

## میکروبیولوژی مواد غذایی

# میکروبیولوژی مواد غذایی

## فهرست مطالب

9	فصل اول: میکروارگانیسم‌های مهم در میکروبیولوژی مواد غذایی
9	طبقه‌بندی (Taxonomy) میکروارگانیسم‌ها
9	طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌ها براساس منبع انرژی و کربن
10	کپک‌های غذایی
10	خصوصیات فیزیولوژیکی کپک‌ها
11	تقسیم‌بندی کپک‌ها
11	انواع اسپوره‌های غیر جنسی
12	انواع اسپوره‌های جنسی
12	کپک‌های مهم مواد غذایی
16	مخمرها
16	تقسیم‌بندی مخمرها
18	مروری بر عمومی‌ترین جنس‌های مخمرهای غذایی
21	باکتری‌ها
21	منحنی رشد باکتری‌ها (Growth Curve)
22	مروری بر عمومی‌ترین باکتری‌های غذایی
28	باکتری‌های مهم دیگر مواد غذایی
30	پروبیوتیک‌ها (probiotics) و پربیوتیک‌ها (prebiotics)
30	تشکیل اندوسپورها در باکتری‌ها
34	فصل دوم: خصوصیات درونی و عوامل خارجی مؤثر بر فعالیت باکتری‌ها در مواد غذایی
34	الف) عوامل درونی
36	2) رطوبت
37	روش‌های غیرقابل دسترس نمودن آب در مواد غذایی برای میکروارگانیسم‌ها
38	فاکتورهای مؤثر بر دامنه‌ی $a_w$ میکروارگانیسم‌ها
39	واکنش متقابل میکروارگانیسم‌ها در برابر کاهش $a_w$
39	3) پتانسیل اکسیداسیون/احیاء (O/R- Eh):
40	تقسیم‌بندی میکروارگانیسم‌ها براساس پتانسیل اکسیداسیون - احیاء مورد نیاز
41	4) میزان ترکیبات مغذی
41	5) ترکیبات ضد میکروبی
42	6) ساختمان بیولوژیکی

42	تقسیم میکروارگانیسم‌ها در رابطه با درجه حرارت
44	اثر متقابل میکروارگانیسم‌ها بر روی یکدیگر
44	اثر غلظت محیط روی میکروارگانیسم
45	<b>فصل سوم: تعیین میکروارگانیسم‌ها و فراورده‌های آن‌ها در مواد غذایی</b>
45	روش‌های کشت میکروبی، میکروسکوپی و نمونه‌برداری
45	فیلترهای غشایی
46	شمارش کلنی‌های میکروسکوپی
47	بررسی میکروبیولوژی سطوح
49	نمونه‌برداری از هوا
49	بررسی میکروارگانیسم‌های آسیب‌دیده
50	تکنیک کشت پوشش آگار
50	شمارش و شناسایی ارگانیسم‌های غذایی
51	تکنیک‌های مدرن جهت تعیین میکروارگانیسم‌ها
56	<b>فصل چهارم: فساد میکروبی فراورده‌های غذایی مختلف</b>
56	فاکتورهایی که بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها در یک ماده غذایی تأثیرگذار هستند عبارتند از
56	اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی اسیدهای آلی
57	اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی اسیدهای آمینه
57	اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی چربی‌ها
57	فساد میکروبی سبزیجات و میوه‌ها
59	میکروارگانیسم‌های متداول جداشده از گوشت‌ها
59	انواع فساد گوشت‌ها
63	اثر تحریک الکتریکی بر روی میکروارگانیسم‌ها در گوشت
63	نحوه شناسایی فساد در گوشت
64	فساد گوشت‌های بسته‌بندی شده در خلأ
65	گوشت طیور و محصولات دریایی
66	فساد در گوشت نمک‌سود و عمل‌آوری شده
67	فساد گوشت طیور
68	فساد ماهی‌ها
69	فساد صدف ماهی‌ها
70	فساد تخم پرندگان
71	فساد غلات، آرد و فراورده‌های خمیری
73	فساد فراورده‌های لبنی
75	فساد عسل، قندها و آب‌نبات‌ها
76	فساد فراورده‌های تخمیری
77	فساد آب‌میوه‌ها و سبزیجات
79	فساد فراورده‌های مختلف
79	فساد غذاهای کنسروی
80	فساد غذاهای کنسروی

83	فصل پنجم: نگاه‌داری مواد غذایی با استفاده از ترکیبات شیمیایی
86	واکنش متقابل عمل‌آورنده‌ها و سایر فاکتورها
86	تشکیل نیتروزآمین‌ها
87	مکانیسم عمل نیتريت
87	ترکیبات ضد میکروبی غیرمستقیم
91	آنتاگونیسم لاکتیکی
92	سیستم لاکتوپراکسیداز
92	عوامل ضدقارچی برای میوه‌ها
92	اتیلن و پروپیلن اکسیدها
92	سایر نگاه‌داری‌های شیمیایی
94	فصل ششم: نگاه‌داری مواد غذایی با استفاده از اشعه
94	مکانیسم تخریب میکروارگانیسم‌ها توسط اشعه
95	راداپرتیزاسیون، رادیسیداسیون و رادوریزاسیون مواد غذایی
96	- رادیسیداسیون (Radication)
96	- رادوریزاسیون (Radurization)
97	روش‌های جلوگیری از طعم نامطلوب در مواد غذایی در اثر پرتودهی
97	ماهیت مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر اشعه
98	فصل هفتم: نگاه‌داری مواد غذایی با استفاده از دمای پایین و خصوصیات میکروارگانیسم‌های سایکروتروف
98	سایکروتروف‌ها
99	انجماد مواد غذایی و اثرات آن
99	اثرات انجماد
100	اثرات انجمادزدایی
101	برخی خصوصیات سایکروتروف‌ها و سایکروفیل‌ها
102	اثرات دماهای پایین بر روی مکانیزم فیزیولوژیک میکروبی
103	(2) غشای سلولی سایکروتروف‌ها محلول‌ها را به کارایی بیش‌تری منتقل می‌کند
103	(3) برخی سایکروتروف‌ها سلول‌های بزرگ‌تری تولید می‌کنند
103	(4) کارایی بیش‌تر در سنتز تاژک
103	(5) هوادهی به‌طور قابل ملاحظه‌ای رشد سایکروتروف‌ها را تقویت می‌نماید
104	فصل هشتم: نگاه‌داری مواد غذایی به‌وسیله‌ی حرارت و بررسی خصوصیات میکروارگانیسم‌های ترموفیل
104	پاستوریزاسیون
104	فاکتورهای مؤثر در مقاومت حرارتی
104	میکروارگانیسم‌ها
104	(1) آب
104	(2) چربی
105	(3) نمک‌ها
105	(4) کربوهیدرات‌ها
105	(5) pH
105	(6) پروتئین‌ها و مواد دیگر

105	تعداد میکروارگانسیم‌ها
106	سن میکروارگانسیم‌ها
106	دمای رشد
106	ترکیبات ممانعت‌کننده
106	(TDP) Thermal Death Point
106	$D_{value}$ (زمان کاهش لگاریتمی)
107	نمودار مرگ حرارتی (Survivor curve)
109	برخی خصوصیات ترموفیل‌ها
111	<b>فصل نهم: نگهداری مواد غذایی با استفاده از فرایند خشک کردن</b>
111	روش‌های معمول ذیل جهت تغییر فعالیت آبی محیط هنگام تهیه IMF کاربرد دارند
113	<b>فصل دهم: مواد غذایی تخمیری و فراورده‌های وابسته به تخمیر</b>
115	فراورده‌های تخمیری
120	آنزیم‌های میکروبی (منبع و مورد استفاده)
122	<b>فصل یازدهم: شاخص‌های میکروبی کیفی و بهداشتی مواد غذایی</b>
122	خصوصیات ارگانسیم‌های شاخص کیفیت
122	متابولیت‌های میکروبی
122	شاخص‌های ایمنی مواد غذایی
124	شناسایی و شمارش کلی فرم‌ها
124	محدودیت‌های استفاده از کلی فرم‌ها به عنوان شاخص ایمنی غذایی
125	طبقه‌بندی استرپتوکوکوس‌ها براساس خواص فیزیولوژیک
126	انتشار انتروتوکوسی‌ها
126	رابطه انتروتوکوسی‌ها با کیفیت بهداشتی مواد غذایی
127	انتشار بیفیدباکتری‌ها
127	محیط‌های کشت بیفیدوباکتری‌ها
128	<b>فصل دوازدهم: بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده</b>
128	عفونت‌های غذایی (Food Infections)
128	مسمومیت‌های غذایی (Food Intoxication)



## فصل اول: میکروارگانیسم‌های مهم در میکروبیولوژی مواد غذایی

### طبقه‌بندی (Taxonomy) میکروارگانیسم‌ها

در گذشته برای طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌ها و ویژگی‌هایی مانند مورفولوژی، واکنش رنگ، تشکیل اسپور، ساختمان آنتی‌ژن، فعالیت‌های بیوشیمیایی و حرکت استفاده می‌شود ولی در حال حاضر اساس تقسیم‌بندی جدید باکتری‌ها RNA (Molecular genetic) می‌باشد. بنابراین اساس تاکسونومی جدید تجزیه 5SRNA و 16SRNA می‌باشد. با توجه به این موضوع Woerge پیشنهاد کرد که همه میکروارگانیسم‌ها به سه دسته تقسیم شوند:

1. Eukaryots

2. Archaeobacteria

3. prokaryote

نکته: پروکاریوت‌ها دارای هسته مشخصی نمی‌باشند و شامل باکتری‌ها و جلبک‌های سبز-آبی می‌باشند ولی یوکاریوت‌ها دارای هسته‌ی کاملاً مشخص می‌باشند.

نکته: روش‌های دیگر تاکسونومی DNA-DNA hybridization و روش تعیین درصد GC (گوانین-سیتوزین) در یک رشته DNA می‌باشد. هر قدر درصد GC بیشتر باشد باکتری به حرارت مقاوم‌تر می‌باشد و اگر دو میکروارگانیسم اختلاف درصد GC آن‌ها کم‌تر از 10% باشد در یک دسته قرار می‌گیرند. براساس درصد GC می‌توان باکتری‌های گرم مثبت را به دو دسته بالای 50% و زیر 50% GC تقسیم نمود.

### طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌ها براساس منبع انرژی و کربن

اهمیت منبع کردن تاحدی است که براساس آن میکروارگانیسم‌ها به دو دسته اصلی به نام‌های هتروتروف و اتوتروف تقسیم‌بندی می‌شوند. هتروتروف‌ها کربن سلولی را از ترکیبات آلی به دست می‌آورند. این گروه شامل کلیه قارچ‌ها، بیش‌تر باکتری‌ها و پروتوزوآها است. برخی از جلبک‌ها نیز در شرایط معین به صورت هتروتروف رشد می‌کنند. اتوتروف‌ها کربن سلولی خود را از  $CO_2$  به دست می‌آورند. این گروه شامل جلبک‌ها و تعداد اندکی باکتری‌ها است.



منبع انرژی	دهنده‌ی الکترون	
	معدنی	آلی
فعل وانفعالات شیمیایی	کمولیتوتروف	کموارگانوتروف
نور (فتوسنتز)	فتولیتوتروف	فتوارگانوتروف

نکته: به طور کلی سلول‌ها انرژی مورد نیاز خود را از طریق نور یا انرژی حاصل از اکسایش موادشیمیایی به دست می‌آورند.

نکته: Auxotrophها میکروارگانیسم‌های پرتوقعی هستند که برای رشد خود نیاز به فاکتورهای رشد نظیر اسیدهای آمینه، ویتامین‌های گروه B و ... دارند.

### کپک‌های غذایی

کپک‌ها برخلاف باکتری‌های حقیقی و اکثر مخمرها به صورت توده‌ی درهم پیچیده‌ای که به سرعت گسترش می‌یابد، رشد می‌کنند و ممکن است طی دو تا سه روز، چندین اینچ از سطح را بپوشانند. مجموع این توده یا هر قسمت بزرگ مجزا از این مجموعه تحت عنوان میسلیوم (Mycelium) خوانده می‌شود. میسلیوم، از شاخه‌ها یا فیلامنت‌هایی به نام هیف (Hyphae) تشکیل می‌شود که هیف‌ها به دو صورت رویشی و زایشی وجود دارند. هیف‌های رویشی (Vegetative) در تغذیه کپک‌ها و هیف‌های زایشی (Fertile) در تشکیل قسمت‌های تولیدمثلی نقش دارند.

### خصوصیات فیزیولوژیکی کپک‌ها

(1) رطوبت مورد نیاز: به طور معمول اکثر کپک‌ها نسبت به باکتری‌ها و مخمرها به رطوبت کمتری نیاز دارند. به طوری که حداقل aw کپک‌ها 0/8 می‌باشد.

(2) درجه حرارت مورد نیاز: اکثر کپک‌ها جزء مزوفیل‌ها می‌باشند به طوری که درجه حرارت مطلوب برای رشد آن‌ها 25-30°C می‌باشد البته استثنایایی در این مورد وجود دارد.

نکته: گونه‌های آسپرژیلوس (Aspergillus) در دمای 35-37°C و حتی بالاتر به خوبی رشد می‌کنند.

نکته: حداقل درجه حرارتی که یک کپک می‌تواند تحمل کند 12°C- می‌باشد.

3) اکسیژن و pH مورد نیاز: کپک‌ها از نظر نیاز به اکسیژن در دسته هوازی‌ها قرار می‌گیرند. اغلب کپک‌ها می‌توانند در محدوده‌ی وسیعی از غلظت یون هیدروژن رشد نمایند (pH 0-11). اما رشد اکثر کپک‌ها در pH اسیدی تقویت می‌شود.

### تقسیم‌بندی کپک‌ها

Oomycetes	Phycomycetes (non-septate) که به این دسته بدون دیواره‌ی عرضی (non-septate) که به این دسته	بدون دیواره‌ی عرضی (non-septate) که به این دسته	کامل (Perfect)	کپک‌ها
Zygomycetes				
Ascomycetes	Basidiomycetes	با دیواره‌ی عرضی (Septate)	ناقص (imperfect): به این دسته معمولاً Deteromycetes نیز می‌گویند و کپک‌های این دسته دارای دیواره‌ی عرضی می‌باشند.	

نکته: کپک‌های مهم غذایی غالباً در دسته Deteromycetes می‌باشند که عبارتند از *Alternaria*, *Fusarium*, *Sporotrichum* و *Geotrichum*, *Monilia*, *penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*

نکته: کپک‌های مهمی که جزء phycomycetes می‌باشند عبارتند از: *Rhizopus*, *Mucor* و *Thamnidium*.

نکته: نحوه‌ی تقسیم‌بندی کپک‌ها معمولاً براساس نحوه‌ی تولیدمثل آن‌ها می‌باشد به طوری که کپک‌های کامل دارای اسپوره‌های جنسی می‌باشند و از طریق جنسی تکثیر می‌یابند و کپک‌های ناقص دارای اسپوره‌های غیرجنسی می‌باشند و از طریق غیرجنسی تکثیر می‌یابند که روش تولیدمثل غالب در کپک‌ها از طریق استفاده از اسپوره‌های غیرجنسی می‌باشد.

### انواع اسپوره‌های غیر جنسی

1) *Conidia*: این اسپورها از طریق جوانه زدن یا تکه‌تکه شدن انتهای هیف‌های *Conidiophore* به وجود می‌آیند. لازم به ذکر است که این اسپورها به صورت باز می‌باشند و داخل هیچ پوششی قرار ندارند.

2) *Arthrospores* یا *Oidia*: این اسپورها از قطعه‌قطعه شدن هیف‌ها به وجود می‌آیند. بنابراین سلول‌های هیف‌ها تبدیل به این اسپورها می‌شوند.

3) *Sporangiospores*: این اسپورها در انتهای هیف‌های زایشی به نام *Sporangiophore* در داخل پوشش‌ها یا کیسه‌هایی به نام *Sporangium* قرار دارند.

4) Chlamydo spores: این اسپورها در گونه‌های زیادی از کپک‌ها به وجود می‌آیند به طوری که هرگاه اطراف هر سلول میسلیوم را دیواره‌ای ضخیم محصور نماید این اسپور به وجود می‌آید.

### انواع اسپورهای جنسی

1) oospores: کپک‌های بدون دیواره‌ی عرضی یا فیکوماسیت‌هایی که این اسپورها را تولید می‌کنند Oomycetes نامیده می‌شوند. و این اسپورها از ترکیب یک گامت کوچک نر و یک گامت بزرگ ماده تشکیل می‌شوند.

2) Zygo spores: این اسپورها در زیگوما ایست‌ها از طریق ترکیب نوک‌های هیف‌های مشابه که از یک میسلیوم یا از میسلیوم‌های متفاوت نشأت گرفته‌اند به وجود می‌آیند.

نکته: اووسپورها و زیگوسپورها توسط دیواره‌ی سخت و محکم پوشیده می‌شوند و می‌توانند برای زمان طولانی به صورت خشک زنده بمانند.

3) Ascospores: این اسپورها در آسکوما ایست‌ها از ترکیب دو سلول از میسلیوم مشابه یا دو میسلیوم متفاوت به وجود می‌آیند. آسکوسپورها که از تقسیم سلولی بعد از مزدوج شدن به وجود می‌آیند در کیسه‌هایی به نام Ascus قرار می‌گیرند به طوری که معمولاً در هر Ascus، هشت اسپور قرار می‌گیرد.

4) Basidiospore: باسیدیوما ایست‌ها که شامل قارچ‌های خوراکی و ... می‌باشند. این اسپورها را تولید می‌کنند.

### کپک‌های مهم مواد غذایی

1) آلترناریا (Alternaria): این کپک‌ها، میسلیوم‌های با دیواره‌ی عرضی به همراه کنیدیوفورها و کنیدی‌های تیره‌رنگ تولید می‌کنند کنیدی‌ها، دیواره‌های طولی و عرضی داشته، به اشکال متفاوتی رؤیت می‌گردند. A.citri (عامل فساد مرکبات)، A.tenuie و A.brassicas گونه‌های متداول این کپک می‌باشند.

نکته: آلترناریا یکی از شاخص‌ترین کپک‌هایی است که به گوجه‌فرنگی حمله می‌کند.

2) آسپرژیلوس (Aspergillus): آسپرژیلوس‌ها، کنیدیوفورهای عمودی و ساده‌ای (بدون انشعاب) تولید می‌کنند که درانتها متورم شده‌اند. کنیدی‌ها، تک‌سلولی و کروی بوده، به رنگ‌های متفاوتی در توده‌ی کپک مشاهده می‌شوند. آسپرژیلوس‌ها در بسیاری از مواد غذایی به رنگ‌های زرد تا سبز تا سیاه مشاهده می‌شوند. میسلیوم آن‌ها دارای دیواره‌ی عرضی می‌باشد.

به نکات زیر توجه کنید:

- آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین‌ها توسط برخی گونه‌های آسپرژیلوس تولید می‌شوند.
- گروهی از این ارگانسیم‌ها به عنوان منابع تجاری پروتئاز می‌باشند.
- A.niger به عنوان منبع تجاری اسید سیتریک می‌باشد.
- این کپک‌ها ممکن است در انواع کپک، میوه‌ها و سبزی‌ها، انواع گوشت و غیره یافت شوند.
- A.glaucus عمومی‌ترین گروه کپک‌ها در ژامبون‌ها و انواع سوسیس هستند.
- A.flavus-oryzae شامل کپک‌هایی می‌باشد که در تولید برخی غذاهای آسیای شرقی و همچنین تولید برخی آنزیم‌ها مهم می‌باشند.
- گونه‌ای از این جنس به نام آسپرژیلوس استریکوس معروف به قارچ انباری می‌باشد.
- (3) بوتریتیس (Sclerotinia) Batrytis: این کپک‌ها غالباً کیندیوفورهای بلند، باریک و رنگی تولید می‌کنند. میسلیم دارای دیواره‌ی عرضی است و کندی‌ها بر روی سلول‌های انتهایی قرار می‌گیرند.
- (4) کلادوسپوریوم (Cladosporium): این کپک جزء دسته Deutromycete می‌باشد.
- نکته: گونه‌ای این جنس تحت عنوان C.herbarum نقاط تیره‌رنگی (Blackspots) بر روی سطح گوشت‌گاو پدید می‌آورد.
- (5) گلوئوسپوریوم (Gloeosporium): این کپک، کیندیوفورهای ساده‌ای با طول‌های متفاوت تولید می‌کند. کندی‌ها شفاف، تک‌سلولی و گاهی خمیده‌اند. این کپک‌ها سبب بروز آنتراکنوز (Anthracnose) در گیاهان می‌شوند.
- نکته آنتراکنوز نوعی مرض قارچی است که در این بیماری قسمت‌های مختلف گیاه، فاسد و تیره می‌شود.
- (6) فوزاریوم (Gibberella) Fusarium: کپک‌های جنس فوزاریوم در کشت‌های اختصاصی، میسلیم گسترده‌ی پنبه‌ای شکلی به رنگ‌های صورتی، ارغوانی و زرد تولید می‌کنند و میسلیم آن‌ها دارای دیواره‌ی عرضی می‌باشد. کندی‌های این کپک‌ها به صورت پارویی شکل می‌باشد.
- نکته: برخی از این کپک‌ها موادی نظیر Vomitoxin، T-2 toxin و Zearalenone تولید می‌کنند.
- نکته: کپک‌های این جنس باعث Neck rot در موز و Dry rot در سیب‌زمینی می‌شوند.
- (7) جنوتریشوم (Oidium) Geotrichum: این‌ها قارچ‌های مخمرمانندی هستند که معمولاً به رنگ سفید ظاهر می‌شوند. میسلیم دارای دیواره‌ی عرضی است و با ایجاد آرتروسپور تولیدمثل می‌کنند.

