر عبارة عن عدد درجات الحرارة المطلوبة لإحداث تغير بمقدار 10 أضعاف في الزمن اللازم لاحداث نفس التأثير او القتل الحراري.

F : تعبر عن عدد الدقائق المطلوبة لقتل عدد معين من الكائنات الدقيقة الحية علي درجة حرارة معينة وبمعلومية قيمة Z . وبالتالي فإن F تعني شدة المعاملة الحرارية المطلوبة ومن المتعارف عليه عندما تكتب قيمة F يجب ذكر قيمة Z فمثلا 100F10 = 3 دقائق تعني ان الزمن اللازم لتحقيق تحطيم في عدد معين من البكتريا هو 3 دقائق عند درجة حرارة 100م وقيمة z =10 اما اذا كتبت Fₒ = 3 دقائق فهذا يعني ان درجة الحرارة = 121.1 م و Z = 10 .

قيمتا Z وF تعتبران القياس الكمي لمقاومة الجراثيم ( spores ) علي درجات حرارة مختلفة. المثال التالي يوضح ذلك:

مثال : اذا كانت قيمة D70 = 3 دقائق لبكتريا *B. cereus* فأوجد قيمة D100 عندما تكون :

أ - Z = 5 مₒ ب - Z = 10 مₒ

الحل : D100 - D70 = 30 درجة ( مقدار التغير في درجات الحرارة )

 **عندما Z = 5 م** 30 ÷ 5 = 6 مرات

 أي أن التغير في قيمة D = 3 ÷ ( 10×10×10×10×10×10) = 0.000003 دقيقة

 **عندما Z = 10 م** 30 ÷ 10 = 3

اي التغير في قيمة D = 3 ÷ ( 10×10×10) = 0.003 دقيقة

يلاحظ من هذا المثال انه كلما زادت قيمة Z تضاءلت قيمة D اي الزمن اللازم لتحقيق الخفض العشري.

**حدود الآمان المطلوبة في تحقيق المعاملة الحرارية للاغذية المعلبة :**

لقد تم تبني منهج احصائي لتحديد عدد البكتريا المتبقية والمقبولة بعد المعاملة الحرارية والتي تعتبر حدود الآمان المطلوب تحقيقها في الغذاء. ولقد تم التوصل من خلال المعلومات الاحصائية الي اقتراح ان حدود الآمان هذه تكمن في انه يلزم ان تكون المعاملة الحرارية كافية لتحقيق خفض في عدد البكتريا المتواجدة بمقدار 12 دورة لوغاريثمية او ما يعرف ب 12-D وذلك في الاغذية المنخفضة الحموضة. وبما ان المعاملة الحرارية المطبقة علي الاغذية يجب ان تضمن سلامة الغذاء من مخاطر البكتريا الممرضة والمفرزة للسموم وايضا البكتريا المفسدة والتي يمكنها النمو عند درجات حرارة التداول للغذاء بعد المعاملة الحرارية. وعليه فإن بكتريا كلوستريديم بوتولينيوم تعتبر اخطر بكتريا في الاغذية المنخفضة الحموضة والتي يجب القضاء عليها وكذلك PA3679 والتي تعتبر من البكتريا المتجرثمة والمقاومة للحرارة والتي تستطيع النمو عند درجة حرارة الغرفة ( الدرجة المثلي لنموها 37 م ). لتحقيق المعاملة الحرارية اللازمة عند درجة 121.1 م يجب تطبيق المعادلة المستنبطة من منحني البكتريا المتبقية بأفتراض ان عدد الجراثيم ( spores ) في العلبة بمقدار 1 جرثومة / جرام بالنسبة لبكتريا كلوستريديم بوتولينيوم و 10 2 جرثومة / جرام بالنسبة لبكتريا 3679 PA ، قيمة D لبكتريا البتوليزم = 0.23 عند درجة حرارة 121.1 م و Z = 10 م.

t = 0.23 ( log 1 - log 10-12 )

 = 0.23 x 12

 = 2.8 دقيقة عليه لضمان شدة معاملة حرارية كافية لتحقيق حدود الآمان من مخاطر بكتريا كلوستريديم بوتولينيوم ويجب تعريض هذه المعلبات الي درجة 121.1 م ولمدة 2.8 دقيقة وذلك عند ابرد نقطة في العبوة ، اما فيما يخص جراثيم PA 3679 :

t = 1.5 ( log 102 - log 10-12 )

 = 21 دقيقة

لضمان حدود الآمان من مخاطر البكتريا المفسدة فيجب معاملة الغذاء علي درجة 121.1 م ولمدة 21 دقيقة عند ابرد نقطة تسخين في العبوة. وبالتالي فإن هذه المعاملة الحرارية ستضمن ايضا القضاء علي كلوستريديم بوتولينيوم وجراثيمها وتجعله آمنا من المخاطر الصحية لهذا الكائن الدقيق.