به نکات زیر توجه کنید:

- *Oospora lactis* geotrichum candidum تحت عنوان "Dairy mold" نامیده می‌شود.
- کپک‌های این جنس به واسطه‌ی حضور در تجهیزات در حال تماس با موادغذایی (در کارخانجات فرایند موادغذایی)، خصوصاً کارخانجات دست‌اندرکار تهیه کنسرو و گوجه‌فرنگی به عنوان Machinery molds نیز خوانده می‌شوند.
- گونه‌ای از این جنس به نام *O.caseovorans* باعث سرطان پنیر (Cheese cancer) می‌شود.
- دو گونه از این جنس به نام‌های *O.rubrum* و *O.crustacea* باعث قرمز شدن رنگ پنیر می‌شوند.
- 8) مونیلیا (*Monilia* (Neurospora): مونیلیاها، میسلیم‌های سفید یا خاکستری یا کنیدیوفورهای منشعب تولید می‌کنند. کنیدی‌ها به رنگ‌های صورتی یا خرمایی می‌باشند. میسلیم این کپک‌ها دارای دیواره‌ی عرضی است. این کپک به عقیده اکثر کارشناسان جزء کپک‌های کامل (تولیدکننده اسپورهای جنسی) می‌باشد.
- نکته: *N.sitophila* اغلب تحت عنوان کپک قرمز نان (Red Bread Mold) نامیده می‌شود و روی تغالله نیشکر و بسته‌های شکر و غذاهای دیگر رشد می‌نماید.
- 9) موکور (*Mucor*): این کپک‌ها میسلیم فاقد دیواره‌ی عرضی و کنیدیوفورهای عمومی دارای *Columella* و یک اسپورانژیوم در رأس را تولید می‌نمایند. کنیدی‌های صاف و منظم، درون اسپورانژیوم‌ها جای گرفته‌اند.
- نکته: گونه‌های *M.racemosus* و *M.rouxii* در فرایند آمیلو برای ساخاریفیکاسیون نشاسته به کار برده می‌شوند.
- 10) پنی‌سیلیوم (*Penicillium*): میسلیم آن‌ها دارای دیواره‌ی عرضی است. کنیدیوفورهای ساده و منشعب دارند، گاه در رأس منشعب شده، ظاهری جاروب مانند تولید می‌کنند و کنیدی‌ها در رأس انشعابات تشکیل می‌گردند. رنگ‌های عمومی این کپک‌ها در مواد غذایی از آبی تا آبی متمایل به سبز متغیر می‌باشد.
- نکته: *P.expansum* باعث Soft rot میوه‌جات می‌شود.
- نکته: *P.italicum* و *P.digitatum* که "blue contact mold" نامیده می‌شود باعث فساد مرکبات می‌شوند.
- نکته: *P.camemberti* در رسیدن پنیر کاممبیرت و *P.roqueforti* در رسیدن پنیر روکفورتی نقش دارند.
- نکته: *P.chrysogenum* باعث تولید آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین می‌شود.
- 11) ریزوپوس (*Rhizopus*): میسلیم این کپک‌ها فاقد دیواره‌ی عرضی بوده، ریزوئید و استولون تشکیل می‌دهند.
- اسپورانجیوفورهای حاوی اسپورانژیوم و کولوملا در رأس از محل گره‌ها به سمت بالا رشد می‌کنند.

نکته: گونه‌ای از این جنس تحت عنوان *R.stolonifer* به کپک نان (Bread mold) مشهور است.

12) اسپورتريشوم (*Sporotrichum*): میسلیوم آن‌ها دارای دیواره‌ی عرضی است و اسپورها نزدیک به رأس کنیدیوفورها تشکیل می‌شوند. کنیدی‌ها شفاف، تک‌سلولی، کروی و یا تخم‌مرغی می‌باشند. این کپک‌ها طبق گزارش‌های موجود در دماهای پایین‌تر از صفر نیز رشد می‌کنند.

نکته: گونه‌ای از این جنس به نام *S.carnis* در گوشت‌های منجمدشده‌ی گاو، نقاط سفیدرنگی (*White spots*) تولید می‌نمایند.

13) تامنیدیوم (*Thamnidium*): میسلیوم آن‌ها فاقد دیواره‌ی عرضی بوده، اسپورانژیوفورهای با اسپورانژیوم بزرگ در رأس اسپورانژیول‌های انتهایی نزدیک به پایه تشکیل می‌دهند.

نکته: گونه‌ای از این جنس به نام *T.elegans* باعث ایجاد "Whith whiskers" بر روی گوشت‌های منجمد می‌شود.

14) تریشوتسیوم (*Trichothecium*) یا *Cephalothecium*: این کپک‌ها دارای میسلیوم فاقد دیواره‌ی عرضی و کنیدیوفورهای ساده، باریک و بلند می‌باشند. کنیدی‌های منفرد در رأس قرار می‌گیرند و گاهی به صورت گروه‌های زنجیری ظاهر می‌گردند.

نکته: گونه‌ای از این جنس به نام *T.roseum* که *Pink mold* نامیده می‌شود در مواد غذایی نظیر میوه‌جات و سبزیجات به رنگ صورتی دیده می‌شود.

15) بایسوکلامیس (*Byssochlamys*): این کپک‌ها به گروه آسکوماست‌ها تعلق داشته و دسته‌ای از آسک‌ها که هریک محتوی هشت آسکوسپور می‌باشد را تولید می‌کنند. آسکوسپورهای این ارگانسیم‌ها مقاوم به حرارت بوده لذا سبب فساد برخی مواد غذایی کنسروی با اسیدیتته بالا (*Canned fruit spoilage*) می‌شوند. به‌طوری که ویژگی‌های مهم این کپک عبارتست از:

1) در فراورده‌های با اسیدیتته بالا (*High-acid*) به خوبی رشد می‌کنند مانند کمپوت میوه‌ها

2) در فشار اکسیژن کم یا شرایط EH پایین نیز می‌توانند رشد کنند.

3) در برابر حرارت‌های بالا مقاوم باشند.

4) دارای آنزیم‌های پکتینولیتیک می‌باشند و به همین جهت عامل مهم فساد در کمپوت و آب‌میوه‌ها می‌باشد. معمولاً در

اثر رشد این ارگانسیم گاز  $CO_2$  تولید می‌شود که باعث تورم قوطی کمپوت یا کنسور خواهد شد.

5) این کپک قادر به تولید مایکوتوکسینی به نام پاتولین می‌باشد.

نکته: برای جلوگیری از رشد این کپک می‌توان از آنتی‌بیوتیک نیسین (Nisin) به میزان 10ppm استفاده کرد. هم‌چنین رشد و تکثیر این کپک در حضور اسید پروپیونیک 2% به‌طور کلی متوقف خواهد شد.

نکته: دو گونه‌ی مهم این کپک B.nivea و B.fulva می‌باشند.

16) کوآنتوتریشوم (Colletotrichum): کنیدیوفورهای این کپک ساده، باریک و بلند می‌باشد. کنیدی‌ها، شفاف، تک‌سلولی، تخم‌مرغی و یا مستطیلی هستند. این کپک‌ها جسم نعلبکی شکلی که حاوی هاگ‌های غیرجنسی می‌باشد و آسرولوس (Acervulus) نامیده می‌شود تولید می‌نمایند.

17) کلاویسپس (Claviceps): گونه‌ای از این جنس به نام *Claviceps purpurea* بر روی چاودار رشد می‌کنند و باعث مسمومیتی به نام ارگوت (Ergot) می‌شوند.

### مخمرها

مخمرها جزء گروه قارچ‌ها می‌باشند که به‌طور معمول به صورت فیلامنتی نمی‌باشند و بلکه به صورت تک‌سلولی و به شکل کروی یا بیضی می‌باشند که به‌وسیله تقسیم شدن یا جوانه زدن تکثیر می‌یابند (شکل 1-1).

اندازه‌ی مخمرها متفاوت است چنان‌که برخی از آن‌ها 5-8 $\mu$ m و برخی دیگر بیش از 100 $\mu$ m طول دارند. به‌طور کلی مخمرهای پیر در مقایسه با انواع جوان تمایل به کوچک‌تر شدن دارند. مخمرها در دامنه‌ی وسیعی از pH و غلظت‌های متفاوتی از مواد قندی و الکل قادر به رشد می‌باشند. دامنه pH جهت رشد مخمرها بین 1/5-8/5 می‌باشد. هم‌چنین مخمرها قادر به رشد غلظت بیش از 18% اتانول می‌باشند. بسیاری از آن‌ها در حضور 55% ساکارز یا بیش از این مقدار نیز قادر به رشد هستند. این ارگانیس‌م‌ها پیگمان‌هایی با رنگ مختلف تولید می‌کنند که عمومی‌ترین آن‌ها قرمز و سیاه می‌باشد. اکثر مخمرها رطوبت بیش‌تری نسبت به کپک‌ها نیاز دارند به‌طوری‌که حداقل aw برای اکثر مخمرها 0/88 می‌باشد. دامنه درجه حرارت مطلوب برای رشد اکثر مخمرها 25-30°C می‌باشد و میزان ماکزیمم اما جهت رشد آن‌ها 35-47°C می‌باشد و بعضی از گونه‌ها قادر به رشد در 0°C و کم‌تر می‌باشند. pH مطلوب برای رشد اکثر مخمرها 4/5- می‌باشد و در شرایط بازی به خوبی رشد نمی‌کنند. مخمرها بهترین شرایط رشد را در حالت هوازی (Aerobic) دارند. البته گونه‌های تخمیری قادر به رشد در شرایط بی‌هوازی (Anaerobic) می‌باشند.

### تقسیم‌بندی مخمرها

1- مخمرهای Ascosporeogenous (مخمرهای حقیقی): که از طریق جنسی تولیدمثل می‌کنند. این مخمرها اسپوره‌های

غیرجنسی و کلامیدوسپورنیز تولید می کنند.

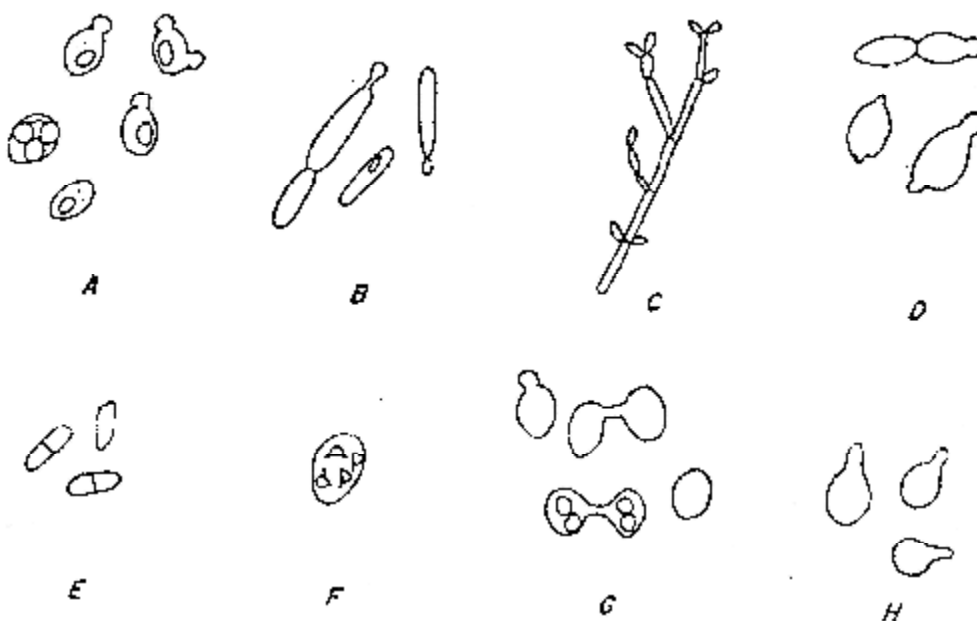
2- مخمرهای Asporogenous (مخمرهای کاذب، مخمرهای وحشی): که فاقد مرحله‌ی تولیدجنسی می باشند.

نکته: مخمرهای حقیقی مانند *Saccharomyces* , *Pichia* و *Hansenola* و مخمرهای کاذب مانند *Candida*, *Rhodotorula* و *Torulopsis* می باشند.

نکته: مخمرها از نظر نیاز به اکسیژن به دو دسته‌ی تخمیری و اکسیداتیو تقسیم می شوند.

نکته: مخمرها، غالباً براساس برخی اهداف ویژه یا نوعی فعالیت خاص طبقه‌بندی می شوند به عنوان مثال مخمرهای فیلمی (Film yeasts) آن‌هایی هستند که در سطح برخی محصولات اسیدی نظیر ساورکرات و شوربجیات رشد می کنند که این مخمرها عبارتند از: *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Candida* و *Trichosporon* می باشند. این مخمرها باعث اکسید شدن اسیدهای آلی می شوند و باعث می شوند که میکروارگانیسم‌هایی که قابلیت تحمل کم‌تری نسبت به اسید دارند فرایند فساد را ادامه دهند. *Top yeasts* تخمیرکننده‌های بسیار فعال می باشند که در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  به سرعت رشد می کنند. جمع شدن سلول‌ها و تولید سریع  $\text{CO}_2$  باعث می شود که سلول‌ها به سطح انتقال یابند و به همین دلیل این نام را گرفته‌اند. *Bottom yeasts* این مخمرها تجمع نمی یابند و به آهستگی رشد می کنند و بهترین تخمیرکننده‌ها در دماهای پایین ( $10-15^{\circ}\text{C}$ ) می باشند. عدم تشکیل توده‌ای از مخمرها و سرعت رشد و تولید  $\text{CO}_2$  پایین تر باعث می شود که مخمرها در پایین لوله حاوی سوپسترا باقی بمانند. مخمرهای لیمویی شکل یا اپی کولیت شامل ساکارومایکودز، هانسیا اسپورا، ناسونیا و کلواکرا می باشند.





شکل 1-1

### مروری بر عمومی ترین جنس های مخمرهای غذایی

1) *Brettanomyces*: این مخمر مقادیر بالایی از اسید را تولید می کنند و در تخمیر شرابها نقش دارند. این مخمر عامل فساد در نوشابه های ماء الشعیر می باشد.

2) کاندیدا (*Candida*): این مخمر جزء مخمرهای کاذب می باشد که تولید هیفهای کاذب یا حقیقی می نمایند. این مخمرها هم از طریق شکستن میسلیموم به بلاستوسپورها (*Blastospores*) و هم به وسیله ی جوانه زدن تولیدمثل می کنند.

به نکات زیر توجه کنید:

- گونه ای از این جنس به نام *C. lipolytica* می تواند باعث فساد مارگارین و اولئومارگارین شود.
- گونه ای از این جنس به نام *C. krusei* همراه با استارت های لبنی جهت حفظ فعالیت و افزایش طول عمر باکتری های اسیدلاکتیک به کار برده می شود.
- این جنس عامل پنومونی در انسان است.
- کاندیدا آلبیکانس عامل ایجاد بیماری برفک می باشد.

3) *Debaryomyces*: این مخمرها قادر به تحمل غلظت های بالای نمک (*Salt tolerant*) حدود 24%

می‌باشند و به همین دلیل غالباً در سطح مواد غذایی در حال فساد نظیر گوشت‌های عمل‌آوری شده، سوسیس، آب نمک ترشی و آب‌نمک پنیرها یافت می‌شوند.

4) هانزنولا (*Hansenula*): این مخمرها، مخمرهای آسکوسپورزایی هستند که سلول‌های کروی، باریک و بلند و یا تخم‌مرغی داشته و غالباً یک میسلیم کاذب تولید می‌کنند. اعضای این جنس از طریق جوانه زدن و هم‌چنین از طریق جنسی تولیدمثل می‌نمایند. در صورت تولید مثلی جنسی، اسپورهای کلاه مانند در داخل آسک‌ها تولید می‌شوند. این مخمرها عموماً در مرکبات، انگورها، فراورده‌های انگور، زیتون و کنسانتره‌ی آب میوه‌جات یافت می‌گردند.

5) *Pichia*: مخمرهایی استوانه‌ای یا بیضوی شکل هستند که ممکن است میسلیم‌های کاذب تشکیل دهند. اسکوسپورهای ایجاد شده توسط این مخمرها گرد و یا کلاه مانند می‌باشد و در هر آسکوس یک تا چهار اسپور وجود دارد.

نکته: هانزنولا و پیشیا قادر به تحمل غلظت‌های بالای الکل می‌باشند به همین دلیل ممکن است در نوشیدنی‌های الکلی باعث اکسید شدن الکل شوند.

6) کلویرومایسیس *Kluyveromyces* (*Fabospora*): این مخمرها موادقندی نظیر لاکتوز را به شدت تخمیر می‌کنند.

نکته: گونه‌ای از این جنس به نام *K.marxianus* از D- گزیلوز مستقیماً اتانول تولید می‌کند.

نکته: دو گونه از این جنس به نام‌های *K.fragilis* و *K.lactis* با تولید آنزیم لاکتاز باعث تخمیر لاکتوز در شیر و فراورده‌های شیری می‌شوند. در تقسیم‌بندی جدید دو گونه‌ی مذکور در جنس ساکارومایسس قرار گرفته‌اند.

7) مایکودرما (*Mycoderma*): این مخمرها معمولاً در سطح آب‌جوها، آب‌نمک شوربجات، آب‌میوه‌ها، سرکه و سایر فراورده‌های مربوطه رشد کرده، لایه‌ی ضخیمی به نام *Pellicle* پدید می‌آورند. گونه‌ای از این جنس به نام *M.Vini* مشهور به گل شراب (*wine flower*) در شراب‌ها، سرکه و محصولات وابسته دیده می‌شود.

8) ساکارومایسس (*Saccharomyces*): ساکارومایسس‌ها، آسکوسپورزا بوده، سلول‌هایشان تخم‌مرغی، کروی یا باریک و بلند می‌باشد. تولیدمثل از طریق جوانه‌زنی و تشکیل آسک‌های محتوی 4-1 اسپور انجام می‌شود.

نکته: *S.cerevisiae* var. *ellipsoideus* گونه‌ای با قدرت تولید الکل بالا می‌باشد که جهت تولید الکل‌های صنعتی، شراب‌ها و لیکورهای تقطیر شده به کار برده می‌شود.

نکته: دو گونه از این جنس به نام‌های *S.mellis* و *S.rouxii* جزء مخمرهای اسموفیلیک می‌باشند که در محیط‌هایی با

فشار اسموتیک بالا به عبارت دیگر در غلظت‌های بالای قندها، نمک‌ها و مواد حل‌شونده دیگر به خوبی قادر به رشد می‌باشند.

9) رودوتورولا (*Rhodotorula*): مخمرهای این گروه، اسپورزا نبوده، گاه نوع ساده‌ای از میسلیوم کاذب تولید می‌کنند. تولیدمثل به طریقه‌ی جوانه زدن می‌باشد. بسیاری از آن‌ها در محیط‌های کشت اختصاصی و هم‌چنین مواد غذایی مختلف پیگمان‌های قرمز تولید می‌کنند. این مخمر به عنوان مخمر قرمز نان نیز نامیده می‌شود.

10) ساکارومایکوپسیس (*Endomycopsis or Saccharomycopsis*): این‌ها اسکوسپور تولید کرده، مخمرهای حقیقی اکسیداتیو می‌باشند. این مخمرها عموماً بر روی غلات انبار شده یافت می‌گردند.

نکته: گونه‌ای از این جنس با نام *E.fibuligera* که دارای فعالیت  $\alpha$  و  $\beta$  آمیلازی قوی است. عامل *Chalky Bread* می‌باشد.

11) شیزوساکارومایسس (*Schizosaccharomyces*): این مخمرها از طریق غیرجنسی به وسیله تقسیم شدن تولیدمثل می‌کنند و در روش جنسی آسک‌هایی حاوی 4-8 اسپور تشکیل می‌دهند. گونه‌های این جنس در قند و دیگر محصولات وابسته یافت می‌شوند.

12) تریشوسپورون (*Trichosporon*): مخمرهای اکسیداتیوی هستند که اسکوسپور تولید نمی‌کنند.

نکته: حداقل یک گونه از این جنس به نام *T.pullulans* لیپولیتیک می‌باشد.

نکته: گونه‌ای از این جنس به نام *T.variable* عامل *Chalky Bread* می‌باشد.

13) *Torulopsis*: مخمرهای گرد تا بیضی با جوانه‌های چندطرفی باعث اشکال در آب‌جوسازی و فساد انواع مواد غذایی می‌شوند. *T.sphaerica* باعث تخمیر لاکتوز و فساد محصولات شیر می‌شود. گونه‌های دیگر می‌توانند باعث فساد در شیر غلیظ شیرین شده، آب‌میوه‌های غلیظ شده و مواد غذایی اسیدی شوند.

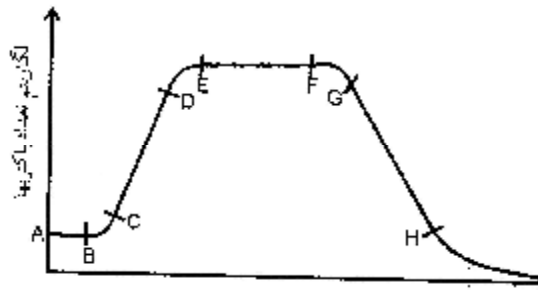
باکتری‌ها

تقسیم‌بندی باکتری‌های مهم مواد غذایی براساس روش جدید

تقسیم‌بندی باکتری‌های مهم مواد غذایی براساس روش جدید

G+	Coccus کروی	Micrococcus Staphylococcus Streptococcus Leuconostoc		
	Bacilli میله‌ای	Spore former اسپورزا	Bacillus (بخواری)	Clostridium (این‌هواری)
			Nonspore - Formers (غیر اسپورزا)	
G-	Nonspore former (غیر اسپورزا)	تولید رنگدانه می‌کنند	Soluble in water	Pseudomonas (زرد سبز فلورسنت)
			In soluble in water	Chromobacterium (بنفش) Xanthomonas (زرد) Flavobacterium (زرد) Erwinia (زرد) Serratia (قرمز) Pseudomonas (قرمز)
		تولید رنگدانه نمی‌کنند	Enterobacteria (زاسته)	Salmonella Salmonella Shigella Escherichia Aerobacter Klebsiella
			Pseudomonas (زاسته)	Achromobacter Alcaligenes

منحنی رشد باکتری‌ها (Growth Curve)



این منحنی به فازهایی که در روی شکل نشان داده شده است تقسیم می‌شوند که عبارتند از:

- 1) (AB) Lag phase: در طی این فاز رشدی وجود ندارد و حتی تعداد میکروارگانیسم‌ها نیز کاهش نمی‌یابد،
- 2) (BC) Positive acceleration phase: در طی این فاز سرعت رشد به طور پیوسته افزایش می‌یابد،
- 3) (CD) logarithmic یا Exponential phase: در طی این فاز میزان تکثیر ارگانیسم‌ها حداکثر می‌باشد ولی سرعت

تکثیر ثابت می‌باشد.

(4) (DE) Negative acceleration phase: در طی این فاز سرعت تکثیر کاهش می‌یابد،

(5) (EF) Maximal stationary phase: در طی این فاز تعداد میکروارگانیسم‌ها ثابت می‌مانند به عبارت دیگر میزان مرگ و میر میکروارگانیسم برابر با میزان تشکیل آن‌ها می‌باشد،

(6) (FG) Accelerated death phase

(7) (GH) Death phase: در طی این فاز تعداد میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد،

(8) (HI) Survival phase: در طی این فاز تقسیم سلولی اتفاق نمی‌افتد و سلول‌های باقی‌مانده با استفاده از مواد مغذی درون‌زاد زنده می‌مانند.

نکته: سلول‌های رویشی میکروارگانیسم‌ها در مرحله‌ی رشد لگاریتمی کم‌ترین مقاومت را در برابر عوامل کشنده دارند و آن‌ها در مرحله‌ی lag یا مرحله‌ی سکون مقاوم‌تر می‌باشند.

### مروری بر عمومی‌ترین باکتری‌های غذایی

(1) Lactic Acid-Forming یا Lactics مهم‌ترین خصوصیت اسید لاکتیک باکتری‌ها توانایی آن‌ها در تخمیر قندها به اسید لاکتیک می‌باشد. جنس‌های عمده این گروه عبارتند از: Streptococcus, Lactobacillus, Leuconostoc و Pediococcus این باکتری‌ها در دستگاه گوارش انسان وجود ندارند.

به نکات زیر توجه کنید:

- لوکونوستوک به خانواده‌ی استرپتوکوکاسه تعلق دارد. گرم مثبت، کروی تا بیضوی، کاتالاز منفی و هتروفرومانتیتیو می‌باشد. برخی از این باکتری‌ها در صنایع قند مشکل‌زا هستند. به این صورت که از مواد قندی، ماده‌ی لزج اسلایم را تولید می‌نمایند. بعضی از گونه‌های این جنس پلیمر مهم دکستران را که در صنعت داروسازی اهمیت به‌سزایی دارد، سنتز می‌کنند مانند L.mesenteroides.

- برخی از خصوصیات گونه‌های لوکونوستوک که آن‌ها را در غذاها مهم می‌سازند.

(1) برخی از گونه‌ها مانند L.cremoris و L.dextraicum با تخمیر اسید سیتریک شیر قادر به تولید مواد طعم‌دهنده مطلوب نظیر دی‌استیل می‌شوند.

(2) تحمل غلظت‌های نمک به طوری که برخی گونه‌های این باکتری در تخمیر اولیه ساورکرات‌ها و شوربیجات نقش دارند.

- (3) تحمل غلظت‌های بالای قند (تا حد 55-60% برای *L.mesenteroides*)
- (4) توانایی شروع تخمیر در سبزیجات با سرعت بیش‌تری نسبت به باکتری‌های اسیدلاکتیک دیگر یا باکتری‌های رقیب دیگر و تولید میزان اسید کافی جهت ممانعت از رشد باکتری‌های اسید لاکتیک دیگر.
- (5) تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای گاز  $\text{CO}_2$  از قندها که باعث باز شدن (ایجاد حفرات) نامطلوب در پنیرها و بادکردگی در برخی نان‌ها و غیره می‌شوند.
- (6) تولید ماده‌ی لزج اسلایم از مواد قندی
- (7) جهت رشد به محیط کشت کمپلکس حاوی انواع ویتامین‌ها و ترکیبات اختصاصی نیاز دارند.
- لاکتوباسیلوس به خانواده‌ی لاکتوباسیلاسه تعلق دارد. میله‌ای بلند، گرم مثبت، غیراسپورزا و کاتالاز منفی می‌باشد. با این‌که این جنس دارای گونه‌های هموفرمانتیتیو و هتروفرمانتیتیو می‌باشد اما اکثراً میکروآئروفیل یا بی‌هوازی می‌باشند.
  - لاکتوباسیلوس‌ها برای رشد به ویتامین‌های B و اسیدهای آمینه نیاز دارند به همین دلیل رشد آن‌ها در غذاهای غیرغنی با ممانعت روبرو خواهد شد. اما این خاصیت این باکتری‌ها جهت برآورد میزان ویتامین غذاها مفید ساخته است.
  - جنس استرپتوکوکوس به خانواده استرپتوکوکاسه تعلق دارد. آن‌ها گرم مثبت، کاتالاز منفی، کوکوس‌های غالباً کروی تا بیضوی می‌باشند. کلیه آن‌ها، همانند لاکتوباسیل‌ها وقتی در محیط‌های کشت اختصاصی رشد می‌کنند کلنی‌های کوچکی تشکیل می‌دهند. پیگمان‌زا نبوده، میکروآئروفیل می‌باشند. گونه‌ای از این جنس به نام *S.phogenes* ممکن است سبب بیماری‌های نظیر تب مخملک و زخم چرکی گلو شوند و برخی مانند *S.agalactiae* سبب ورم پستان (mastitis) در گاو می‌شوند.
  - پرتوقع‌ترین باکتری نسبت به ویتامین‌های گروه B استرپتوکوکوس می‌باشد.
  - پدیوکوکوس‌ها، این کوکوس‌های هموفرمانتیتیو به خانواده‌ی استرپتوکوکاسه تعلق دارند. همانند سایر جنس‌های اسید لاکتیک باکتری‌ها به طور گسترده‌ای در طبیعت، خصوصاً بر روی گیاهان پراکنده شده‌اند. اکثر آن‌ها به عنوان استارتر در غذاهای تخمیرشده‌ی خاص، دارای اهمیت می‌باشند. وجود این جنس در فراورده‌های تخمیری گیاهی مفید و در صنایع آب‌میوه‌سازی و آب‌جوسازی مضر می‌باشد.
- (2) Acetics یا Acetic Acid- Forming Bacteria اکثر باکتری‌های اسید استیک به دو جنس استوباکتر (*Acetobacter*) و گلوکونوباکتر (*Gluconobacter*) تعلق دارند هر دو جنس اتانول (اتیل الکل) را به اسید استیک تبدیل می‌کنند اما باید گفت که استوباکتر، یک Overoxydans می‌باشد و اسید استیک تولیدی را به  $\text{CO}_2$  تجزیه

می‌کند ولی گلوکونوباکتر، یک Suboxydans می‌باشد و دیگر قادر به تبدیل اسید استیک به  $\text{CO}_2$  نمی‌باشد.

نکته: جهت تشخیص Overoxydances از Suboxydances از محیط کشت کربنات کلسیم آگار استفاده می‌کنیم.

نکته: استوباکترها گرم منفی، میله‌ای شکل به شدت هوازی هستند و عموماً در ماست تخمیر شده، سرکه، آب‌جو، انواع شراب و میوه‌ها و سبزیجات ترش یافت می‌شوند.

نکته: اسید استیک باکتری‌ها از طریق اکسید کردن D- سوربیتول به D- سوربوز در تهیه اسید آسکوربیک به‌وسیله روش‌های سنتزی به‌کار می‌روند.

### 3) Butyric Acid- Forming Bacteria یا Butyrics

اکثر باکتری‌های این گروه شامل گونه‌های بی‌هوازی واسپورزای جنس کلوستریدیوم می‌باشند.

نکته: کلوستریدیوم‌ها به خانواده‌ی باسیلاسه تعلق دارند که بی‌هوازی، گرم مثبت، میله‌ای شکل، اسپورزا و کاتالاز منفی می‌باشند. برخی گونه‌های آن ترموفیلند که مقاومت حرارتی بالای اندوسپوره‌های آن‌ها از اهمیت به‌سزایی در صنعت کنسروسازی برخوردار هستند و برخی دیگر مزوفیل می‌باشند. بسیاری از گونه‌ها مانند *C. butyricum* کربوهیدرات‌ها را با تولید اسیدها (معمولاً اسید بوتریک) و گازها (معمولاً  $\text{CO}_2$  و  $\text{H}_2$ ) تخمیر می‌نمایند. گونه‌های متفاوت پروتئولیتیک و غیرپروتئولیتیک می‌باشند.

نکته: *C. thermosaccharolyticum* یک میکروارگانیسم ساکارولیتیک بی‌هوازی اجباری می‌باشد.

نکته: پروتئولیز بی‌هوازی (Putrefaction) غذاها توسط گونه‌های بی‌هوازی و پروتئولیتیک نظیر *C. putrefaciens* انجام می‌شود.

4) Propionic Acid- Forming Bacteria یا Propionics اکثر باکتری‌های این گروه در جنس پروپیونی باکتریوم (*Propionibacterium*) قرار دارند.

نکته: پروپیونی باکتریوم‌ها باکتری‌هایی کوچک، گرم مثبت، غیرمتحرک، اسپورزا، کاتالاز مثبت، میله‌ای شکل که بی‌هوازی تا aerotolerant می‌باشند. این جنس اسید لاکتیک، کربوهیدرات‌ها و پلی‌الکل‌ها را به اسیدهای استیک و پروپیونیک و گاز  $\text{CO}_2$  تخمیر می‌کند.

نکته: در پنیر سوئیسی (Swiss cheese) گونه‌ای از این جنس به نام *P. freudenreichii* یا پروپیونی باکتریوم شرمانی اسید لاکتیک را برای تولید گاز جهت تشکیل سوراخ‌ها یا چشم‌ها و هم‌چنین تشکیل مواد طعم‌دهنده تخمیر می‌کند.

5) باکتری‌های پروتئولیتیک

این باکتری‌ها به دلیل ترشح آنزیم پروتئیناز خارج سلولی قادر به پروتئولیز پروتئین‌ها می‌باشند. تقسیم‌بندی باکتری‌های پروتئولیتیک به صورت زیر می‌باشد:

اسپورزا: <i>B.cereus</i>	باکتری‌های هوازی یا هوازی اختیاری	باکتری‌های پروتئولیتیک
غیر اسپورزا: <i>Ps.fluorescens</i>		
باکتری‌های بی‌هوازی و اسپورزا: <i>C.sporogenes</i>		

#### به نکات زیر توجه کنید:

- بسیاری از گونه‌های کلستریدیوم، سودوموناس، باسیلوس و پروتئوس پروتئولیتیک می‌باشند.
- برخی از باکتری‌ها مانند *M.caseolyticus* (میکروکوکوس و کازئولیتیکوس) و *S.faecalis var. liquefaciens* (استرپتوکوکوس فکالیس واریته لیکوفاسینس) «اسید پروتئولیتیک» می‌باشند. یعنی به‌طور هم‌زمان عمل تخمیر اسیدی و پروتئولیز را انجام می‌دهند.
- برخی از باکتری‌ها *Putrefactive* می‌باشند یعنی پروتئین را در شرایط بی‌هوازی تجزیه کرده و ترکیبات بدویی نظیر  $H_2S$ ، مرکاپتان‌ها، آمین‌ها، اندول و اسیدهای چرب تولید می‌کنند. اکثر گونه‌های پروتئولیتیک کلستریدیوم جزء این گروه می‌باشند.
- برخی گونه‌های سودوموناس قادر به تولید آنزیم‌های پروتئیناز می‌باشند که این آنزیم در حین فرایند UHT نیز بدون آسیب باقی می‌ماند.
- پروتئوس به خانواده‌ی انتروباکتریاسه تعلق دارد. آن‌ها گرم منفی، میله‌ای شکل، هوازی و اغلب دارای اشکال و صور مختلفی هستند. کلیه آن‌ها متحرک‌اند و همگی به استثنای یک گونه، اوره را هیدرولیز می‌کنند. اعضای این جنس در ناحیه‌ی روده‌ای انسان و حیوانات و همچنین مواد در حال فساد یافت می‌شوند. این جنس در فساد گوشت‌ها، غذاهای دریایی و تخم‌مرغ‌ها نقش دارد.
- باسیلوس‌ها به خانواده‌ی باسیلاسه تعلق دارند. این باکتری‌ها غالباً هوازی، گرم منفی و میله‌ای شکل بوده و اندوسپور تولید می‌کنند. اکثر این باکتری‌ها مزوفیل برخی سایکروتروف و برخی دیگر تروموفیل می‌باشند. گونه‌ای از این جنس به نام *B.anthraxis* مولد بیماری سیاه‌زخم می‌باشد و به گونه‌ای دیگر از این جنس به نام *B.stearothermophilus* یک



ترموفیل اجباری می‌باشد و مقاوم‌ترین میکروارگانیسم در برابر حرارت می‌باشد و گونه‌ای دیگر از این جنس به نام *B.cereus* (شدیداً پروتئولیتیک) مولد مسمومیت غذایی می‌باشد.

- دوگونه از جنس باسیلوس به نام‌های *B.polymyxa* و *B.macerans* که گاهی اوقات "*Aerobacilli*" نامیده می‌شوند تولید اسید و گاز می‌نمایند.

- باسیلوس سوبتیلیس باعث تبدیل قند به لوان می‌شود.

- *B.pumilus* برای تعیین مناسب بودن استریلیزاسیون با اشعه‌ی به‌کار برده می‌شود، *B.stearothermophilus* برای آزمایش فرایند حرارتی توصیه می‌شود. *B.subtilis* به عنوان ارگانیسم آزمایش برای پنی‌سیلین شناسایی شده در شیر می‌باشد و *B.subtilis var. niger* برای آزمایش استریلیزاسیون با اتلین اکسید به‌کار برده می‌شود.

6) باکتری‌های لیپولیتیک: این گروه از باکتری‌ها به دلیل تولید آنزیم‌های لیپاز باعث هیدرولیز چربی‌ها به اسیدهای چرب و گلسیرول می‌شوند. بسیاری از باکتری‌های هوازی و پروتئولیتیک، لیپولیتیک نیز می‌باشند. سودوموناس، آکالیجنس، استافیلوکوکوس، سراتیا و میکروکوکوس جنس‌هایی هستند که دارای گونه‌های لیپولیتیک می‌باشند.

#### به نکات زیر توجه کنید:

- سودوموناس باکتری‌هایی میله‌ای کوتاه، گرم منفی و هوازی بوده که معمولاً یک فلاژل قطبی تنها تولید می‌نمایند. به‌طور گسترده‌ای در طبیعت از جمله خاک، آب، گیاهان و کانال روده‌ای انسان و سایر حیوانات یافت می‌شوند و مولد فساد در مواد غذایی از جمله گوشت، ماکیان، انواع تخم‌مرغ و غذاهای دریایی می‌باشند. خصوصیات برخی از گونه‌های سودوموناس که آن‌ها در مواد غذایی مهم ساخته است عبارتند از:

1) قادر به استفاده از ترکیبات غیر کربوهیدراتی متنوعی می‌باشند اما قادر به استفاده از اکثر کربوهیدرات‌ها نمی‌باشند.

2) توانایی آن‌ها در استفاده از ترکیبات نیتروژنی ساده

3) توانایی در ساختن فاکتورهای رشد و ویتامین‌ها برای خود

4) فعالیت پروتئولیتیک و لیپولیتیک برخی از گونه‌ها

5) رشد در شرایط هوازی آن‌ها را قادر به رشد سریع و تولید محصولات اکسید شده و اسلایم در سطح مواد غذایی جایی که میزان آلودگی بالا است، می‌نماید.

6) توانایی آن‌ها برای رشد در دماهای پایین (دمای یخچال)

7) تولید پیگمنت به وسیله برخی از گونه‌ها

8) مقاومت آن‌ها در برابر بسیاری از ضد عفونی کننده‌ها و شستشودهنده‌هایی که در صنعت غذا به کار برده می‌شوند.

- حداقل aw برای رشد سودوموناس‌ها 0/97-0/98 می‌باشد و اگر اکسیژن به میزان کافی نباشد به آهستگی رشد می‌نمایند و مقاوم به خشک کردن نمی‌باشند هم‌چنین در دمای بالاتر از 43°C قادر به رشد نمی‌باشند.

- آلکالیجنس‌ها میله‌ای شکل، گرم منفی و گاهی اوقات گرم متغیر و یا گرم مثبت هستند. این باکتری‌ها قادر به تخمیر مواد قندی نیستند ولی در محیط کشت این باکتری‌ها واکنش‌های قلیایی انجام می‌شود.

- جنس سراتیا به خانواده انتروباکتریاسه تعلق دارد. آن‌ها گرم منفی، هوازی، پروتئولیتیک، مزوفیل و میله‌ای شکل بوده و پیگمان‌های قرمز رنگ تولید می‌کنند.

- میکروکوکوس‌ها باکتری‌هایی کروی، گرم مثبت و برخلاف استرپتوکوکوس‌ها، کاتالاز مثبت می‌باشند. برخی کلنی‌ها بدون رنگ و برخی دیگر پیگمان‌های صورتی تا نارنجی متمایل به قرمز تولید می‌کنند. اکثراً و یا تمام آن‌ها قادر به تحمل مقادیر بالای نمک می‌باشند. اکثراً مزوفیلند اما برخی قادر به رشد در دامنه‌ی سایکروفیلی هستند.

7) باکتری‌های ساکارولیتیک: این باکتری‌ها دی‌ساکاریدها، پلی‌ساکاریدها را به قندهای ساده‌تر هیدرولیز می‌کنند. تعداد محدودی از باکتری‌ها آمیلولیتیک (دارای آنزیم آمیلاز) می‌باشند و باعث تجزیه نشاسته در بیرون از سلول می‌شوند. *B.subtilis* و *Cl.butyricum* آمیلولیتیک می‌باشند.

8) باکتری‌های پکتینولیتیک: باکتری‌های این گروه شامل گونه‌های *Erwinia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Aeromonas*, *Arthrobacter* و *Flavobacterium* می‌باشند. هم‌چنین برخی از گونه‌های کپک‌ها نیز ممکن است پکتینولیتیک باشند.

9) باکتری‌های ترموفیلیک: این باکتری‌های دارای حداقل درجه حرارت مطلوب 45°C و بالاتر می‌باشند. باکتری‌های ترموفیل عمدتاً در جنس‌های کلستریدیوم و باسیلوس وجود دارند.

10) باکتری‌های ترمودیوریک: باکتری‌های ترمودیوریک به عنوان باکتری‌هایی تعریف می‌شوند که می‌توانند فرایندهای حرارتی نظیر پاستوریزاسیون را تحمل نمایند.

11) باکتری‌های سایکروتروفیک: این باکتری‌ها قادر به رشد در دماهای یخچال می‌باشند ولی برخلاف سایکروفیل‌ها دمای مطلوب جهت رشد آن‌ها 25-30°C می‌باشد. گونه‌هایی از جنس‌های سودوموناس، فلاووفاکتریوم، آکروموباکتر و آلکالیجنس جزء این گروه می‌باشند.

12) باکتری‌های هالوفیلیک یا هالوفیل‌ها: باکتری‌هایی که برای رشد به غلظت‌های کم نمک 3-5% نیاز دارند شامل سودوموناس، اسینتوباکتر، ویبریو و موراکسلا می‌باشند. باکتری‌هایی که در محیط‌هایی با غلظت نمک 15-3% به خوبی رشد می‌کنند شامل گونه‌هایی از جنس‌های باسیلوس، ویبریو، اسینتوباکتر و موراکسلا می‌باشند و باکتری‌هایی که قادر به تحمل غلظت نمک 15-30% می‌باشند که شامل گونه‌های جنس‌های هالوباکتریوم (Halobacterium) و هالوکوکوس (Halococcus) هستند. غالباً گروه آخر تولید پیگمان‌های صورتی یا قرمز نیز می‌نمایند و هالوفیل نامیده می‌شوند.

13) باکتری‌های اسموفیلیک: متداول‌ترین میکروارگانیزم‌های اسموفیلیک در مواد غذایی مخمرها می‌باشند با این حال باکتری‌های اسموفیلیک باکتری‌هایی هستند که قادر به رشد در غلظت‌های بالای قند می‌باشند. این گروه شامل گونه‌هایی از جنس لوکونوستوک می‌باشد.

14) باکتری‌های تشکیل‌دهنده حالت طنابی شدن یا اسلایم: *Alcaligenes viscolactis*، *Enterobacter aerogenes* و *Klebsiella oxytoca* موجب طنابی شدن شیر و گونه‌های لوکونوسترک تولید اسلایم در محلول‌های قندی می‌نمایند. میکروکوس باعث طنابی شدن محلول‌های عمل‌آوری گوشت‌ها می‌شود. برخی از گونه‌های باسیلوس باعث طنابی شدن نان‌های حجیم می‌شوند.

15) کلی‌فرم‌ها: در مورد این گروه در فصل‌های بعد به‌طور کامل توضیح داده خواهد شد.

## باکتری‌های مهم دیگر مواد غذایی

### جنس آلتروموناس

این باکتری‌ها عمدتاً در ماهی‌های دریایی یافت می‌شوند و اکثراً به  $\text{Na}^+$  برای رشد نیاز دارند و قادر به انجام اعمال تخمیر نمی‌باشند. این باکتری‌ها گرم منفی، میله‌ای راست یا خمیده، حرکت به‌وسیله یک فلاژل قطبی، شدیداً هوازی و فاقد آرژنین دهیدرولاز می‌باشند.

### جنس کرینی باکتریوم

این باکتری‌ها هوازی، گرم مثبت، میله‌ای شکل که اغلب گرانول‌ها و تورم‌هایی به شکل گرز دارند ولی اسپورزا نیستند. اکثر این باکتری‌ها مزوفیل می‌باشند. این باکتری‌ها در ناحیه‌ی روده‌ای انسان و حیوانات یافت می‌شوند و از انواع مختلف مواد غذایی در حال فساد جدا شده‌اند. گونه‌ای از این جنس به نام *C. diptheriae* عامل مولد دیفتری می‌باشد. نکته: گونه‌ای از این جنس به نام *Corynebacterium fascians* در تلخی‌زدایی آب گریپ فوروت به‌کار می‌رود.

### جنس بروکوتریکس (Brochotrix)

سلول‌های این جنس همانند کرینی باکتریوم‌ها در فاز لگاریتمی، میله‌ای شکل و در فاز سکون کروی شکل‌اند. اعضای این گروه به‌طور تجربی در اسید لاکتیک باکتری‌ها قرار می‌گیرند اما برخلاف آن‌ها کاتالاز مثبت می‌باشند. گونه‌ای از این جنس به نام بروکوتریکس ترموسفاکتا اکثراً در گوشت‌های فرایند شده‌ای که در بسته‌های غیرقابل نفوذ به گاز نگهداری می‌شود، یافت می‌گردد و در بسیاری از موارد ارگانسیم غالب در این فرآورده‌هاست.

### جنس سیتروباکتر

این جنس به خانواده انتروباکتریاسه تعلق دارد. این باکتری‌ها لاکتوز را به آهستگی تخمیر می‌کنند، میله‌ای شکل و گرم منفی هستند و سابقاً تحت عنوان پارکولون‌ها معرفی می‌شدند. تمام اعضاء این جنس قادر به استفاده از سیترات به عنوان تنها منبع کربن می‌باشند.

نکته: پارکولون‌ها برای اشاره به باکتری‌های روده‌ایی که قادر به متابولیزه کردن لاکتوز در 24-48h در دمای 37°C نبودند به کار می‌رفت.

نکته: حدود  $\frac{1}{3}$  از باکتری‌ها به خانواده‌ی انتروباکتریاسه تعلق دارند و این باکتری‌ها به باکتری‌های اسید آلی یا اسید فرمیک معروفند.

### جنس اروینیا

باکتری‌های این جنس به خانواده‌ی انتروباکتریاسه تعلق دارند. گرم منفی، میله‌ای شکل و متحرک می‌باشند.

### جنس میکروباکتریوم

باکتری‌های این جنس به علت مقاومتشان در شرایط حاد و استفاده‌ای که در تولید ویتامین‌ها از آن‌ها می‌شود اهمیت دارند. آن‌ها کوچک، بی‌حرکت،  $gr^+$  بدون اسپور، کاتالاز مثبت، هوازی، هموفرمانتیتیو، میله‌ای و تولیدکننده اسید لاکتیک هستند که بعضی اوقات به شکل نردبان کنار هم قرار می‌گیرند. میکروباکتریوم با وجودی که اسپور تشکیل نمی‌دهد به حرارت بسیار مقاوم است و به آسانی در دمای پاستوریزاسیون و حتی در حرارت‌های 80-85°C تا 10 دقیقه را تحمل می‌کند. بنابراین باکتری‌های مقاوم به حرارت هستند که در محصولات لبنیاتی پاستوریزه هم‌چون شیرهای سوپرمارکتی و شیرخشک به میزان زیاد یافت می‌شوند.

نکته: میکروباکتریوم مقاوم‌ترین یاخته رویشی نسبت به حرارت محسوب می‌گردد.

### نقش کپسول‌ها در باکتری‌ها

وجود کپسول یا اسلایم در اطراف باکتری‌ها باعث طنابی و اسلایمی شدن مواد غذایی می‌شوند. علاوه بر این کپسول‌ها باعث افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر شرایط نامطلوب از قبیل حرارت و مواد شیمیایی خواهند شد. همچنین کپسول به چسبیدن باکتری به بافت‌های مختلف بدن میزبان کمک می‌کند. جنس اکثر کپسول‌ها پلی‌ساکاریدهای دکسترین، دکستران و لاوان می‌باشد.