**التعقيم Sterilization**

التعقيم هو العملية التي تؤدي إلى قتل أو إزالة جميع الكائنات الحية الدقيقة متضمنة الجراثيم البكتيرية bacterial spores. ومعنى كلمة التعقيم مطلق أي أنه لا وجود لشيء معقم جزئيا بمعنى أن الأشياء إما أن تكون معقمة أو غير معقمة. أيضا يمكن تعريف التعقيم بأنه إزالة عوامل النقل (مثل البكتيريا والفيروسات) من الأسطح والمعدات والغذاء ومن الأوساط الغذائية (biological culture medium). ويمكن تحقيق التعقيم بالطرق الطبيعية أو الكيميائية القاتلة للأحياء الدقيقة أو بالترشيح في حالة السوائل.

ولفهم أساس عملية التعقيم فمن الضروري معرفة حركية الموت Kinetics of Death للأحياء الدقيقة ، والتي يمكن التعبير عنها بالفقد غير الرجعي للقدرة على التكاثر ، ويمكن الاعتماد على هذه الصفة في تقييم عملية التعقيم حيث أن الخلايا الحية فقط هي التي تستطيع تكوين مستعمرات.

عند تعريض مجتمع نقي من الأحياء الدقيقة (نوع معين من البكتيريا) لمعاملة قاتلة مثل المعاملة بالحرارة العالية مثلا فإن حركية الموت تكون دائما لوغارتمية بمعنى أن عدد الأحياء يتناقص بطريقة لوغارتمية مع مرور الوقت وهذا يعني أن كل أفراد المجتمع ذو حساسية متماثلة وأن الاحتمالات فقط هي التي تحدد الوقت الفعلي لموت أي خلية فردية. فإذا رسمت العلاقة عدد الأحياء ووقت تعريض مجتمع معين من الأحياء الدقيقة لمعاملة قاتلة فإننا على خط مستقيم ذو ميل سالب ويمثل المنحنى معدل الموت Death Rate.

يمكن استخدام معدل الموت والعدد الابتدائي لحساب النسبة المتبقية من الأحياء الدقيقة بعد معاملة الأحياء الدقيقة بمعاملة قاتلة لمدة زمنية معينة ونظرا لأن معظم المجتمعات الموجودة في الطبيعة تكون مجتمعات مختلطة فإنه عادة ما يعتمد على أكثر الكائنات الحية الدقيقة مقاومة للحرارة والتي غالبا ما تكون جراثيم البكتيريا . ولذلك فإنه عند الرغبة في تقييم طريقة التعقيم (بالحرارة مثلا) تستخدم معلقات مائية من الجراثيم المقاومة للحرارة المرتفعة. وعند الرغبة في التعقيم بأي معاملة أو طريقة تعقيم أخذين في الاعتبار حركية موت الأحياء الدقيقة فإننا نهدف أن يكون احتمال وجود ولو حتى خلية واحدة في المادة المعقمة صغير جدا جدا . فمثلا عند الرغبة في تعقيم 1 لتر من مستنبت سائل (بيئة سائلة) فإننا يمكن ان نصل إلى الهدف بطريقة عملية عندما تؤدي المعاملة إلى أن يكون عدد الأحياء الدقيقة المتبقية لا يزيد عن خلية واحدة في 610 لتر وعندئذ يكون احتمال وجود أي أحياء دقيقة في تلك الكمية ضئيل جدا بحيث لا يكون لذلك أي أهمية .ومعظم طرق التعقيم في الصناعة تأخذ في الاعتبار درجة كبيرة من الأمان.
**طرق التعقيم**

**أولا: الطرق الطبيعية Physical Methods of Sterilization
1) التعقيم بالحرارة: Sterilization by heat**

وتعتبر المعاملة الحرارية هي أكثر المعاملات القاتلة المستخدمة لغرض التعقيم ويمكن أن يتم التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat حيث يتم ذلك باستخدام أفران تحت الضغط الجوي العادي أو بالحرارة الرطبة Moist heat التي يتم الحصول عليها بالبخار الرطب Wet steam.

**أ) التعقيم بالحرارة الجافة:**

تتطلب عملية التعقيم بالحرارة الجافة وقت أطول ودرجة حرارة أعلى منها في حالة التعقيم الرطب وذلك لأن التوصيل الحراري بالهواء أقل كفاءة من البخار الرطب. إضافة إلى أن الخلايا الخضرية للبكتيريا تقاوم الحرارة العالية تحت ظروف الجفاف التام إلى درجة تقترب من مقاومة الجراثيم الداخلية للبكتيريا. لذلك فمعدل الموت للخلايا الجافة أقل كثيرا من معدل الموت للخلايا الرطبة . وتستخدم الحرارة الجافة أساسا لتعقيم الأدوات الزجاجية والمواد الصلبة التي تتحمل الحرارة المرتفعة وتتأثر عكسيا بالبخار وذلك بعد لفها في ورق أو وضعها في عبوات تمنع إعادة التلوث بعد التعقيم كما هو الحال عند تعقيم أطباق بتري والماصات الزجاجية المستخدمة في معامل الأحياء الدقيقة. وتعقم الأدوات بهذه الطريقة بوضعها في معقم الهواء الساخن Hot-air sterilizer على درجة حرارة من 160 – 180° م لمدة 1- 3 ساعات.

**ب) التعقيم بالحرارة الرطبة:**

يستخدم التعقيم بالبخار الرطب Steam-under-pressure sterilization لتعقيم المحاليل المائية والمواد الأخرى التي تتلف بالحرارة ويستعمل لذلك جهاز خاص يسمى الأوتوكلاف Autoclave وهو جهاز ضغط صمم لتسخين المحاليل المائية فوق درجة غليانها للوصول للتعقيم واخترع من قبل Charles Chamberland في سنة 1879) ) والذي يملأ بالبخار الرطب على ضغط أعلى من الضغط الجوي لذلك فالتعقيم يمكن الوصول إليه على درجة حرارة أعلى من درجة حرارة غليان الماء . وتعقم المواد بالأوتوكلاف على درجة حرارة 121° م لمدة 15 دقيقة باستعمال البخار تحت ضغط يساوي تقريبا 15 رطل على البوصة المربعة وعند هذه الدرجة من الحرارة تموت أكثر الأحياء الدقيقة مقاومة للحرارة وهي الجراثيم الداخلية للبكتيريا عند تعريضها لهذه الدرجة لفترة زمنية قصيرة . علما بأن بعض أنواع الجراثيم يمكنها تحمل درجة حرارة غليان الماء لعدة ساعات .(قبل اكتشاف " Strain "121 في عام 2003 كان يعتقد أن التعرض لدرجة حرارة الأوتوكلاف لمدة 15 دقيقة كافية لقتل كل الكائنات الحية الدقيقة . وللتخلص من البريون تنص التوصيات على استخدام درجات حرارة 121-132° م لمدة 60 دقيقة أو 134°م على الأقل لمدة 18 دقيقة والبريون(strain 263K) يمكن القضاء عليه بشكل سريع نسبيا بالتعقيم بهذه الطريقة) ويختلف الوقت اللازم لإتمام عملية التعقيم حسب نوع وكمية المادة التي ستعقم وذلك لكي تصل درجة حرارة جميع أنحاء المحلول إلى درجة حرارة التعقيم.