نکته: در باکتری‌های بیماری‌زا در صورت از دست دادن کپسول خاصیت بیماری‌زایی آن‌ها از بین می‌رود.

### پروبیوتیک‌ها (probiotics) و پریبیوتیک‌ها (prebiotics)

#### پروبیوتیک‌ها

- 1) این باکتری‌ها باعث حفظ باکتری‌های مفید و سازگاری که در یک مجرای هاضمه سالم وجود دارند می‌شوند.
  - 2) این باکتری‌ها کمک به هضم و جذب مواد مغذی می‌نمایند.
  - 3) باعث بهبود حذف مواد زائد می‌شوند.
- دو گروه عمده از باکتری‌ها که به عنوان پروبیوتیک‌ها در نظر گرفته می‌شوند شامل لاکتوباسیلوس‌ها (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) و بیفیدوباکتری‌ها (بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و بیفیدوباکتریوم اینفنتیس) می‌باشند.

#### پریبیوتیک‌ها

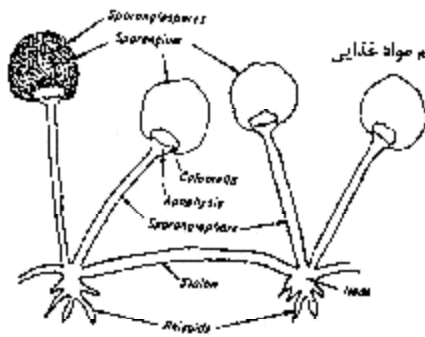
برخلاف پروبیوتیک‌ها که میکروارگانیسم‌های زنده می‌باشند، پریبیوتیک‌ها کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم می‌باشند. پریبیوتیک‌ها باعث تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های مفید و سودمند فلور روده‌ای می‌شوند. سه دسته از پریبیوتیک‌های مهم شامل فروکتو الیگوساکاریدهای کوتاه زنجیر (SCFOS)، اینولین و الیگوفروکتوز می‌باشند.

### تشکیل اندوسپورها در باکتری‌ها

باکتری‌های جنس باسیلوس، کلسترییدیوم، Sporolactobacillus, Desulfotomaculum و sporo sarcina توانایی تشکیل اندوسپور را دارند. اسپورزایی معمولاً در اواخر مرحله لگاریتمی رشد به دلیل کاهش مواد مغذی یا تجمع

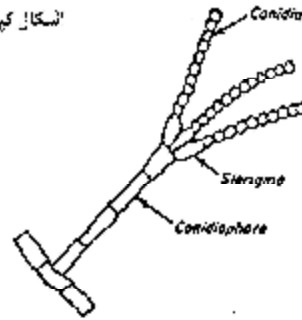
محصولات اتفاق می‌افتد. در حین تبدیل سلول رویشی به اسپور میزان جذب بالای یون کلسیم و سنتز اسید دیپیکولینیک (DPA) ترکیبی که در سلول رویشی وجود ندارد اتفاق می‌افتد، مقاومت اسپورها در برابر حرارت به دلیل تشکیل DPA و جذب یون  $Ca^{++}$  می‌باشد.

جوانه زدن (Germinatina) به‌طور کلی در شرایطی که مناسب سلول‌های فعال مناسب باشد تسهیل می‌گردد. اما ممکن است در شرایطی که مناسب رشد نیست نیز اتفاق بیفتد. به عنوان مثال درجه حرارت پایین و یون‌های  $Mg^{++}$  و  $Mn^{++}$  و گلوکز و دی‌پیکولینیک اسید به اضافه‌ی یون‌های کلسیم به وسیله شوک حرارتی یا فعالیت گرمایی که باعث فعال ساختن آنزیم‌های غیرفعال می‌شود، جوانه زدن را تحریک می‌کنند. جوانه‌زدن اندوسپورها به وسیله‌ی اسید سوربیک در pH اسیدی و با بعضی از کاتیون‌های دو ظرفیتی و یا نشاسته و اسید اولئیک و اسید لینولئیک ممانعت می‌شود. Dormancy اسپورها را به تأخیر افتادن جوان زدن در شرایط کاملاً مساعد برای رشد آن‌ها تعریف کرده‌اند. اندوسپورها در شرایط نامساعد مثل وجود مواد ممانعت‌کننده در محیط و یا عدم وجود مواد غذایی مورد نیاز مثل اسیدهای آمینه جوانه نمی‌زنند.

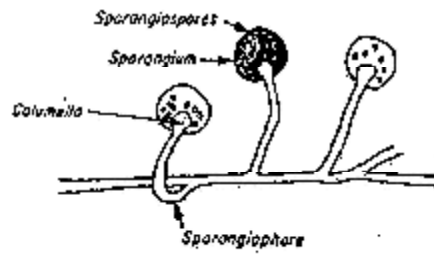


Rhizopus

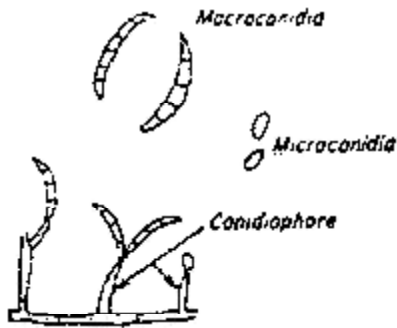
انگاز کپک‌های مهم مواد غذایی



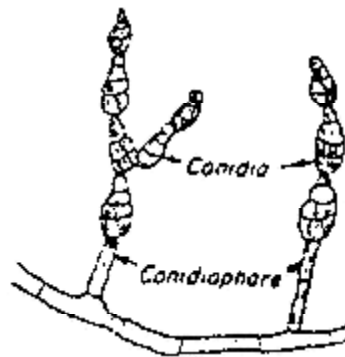
Penicillium



Mucor

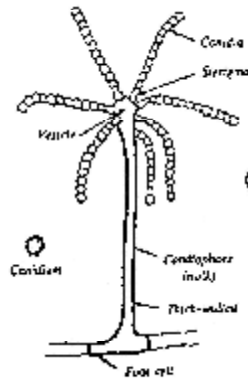


Fusarium

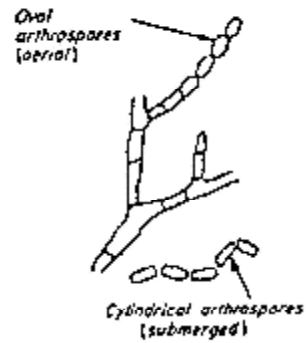


Alternaria

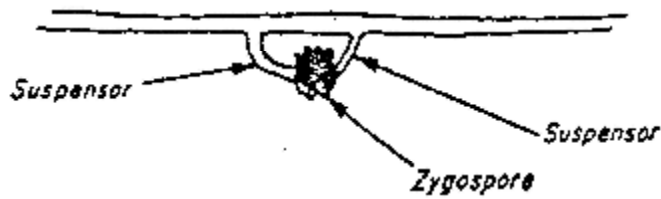
اشکال کپک‌های مخمر مواد غذایی (ادامه)



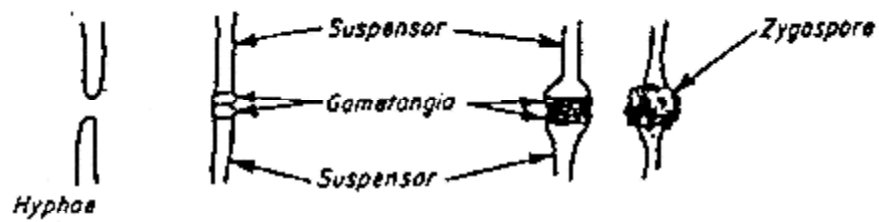
Aspergillus



Geotrichum



Zygospore formation in Zygorhynchus.



Zygospore formation in Mucor.



## فصل دوم: خصوصیات درونی و عوامل خارجی مؤثر بر فعالیت باکتری‌ها در مواد غذایی

### الف) عوامل درونی

عوامل درونی عبارتند از: (1) pH (2) درصد رطوبت (3) پتانسیل اکسیداسیون / احیاء (4) مواد مغذی (05) ترکیبات ضد میکروبی (6) ساختمان بیولوژیکی

#### pH (1)

حداکثر رشد میکروارگانیسم‌ها در pH حدود هفت (7/5 - 6/5) صورت می‌گیرد. دامنه‌ی pH برای برخی میکروارگانیسم‌های مولد فساد در مواد غذایی به صورت زیر می‌باشد:

نوع میکروارگانیسم‌ها	محدوده‌ی pH
کپک‌ها	0-11
مخمرها	1/5-8/5
باکتری‌های اسید لاکتیک	3/5-10/5
Vibrio parahaemolyticus	4/8-11

نکته: میزان حساسیت میکروارگانیسم‌ها در برابر تغییرات pH به صورت زیر می‌باشد:

باکتری‌های بیماری‌زا < باکتری‌های غیربیماری‌زا < مخمرها < کپک‌ها

افزایش حساسیت نسبت به تغییرات pH

## دسته‌بندی pH مواد غذایی

ماده غذایی	pH
میوه‌ها	اسیدی
سبزیجات	6
شیر	6/3-6/5
گوشت	5/1-5/2
ماهی	6/6-6/8

نکته: pH میوه‌ها، انواع نوشابه‌ها، سرکه، انواع شراب پایین‌تر از حداقل pH قابل تحمل برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.  
نکته: اکثر سبزیجات در مقایسه با میوه‌ها pH بالاتری دارند. در نتیجه سبزیجات بیش‌تر مورد حمله‌ی باکتری‌ها تا مخمرها و کپک‌ها قرار می‌گیرند.

نکته: برخی مواد غذایی در برابر تغییرات pH مقاوم هستند که اصولاً چنین محیط‌هایی را بافر می‌نامند. فرآورده‌های گوشتی، خیلی بهتر از سبزیجات، نوسانات pH را تحمل می‌نمایند. حالت بافری گوشت‌ها، به دلیل وجود ترکیبات پروتئینی مختلف در آن‌هاست. سبزیجات به دلیل پروتئین کم، معمولاً ظرفیت بافری کم‌تری دارند. بدین لحاظ در مقابل نوسانات pH که در نتیجه‌ی رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها به وجود می‌آید مقاومت چندانی ندارد. به همین دلیل شیر با داشتن میزان قابل توجه پروتئین، قدرت بافری بالایی داشته بنابراین اجازه می‌دهد که باکتری‌های اسیدلاکتیک به طور قابل ملاحظه‌ای رشد کرده و اسید تولید کند بدون آن‌که رشد آن‌ها متوقف گردد.

## اثرات pH

اثرات منفی pH را حداقل بر دو جنبه از فعالیت سلول‌های میکروبی می‌توان مشاهده نمود.

## الف) فعالیت‌های ویژه‌ی آنزیمی

ترکیبات کلیدی سلول نظیر DNA و ATP نیازمند شرایط خنثی هستند و به همین دلیل تجمع یون‌های  $H^+$  و  $OH^-$  در داخل سیتوپلاسم موجب می‌شود تا در صورت بروز تغییرات وسیع در pH محیط اطراف یاخته، pH درونی ارگانیسم تقریباً ثابت باقی بماند و تغییر چندانی ننماید. اکثر میکروارگانیسم‌ها در محیط اسیدی فعالیت‌های متابولیتی خود را در

جهتی تنظیم می‌کنند که سبب افزایش pH محیط گردد و بالعکس فعالیت یاخته‌ها و محیط قلیایی به نحوی است که موجب کاهش pH می‌شود.

### به نکات زیر توجه کنید:

- در درون سلول آنزیم‌هایی نظیر آمینوآسید دکربوکسیلاز وجود دارد که توانایی رشد و تکثیر در محیط اسیدی را به سلول می‌بخشند. این آنزیم‌ها فعالیت مطلوب خود را در محدوده‌ی  $pH = 4$  نشان داده‌اند. این آنزیم‌ها با جدا کردن عامل کربوکسیل از اسیدهای آمینه ترکیبات آمین ایجاد می‌کنند که این ترکیبات pH محیط را افزایش می‌دهند.

- وقتی که محیط میکروارگانیسم دارای شرایط قلیایی است، آنزیم‌هایی از گروه آمینوآسید دآمیناز فعال شده، آمین را از اسیدهای آمینه جدا می‌کنند و بدین ترتیب باعث ایجاد اسیدهای آلی و کاهش pH در سوپسترا می‌شوند. این آنزیم‌ها در pH حدود 8، بیش‌ترین کارایی را دارند.

- باکتری‌هایی نظیر *Clostridium acetobutylicum* از طریق تبدیل اسید بوتیریک به متانول موجب افزایش pH محیط کشت می‌شوند.

- باکتری‌های نظیر انتروباکتر آئروجنس برای افزایش pH، اسید پیروویک را به استون تبدیل می‌کنند.

### ب) انتقال ترکیبات مغذی در داخل سلول

در ارتباط با انتقال مواد مغذی باید گفت که دیواره‌ی سلولی باکتری‌ها در سمت خارج دارای لایه‌ای با بار منفی است. بنابراین ترکیبات فاقد بار به آسانی می‌توانند از این لایه عبور نموده، وارد سلول شوند. در صورتی که یون‌ها و ترکیبات باردار این توانایی را ندارند. در pH خنثی و یا قلیایی، اسیدهای آلی نمی‌توانند وارد سلول شوند در حالی که در pH اسیدی این اسیدها غیر یونیزه هستند و بنابراین به راحتی می‌توانند از دیواره مزبور عبور کنند.

نکته: اسیدهای آلی اثر ممانعت‌کنندگی بیش‌تری نسبت به اسیدهای معدنی دارند زیرا مولکول‌های باردار به راحتی از سلول عبور نمی‌کنند. برای مثال در  $pH = 4$  اثر اسید استیک بیش‌تر از HCl می‌باشد.

### 2) رطوبت

میکروارگانیسم‌ها نیاز کامل به آب دارند زیرا بدون آن رشدی اتفاق نمی‌افتد. این مقدار آب مورد نیاز برحسب آب قابل دسترس یا فعالیت آبی نشان داده می‌شود.

- حداقل  $a_w$  مورد نیاز جهت رشد M.Oها در مواد غذایی:

ارگانیسرها	حداقل $a_w$
اکثر باکتری‌های مولد فساد	0/9
اکثر مخمرهای مولد فساد	0/88
اکثر کپک‌های مولد فساد	0/80
باکتری‌های مالوفیلیک	0/75
کپک‌های خشکی دوست (Xerophilic molds)	(فریزیز 0/65) (جی 0/61)
مخمرهای اسموفیلیک	0/60
کلستریدیوم بوتولینوم نوع E	0/97
گونه‌های سودوموناس	0/97
اسپیرژیلوس گلاکوس	0/70
ساکاروماپسس روکسی	0/62
Monascus bisporus (Xeromycoes bisporus)	0/61

نکته: از جدول فوق می‌توان نتیجه گرفت که حداقل  $a_w$  باکتری‌های  $gr^-$  < حداقل  $a_w$  باکتری‌های  $gr^+$  < حداقل  $a_w$

مخمرها < حداقل  $a_w$  کپک‌ها

نکته: پایین‌ترین میزان  $a_w$  برای فعالیت باکتری‌ها، 0/75 است که برای باکتری‌های هالوفیل گزارش شده است. در حالی که انواع قارچ‌ها و مخمرهای خشکی دوست و هم‌چنین مخمرهای اسموفیل به ترتیب در حدود 0/65 و 0/6 نیز رشد می‌کنند.

نکته: استافیلوکوکوس اورئوس حتی می‌تواند در حدود 0/86 تکثیر یابد ولی کلستریدیوم بوتولینوم نمی‌تواند  $a_w$  کم‌تر از 0/94 را تحمل کند.

### روش‌های غیرقابل دسترس نمودن آب در مواد غذایی برای میکروارگانیسرها

(1) مواد حل‌شونده و یون‌ها: مواد حل‌شونده و یون‌ها در یک محلول آب را به خود جذب کرده و آن را از دسترس

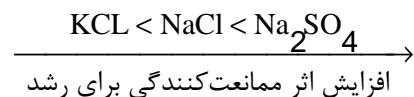
میکروارگانسیم‌ها خارج می‌نمایند. با افزایش غلظت یون‌ها و مواد حل‌شونده در یک محلول،  $a_w$  کاهش یافته و همچنین به دلیل پدیده اسمز، آب داخل سلولی از میکروارگانسیم خارج می‌شود.

(2) کلونیدهای هیدروفیلیک: این کلونیدها به دلیل جذب آب، آن را غیرقابل دسترس می‌نمایند. میزان 3-4% آگار در محیط کشت از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند.

(3) کریستاله نمودن یا تبخیر آب

### فاکتورهای مؤثر بر دامنه‌ی $a_w$ میکروارگانسیم‌ها

(1) نوع ماده حل‌شونده به کار برده شده جهت کاهش  $a_w$ : برای اکثر میکروارگانسیم‌ها به‌خصوص کپک‌ها حداقل  $a_w$  برای رشد عملاً وابسته به نوع ماده حل‌شده می‌باشد:



(2) میزان مواد مغذی در محیط کشت به‌طور معمول هرچه محیط کشت برای رشد بهتر باشد حداقل  $a_w$  پایین‌تر خواهد بود.

(3) میزان اکسیژن: رشد هوازی‌ها در حضور هوا در  $a_w$  پایین‌تری صورت می‌گیرد تا هنگام عدم حضور هوا و در مورد بی‌هوازی‌ها برعکس می‌باشد.

(4) pH: اکثر میکروارگانسیم‌ها در pH حدود خنثی قادر به تحمل  $a_w$  پایین‌تر می‌باشند.

(5) ممانعت‌کننده‌ها: حضور این مواد دامنه  $a_w$  برای رشد را کوتاه‌تر خواهد نمود.

نکته: هرگاه جهت کنترل  $a_w$  از NaCl و  $CaCl_2$  استفاده شود. بهتر می‌توان از رویش اسپور باسیلوس‌ها و کلستریدیوم جلوگیری نمود. در حالی که اثر بازدارندگی گلوکز و سوربیتول کم‌تر است. اسپور کلستریدیوم‌ها در  $a_w$  معادل 0/95 و در حضور کلر و سدیم توان جوانه‌زنی ندارد در حالی که اگر اسپور مذکور در همین  $a_w$  ولی در حضور اوره، گلسیرول یا گلوکز قرار گیرد قدرت رویش خواهد داشت.

نکته: کاتابولیسیم ترکیباتی نظیر گلوکز، لاکتات سدیم و DL-آرژنین در حضور NaCl به‌طور کامل متوقف می‌شود حتی اگر  $a_w$  محیط بیش از حداقل مورد نیاز باشد.

نکته: در تمام مواردی که از NaCl جهت کنترل  $a_w$  استفاده می‌شود. فرایند کاتابولیسیم باکتری در فعالیت آبی بالاتر از

حداقل مورد نیاز متوقف می‌گردد در حالی که اگر از گلیسرول به جای NaCl استفاده شود، سوخت و ساز حتی در کم‌ترین میزان فعالیت آبی نیز ادامه می‌یابد.

### واکنش متقابل میکروارگانیسم‌ها در برابر کاهش $a_w$

الف) برخی باکتری‌ها در پاسخ به کاهش  $a_w$  شروع به جمع‌آوری اسید آمینه پرولین محیط می‌نمایند. باکتری‌هایی چون برخی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس که قادر به تحمل نمک هستند با کم شدن  $a_w$  محیط میزان اسیدهای آمینه جاذب آب درون سلولی خود را افزایش می‌دهند. هم‌زمان با کاهش  $a_w$ ، سلول شروع به جذب  $K^+$  و انتقال آن به درون خود می‌نماید. نقش این یون در درون سلول کاتالیز تشکیل پیش ماده‌های پرولین می‌باشد. غلظت این مواد در درون یاخته به حدی می‌رسد که نه تنها مانع از خروج آب از سلول می‌شود بلکه حتی سبب می‌شود تا اندک آب آزاد موجود در محیط نیز به درون سلول کشیده شود.

ب) مخمرها برای مقابله با کاهش  $a_w$  اقدام به تغلیظ پلی‌ال‌ها به عنوان تنظیم‌کننده‌های فشار اسمزی و هم‌چنین آنزیم‌های نگه‌دارنده در درون یاخته می‌نمایند. در حالی که باکتری‌های نمک دوست در چنین شرایطی از توانایی خاص خود در افزایش KCl درون سلولی سود می‌برند.

### 3) پتانسیل اکسیداسیون / احیاء (O/R - Eh):

وقتی یک عنصر یا ترکیب شیمیایی الکترون از دست می‌دهد اصطلاحاً می‌گویند اکسید شده است یا یک ترکیب احیاء‌کننده (کاهنده) می‌باشد. بالعکس عنصر یا ترکیبی که الکترون دریافت می‌کند احیاء می‌شود و یک ترکیب اکسند نامیده می‌شود.

عوامل مختلفی در ایجاد پتانسیل O/R دخالت دارند که عبارتند از:

(1) خصوصیات پتانسیل O/R منبع غذا

(2) ظرفیت حفظ تعادل: این ظرفیت میزان مقاومت غذا را نسبت به ایجاد تغییر در پتانسیل آن نشان می‌دهد.

(3) فشار اکسیژن در محیط نگهداری

(4) نحوه‌ی تماس اتمسفر با مواد غذایی

نکته: ایجاد  $Eh^+$  یا  $Eh^-$  در مواد غذایی نتیجه‌ی وجود ترکیبات شیمیایی خاص در آن فرآورده‌ها می‌باشد. برای مثال وجود گروه‌های SH- در گوشت، اسید اسکوربیک و قندهای احیاء‌کننده در میوه‌ها و سبزیجات موجب شرایط احیاء

در این محصولات می‌شود. همچنین تیوگلیکولات در محیط کشت نسبت به کاهش Eh تا حد منفی می‌شود.

**به نکات زیر توجه کنید:**

Eh فراورده‌های گیاهی، به‌ویژه عصاره‌ی میوه‌ها و سبزیجات بین +300 تا +400 میلی‌ولت است. بنابراین عامل اصلی فساد این‌گونه مواد غذایی، قارچ‌ها و باکتری‌های هوازی می‌باشند. قطعات بزرگ گوشت دارای Eh حدود 20- میلی‌ولت هستند ولی Eh گوشت‌های چرخ کرده بین +200 تا -200 میلی‌ولت متغیر است. پنیرهای مختلف دارای Eh منفی بوده، مقدار Eh در آن‌ها از 20- تا 200- میلی‌ولت در انسان است.

- تا هنگامی که جمود نعشی در گوشت پایان نیافته باشد، باکتری‌های بی‌هوازی قادر به رشد نخواهد بود.

- میکروب‌های هوازی می‌تواند Eh محیط را کاهش دهند در حالی که انواع بی‌هوازی قادر به انجام این فرایند نیستند.

- دو عامل Eh و pH با یکدیگر ارتباط مستقیم دارند.