يمكن الوصول إلى درجة حرارة 121.6 داخل الأوتوكلاف عند ضغط 15 رطل/ البوصة المربعة بشرط أن يتم طرد كل الهواء من داخل المعقم لكي يكون كل الضغط المتولد داخل المعقم ناتج عن ضغط بخار الماء تحت الظروف العادية وعند الضغط القياسي فأن الماء لا يمكن تسخينه لدرجة أعلى من 100 ° م في أوعية مفتوحة فالتسخين الإضافي سيؤدي إلى الغليان وتوليد البخار ولكن لا يرفع درجة حرارة الماء . ولكن عند تسخين الماء في أوعية مقفلة مانعة للتسرب مثل الأوتوكلاف فإنه من الممكن تسخين الماء إلى درجات حرارة أعلى فعند تسخين الوعاء يرتفع الضغط نتيجة للحجم الثابت للوعاء "قانون الغاز المثالي" وترتفع درجة غليان الماء لأن كمية الطاقة المطلوبة لتوليد البخار ضد الضغط المرتفع تزداد) فعند بداية التعقيم يجب طرد كل الهواء الذي يشغل حيز المعقم الداخلي بواسطة البخار الناتج عن التسخين ، وتزود المعقمات بصمامات خاصة لطرد الهواء ، حيث تترك الصمامات مفتوحة بعد إغلاق المعقم وبعد بدء التشغيل وعند غليان الماء داخل المعقم يحل البخار محل الهواء طاردا إياه من الصمام المذكور ويستدل على خروج الهواء كله من المعقم بخروج تيار مستمر غير متقطع من البخار من الصمام . وبعد تمام طرد الهواء يغلق الصمام ويسمح للضغط بالارتفاع حتى يصل إلى 15 رطل/البوصة المربعة وعادة يتم التعقيم على هذه الدرجة لمدة 15 دقيقة ثم يفصل مصدر الحرارة ويترك المعقم ليبرد تدريجيا حتى ينخفض الضغط إلى مستوى الضغط الجوي العادي ثم يفتح المعقم ، ويحظر فتح المعقم قبل انخفاض الضغط لمستوى الضغط الجوي العادي لما قد يسببه من تعرض الشخص القائم بفتحه للبخار المضغوط.

كما تجب الإشارة إلى أن عدم التخلص من الهواء تماما من المعقم يؤدي إلى عدم كفاية المعاملة الحرارية للتعقيم لأن وجود الهواء يقلل من درجات الحرارة التي يمكن الوصول إليها. ولذلك تزود المعقمات بمقياس لدرجة الحرارة (ترمومتر) ومقياس للضغط (مانومتر) كما يجب وجود صمام أمان لتصريف البخار الزائد إذا وجد لمنع انفجار الجهاز إذا استمر توليد البخار فيه بشكل مستمر .
تزود أجهزة الأوتوكلاف الحديثة وكثير منها الآن تنظم فيه عملية التعقيم بشكل آلي بمعدات على أبوابها لا تسمح بفتحها قبل أن ينخفض ضغط الجهاز إلى الدرجة المطلوبة

**بعض العوامل المؤثرة في عملية التعقيم بالبخار المضغوط:**

**الحرارة** : إن الجراثيم الداخلية للبكتيريا من صور الحياة الشديدة المقاومة للحرارة ويمكن فقط الوصول إلى درجة الحرارة القاتلة عندما يكون البخار مضغوطا وتعتبر درجة حرارة 121° م كافية لهذا الغرض إذا استمرت للفترة المناسبة من الوقت.

**الرطوبة**: يتطلب تخثر البروتوبلازم البكتيري (البروتينات والأنزيمات... الخ) عند درجات الحرارة المعتدلة رطوبة فإذا لم تتوفر الرطوبة فإن الحرارة اللازمة لتجميع البروتين تزيد كثيرا ، وكلما ارتفعت درجة حرارة البخار زاد جفافه . لذلك فإن درجة الحرارة ومدة التعريض اللازمة للتعقيم سوف تزيد لتصل إلى ما يقرب من حالة التعقيم بالهواء الساخن (170°م لمدة ساعة) إذا ارتفعت درجة حرارة البخار عن اللازم وعلى ذلك فإن البخار الزائد التسخين قد يفقد بعض كفاءته كعامل لقتل الميكروبات بالإضافة إلى أن زيادة درجة الحرارة قد تكون ضارة بالمواد الجاري تعقيمها.

**الضغط:** ليس للضغط تأثير في عملية التعقيم على المدى المستعمل بالأوتوكلاف ، غير أن الضغط مطلوب فقط للوصول بالبخار إلى درجة حرارة أعلى من100 ° م.

**الوقت:** الوقت مطلوب كي يتمكن البخار من النفاذ وتسخين المواد لدرجة حرارة التعقيم المطلوبة . وحتى عند الوصول إلى درجة الحرارة المطلوبة فإن الجراثيم (والخلايا الخضرية) لا تقتل كلها في الحال . فمعدل الموت ثابت عند درجة حرارة معينة وفي كل وحدة زمن تتعرض خلاله الميكروبات لعامل القتل فإن نسبة معينة من الميكروبات تموت . وعادة فإن قتل الجراثيم الداخلية للبكتيريا الحية المحبة للحرارة المرتفعة يحتاج لمدة 11- 12 دقيقة عند درجة حرارة 121° م (حرارة رطبة).

**الهواء المحتجز**: يكون الهواء البارد الموجود في الحيز الداخلي للمعقم أثقل بمقدار مرتين أو أكثر من البخار عند درجة حرارة التعقيم . فإذا لم يسمح للهواء بالخروج فإن طبقات من الهواء والبخار ستتكون داخل المعقم ، ونظرا لأن الهواء والبخار بطيء الاختلاط فإن الاختلاف في درجات الحرارة بين الطبقات العليا والسفلى سيكون كبير جدا وحتى إذا ما تم اختلاط الهواء بالبخار فإن محصلة الحرارة الناتجة قد تكون أقل من تلك المطلوبة . ومن هنا يتبين أهمية الإحلال الكامل للهواء بواسطة البخار . إذا وصلت قراءة الترمومتر الموجودة على فتحة خروج البخار إلى 100 ° م فمعنى ذلك أنه تم التخلص من كل الهواء الموجود بالأوتوكلاف.
طبيعة المواد المطلوب تعقيمها: عموما فإن المواد الضخمة وغير المنفذة للبخار تحتاج في تعقيمها لوقت أطول ، ولذلك فإنه من الأنسب أن تعقم المواد في أصغر عبوات مناسبة . مثلا نجد أن تعقيم 5 لترات في خمسة دوارق كل منها يسع لترا أفضل من تعقيمها في دورق واحد سعته 5 لترات

يجب أن تسد الدوارق بأغطية قطنية . وإذا كانت هناك ضرورة لاستعمال السدادات البلاستيكية أو غيرها من الأغطية فيجب أن توضع في مكانها بدون إحكام وذلك للسماح للهواء بالخروج وللبخار بالدخول بسهولة ، وأيضا لتجنب انفجار الأواني أو طرد السدادات أثناء تشغيل البخار.
ج) التعقيم بالمعاملة الحرارية المتقطعة: Intermittent sterilization

وتسمى أيضا (Tyndallization) على اسم John Tyndall الذي صمم هذه الطريقة لخفض نشاط جراثيم البكتيريا التي تتبقى من عملية تعقيم الماء البسيطة.
بعض المواد والمحاليل الحيوية لا تتحمل درجات الحرارة الجافة أو الرطبة وينتج عن ذلك تكرمل السكريات أو تجمع البروتينات. وفي مثل هذه الحالة تستخدم درجات حرارة اقل من درجة الحرارة المستخدمة في التعقيم بالحرارة الرطبة ولكن على فترات متعددة والفكرة في التعقيم بهذه الطريقة هو قتل الخلايا الخضرية بالمعاملة الحرارية الأولي (100°م/30 دقيقة) وتؤدي هذه المعاملة الحرارية الأولى إلى تنشيط الجراثيم لكي تنبت ، ثم تعامل المادة الغذائية بالحرارة (100°م/30 دقيقة)مرة ثانية في اليوم الثاني لقتل الخلايا الخضرية وتنشيط البقية الباقية من الجراثيم لكي تنبت ثم تقتل بمعاملة حرارية (100°م/30 دقيقة) مماثلة في اليوم الثالث. ثم نحضن المادة المعقمة بعد ذلك على 30°م للتأكد من خلوها من الأحياء الدقيقة. ولا يلزم في هذه الطريقة استعمل الأوتوكلاف ويمكن استخدام حمام مائي مغطى أو يستخدم معقم أرنولد Arnold Sterilizer. وقد استعمل في الماضي طريقة أخرى مشابهة تعتمد على نفس الأساس لتعقيم سيرم الدم والذي لا يتحمل درجات غليان الماء . فتستخدم درجات حرارة 57°م لمدة ساعة يوميا وتكرر المعاملة لمدة ثمانية أيام متتالية . وهذه الطريقة غير شائعة الاستخدام الآن وتستخدم طرق أخرى أكثر دقة وفاعلية.(وهي فير فعالة ضد الفريون)

وهنالك طريقة أخرى بسيطة تستخدم في تعقيم بعض المعدات الصغيرة المستخدمة في معامل الأحياء الدقيقة وهي التعقيم باللهب حيث توضع أبر التلقيح وLoop على لهب موقد بنزن حتى تتوهج بلون أحمر وهذا يعني أنه تم التخلص من عوامل النقل وهي تستخدم مع الزجاجيات والمعادن الصغيرة.