### **تقسیم‌بندی میکروارگانیسم‌ها بر اساس پتانسیل اکسیداسیون - احیاء مورد نیاز**

(الف) میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی که نیاز به شرایط  $Eh^-$  (شرایط احیاءکننده) دارند مانند باکتری‌های جنس کلستریدیوم

(ب) میکروارگانیسم‌های هوازی که نیاز به  $Eh^+$  (شرایط اکسنده) دارند مانند باکتری‌های جنس باسیلوس

(ج) میکروارگانیسم‌های میکروآئروفیل که در شرایط کمی احیاءشده بهتر رشد می‌کنند مانند لاکتوباسیلوس‌ها و استرپتوکوکوس‌ها

(د) میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی اختیاری که در شرایط هوازی و بی‌هوازی قادر به رشد می‌باشند.

نکته: مخمرها و کپک‌هایی که درون غذاها و یا بر سطح آن‌ها رشد می‌کنند و از انواع هوازی می‌باشند هرچند که برخی از آن‌ها به شرایط بی‌هوازی اختیاری نیز تمایل دارند.

نکته: میکروارگانیسم‌ها در حضور اکسیژن به‌وسیله‌ی آنزیم فلاوین ترکیباتی چون  $H_2O_2$  تولید می‌کنند که برای خود میکروارگانیسم مضر و حتی کشنده است. حال اگر میکروارگانیسم، هوازی باشد دارای دو آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز می‌باشد که باعث تجزیه  $H_2O_2$  می‌شوند در صورتی که میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی مطلق این دو آنزیم را ندارند در نتیجه اکسیژن برای آن‌ها یک ماده سمی می‌باشد. البته لاکتو باکتریاسه‌ها با توجه به این‌که کاتالاز منفی هستند در حضور اکسیژن رشد می‌نمایند.

#### 4) میزان ترکیبات مغذی

میکروارگانسیم‌ها جهت رشد و تکثیر و انجام فعالیت‌های طبیعی خود احتیاج به مواد مغذی دارند که عبارتند از: (1) آب، (2) منابع انرژی، (3) منابع ازت، (4) ویتامین‌ها و سایر فاکتورهای تشدیدکننده و یا بازدارنده‌ی رشد، (5) املاح

نکته: نیاز به ترکیبات مغذی غیر از آب در مورد میکروارگانسیم‌ها به صورت باکتری‌های  $gr^+$  < باکتری‌های  $gr^-$  مخمرها < کپک‌ها می‌باشد.

نکته: میوه‌ها در مقایسه با گوشت‌های دارای ویتامین B کم‌تری می‌باشند. این واقعیت همراه با pH پایین و  $Eh^+$  همه عواملی هستند که موجب می‌شوند تا قارچ‌ها بیش از باکتری‌ها، میوه‌ها را مورد حمله قرار دهند.

#### 5) ترکیبات ضد میکروبی

روغن‌های اسانسی موجود در برخی گونه‌های گیاهی که نقش ضد میکروبی دارند:

اسانس	نوع گیاه
ایوژنول	میخک
آلیسین	سیر
سینامیک آلدهید، ایوژنول	دارچین
آلیل ایزوتیوسیانات	خردل
ایوژنول و تیمول	مریم گلی
کارواکرول (ایزوتیمول) و تیمول	پونه کوهی

نکته: ترکیبات ضد میکروبی شیر عبارتند از:

(1) لاکتوفرین (2) کونگلو تینین (3) سیستم لاکتوپراکسیداز

ترکیبات ضد میکروبی تخم‌مرغ عبارتند از:

(1) لیزوزیم (2) کونالبوومین. لیزوزیم از طریق هیدرولیز پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم مثبت از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کند و کونالبوومین با بلوکه کردن آهن آن را از دسترس میکروارگانسیم‌ها خارج می‌سازد.

نکته: ترکیباتی چون مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید نظیر پی‌کوماریک، فرولیک، کافئیک و کلروژنیک اسیدها در



میوه‌ها، سبزیجات، چای، ملاس و دیگر منابع گیاهی وجود دارند که دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی می‌باشند.

## 6) ساختمان بیولوژیکی

پوشش طبیعی برخی از مواد خوراکی محافظ بسیار خوبی در برابر نفوذ میکروارگانیسم‌ها به درون نسوج و بافت‌های داخلی می‌باشد.

### ب) عوامل خارجی

#### 1) درجه حرارت

پایین‌ترین درجه حرارتی که تاکنون برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است حدود  $34^{\circ}\text{C}$  - (مربوط به یک مخمر صورتی) می‌باشد در حالی که بالاترین دما برای فعالیت آن‌ها قدری بیش از  $90^{\circ}\text{C}$  می‌باشد. نکته: احتمال فساد در مواد غذایی همیشه در دمای بین  $70^{\circ}\text{C}$  تا  $5^{\circ}\text{C}$  وجود دارد.

### تقسیم میکروارگانیسم‌ها در رابطه با درجه حرارت

الف) سایکروتروف‌ها: درجه حرارت کم‌تر از  $20^{\circ}\text{C}$  را به‌خوبی تحمل می‌کنند ولی دمای مناسب برای رشد آن‌ها  $20-30^{\circ}\text{C}$  می‌باشد.

ب) مزوفیل‌ها: در دمای  $20-45^{\circ}\text{C}$  به خوبی رشد می‌کنند و درجه حرارت مطلوب آن‌ها  $30-40^{\circ}\text{C}$  می‌باشد.

ج) ترموفیل‌ها: دمای  $45^{\circ}\text{C}$  و بالاتر را به خوبی تحمل می‌کنند و درجه حرارت مطلوب برای رشد آن‌ها  $55-65^{\circ}\text{C}$  می‌باشد.

به نکات زیر توجه کنید:

- پایین‌ترین دمایی که یک باکتری در آن قادر به رشد می‌باشد  $20^{\circ}\text{C}$  - است.

- کلادوسپوریوم و اسپوروتریشوم قادر به رشد در دمای  $6/7^{\circ}\text{C}$  - و پنی‌سیلیوم و مونیلیا قادر به رشد در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  - می‌باشند.

- قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها در دامنه وسیع‌تری از pH، فشار اسمزی، ترکیبات مغذی و هم‌چنین حرارت می‌توانند رشد نمایند.

- مخمرها بیش‌تر به شرایط سایکروفیل و مزوفیل تمایل دارند و کم‌تر در دامنه‌ی ترموفیل فعالیت می‌کنند.

## 2) رطوبت نسبی محیط

رطوبت نسبی محیط از دو جنبه حائز اهمیت است: 1) ثبات  $a_w$  در میان مواد غذایی انبار شده 2) تکثیر و رشد میکروارگانیسم‌ها در سطح فرآورده‌های غذایی

## 3) حضور و غلظت گازها در محیط

به طور کلی انبارهایی که میزان  $CO_2$  در فضای آن‌ها بیش از 10% است به نام انبارهای با اتمسفر کنترل شده معروف هستند. سیب و گلابی از جمله میوه‌هایی هستند که در این انبارها ذخیره می‌شوند. به‌علاوه سال‌هاست که اثر بازدارندگی گاز اوزون ( $O_3$ ) به هنگام اضافه شدن به اتمسفر انبارهای میوه، برای ما شناخته شده است. این گاز در حد چند ppm می‌تواند علیه میکروارگانیسم‌های عامل فساد، در مورد برخی میوه‌ها، مؤثر واقع شود. با این حال از آن‌هایی که این گاز یک اکسیدان قوی است از آن نمی‌توان برای نگهداری مواد غذایی بسیار چرب استفاده نمود. زیرا سبب ایجاد حالت تندی در چربی‌ها می‌گردد.

## تأثیر $CO_2$ و $O_2$

گاز  $CO_2$  باعث کاهش Eh و غیرفعال شدن آنزیم دکربوکسیلاز می‌شود. معمولاً اثر بازدارندگی  $CO_2$  با کاهش دما، افزایش می‌یابد که این امر به طور عمده مربوط به افزایش حلالیت این گاز در درجه حرارت‌های پایین است. حساسیت باکتری‌های گرم منفی نسبت به  $CO_2$  بیش‌تر از انواع گرم مثبت می‌باشد. سودوموناس در زمهری حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به  $CO_2$  می‌باشد و بالعکس اسید لاکتیک باکتری‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی از جمله‌ی مقاوم‌ترین انواع در مقابل این گاز هستند. از نظر کاربرد صنعتی استفاده از اتمسفری که دارای 50%  $CO_2$  و 50%  $O_2$  باشد نسبت به استفاده از  $CO_2$  خالص مقرون به صرفه‌تر است. برای نگهداری گوشت قرمز، حداکثر نسبت  $CO_2$  قابل استفاده در اتمسفر سردخانه‌ها، حدود 20% می‌باشد ولی برای نگهداری ماهی می‌توان از  $CO_2$  به نسبت بیش‌تری استفاده نمود زیرا گوشت ماهی حاوی میوگلوبین کم‌تری می‌باشد.

نکته: دلیل استفاده از غلظت زیاد  $CO_2$  در اتمسفر سردخانه‌های نگهداری گوشت‌های بسته‌بندی شده، تغییر فلور میکروبی آن‌هاست. در نتیجه این امر، فلور میکروبی هتروژن گوشت، که اغلب مرکب از انواع گرم منفی است، تغییر کرده و فلوری به‌وجود می‌آید که عمدتاً از لاکتوباسیل‌ها و دیگر اسید لاکتیک باکتری‌ها تشکیل یافته است.

نکته: مقاومت باکتری‌ها نسبت به  $CO_2$  در هنگام کاهش pH گوشت به ترتیب زیر است:

اسید لاکتیک باکتری‌ها < بروکوتریکس ترموسفاکتا > سویه‌های مختلف سودوموناس

### اثر متقابل میکروارگانیسم‌ها بر روی یکدیگر

در شرایط مطلوب معمولاً باکتری‌ها سریع‌تر از مخمرها و مخمرها سریع‌تر از کپک‌ها رشد می‌نمایند.

(1) آنتاگونیستیک (Antagonistic): در اثر رشد برخی میکروارگانیسم‌ها از رشد سایر میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌شود.

(2) Symbiotic: دو میکروارگانیسم به طور دوطرفه به یکدیگر جهت رشد کمک می‌کنند یا این‌که دو میکروارگانیسم به طور هم‌زمان رشد می‌نمایند بدون این‌که به یکدیگر کمک و یا مانع یکدیگر بشوند.

(3) Synergistic: وقتی دو میکروارگانیسم باهم رشد می‌نمایند ممکن است باعث تغییری بشوند در صورتی که هریک از میکروارگانیسم‌ها به تنهایی قادر به ایجاد این تغییر نخواهد بود.

(4) Metabiotic: این اثر وقتی اتفاق می‌افتد که یک میکروارگانیسم شرایط را برای رشد میکروارگانیسم دیگر مساعد می‌سازد.

نکته: نمونه‌ای از اثر سینرژیستیک اثر متقابل *Pseudomonas cyncyanea* و استرپتوکوکوس لاکتیک در شیر می‌باشد به طوری که سودوموناس سینسیانی یک رنگ قهوه‌ای تولید می‌کند ولی با اثر استرپتوکوکوس لاکتیس و اسیدی شدن محیط توسط این میکروارگانیسم رنگ تولید شده توسط این گونه‌ی سودوموناس به آبی تغییر رنگ می‌دهد.

نکته: نمونه‌ای از اثر متابولیک در استارتر ماست دیده می‌شود. بین استرپتوکوکوس ترموفیلوس و بولگاریکوس به طوری که بولگاریکوس دارای یک فعالیت پروتئولیتیک بوده و باعث جدا شدن بعضی از اسیدهای آمینه از کازئین شده و همین اسیدهای آمینه فعال‌کننده استرپتوکوکوس می‌باشند.

### اثر غلظت محیط روی میکروارگانیسم

از نظر مقایسه غلظت محیط رشد یک میکروارگانیسم به غلظت سیتوپلاسم آن میکروارگانیسم سه حالت داریم:

(1) حالت هایپرتونیک: در این حالت غلظت محیط رشد میکروارگانیسم از سیتوپلاسم میکروارگانیسم بیش‌تر می‌باشد بنابراین فشار اسمزی باعث خروج آب از میکروارگانیسم و ایجاد پلاسمولیز می‌شود.

(2) حالت هیپوتونیک: در این حالت غلظت محیط رشد میکروارگانیسم کم‌تر از غلظت سیتوپلاسم میکروارگانیسم می‌باشد. بنابراین فشار اسمزی سیتوپلاسم بالاتر خواهد بود و آب از محیط وارد میکروارگانیسم می‌شود و حالت تورژسانس به وجود می‌آید.

(3) حالت ایزوتونیک: در این حالت غلظت محیط رشد میکروارگانیسم با غلظت سیتوپلاسم میکروارگانیسم برابر می‌باشد و بین ورود و خروج آب از میکروارگانیسم تعادل وجود دارد.

## فصل سوم: تعیین میکروارگانیسم‌ها و فراورده‌های آن‌ها در مواد غذایی

### روش‌های کشت میکروبی، میکروسکوپی و نمونه‌برداری

برای تعیین تعداد میکروارگانیسم‌ها و کاربرد آن‌ها در فراورده‌های مختلف به طور کلی چهار روش وجود دارد:

- (1) روش شمارش صفحه‌ای استاندارد (SPC) Standard Plate Count تعیین سلول‌های زنده
- (2) روش بیش‌ترین تعداد احتمالی (MPN یا Most Probable Number) تعیین آماری سلول‌های زنده
- (3) روش احیاء رنگ یا (DR) (Dye Reduction): تعیین میکروارگانیسم‌های دارای خاصیت احیاءکنندگی
- (4) شمارش مستقیم میکروسکوپی یا (DMC یا Direct Microscopy Count): تعیین سلول‌های زنده و غیرزنده

### روش شمارش صفحه‌ای استاندارد (SPC)

(1) پلیتینگ پاششی (Pour plating): عبارتست از پاشیدن همگن نمونه‌ی مورد نظر به همراه آگار مذاب در سطح یک پتری دیش

(2) پلیتینگ سطحی (Surface plating): عبارتست از توزیع یک ماده‌ی تلقیح شده در سطح یک محیط کشت جامد. نکته: پلیتینگ سطحی از جمله روش‌های سودمند به‌منظور تعیین سایکروتروف‌ها در نمونه‌های غذایی می‌باشد، چرا که این ارگانیسم‌ها در تماس با آگار مذاب غیرفعال خواهند شد. به‌علاوه، این تکنیک به منظور تهیه محیط کشت‌های اختصاصی و شناسایی ارگانیسم‌های مطلقاً هوازی نیز به کار می‌رود. اما یکی از معایب پلیتینگ سطحی پخش ناهمگن نمونه‌های غذایی در سطح محیط کشت می‌باشد.

نکته: جهت هموژنیزاسیون نمونه‌های غذایی از وسیله‌ای به نام Colewell stomacher استفاده می‌شود که دارای طرحی ساده است. بدین ترتیب که نمونه‌های غذایی را داخل کیسه‌های حاوی ماده رقیق‌کننده قرار می‌دهند. سپس نیروی برش شدیدی توسط دو پاروی کوچک به آن‌ها وارد می‌شود تحت تأثیر این نیرو میکروارگانیسم‌ها از نمونه‌ی غذایی جدا و به محلول رقیق‌کننده وارد می‌شوند.

### فیلترهای غشایی

به کارگیری فیلترهای غشایی برای نمونه‌هایی نظیر آب که در حجم زیادی از آن مقدار ارگانیسم اندکی موجود است یا نمونه‌های همگن و رقیق شده مواد غذایی مناسب است. در این روش غشاهای حاوی میکروارگانیسم‌های ایزوله شده را به محیط کشت انتخابی انتقال می‌دهند. در ادامه، انکوباسیون، ظهور پرگنه‌ها و سپس بررسی پرگنه‌ها را خواهیم داشت. راه

دیگر رنگ‌آمیزی اختصاصی میکرو-ارگانیس‌ها و مشاهده‌ی مستقیم میکروسکوپی است.

### تکنیک (Direct epifluorescent filter یا DEFT)

این تکنیک صرفاً همان روش قبلی است ولی برای شمارش میکروارگانیس‌های غذا به کار می‌رود. اساس کار این تکنیک این است که میکروارگانیس‌ها را با مواد فلوروسنت رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ فلوروسنت مشاهده می‌کنیم.

### شمارش کلنی‌های میکروسکوپی

این روش به منظور شمارش میکروکلنی‌های تشکیل یافته در لایه‌ای از آگار بر روی لام‌های میکروسکوپی به کار می‌رود.

### قطرات آگار

روش کم‌هزینه‌ای است چرا که به محیط کشت کمی نیاز دارد. برای ارزیابی مواد غذایی مایع و هموژن و کشت خالص سبزیجات و گوشت‌ها به کار می‌رود. روش کار بدین صورت است که داخل سه لوله 9 میلی‌لیتر، آگار می‌ریزیم و سپس نمونه غذایی را به آن اضافه می‌کنیم. آن‌ها را در دمای  $45-46^{\circ}\text{C}$  قرار می‌دهیم. بعد توسط میکروپیپت 0/1 میلی‌لیتری از لوله اولی به دومی و سپس از دومی به سومی می‌ریزیم و نهایتاً روی پلیت توسط میکروپیپت کشت می‌دهیم.

### فیلم‌های خشک (Dry films)

در این روش از پتری فیلم استفاده می‌شود. پتری فیلم از دو فیلم پلاستیکی که از گوشه‌ای به هم متصل‌اند تشکیل شده است که در سطح آن آگار و برخی ترکیبات دیگر قرار دارد. برای انجام آزمایش، 1ml از نمونه‌ی رقیق شده را بین دو فیلم ریخته، با قرار دادن آن دو روی هم نمونه‌ی مورد نظر در سطح محیط کشت پخش می‌شود. پس از انکوباسیون، به دلیل حضور رنگ تترازولیوم در محیط کشت میکروکلنی‌ها به رنگ قرمز درمی‌آیند.

### روش شمارش بیش‌ترین تعداد احتمالی (MPN)

به دو صورت 3 و 5 لوله‌ای (هرکدام به ترتیب 9 و 15 لوله دارند) صورت می‌گیرد. این روش غالباً برای شناسایی کلی فرم‌ها به کار می‌رود.

### روش احیاء رنگ‌ها

در این تکنیک به منظور تشخیص میکروارگانیس‌ها در نمونه‌های غذایی از معرف‌هایی نظیر رزازورین (به رنگ آبی

ارغوانی) و متیل بلو (آبی) استفاده می‌شود. به این صورت که محلول رنگی استاندارد به نمونه مورد نظر که به صورت محلول است اضافه شده آن‌گاه براساس مدت زمان تغییر رنگ محلول استاندارد (رزازورین به صورتی یا سفید و متیل‌بلو به سفید تغییر رنگ می‌دهند) تعداد ارگانیسیم‌ها را حدس می‌زنند.

نکته: بین تعداد میکروارگانیسیم‌ها و زمان احیاء رنگ‌ها رابطه‌ی معکوس وجود دارد.

نکته: استفاده از روش احیاء رنگ‌ها در صنایع لبنیات به منظور تشخیص کیفیت میکروبی شیر خام نیز سابقه‌ی طولانی دارند.

### لوله‌های مخصوص شمارش (Roll tubes)

این روش صرفاً شرایط خاصی را برای میکروارگانیسیم‌های بی‌هوازی مطلق فراهم می‌نماید.

### روش شمارش مستقیم میکروسکوپی (DMC)

به‌وسیله این روش سلول‌های زنده و غیرزنده به طور توأم شمارش می‌شوند. در این روش پس از ثابت شدن 0/01ml از نمونه‌ی غذایی در سطح مشخصی از لام برید چربی نمونه را خارج کرده و آن را رنگ‌آمیزی می‌کنند. سپس توسط میکروسکوپ مشاهده می‌شود. این روش به‌منظور تشخیص کیفیت میکروبی شیرخام و سایر فرآورده‌های لبنی و هم‌چنین آزمون‌های سریع میکروبی فرآورده‌های خشک و منجمد استفاده می‌شود.

### شمارش کپک‌ها به روش Howard

در این روش میسلیموم کپک‌ها به‌وسیله‌ی لام مخصوص Howard شمارش می‌شود.

### بررسی میکروبیولوژی سطوح

#### 1) تست سوآب

در این تست، Template (قابی است که می‌توان آن را به هر شکل و اندازه درآورد) را تا حدی روی سطوح مورد نظر قرار می‌دهیم. پس از چندبار حرکت سوآب مرطوب روی سطح آن را به لوله‌ی آزمایش محتوی ماده‌ی رقیق‌کننده انتقال می‌دهیم. در سوآب‌های آلزیناتی با استفاده از هگزامتافسفات سدیم ضمن حل کامل آلزینات میکروارگانیسیم‌ها به محیط انتقال می‌یابند.

## (2) کشت سطحی (Rodac)

روش آزمون بدین صورت است که 15/5-16/5ml از محیط کشت مناسب حاوی ماده‌ی تثبیت‌کننده (لستین و Tween 80) به پتری انتقال می‌یابد. سپس، پتری را معکوس نموده تا محیط کشت به طور مستقیم با سطح مورد نظر تماس یابد. البته قبل از این مرحله سطح مورد نظر توسط پاک‌کننده‌های خاصی تمیز می‌شود. پس از سفت شدن محیط کشت آن را به انکوباتور انتقال داده و در پایان کلنی‌ها بررسی و شمارش می‌شوند.

## (3) روش‌های Agar syringe/ agar sausage

در این روش به منظور بررسی فلور میکروبی سطح مورد نظر آگار موجود در سرنگ مخصوص به روی سطح تزریق و سپس آن را جهت اینکوباسیون به یک پتری دیش منتقل می‌کنند.

## (4) کشت مستقیم سطحی (Direct surface)

در این روش آگار مذاب را روی سطح یا ظرف مورد نظر می‌پاشند. پس از سفت شدن آگار آن را به پتری دیش به منظور اینکوباسیون انتقال می‌دهند.

## (5) روش فیلم چسبناک (Sticky film)

در این روش فیلم چسبناک با فشار بر روی سطوح مورد نظر قرار می‌گیرد. سپس آن را به همین صورت بر روی محیط کشت قرار داده نهایتاً پس از اینکوباسیون کلنی‌های حاصله مورد بررسی و شمارش قرار می‌گیرند. این روش در تعیین ارگانسیم‌های سطحی گوشت کارایی بالایی دارد.

## (6) دستگاه اولتراسونیک

در این روش سطح مورد نظر (مثلاً سوآب پنبه‌ای) را داخل محفظه‌ی حاوی ماده‌ی رقیق‌کننده‌ی دستگاه قرار می‌دهند. ضمناً با توجه به ابعاد محفظه، فقط سطوح کوچک قابل بررسی هستند. سپس با تولید صوت‌های با فرکانس بالا، ارگانسیم‌ها از سطوح جدا شده به ماده‌ی رقیق‌کننده وارد می‌شوند.

## (7) تلمبه‌ی بارانی (Spray gum)

در این روش ابتدا یک محلول شستشو دهنده با فشار به سطح محدودی پاشیده می‌شود. سپس آن را جمع‌آوری کرد، در محیط مناسبی کشت می‌دهند.

## نمونه برداری از هوا

ته نشینی، تراکم و برخورد با سطوح جامد از عمومی ترین روش های مورد استفاده می باشند. پتری دیش ساده ترین روش نمونه برداری از هواست به این صورت که پتری را به مدت معینی در معرض هوا قرار می دهند سپس پرگنه های حاصل پس از مرحله انکوباسیون مورد ارزیابی و شمارش قرار می گیرند. دو تکنیک all-glass impinger و صافی های نمونه گیری اندرسون مناسب ترین روش های ارزیابی هوا می باشند. چرا که آنها قادر به بررسی حجم معینی از هوا هستند. در روش اول پس از این که ماده ی رقیق کننده به خصوصی به دستگاه اضافه شد از سوراخ کوچکی هوا را به داخل می کشند. سپس ماده رقیق کننده ی حاوی میکروارگانیسم ها را با روش SPC مورد ارزیابی قرار می دهند و در روش دوم هوا را با سرعت مشخصی از یک یا چند صافی محتوی محیط کشت عبور می دهند.

## بررسی میکروارگانیسم های آسیب دیده

برای تعیین میکروارگانیسم های آسیب دیده به این صورت عمل می شود که یک توده ی میکروبی استرس دیده را در دو محیط اختصاصی و غیراختصاصی کشت می دهند. سپس پرگنه های ظاهر شده پس از گذراندن مرحله ی اینکوباسیون مورد شمارش قرار می گیرند. حال با در نظر داشتن این مسئله که در محیط اختصاصی، فقط ارگانیسم های سالم و در محیط غیراختصاصی هر دو نوع ارگانیسم سالم و آسیب دیده قادر به رشد هستند می توان نتیجه گرفت که اختلاف پرگنه های دو محیط مربوط به میکروارگانیسم های آسیب دیده است.

نکته: TSA) Trypticase Soy Agar ( محیط کشت غیراختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس و TSAS + 7% TSA) (NaCl محیط کشت اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس می باشد.

نکته: Baird parker به دلیل داشتن پیرووات از سایر محیط های غیراختصاصی (مثل TSA) برای رشد استافیلوکوکوس های آسیب دیده بهتر است. پیرووات نه تنها نقش ترمیمی در سلول های آسیب دیده استافیلوکوکوس اورئوس دارد بلکه در سایر M.O ها مثل E.Coli نیز نقش ترمیمی دارد.

نکته: کاتالاز در سلول های هوازی آسیب دیده نقش ترمیمی دارد.

نکته: کاتالاز و پیرووات منجر به احیاء پراکسیدهای محیط می شوند در صورتی که سلول های آسیب دیده قادر به انجام آن نمی باشند.



## تکنیک کشت پوشش آگار

این تکنیک کشت خاصی برای ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده و بررسی آن‌ها می‌باشد. در این روش یک لایه از محیط TSA روی آگار قرار می‌گیرد پس از کشت ارگانیزم‌های آسیب‌دیده در سطح محیط به مدت 1-2h در انکوباتور 25°C قرار می‌گیرند. در مرحله‌ی بعد یک لایه از محیط VRBA روی TSA قرار گرفته مجدداً در 35°C به مدت 24 ساعت اینکوبیت می‌شود.

نکته: این روش بیش‌تر برای ترمیم کلی فرم‌ها استفاده می‌شود.

## شمارش و شناسایی ارگانیزم‌های غذایی

- 1) باسیلوس سرئوس: محیط اختصاصی این میکروارگانیزم KG آگار، فنل‌رد، زرده‌ی تخم‌مرغ، پلی‌میکسین می‌باشد.
- 2) کامپیلو باکترژزونی: غنی‌سازی اولین مرحله شناسایی این باکتری است. بدین منظور از محیط Priston Medium یا NB (Natriont broth) حاوی آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود. در مرحله‌ی بعد، از این محیط به آگار جداکننده‌ی کامپیلوباکتر SA (Skirrow Agar) یا BHI حاوی آنتی‌بیوتیک انتقال می‌یابند.
- 3) کلستریدیوم بوتولینوم: شناسایی این میکروارگانیزم با غنی‌سازی نمونه همراه است. برای این منظور نمونه را در محیط گوشت پخته یا سایر محیط‌های غیرانتخابی حاوی تربیسین کشت می‌دهند مرحله‌ی بعد انتقال به محیط جداکننده‌ای مانند جگر، زرده تخم‌مرغ آگار می‌باشد.
- 4) کلستریدیوم پرفرینجنس: این ارگانیزم توسط روش SPC شناسایی می‌شود. به این صورت که نمونه‌ی مورد نظر را در یک محیط اختصاصی مانند SPS (سولفیت، پلی میکسین، سولفادiazین آگار) کشت می‌دهند.
- 5) کلستریدیوم نیگریفیکانس: برای شناسایی این میکروارگانیزم از محیط کشت Iron Sulfite Agar استفاده می‌شود چرا که این محیط حاوی آهن بوده و با  $H_2S$  تولید شده توسط این باکتری ترکیب شده و در نتیجه  $FeS$  سیاه رنگ به‌وجود می‌آید.
- 6) کلی فرم‌ها: برای شناسایی آن‌ها، آزمایش‌های احتمالی و تأییدی انجام می‌شود. برای این منظور از محیط‌های کشت (Brilliant Green Lactose Bile Broth) BGB (Eosin و (Lauryl Sulfate Tryptose Broth) LST (Meyhlene Blue) EMB استفاده می‌شود.
- 7) میکروارگانیزم‌های اسپورزا: یکی از روش‌های بررسی مواد غذایی کنسروی و تأیید Sterility کنسروها روش کشت

است که در این روش مناسب‌ترین محیط کشت ترکیب Glucose Trypton Broth می‌باشد.

8) مخمرها و کپک‌ها: نمونه‌ی مورد نظر را در محیطی اسیدی (pH = 3/5) مثل PDA (Potato Dextrose Agar) اسیدی شده یا یک محیط حاوی ترکیبات ضدباکتری کشت داده آن را پس از ظهور پرگنه‌ها توسط روش SPC مورد ارزیابی قرار می‌دهند.

9) ویبریو پاراهمولیتیکوس: برای شناسایی این باکتری ابتدا باید نمونه‌ها را در محیطی قلیایی نظیر نمک پپتون و قلیا غنی‌سازی نمود سپس آن‌ها را به محیط TCB SA انتقال داد.

### تکنیک‌های مدرن جهت تعیین میکروارگانیسم‌ها

1- امپدانس 2- میکروکالریمتری 3- فلوسیتومتری	الف) روش‌های فیزیکی	تکنیک‌های مدرن
1- نوکلئاز مقاوم به حرارت 2- آزمون LAL 3- هیبریداسیون DNA-DNA 4- اندازه‌گیری ATP 5- رادیومتری 6- آزمون گلوکوزونیدازی	ب) روش‌های شیمیایی	
1- آنتی کورفلورسنت 2- تکنیک ES 3- آزمون RIA 4- آزمون ELISA(EIA) 5- انتشار ژل 6- آزمون LIT 7- آزمون PIH 8- هم‌آگلوتیناسیون تراکمی	ج) روش‌های ایمنولوژیکی	

نکته: پایه تکنیک‌های مدرن بر مبنای فعالیت متابولیکی ارگانیسم‌ها، اندازه‌گیری میزان رشد و اندازه‌گیری برخی بخش‌های سلولی استوار می‌باشد.

### الف) روش‌های فیزیکی

1) امپدانس: مقاومت ظاهری یک مدار الکتریکی در برابر جریان متناوب امپدانس می‌باشد. M.O.ها در حین رشد در محیط کشت، سوبستراهای با کندانکتیویته‌ی پایین را به فرآورده‌های با کندانکتیویته بالاتر یونیزه نموده در نتیجه امپدانس محیط کشت را کاهش می‌دهند. بین تعیین زمان امپدانس و تعداد میکروارگانیسم‌ها رابطه‌ی معکوس وجود دارد.

2) میکروکالریمتری: این روش بر مبنای مطالعه‌ی تغییرات جزئی حرارت می‌باشد.

3) فلوسیتومتری: عبارتست از علم اندازه‌گیری اجزاء تشکیل‌دهنده سلول‌ها و خواص ویژه سلول‌ها در سوسپانسیون مایع کاربردهای دیگر فلوسیتومتری علاوه بر اندازه‌گیری هم‌زمان DNA و پروتئین سلول‌ها و همچنین شمارش سلول‌ها براساس مقادیر C-G (سیتوزین - گوانین) و A-T (آدنین - تیمین) عبارتست از:

الف) تشخیص سلول‌های زنده از مرده به کمک رنگ‌آمیزی دوگانه

ب) تعیین حالت پلوئیدی در سلول‌های مخمر

ج) شناسایی اسپورهای باسیلوس از فرم رویشی آن‌ها

د) شناسایی آمیب‌های بیماری‌زا از غیربیماری‌زا

### ب) روش‌های شیمیایی

1) نوکلئاز مقاوم به حرارت: 95% از سویه‌های انتروتوکسین‌زای استافیلوکوکوس اورئوس نوکلئاز مقاوم به حرارت تولید می‌کنند و شناسایی آنزیم فوق را به عنوان یک روش غیرمستقیم به منظور تعیین استافیلوکوکوس اورئوس به‌کار برده‌اند. از جمله فواید نوکلئاز مقاوم به حرارت به عنوان شاخصی از رشد و فعالیت استاف اورئوس به این موارد می‌توان اشاره کرد:

1-1) نوکلئاز به دلیل طبیعت مقاوم به حرارتش در شرایطی که سلول‌های باکتریایی توسط حرارت، مواد شیمیایی و باکتریوفاژها از بین می‌روند یا به L-form تبدیل می‌شوند بدون تغییر باقی می‌مانند.

1-2) نوکلئاز مقاوم به حرارت سریع‌تر از انتروتوکسین شناسایی می‌شود.

1-3) سلول‌های انتروتوکسین‌زا، نوکلئاز بیش‌تر در مقایسه با انتروتوکسین تولید می‌کنند.

1-4) نوکلئاز در کشت‌های رقیق‌شده‌ی نمونه‌ی غذایی قابل تشخیص است در صورتی که شناسایی انتروتوکسین به نمونه‌های غلیظ شده نیاز دارد.

1-5) انتروتوکسین‌ها همانند نوکلئاز به حرارت مقاوم‌اند.

2) آزمون Limulus Amoebocyte Lysate یا LAL: باکتری‌های gr<sup>-</sup> به‌وسیله‌ی تولید اندوتوکسین که لایه لیپوپلی‌ساکارییدی (LPS) غشای سلولی (غشای خارجی) آن‌ها را تشکیل می‌دهد، مشخص می‌شوند. LPS ماده‌ای تب‌زا است و مسئول برخی علائم بیماری‌های عفونی می‌باشد. در آزمون LAL نوعی پروتئین حاصل از تجزیه سلول‌های خونی خرچنگ نعل اسبی مورد استفاده قرار می‌گیرد که این پروتئین حساس‌ترین ماده شناخته شده در مقابل

اندوتوکسین‌ها می‌باشد. آزمون LAL روشی سریع جهت دستیابی به تعداد کل باکتری‌های  $gr^-$  در گوشت‌های منجمد که توسط باکتری‌های گرم منفی فاسد می‌شوند می‌باشد.

(3) هیبریداسیون DNA-DNA: میزان هیبریداسیون زنجیره‌های رادیواکتیو با DNA میکروب‌ها به کمک اتورادیوگرافی ارزیابی می‌شود. مراحل این آزمون عبارتند از:

(الف) آماده‌سازی DNA میکروبی و جداسازی دو رشته‌ی DNA در ژل‌های آگار با استفاده از اندونوکلیازهای محدودالانتر (ب) انتقال آن‌ها به فیلترهای نیترات سلولز

(ج) هیبریداسیون DNA میکروبی یا RNA رادیواکتیو در فیلترها

(د) اتورادیوگرافی به منظور تعیین میزان هیبریداسیون

نکته: این روش برای شناسایی سریع سالمونلا به کار می‌رود.

نکته: مکمل بخشی از یک شاخه‌ی DNA که بازهای آن را می‌شناسیم Probe نامیده می‌شود.

نکته: پلاسمید، DNA خارج کروموزومی است که روی آن ژن‌های مربوط به صفات غیراساسی مثل مقاومت به آنتی‌بیوتیک، تولید توکسین و غیره وجود دارد.

(4) اندازه‌گیری ATP: یکی از ساده‌ترین راه‌های اندازه‌گیری ATP استفاده از سیستم آنزیمی یک حشره می‌باشد. آنزیم لوسیفراز این حشره در حضور ATP نور تولید می‌کند که نور حاصله با استفاده از دستگاه Luminometer و یا اسپکترومتر قابل اندازه‌گیری است. میزان نور تولیدشده با مقدار ATP متناسب است. با جوشانیدن ماده غذایی می‌توان ATP سلولی را استخراج نمود. این روش بیش‌تر در میکروبیولوژی بالینی استفاده می‌شود.

نکته: جهت تخریب ATP غیرمیکروبی از ترکیباتی چون Triton-100 و Apyrase استفاده می‌شود.

نکته: این روش در برخی موارد ممکن است مفید نباشد از جمله غذاهای دریایی که دارای باکتری‌های Bioluminescent مانند *Photobacterium fisheri* و *Vibrio harveye* می‌باشند. زیرا چنین ارگانیسم‌هایی قادر به تولید آنزیم لوسیفراز هستند.

(5) رادیومتری: در این روش به محیط کشت رویشی ارگانیسم‌ها متابولیت‌هایی با کربن نشان‌دار شده  $^{14}C$  افزوده می‌شود. میکروارگانیسم‌ها با استفاده از متابولیت‌های یاد شده،  $^{14}CO_2$  تولید می‌کنند و میزان  $^{14}CO_2$  با استفاده از یک شمارش‌گر رادیواکتیویته اندازه‌گیری می‌شود. زمان تعیین مقدار  $^{14}CO_2$  با تعداد میکروارگانیسم‌ها در محصول نسبت معکوس دارد. این روش بیش‌تر برای تعیین کلی‌فرم‌ها در آب و فاضلاب به کار برده می‌شود.

6) آزمون گلوکورونیداز: از این آزمون برای شناسایی E.coli استفاده می‌شود. 97% از سویه‌های مختلف E.coli قادر به تولید آنزیم بتا- گلوکورونیداز (GUD) هستند. GUD در حضور سوسترای MUG محصولی تولید می‌کند که دارای خاصیت فلوروسانس بوده و در زیر نور سیاه قابل رؤیت می‌باشد.

### دیگر روش‌های شیمیایی

الف) گلوتامات دکربوکسیلاز آنزیمی است که در اشرشیاکلی یافت شده است. حال با فرض این‌که E.coli تنها ارگانوسی است که آنزیم فوق را تولید می‌کند می‌توان آن را در شیر خام و سایر محصولات از این قبیل مورد شناسایی قرار داد.

ب) باکتریوفازهای "Felix 01" در حضور سالمونلا تکثیر می‌یابند. براین اساس روش سریع به منظور تعیین کم‌تر از 5 سالمونلا در هر میلی‌لیتر شیر طی 24 ساعت پس از جمع‌آوری شیر طرح‌ریزی شده است.

### ج) روش‌های ایمونولوژیکی

1) آنتی کورفلورسنت (FA): در این روش اساس کار بر افزودن آنتی‌کور حاوی ترکیبات فلوروسنت به نمونه‌ی مورد نظر استوار می‌باشد. کمپلکس حاصل از ترکیب آنتی‌ژن و آنتی‌کور به دلیل تشعشعات فلوروسنت توسط میکروسکوپ فلوروسنت قابل شناسایی است.

نکته: ترکیبات فلوروسنت در این روش عبارتند از:

1) رودامین B

2) فلوروسین ایزوسیانات

3) فلوروسین ایزوتیوسیانات

نکته: تکنیک FA به دو روش صورت می‌گیرد:

الف) تکنیک FA مستقیم که در این روش آنتی‌ژن و آنتی‌کور اختصاصی که به ترکیب فلوروسنت متصل شده است به کار برده می‌شود.

ب) تکنیک FA غیرمستقیم که در این روش آنتی‌کور همسان فاقد مواد فلوروسنت بوده اما آنتی‌کور دومی به کار برده می‌شود که به ترکیبات فلوروسنت اتصال یافته است.

نکته: تکنیک FA تاکنون بیش‌ترین کاربرد را در تعیین و شناسایی سالمونلاها در مواد غذایی را به خود اختصاص داده

است.

(2) آزمون RIA: در این تکنیک ماده رادیواکتیوی را به یک آنتیژن افزوده سپس اجازه می‌دهند تا این آنتیژن نشان‌دار شده با آنتی‌کور خاص خود واکنش دهد.

نکته: این روش برای شناسایی انتروتوکسین‌ها و توکسین‌ها به کار می‌رود.

نکته: " $I^{125}$ " بیش‌ترین کاربرد را جهت نشان‌دار نمودن آنتیژن‌ها داراست.

(3) آزمون ELISA (EIA): در آزمون EIA از یک آنزیم متصل شده به آنتیژن یا آنتی‌کور استفاده می‌شود که این آنزیم با یک ایزوتوپ رادیواکتیو نشان‌دار شده است.

نکته: موارد کاربرد این آزمون عبارتند از:

(1) تعیین و شناسایی انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی

(2) تعیین و شناسایی توکسین‌های بوتولیسمی

(3) تعیین و شناسایی سالمونلا

(4) تعیین و شناسایی شیگلاها

(5) تعیین و شناسایی ویروس‌ها

(6) تعیین و شناسایی آنتی‌کورهای توکسوپلازما

نکته: تکنیک ELISA همانند و یا حتی بهتر از روش‌های TLC, RIA و HPLC در تعیین مایکوتوکسین‌ها (مخصوصاً آفلاتوکسین‌ها) می‌باشد.

(4) انتشار ژل: روش‌های انتشار ژل به طور گسترده‌ای به منظور شناسایی و تعیین مقدار توکسین‌های باکتریایی و انتروتوکسین‌ها به کار برده می‌شود.

(5) آزمون LIT: از این آزمون برای تعیین و شناسایی سویه‌هایی از E.coli که توکسین پایدار (LT) تولید می‌کنند استفاده می‌شود.

(6) آزمون PIH: این آزمون مشابه LIT می‌باشد اما این آزمون حساس‌تر از آزمون LIT می‌باشد و به LT تخلیص شده نیاز ندارد.

(7) آزمون LPAT: جهت تعیین و شناسایی کلنی‌های E.coli مولد LT به کار برده می‌شود.

(8) هماگلوتیناسیون تراکمی: این آزمون به منظور تعیین و شناسایی انتروتوکسین باسیلوس سرئوس به کار برده می‌شود.

(9) آزمون SRD: این آزمون جهت تعیین و شناسایی سویه‌های انتروتوکسین‌زای استافیلوکوکوس اورئوس به کار برده می‌شود.

## فصل چهارم: فساد میکروبی فراورده‌های غذایی مختلف

فاکتورهایی که بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها در یک ماده غذایی تأثیر گذار هستند عبارتند از

(1) ارتباط متقابل بین میکروارگانیسم‌ها

(2) اثر شرایط محیطی

(3) حالت فیزیکی و ساختار ماده غذایی

(4) خصوصیات شیمیایی ماده غذایی

(5) دما

### اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی مواد قندی

اگر کربوهیدرات‌ها در دسترس باشند بهترین منبع انرژی برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. در این صورت پلی‌ساکاریدها قبل از مصرف توسط میکروارگانیسم‌ها به قندهای ساده جهت مصرف هیدرولیز می‌شوند و مونوساکاریدهای تولید شده مثل گلوکز ممکن است تحت شرایط هوازی به دی‌اکسید کربن و آب اکسید شوند و ممکن است تحت شرایط بی‌هوازی تخمیر شوند که در این صورت شش نوع تخمیر ممکن است اتفاق بیفتد که در جدول زیر به آن‌ها اشاره شده است:

نوع میکروارگانیسم	نوع تخمیر	ترکیبات تولید شده
مخمرها	Alcoholic fermentation	اتانول + $CO_2$
اسید لاکتیک باکتری‌های هموفرمانتیتویو	Simple lactic fermentation	اسید لاکتیک
اسید لاکتیک باکتری‌های هتروفرمانتیتویو	Mixed lactic fermentation	اسید لاکتیک + اسید استیک + اتانول + گلیسرول + $CO_2$
کلی‌فرم‌ها	coliform type of fermentation	اسید لاکتیک + اسید استیک + اتانول + $CO_2$ + $H_2$ + استوئین + بوتاندیول
باکتری‌های پروپیونیک	Propionic fermentation	اسید پروپیونیک + اسید استیک + اسید سوکسینیک + $CO_2$
باکتری‌های بی‌هوازی	Butyric-butyl-isopropyl fermentation	اسید بوتریک + اسید استیک + $H_2$ + $CO_2$

### اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی اسیدهای آلی

این ترکیبات معمولاً توسط میکروارگانیسم‌ها به کربنات‌ها اکسید می‌شوند و این ترکیبات (کربنات‌ها) باعث می‌شوند که محیط کشت خاصیت بازی بیش‌تری پیدا کند. در شرایط هوازی ممکن است اسیدهای آلی توسط film yeasts به طور کامل به  $CO_2$  و آب اکسید شوند. اسیدهای چرب اشباع ممکن است به اسید استیک تجزیه شوند و اسیدهای چرب غیراشباع و یا اسیدهای چرب دارای عامل هیدروکسی در ابتدا به اسیدهای چرب اشباع برای بتا‌اکسیداسیون کامل تغییر شکل می‌دهند.

### اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی اسیدهای آمینه

محصولات	فرآیند شیمیایی
Ketoacid + NH <sub>3</sub>	Oxidative deamination
Hydroxyacid + HN <sub>3</sub>	Hydrolytic deamination
Saturated fatty acid + NH <sub>3</sub>	Reductive deamination
Unsaturated fatty acid + NH <sub>3</sub>	Desaturation deamination (at α and β positions)
Amine + CO <sub>2</sub>	Decarboxylation
Primary alcohol + NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub>	Hydrolytic deamination + decarboxylation
Hydrocarbon + NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub>	Reductive deamination + decarboxylation
Fatty acid + NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub>	Oxidative deamination + decarboxylation

### اثر میکروارگانیسم‌ها بر روی چربی‌ها

میکروارگانیسم‌ها باعث تغییراتی می‌شوند که عبارتند از:

(1) Rancidity: از طریق اتواکسیداسیون چربی‌ها

(2) Acidity: از طریق تولید اسیدهای چرب آزاد

(3) Soapiness (صابونی شدن): که از طریق آزاد شدن اسید میرستیک و اسید لوریک اتفاق می‌افتد.

(4) Off odor

(5) تغییر رنگ چربی و روغن

نکته: میکروارگانیسم‌هایی که دارای آنزیم لیپاز هستند دو نوع می‌باشند. یک نوع از میکروارگانیسم‌ها به وسیله آنزیم لیپاز فقط

باند های 1 و 3 تری گلیسرید را شکسته و یک مونوگلیسرید باقی می‌گذارند. مانند باکتری *Candia lipolytica* نوع دیگر

میکروارگانیسم‌های لیپولیتیک فقط باند 2 را شکسته و یک دی گلیسرید می‌دهند مانند *Ps.fragi* و *Geotrichum*

*candidum*

### فساد میکروبی سبزیجات و میوه‌ها

(1) فساد میکروبی سبزیجات

متوسط ترکیبات در سبزیجات عبارتست از 88% آب، 8/7% کربوهیدرات، 1/9% پروتئین، 0/3% چربی و 0/84% خاکستر.



به همین دلیل باکتری‌ها علت اصلی فساد سبزیجات هستند. پتانسیل O/R نسبتاً بالای سبزیجات سبب می‌شود که انواع هوازی و اختیاری بی‌هوازی مهم‌تر از بی‌هوازی جلوه نمایند. بدین لحاظ اکثر فسادهای باکتریایی سبزیجات ناشی از گونه‌های جنسی اروپینیا می‌باشد. فساد ناشی از این میکروارگانیسم‌ها به فساد نرم باکتریایی (Bacterial Soft Rot) معروف است.

### به نکات زیر توجه کنید:

- علت فساد نرم باکتریایی در سبزیجات *Erwinia carotovora* و *Ps. marginalis* می‌باشند. این باکتری‌ها پکتین‌ها را می‌شکنند و به تبع آن گیاه نرم می‌شود و قوام قارچی پیدا می‌کند و بوی بد و ظاهری مرطوب خود می‌گیرد.
- گونه‌های اروپینیا معمولاً برای رشد به ترکیبات نیتروژنه آلی نیاز ندارند و مقادیر نسبتاً اندک پروتئین‌های سبزیجات برای اعضای این جنس کافی است تا فرایند تخریب ترکیبات گیاهی انجام شود. پکتیناز تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها در واقع یک پروتوپکتیناز می‌باشد چرا که ماده‌ی سیمانی پیکره گیاهان پروتوپکتین است.
- نوعی اندوپلی گالاکتوروناز ترانس المیناز حاصل از اروپینیا سبب نرم شدن بافت انواع سیب‌زمینی می‌شود.
- بسیاری از گونه‌های اروپینیا نظیر *E. carotovera* قادر به تخمیر بسیاری از قندها، الکل‌های موجود در سبزیجات از قبیل رامنوز، سلوبیوز، آرابینوز، مانیتول و غیره می‌باشند.
- با وجود این که بسیاری از گونه‌های اروپینیا در دمای حدود  $37^{\circ}\text{C}$  به خوبی رشد می‌کند اکثر آن‌ها نیز قادر به رشد در دماهای یخچال هستند.
- فساد خاکستری (*Botrytis cinerea* (Gray mold rot) سبب این نوع فساد در سبزیجات می‌شود. در این فساد توسط کپک مذکور یک میسلیموم خاکستری رنگ ایجاد می‌شود. این فساد تحت شرایط رطوبت و دمای بالا به خوبی بروز می‌کند. - فساد ترش (Soar rot, Oospora rot, Watery soft rot): عامل این فساد در سبزیجات *Geotrichum candidum* می‌باشد.
- *Rhizopus soft rot*: عامل این فساد در سبزیجات *R. stolonifor* می‌باشد.

## (2) فساد میوه‌ها

pH میوه‌ها به طور کلی پایین‌تر از محدوده‌ی pH مطلوب برای رشد باکتری‌ها می‌باشد که این مطلب عدم حضور باکتری‌ها به عنوان اولین عوامل مواد فساد در میوه‌ها را توجیه می‌نماید. باکتری‌ها به استثنای انواع گلابی که گاه فساد

اروپینیا را تحمل می‌کنند هیچ اهمیتی در شروع فساد میوه‌ها ندارند. اروپینیا در سطح گلابی شروع به رشد می‌کند چون pH این ناحیه بالاتر از داخل میوه می‌باشد.

نکته: مخمرها به دلیل این‌که در مقایسه با کپک‌ها سرعت رشد بالاتری دارند لذا اغلب این ارگانسیم‌ها در فرایند فساد میوه‌ها شرکت می‌کنند.

نکته: مهم‌ترین مخمرها در بسیاری از فراورده‌های گیاهی به خصوص میوه‌ها عبارتند از: ساکارومایسس، تورولا و رودوتورولا

نکته: مروری بر بعضی فسادها در میوه‌ها و سبزیجات به همراه میکروارگانسیم‌های مولد آن‌ها و محصول عمده‌ای که تحت تأثیر میکروب مربوطه قرار می‌گیرد (جدول 1-3).

### فسادگوشت تازه

گوشت‌ها به دلیل این‌که حاوی مقادیر زیادی از ترکیباتی هستند که برای رشد و تکثیر باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها ضروری می‌باشند از فسادپذیرترین مواد غذایی است.

### میکروارگانسیم‌های متداول جدا شده از گوشت‌ها

محصول	میکروارگانسیم‌های جدا شده
گوشت تازه و سرد شده	<p>Bacteria:</p> <p>Acinetobacter, Moraxella, Pseudomonas, Aeromonas, Alcaligenes and Micrococcus</p> <p>Molds:</p> <p>Cladosporium, Geotrichum, Sporotrichum, Mucor, Rhizopus and Thamnidium</p> <p>Yeasts:</p> <p>Candiada, Torulopsis, Debaryomyces, and Rhodotorula</p>

### انواع فساد گوشت‌ها

#### 1) فساد تحت شرایط هوازی

الف) لزج شدن سطحی: گوشت‌های تازه در صورتی که رطوبت یخچال بالا باشد بیش‌تر دچار فساد باکتریایی خواهند شد تا فساد کپک‌ها که مهم‌ترین مشخصه‌ی این نوع فساد تشکیل اسلایم بر سطح محصول است که در این لایه‌ی لزج میکروارگانسیم‌های مولد اسلایم در کنار یک‌دیگر دیده می‌شوند. Eh نسبتاً زیاد، رطوبت کافی و دمای پایین همه با هم

شرایط مساعدی جهت رشد گروه سودوموناس - آلكالیجنس را در سطح گوشت به وجود می آورند. در صورت شدید بودن آلودگی، کلنی ها به یکدیگر متصل شده ایجاد اسلایم می نمایند که این لایه لزج یکی از عوامل عمده در کاهش قوام گوشت می باشد.

ب) تغییرات در چربی: رنسدیده چربی ها ممکن است به وسیله گونه های لیپولیتیک سودوموناس و آکروموباکتر یا به وسیله مخمرها صورت بگیرد.

ج) ایجاد رنگ های سطحی یا کلنی های رنگی بر روی گوشت:

نوع فساد	میکروارگانیسم عامل
Balck spots	Cladosporium herbarum
White spots	Geotrichum & کریزوسپوریوم
	Sporotrichum carnis
Red spots	Serratia marcescen
Blue color	Ps.syncyanea
Yellow color	Micrococcus spp. & Flavobacterium spp.
Green spots	Penicillium spp.

د) فسفورسانس: این عیب نامتداول توسط باکتری های فسفورسانت یا لومینس مانند گونه های فوتوباکتریوم ایجاد می شود.

ه) Off odors & Off tastes: بوهای نامطلوب ممکن است نتایج رشد باکتری ها، مخمرها و کپک ها بر روی سطح گوشت باشند که قبل از علایم دیگر فساد ظاهر می شوند.

نکته: Acetinomycete ها ممکن است مسئول طعم خاکی (Earthy) در گوشت باشند.

و) Whiskers: وقتی گوشت ها در دماهایی نزدیک انجماد نگهداری می شوند ممکن است میزان محدود رشد میسلیومی بدون اسپورزایی اتفاق بیفتد. معمولاً چنین پدیده ای گونه هایی از کپک های تامنیدایوم، موکور و ریزوپوس می باشند.

نکته: وقتی رطوبت سطحی گوشت برای رشد باکتری ها کافی نباشد و یا زمانی که گوشت حاوی آنتی بیوتیک هایی مانند

تتراسایکلین باشد کپک‌ها به عنوان عامل اصلی در فساد گوشت مطرح خواهند بود. ولی تا هنگامی که باکتری‌ها آزادانه قادر به رشد و تکثیر باشند کپک‌ها هرگز تکثیر و توسعه نمی‌یابند.

## 2) فساد تحت شرایط بی‌هوایی

Souring (الف)

Putrefaction (ب)

Taint (ج)

جدول 3-1

نوع فساد	نوع میکروارگانیسم	محصولات تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها
Bacterial soft rot	Erwinia Carotovora & Ps.marginialis	سبزیجات
Black leg	E.carotovora var carotovora	سیب‌زمینی
زنگ عمومی حبوبات	Xanthomonas phaseoli	حبوبات
Citrus canker	X.campestris	مرکبات
Side slim	P.smarginalis	کاهو
Bacterial speck	Ps.tomato	گوجه فرنگی
Anthracoze (bitter rot)	Colletotrichum musae	موز
Lenticel rot	Gloesporium spp	سیب و گلابی
Crown rot	Colletotrichum musae	موز
Graymold rot	Botrytis cinerea	سبزیجات، انگور و میوه‌ها
Sour rot (oospora rot, watery soft rot)	Geotrichum candidum	سبزیجات
Rhizopu soft rot	R.Stolonifer	سبزیجات
Phytophora rot	Phytophora spp.	سبزیجات

نوع فساد	نوع میکروارگانیسم	محصولات تحت تأثیر میکروارگانیسمها
	Colletotrichum coccodes	
Brown rot	Phytophthora spp.	مرکبات
Alternaria rot	A.tennis	مرکبات
Blue mold rot	Penicillium digitatum	مرکبات
Green mold rot	Penicillium digitatum	مرکبات
Cladosporium rot	C.herbarum	هلو و توت
Dry rot	Fusarium spp.	سیبزمینی
Downy mildew	Plasmopara viticole phytophthora spp.	انگورها
Pineapple black rot	Bremia spp. Thielaviopsis paradoxa	آناناس
Slimy brown rot	Rhizoctonia spp.	سبزیجات
Smut	Aspergillus niger	هلو و زردآلو
Stem end rot	Alternaria citri	مرکبات
	Diplodia natalensis	
Watery soft rot	Sclerotinia sclerotiorum	هویج

#### فساد سیاه استخوان (Bone taint)

نوعی فساد عمقی در ناحیه استخوان ران در لاشه‌های کامل یا شقه شده گاو می‌باشد که عامل آن کلستریدیوم و استرپتوکوکوس می‌باشد. این فساد ممکن است در اثر آلودگی‌های وارده توسط چاقو، خستگی حیوان و سرد کردن نامناسب به‌خصوص در هوای نم‌دار انجام شود.

#### فساد گوشت‌های چرخ شده

از نخستین نشانه‌های ایجاد فساد در گوشت‌های چرخ شده تغییر رایحه است که به دنبال آن چسبندگی خاصی نیز در

گوشت پدید می‌آید این چسبندگی نشانه‌ی تولید اسلایم توسط باکتری‌هایی نظیر سودوموناس، اسینتوباکتر و موراکسلا می‌باشد. این حالت لزجی ناشی از دو عامل است:

(1) رشد توده باکتری‌ها

(2) ضعیف یا ناپایدار شدن ساختمان پروتئین‌های گوشت

نکته: دو مخمر *Candida zeylanoide* و *Candida lipolytica* در فساد گوشت چرخ شده دارای اهمیت به‌سزایی هستند.

### اثر تحریک الکتریکی بر روی میکروارگانسیم‌ها در گوشت

تحریک الکتریکی منجر به تحریک دیواره‌ی لیزوزیم و آزاد شدن کاتاپسین‌ها می‌شود. فعالیت این آنزیم‌ها از یک سو و تخریب لیزوزیم‌ها از سوی دیگر سبب افزایش تردی گوشت می‌شود. تحریک الکتریکی باعث کاهش میکروارگانسیم‌های گوشت نیز می‌شود. البته باکتری‌های  $gr^+$  در برابر تحریک الکتریکی حساسیت بیش‌تری نسبت به انواع  $gr^-$  و اسپورزا دارند.

### نحوه شناسایی فساد در گوشت

الف) روش احیاءرنگ: استفاده از روش احیاء رنگ‌ها خصوصاً رزازورین به منظور تعیین تازگی یا فساد گوشت‌ها تا به امروز همچنان مورد توجه کارشناسان امر قرار دارد گرچه کاربرد این روش (احیاء رزازورین) برای گوشت‌های خام به دلیل فعالیت آنزیمی شدید آن‌ها مناسب نبوده است با این حال توان این روش در تعیین تعداد باکتری‌ها برای گوشت پخته شده به اثبات رسیده است.

ب) تکنیک ERV: این تکنیک در گوشت‌ها روش دیگری است که به کمک آن می‌توان وقوع فساد را در مراحل ابتدایی آن تشخیص داد. این روش بر مبنای مقدار عصاره‌ی فیلتر شده‌ای که از یک نمونه هموژن گوشت به‌دست می‌آید طرح‌ریزی شده است. این تکنیک سبب روشن شدن دو مطلب می‌شود:

(1) در دماهای پایین فساد گوشت به نحوی اتفاق می‌افتد که تغییرات عمده‌ای در ساختمان اولیه پروتئین‌ها پدید نمی‌آورد (فساد میکروبی  $\leftarrow ERV \downarrow$ ) در حالی که اگر هیدرولیز پروتئین‌ها کامل شده باشد میزان ERV زیاد می‌شود.

(2) فساد سبب افزایش ظرفیت آب‌گیری پروتئین‌های گوشت می‌شود.

نکته: در مراحل اولیه فساد گوشت:

pH ↑

تعداد میکروارگانسیم‌ها ↑

ظرفیت آب‌گیری پروتئین‌های گوشت ↓ ← ERV ↑

### فساد جگر کامل

عامل غالب فساد جگر کامل اکسیداتیو باکتری‌های سایکروتروف  $gr^-$  می‌باشند. به دلیل غلظت زیاد کربوهیدرات‌ها در جگر pH آن‌گونه که در فساد گوشت افزایش می‌یابد در فساد جگر افزایش نمی‌یابد.

### فساد گوشت‌های بسته‌بندی شده در خلأ

در بسترهای غیرقابل نفوذ به اکسیژن به دلیل افزایش  $Co_2$  و کاهش Eh شرایط برای رشد اسید لاکتیک باکتری‌ها و بروکوتریکس ترموسفاکتا مهیا می‌شود.

عوامل زیر از جمله مهم‌ترین عواملی هستند که سبب می‌شوند سویه‌های مشخصی از میکروارگانسیم‌ها نقش اصلی در فساد این فراورده‌ها را داشته باشند:

(1) خام یا پخته بودن محصول

(2) غلظت نیتريت

(3) بار نسبی باکتری‌های سایکروتروف

(4) میزان نفوذپذیری کاغذ بسته‌بندی نسبت به اکسیژن

(5) pH فراورده

به نکات زیر توجه کنید:

- pH گوشت در حالت‌های زیر بیش از pH گوشت خام و یا گوشت‌هایی است که دارای رنگ روشن می‌باشند:

(1) گوشت پخته یا نیم‌پز

(2) گوشت‌هایی که در حالت (DED) Dry Firm Dark به سر می‌برند.

(3) گوشت‌هایی که رنگی تیره و کدر دارند.

- وقتی گوشت خام با pH حدود 5/6 در شرایط خلأ بسته‌بندی می‌شود پس از مدتی لاکتوباسیلوس‌ها و سایر

اسیدلاکتیک باکتری‌ها در آن سویه‌ی غالب را تشکیل خواهند داد. اگر گوشت در این شرایط دچار فساد گردد علاوه

- بر افزایش اندکی در pH آن میزان ERV گوشت نیز به طور کل افزایش خواهد یافت.
- غلظت زیاد نیتريت در فراورده‌های گوشتی مانع از رشد بروکوتریکس ترموسفاکتا و باکتری‌های سایکروتروف خانواده‌ی انتروباکتریاسه می‌شود و موجب می‌گردد تا اسیدلاکتیک باکتری‌ها که حساسیت کم‌تری نسبت به نیتريت دارند سویه‌ی غالب را در فلور میکروبی این فراورده‌ها تشکیل دهند.
  - شوانلا با تشکیل سولفومیوگلوبین باعث سبز شدن گوشت‌های بسته‌بندی شده در خلأ می‌گردد.
  - در حالی که خلأ بر محیط حاکم باشد بروکوتریکس ترموسفاکتا نیاز به pH حدو 5/8 و بالاتر دارد.
  - به‌طور کلی می‌توان گفت که کلیه گوشت‌های بسته‌بندی شده در خلأ سالم هستند چراکه به استثنای یرسینیا انتروکولیتیکا و استافیلوکوکوس اورئوس فاقد سایر پاتوژن‌های غذایی می‌باشند. از سوی دیگر اسید لاکتیک باکتری‌ها با کاهش pH مانع از رشد سایر میکروارگانیسم‌ها می‌شوند.
  - ترکیبات فرار در گوشت‌های بسته‌بندی شده در خلأ.

### گوشت طیور و محصولات دریایی

به‌طور کلی لاکتورباسیلوس‌ها و هم‌چنین بروکوتریکس ترموسفاکتا قادر به تولید اسیدهای چرب با زنجیره‌ی کوتاه هستند. این ترکیبات به محصولات فاسد شده بویی تند می‌دهند. در صورتی که  $O_2$  مورد نیاز به اندازه‌ی کافی در دسترس باشد استوئین مهم‌ترین ترکیب معطری خواهد بود که در گوشت‌های خام و پخته شده تولید می‌شود.

نکته: افزودن 2% گلوکز به گوشت‌های خام چرخ شده می‌تواند بدون این‌که بر فلور میکروبی مولد فساد تأثیر بگذارد سبب کاهش pH و به تعویق افتادن تولید اسلایم و بوهای ناخوشایند گردد.

### فساد سوسپس و کالباس

فساد در این محصولات به سه شکل دیده می‌شود:

#### (1) ایجاد اسلایم

اسلایم معمولاً بر سطح خارجی پوششی فراورده‌ها به‌خصوص فرانکفورترها به وجود می‌آید و در مراحل اولیه ممکن است پرگنه‌های پراکنده‌ای در سطح محصول ظاهر شود و در مراحل بعد این پرگنه‌ها به یک‌دیگر پیوسته، لایه‌ی خاکستری رنگ لزجی به وجود می‌آورند که همان اسلایم است. از این لایه می‌توان میکروارگانیسم‌های مختلفی از جمله مخمرها، اسید لاکتیک باکتری‌ها و بروکوتریکس ترموسفاکتا را ایزوله نمود.



## (2) ترش شدن

حالت ترشیدگی معمولاً در قسمت‌های داخلی محصول روی می‌دهد این پدیده نتیجه‌ی فعالیت باکتری‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس‌ها، استرپتوکوکوس‌ها و میکروارگانیزم‌های مشابه می‌باشد. معمولاً منبع اصلی این باکتری‌ها فراورده‌های گوشتی و شیرخشک مصرفی است.

## (3) سبز شدن

ظهور رنگ سبز بیش‌تر در مورد فرآینکفورترها مطرح است ولی ندرتاً در سایر محصولات نیز دیده می‌شود. عامل اصلی بروز این رنگ، گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس و لوکونوستوک می‌باشند. این باکتری‌ها تولیدکننده‌ی پراکسید هستند که این ترکیب بر روی پیگمان‌های رنگی گوشت‌های عمل‌آوری شده اثر گذاشته، سبب بروز رنگ سبز می‌شود. این واکنش زمانی انجام می‌پذیرد که آنزیم کاتالاز در نتیجه‌ی فرایندهای حرارتی و یا در نتیجه‌ی استفاده از نیتريت غیرفعال شده باشد. در نتیجه فقدان کاتالاز،  $H_2O_2$  با رنگ‌دانه‌های گوشت از جمله اکسید نیتريك هموکروژن یا اکسید نیتريك میوگلوبین ترکیب می‌شود و موجب ایجاد پورفیرین اکسید می‌گردد که این ماده سبزرنگ است و عامل ایجاد رنگ سبز در گوشت خواهد بود.

نکته: یکی از مهم‌ترین میکروارگانیزم‌هایی که به کرات از گوشت‌های سبز شده ایزوله گردیده است *L. viridescens* می‌باشد.

نکته: لاکتوباسیلوس سالیماندوس قادر به تحمل دمای یخچال بوده و بدون تولید پیگمان باعث ایجاد اسلایم بر روی سوسیس‌ها می‌شود.

## فساد در گوشت نمک‌سود و عمل‌آوری شده

کپک‌زدگی رایج‌ترین نوع ایجاد ضایعه در این گونه فراورده‌هاست. دارا بودن  $a_w$  پایین و وجود مقادیر نسبتاً زیاد چربی، محیط کم و بیش ایده‌آلی را برای کپک‌ها فراهم می‌سازد. با این حال برخی جنس‌های باکتریایی مانند استرپتوکوکوس، لاکتوباسیلوس و میکروکوکوس نیز می‌توانند در برخی از این فراورده‌ها به‌خوبی رشد نمایند. در این میان *S. faecalis* بیش‌ترین حضور را در چندین نوع از این محصولات نشان داده است. گوشت‌های نمک‌سود شده‌ای که در خلأ بسته‌بندی شده‌اند در معرض ترشیدگی ناشی از فعالیت میکروکوکوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها می‌باشند و در صورت کم بودن میزان نمک و نگهداری آن در دمای  $20^\circ C$  احتمالاً توسط استافیلوکوک‌ها نیز مورد حمله قرار خواهند گرفت.

نکته: فساد در این محصولات غذایی به شکل‌های مختلفی چون پیری شدن بافت (Sourscented) و بالاخره ایجاد بوهای متعفن روی می‌دهد.

### فساد همبرگر

ترش شدن همبرگر در دماهای پایین عمدتاً به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌های سودوموناس، اسینتوباکتر و موراکسلا می‌باشد.

### فساد گوشت طیور

گوشت طیور مهم‌ترین عامل انتقال سالمونلا به انسان می‌باشد. با این حال سودوموناس مهم‌ترین میکروارگانیسمی است که در دماهای پایین سبب فساد این قبیل گوشت‌ها می‌گردد. به همین دلیل تشکیل اسلایم بر سطح لاشه قطعات گوشت طیور شایع‌ترین نحوه‌ی فساد در این نوع محصولات است.

نکته: تترازولیوم معرفی است که از آن می‌توان برای ارزیابی فعالیت میکروارگانیسم‌ها بر سطح لاشه‌ی پرندگان استفاده نمود در این روش محتویات حفره‌ی شکمی را خالی نموده آن‌گاه محلول تترازولیوم را بر سطح لاشه اسپری می‌کنند در نتیجه نقاطی از لاشه که دارای فعالیت شدید میکروبی باشند به رنگ قرمز دیده خواهند شد.

نکته: pH عضله ران بالاتر از pH ماهیچه‌ی سینه می‌باشد به همین دلیل احتمال فساد میکروبی عضله ران بیش‌تر می‌باشد.

نکته: باکتری‌های عمده‌ای که در فساد گوشت‌های طیور سرد شده نقش دارند:

محصول	باکتری‌ها
لاشه‌های خام شکم خالی شده	Ps.fluorescens, Ps.putida, Acinetobacter, Moraxella
گوشت تیره (pH 6/4–6/7)	Acinetobacter, Alteromonas, pseudomonas
گوشت سفید (pH 5/7–5/9)	Pseudomonas and others
گوشت بسته‌بندی شده در فیلم‌های غیرقابل نفوذ به اکسیژن	Microaerophilic bacteria, lactic acid bacteria and others
گوشت بسته‌بندی شده در خلأ	Enterobacter and others

## فساد ماهی‌ها

بدن ماهی‌ها حاوی مقادیر زیادی پروتئین و ترکیبات نیتروژنه است. میزان کربوهیدرات در پیکر آن‌ها ناچیز و نزدیک به صفر می‌باشد ولی مقدار چربی در انواع مختلف آن‌ها متفاوت است. تمام ترکیبات نیتروژنه در پیکر ماهی‌ها به صورت پروتئین نمی‌باشد مثلاً آمینواسیدها از جمله ترکیبات ازته‌ی غیرپروتئینی هستند. هم‌چنین ترکیبات ازته‌ی فرار مانند: آمونیاک، تری‌متیل آمین، کریتین (Creatin)، تورین (Tourin)، بتائین‌ها، اسید اوریک، آنسیرین، کارنوزین و هیستامین از این دسته‌اند.

باکتری‌ها معمولاً در سه نقطه از پیکر ماهی‌های تازه قابل رؤیت هستند:

1) لایه‌ی اسلایم که بر سطح فلس‌های ماهی قرار دارد

2) مجاری عبور آب و آبشش‌ها

3) قسمت‌های داخلی دستگاه گوارش

### به نکات زیر توجه کنید:

- ماهی‌های تازه و منجمد همواره به‌وسیله‌ی باکتری‌ها دچار فساد می‌گردند در حالی که ماهی‌های نمک‌سود یا خشک شده اغلب به‌وسیله‌ی کپک‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند. فلور باکتریایی مولد فساد شامل انواع اسپورزا و میله‌ای گرم منفی نظیر: سودوموناس، اسینتوباکتر، موراکسلا می‌باشد.

- در ماهی‌ها آبشش‌ها حساس‌ترین ناحیه در برابر فساد هستند و بروز بوهای ناخوشایند در این قسمت نخستین نشانه‌های ارگانولپتیکی فساد تلقی می‌گردد.

- باکتری‌ها به آسانی بر روی اسلایم و هم‌چنین روی جلد ماهی رشد و تکثیر می‌یابند. اسلایم حاوی ترکیباتی نظیر موکو پلی‌ساکاریدها، آمینو اسیدهای آزاد، تری‌متیل آمین اکسید، مشتقات پای‌پریدین و غیره است.

- فلس اغلب ماهی‌ها ساختمان اسکروپروتئین دارد که نوعی کراتین می‌باشد و جزء آخرین قسمت‌هایی است که در فساد میکروبی تجزیه می‌گردد.

- اگر فساد در اتمسفری از  $CO_2$  خالص و دمای  $4^{\circ}C$  صورت پذیرد تقریباً در بیش‌تر موارد لاکتوباسیل‌ها فلور غالب را تشکیل خواهند داد.

- فنیل الکل در پیکر ماهی دائماً به وسیله‌ی آکروموباکتر تولید می‌شود.

## فساد صدف ماهی ها

### (1) کروستاسن ها (Crustaceans)

در میان این گروه از موجودات، میگوها و انواع خرچنگها بیشترین مصرف را دارند. برخلاف ماهیها که فاقد هرگونه ذخیره‌ی کربوهیدرات هستند مقدار این ترکیبات در گوشت خرچنگها به حدود 0/5% می‌رسد. براساس گزارش‌های موجود میزان آمینو اسیدهای آزاد در پیکر میگو به مراتب بیش از مقدار آن در گوشت ماهی است که این موضوع ناشی از حضور آنزیم‌های شبه کاتپسین در پیکر میگو و در نتیجه تجزیه سریع پروتئین‌ها می‌باشد.

نکته: در فساد میکروبی گوشت خرچنگها، سودوموناسها به همراه اسینتوباکتر، موراکسلا و گونه‌های مختلف مخمرها، سویه‌های غالب را تشکیل می‌دهند. هرگاه میگوها در دمای صفر درجه سانتی‌گراد دچار فساد شوند پس از گذشت 13 روز گونه‌های مختلف سودوموناس در میان فلور میکروبی مولد فساد، سویه غالب خواهند بود. چنانچه پدیده‌ی فساد در دمای  $5/6^{\circ}\text{C}$  و  $11/1^{\circ}\text{C}$  روی داده باشد، موراکسلا بیشترین جمعیت را دارا خواهد بود ولی اگر این پدیده در درجه حرارت  $16/7^{\circ}\text{C}$  و  $22/2^{\circ}\text{C}$  صورت گرفته باشد پروتئوسها اکثریت خواهند یافت.

نکته: فساد میکروبی در میگوها با افزایش قدرت هیدراتاسیون پروتئین‌ها همراه است.

### (2) مولوسکها (Mollusks)

موجودات قابل بحث در این قسمت عبارتند از: صدف‌های گوشتی، صدف‌های خوراکی، اسکوئید و اسکالوپها. ساختمان شیمیایی این جانوران با ترکیبات پیکر ماهی‌های استخوانی و همچنین خرچنگها متفاوت است. مولوسکها در حالت تازه دارای مقادیر قابل توجهی از کربوهیدراتها هستند ولی میزان کل ترکیبات ازته‌ی آنها کمتر از ماهیها و خرچنگها می‌باشد. میزان اسیدهای آمینه‌ی آزاد نظیر: آرژنین، آسپارتیک، گلوتامیک اسید در بافت ماهیچه‌ای صدفها به مراتب بیش از مقداری است که در بافت عضلانی ماهیها دیده می‌شود. از جمله تفاوت‌های عمده بین ترکیب شیمیایی بدن صدفها و خرچنگها مقدار کربوهیدراتها در پیکر صدفها را می‌توان نام برد.

نکته: در مراحل اولیه فساد، سودوموناسها و گونه‌های مختلف اسینتوباکتر، موراکسلا گسترش بیشتری دارند. در حالی که در مراحل بعدی استرپتوکوکوسها، لاکتوباستوباسیلها و مخمرها سویه‌ی غالب را تشکیل می‌دهند.

نکته: اندازه‌گیری pH معتبرترین تکنیک در تشخیص کیفیت میکروبی صدف‌های خوراکی است:

خوب:  $\text{pH} = 5/9 - 6/2$

غیرطبیعی: pH = 5/8

بوگرفته: pH = 5/5 - 5/7

ترش یا فاسد: pH ≤ 5/2

### فساد تخم پرندگان

آنزیم لیزوزیم موجود در سفیده‌ی تخم‌مرغ بر روی باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است. بعلاوه «کونالبومین» سفیده به ترتیب با آهن و بیوتین کمپلکس تشکیل داده و آن‌ها را از دسترس ارگانیسم‌ها دور نگاه می‌دارند. از سوی دیگر به علت بالا بودن pH (حدود 9/3) سفیده‌ی تخم‌مرغ رشد میکروارگانیسم‌ها در آن دچار وقفه می‌شود. ولی زرده‌ی تخم‌مرغ به علت pH=6/8 و وجود مواد مغذی کافی محیطی مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.

### رایج‌ترین انواع فساد باکتریایی تخم‌مرغ عبارتند از:

- 1) فساد سبز (Green rot): گونه‌های مختلف سودوموناس، خصوصاً سودوموناس فلورسنس
- 2) فساد بی‌رنگ (Colorless rot): سودوموناس و اسپنتوباکتر
- 3) فساد سیاه (Black rot): پروتئوس، سودوموناس و آئروموناس
- 4) فساد قرمز آجری: پروتئوس ولگاریس و پروتئوس اینترمدیوم
- 5) فساد قرمز (Red rot): گونه‌های مختلف سراتیا
- 6) فساد صورتی (Pink rot): سودوموناس

### به نکات زیر توجه کنید:

- گونه‌های مختلف پنی‌سیلیوم و کلاوسوپوریوم در مراحل رشد اولیه باعث Pin-spot molding روی سطح پوسته تخم‌مرغ می‌شوند. ولی در مراحل نهایی به دلیل رشد میسلیوم در داخل تخم‌مرغ لکه‌هایی حاصل می‌شود که در مقابل نور قابل رؤیت هستند به این نوع فساد Fungal rotting می‌گویند. لازم به ذکر است که رشد کپک‌ها در ناحیه‌ی کیسه هوا به دلیل حضور اکسیژن از شدت بیش‌تری برخوردار است.

- سودوموناس گراوئولنس و گونه‌های مختلف پروتئوس عامل فسادی در تخم‌مرغ معروف به "Mustiness" می‌باشند.

- در فساد تخم‌مرغ‌ها از گروه مخمرها فقط جنس تورو لا مشاهده شده است.

- عامل White rot در تخم‌مرغ Clostridium sporogenes می‌باشد.

- طی انبار کردن و نگهداری تخم‌مرغ، آب از سفیده‌ی غلیظ به زرده انتقال یافته سبب رقیق شدن زرده و هم‌چنین چروک خوردن سفیده‌ی غلیظ می‌شود. این پدیده امکان تماس مستقیم زرده را با لایه‌ی داخلی فراهم آورده، موجب آلودگی زرده به ارگانسیم‌ها می‌شود. پس از آلودگی زرده باکتری‌ها در این محیط مغذی رشد می‌کنند که حاصل آن تولید  $H_2S$  و مواد بدبوی حاصل از تجزیه‌ی اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها می‌باشد. در پایان رنگ زرده‌ی رقیق شده، تغییر می‌کند.

- علاوه بر سیستم‌های ضد میکروبی که در فصل دوم ذکر شد (در تخم‌مرغ) سفیده‌ی تخم‌مرغ حاوی «وووترانسفرین» و «اووفلاو و پروتئین» می‌باشد که به ترتیب یون‌های فلزی و ریبوفلاوین را مهار می‌کنند. به‌علاوه سفیده در pH طبیعی (9-10) و در دمای 30 و  $39/5^{\circ}C$  مانع از فعالیت باکتری‌های گرم مثبت و مخمره می‌شود.

## فساد غلات، آرد و فراورده‌های خمیری

### (1) فساد دانه‌های غلات

اگر مقدار کمی رطوبت به دانه‌های غلات اضافه شود یعنی رطوبت بالاتر 12-13% شود کپک‌ها بر روی سطح دانه‌ها رشد خواهند نمود. در صورتی که مقدار رطوبت اضافه شده زیاد باشد تخمیر اسیدی توسط اسید لاکتیک باکتری‌ها و کلی‌فرم‌ها اتفاق خواهد افتاد. این پدیده ممکن است به‌وسیله تخمیر الکلی به‌وسیله مخمرها ادامه یابد. در پایان کپک‌ها و شاید مخمرها سطحی روی سطح رشد خواهند کرد. با وجود این که اگر اسید استیک باکتری‌ها حضور داشته باشند ممکن است الکل را به اسید استیک اکسید کنند و مانع رشد کپک‌ها بشوند.

### (2) فساد آرد غلات

به دلیل خاصیت ضد میکروبی عوامل بی‌رنگ کننده فلور میکروبی آرد نسبتاً پایین است. در شرایط مناسب  $a_w$  فقط برخی از گونه‌های کپک‌ها و باکتری‌های جنس باسیلوس قادر به فعالیت هستند چرا که تعداد زیادی از آن‌ها به دلیل تولید آمیلاز قادر به استفاده از آرد و فراورده‌های آن به عنوان منبع انرژی می‌باشند.  
نکته: گونه‌های فوزاریوم و پنی‌سیلیوم کپک‌های غالب در آرد ذرت می‌باشند.

نکته: کپک‌های متفاوتی قادر به رشد در آردها می‌باشند اما متداول‌ترین آن‌ها عبارتند از گونه‌های اسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، موکور، ریزوپوس و فوزاریوم.

### 3) فساد نان

کپک‌ها متداول‌ترین و بنابراین مهم‌ترین عامل فساد نان و محصولات خمیری هستند.

نوع نقص	کپک عامل
Mold Bread Red	Monilia (Nearospora) sitophila
Bread mold	Rhizopus stolonifer(R.nigricans)

به نکات زیر توجه کنید:

- طنابی شدن در نان به وسیله وارپته‌های موکوئید باسیلوس سوبتیلیس یا *B.licheniformis* که قبلاً *B.panis* و *B.mesentericus* نامیده می‌شدند، ایجاد می‌شود. اسپوره‌های این گونه‌ها قادر به تحمل پخت نان که از  $100^{\circ}\text{C}$  تجاوز نمی‌کند می‌باشند. بنابراین اگر شرایط مناسب باشد این اسپورها جوانه زده و رشد می‌کنند. شرایط طنابی شدن نتیجه کپسوله شدن باسیلوس همراه با هیدرولیز پروتئین‌های گلوتن آرد به وسیله پروتئینازهای میکروارگانیزم و هیدرولیز نشاسته به وسیله آمیلاز جهت تولید قندها که شکل طنابی شدن را تشویق می‌کند می‌باشد. ناحیه طنابی شدن از نظر رنگ زرد تا قهوه‌ای می‌باشد و این ناحیه حالت نرم و چسبناک دارد. در این پدیده ابتدا تغییر بو ظاهر می‌شود سپس تغییر رنگ و در پایان نرم شدن بافت و چسبناکی اتفاق می‌افتد.

- عامل *Serratia marcescens*, (Bloody Bread) Red Bread می‌باشد.

- مخمر قرمز نان، رودوتورولا نامیده می‌شود.

- عامل *chalky Bread* قارچ‌های مخمر مانند *Endomycopsis fibuligera* و *Trichosporon variable* می‌باشند.

نکته: متداول‌ترین مولد شیمیایی مایکوستاتیک که امروزه در خمیرهای نان به کار می‌رود عبارتند از سدیم یا کلسیم پروپیونات به میزان 0/1 و 0/3 درصد میزان آرد مصرفی این مواد جلوی طنابی شدن را نیز می‌گیرند. اسید سوربیک تا حد 0/1% و سدیم دی‌استات تا حد 0/32% نیز به کار می‌روند. روش قدیمی شامل اضافه کردن سرکه یا استات به خمیر یا مالیدن سرکه یا استات روی سطح نان بود.

### 4) فساد کیک‌ها و محصولات خمیری

انواع کیک به دلیل غلظت بالای شکر (محدود شدن آب آزاد) کم‌تر دچار فساد باکتریایی می‌شوند. کپک‌زدگی به عنوان

رایج‌ترین شکل فساد در آن‌ها از طریق میکروارگانیسم‌های موجود در شکر، چاشنی‌ها، مغزها و غیره به وقوع می‌پیوندد.

### الف) انواع فساد در شیر

نوع فساد	میکروارگانیسم عامل
شدن (Ropiness) طنابی شدن	<i>Alcaligenes viscolactis</i>
Burnt or Caramel Flavor	<i>Streptococcus lactis var maltigenes</i>
Barny flavor	<i>Enterobacter oxytocum</i>
Soapiness	<i>Ps.sapolactica</i>
Turnip like flavor	<i>Echerichia coli</i> and <i>Ps.fluorescens</i>
Fruity flavor	<i>Ps.fragi</i>
Potato like flavor	<i>Ps.mucidoleus</i>
Fishiness	<i>Aeromonas hydrophila</i>
Blue milk	<i>Ps.synxanthea</i>
Yellow milk	<i>Ps.synxantha</i>
Red milk	<i>Brevibacterium erythrogenes</i> (red layer) <i>Micrococuss roseus</i> (red sediment)
Brown milk	<i>Ps.putrefaciens</i>

نکته: اساساً اسید لاکتیک باکتری‌ها عامل فساد محصولات خمیری خنک شده تازه می‌باشند.

نکته: عامل باد کردن ماکارونی مرطوب به‌وسیله تولید گاز، *Enterobacter Colacae* می‌باشد.

نکته: عامل ایجاد لکه‌های ارغوانی رنگ در هنگام خشک کردن در محل تماس ماکارونی‌ها با کاغذ گونه‌ای از جنس مونیلیا می‌باشد.

### فساد فرآورده‌های لبنی

فلور میکروبی شیر تحت شرایط مناسب نگهداری و شیردوشی غالباً شامل اسید لاکتیک باکتری‌های  $gr^+$  می‌باشد. فرایند پاستوریزاسیون کلیه‌ی باکتری‌ها به استثنای گونه‌های مقاوم به گرما به‌ویژه استرپتوکوکوس، لاکتوباسیلوس و باکتری‌های اسپورزای جنس باسیلوس را از بین می‌برد. فساد شیرهای پاستوریزه شده به فعالیت استرپتوکوکوس‌های مقاوم به گرما مربوط است، که با تجزیه لاکتوز شیر و تولید اسید لاکتیک باعث نزول pH (تا حد 4/5) و انعقاد شیر



می‌شوند. در دماهای یخچال پروتئولیز ممکن است به‌وسیله باکتری‌های سایکروتروف از قبیل سودوموناس آغاز بشود و سپس کپک‌ها ممکن است ظاهر بشوند. در دماهای یخچال انجام تخمیر اسیدی احتمال بسیار زیادی دارد که ابتدا به‌وسیله استرپتوکوکوس‌ها و باکتری‌های کلی‌فرم و سپس به‌وسیله لاکتوباسیلوس (Acid-tolerant) انجام خواهد شد. سپس کپک‌ها یا مخمرهای سطحی روی سطح اسیدیته را پایین‌تر آورده و اجازه تشکیل اسید بیشتر را خواهند داد. در پایان وقتی که اکثر اسید تولید شده از بین رفت باکتری‌های پروتئولیتیک تجزیه را کامل می‌کنند.

نکته: *Aspergillus repens* باعث دلمه بستن سطح شیرهای کندانسه شیرین می‌شود.

نکته: مخمر تورولا باعث فساد توأم با ایجاد گاز در قوطی‌های شیر کندانسه شیرین می‌شود.

نکته: *Monascus purpurea* مولد کلنی قرمز و ارغوانی روی محصولات لبنی است.

### بیماری‌هایی که از طریق شیر به انسان منتقل می‌شوند

1) سل (Tuberculosis): عامل تولیدکننده این بیماری میکروبی به نام *Mycobacterium tuberculosis* می‌باشد که دارای دو سوش انسانی و گاوی می‌باشد و هر دو سوش به‌عنوان مولد در انسان شناخته شده‌اند.

2) تب مالت (Brucellosis): سه گونه از جنس بروسلا به نام‌های *B. melitensis*, *B. suis* و *B. abortus* می‌توانند این بیماری را به ترتیب در خوک، گاو و گوسفند و بز ایجاد کنند که تقریباً تمامی آن‌ها برای انسان بیماری‌زا می‌باشند. این سه گونه باعث سقط جنین در حیوان شده و برای مصرف‌کننده شیر آن‌ها، موجب تب مالت می‌گردند.

3) تب Q: میکروبی که باعث این بیماری می‌گردد *Coxiella burnetii* نام دارد. این میکروب از طریق حیوانات مبتلا می‌تواند وارد شیر آن‌ها گردد. باکتری فوق بیش از عامل سل به دماهای پاستوریزاسیون مقاوم بوده و به‌خصوص دماهای HTST یعنی  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت 15 ثانیه را تحمل می‌کند. بیماری حالت انگلی داشته و پس از تکثیر در میزبان، تولید تب می‌کند.

4) تیفوئید یا حصبه: مولد این بیماری، باکتری *Salmonella typhi* نام دارد که غالباً شیر به وسیله ناقلین این میکروب به آن آلوده می‌گردد. پاستوریزاسیون کاملاً این میکروب را از بین می‌برد ولی خطر عمده آن در مورد مصرف شیر در تهیه پنیر می‌باشد. از لحاظ استاندارد، پنیری که توسط شیر خام تولید شده باشد، حداقل به مدت 2 ماه پس از تولید باید در انبار نگهداری گردد که این مدت ظاهراً برای از بین بردن این میکروب کافی است.

5) بیماری‌های استرپتوکوکوسی: برخی از انواع استرپتو-کوکوسی‌ها می‌توانند در شیر تکثیر نموده و باعث بیماری

مصرف‌کننده شوند. از مهم‌ترین آن‌ها *Str.pyogens* می‌باشد که باعث ایجاد تب و درد در ناحیه گلو می‌گردد.

### ب) انواع فساد در کره

باکتری‌ها سبب دو نوع فساد کلی در کره می‌شوند:

1) فساد سطحی (Surface taint) که عامل آن سودوموناس پوتریفاسینس می‌باشد. بوی بد ناشی از این نوع فساد ظاهراً به برخی از اسیدهای آلی خصوصاً ایزو والریک مربوط است.

2) رنسدیته (ایجاد بوی تند) که عامل آن سودوموناس فراچی و سودوموناس فلورسنس می‌باشند.

باکتری‌ها قادر به ایجاد فسادهای کمیاب دیگری نیز در کره می‌باشند که عبارتند از:

1) طعم مالتی به واسطه‌ی رشد استرپتوکوکوس لاکتیک وارپته‌ی مالتیجنس

2) بوی اسکانک مانند (Skunk like odor) ناشی از *pse.mephitica*

3) ایجاد لکه‌های سیاه رنگ در کره توسط *Pse.nigrificans*

### ج) انواع فساد در پنیر

رایج‌ترین نوع فساد باکتریایی حالتی است تحت عنوان لزجی دلمه (*Silimy curd*) که گونه‌های مختلف آلکالیجنس به

عنوان مؤثرترین میکروارگانیسم‌های عامل این نوع فساد معرفی شده‌اند.

بادکردگی پنیر به دو صورت است:

1) بادکردگی زودرس (*early blowing*) که ناشی از رشد کلی‌فرم‌ها و مخمرهای تخمیرکننده‌ی لاکتوز می‌باشد.

2) بادکردگی تاخیری (*late blowing*) که ناشی از رشد میکروارگانیسم‌های *Cl.pasteurianum*، *B.polymexa*،

*Cl.sporigenes* و *Cl.butyricum* می‌باشد.

نکته: *Brevibacterium linens* باکتری مولد گندیدگی (مقاوم به نمک) می‌باشد که باعث ایجاد لایه‌ی قرمز مایل به

زرد در روی پنیر می‌شود.

### فساد عسل، قندها و آب‌نبات‌ها

#### الف) فساد در عسل

عسل به دلیل داشتن آنزیم لیزوزیم محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های  $gr^+$  نمی‌باشد. البته گلوکونوباکتر و

لاکتوباسیلوس دو گروه اصلی هستند که در طی تبدیل نکتار به عسل نقش دارند. با این حال عمده‌ترین عامل فساد

عسل‌ها مخمرهای اسموفیلیک نظیر *Zygosaccharomyces mellis* می‌باشند.

### ب) فساد قندها و محلول‌های قندی

تورولا و گونه‌های اسموفیل ساکارومایسس از مواد قندی با رطوبت بالا ایزوله شده‌اند. لوکونوستوک مزنتریودس یکی از باکتری‌های مشکل آفرین در صنعت قند می‌باشد، چرا که پس از هیدرولیز مواد قندی، پلیمری از گلوکز به نام دکستران را تولید می‌نماید. این پلیمر لزج و چسبناک، گاه سبب انسداد خطوط و لوله‌های عبوردهنده‌ی محلول‌های ساکاروز می‌شود. لازم به ذکر است که بعضی از گونه‌های باسیلوس نیز تولید پلیمری از گلوکز به نام لوان (Levan) می‌کنند که مشکلاتی شبیه دکستران را ایجاد می‌کنند.

نکته: در محلول‌های با بریکس 67-72 مخمرهایی نظیر ساکارومایسس، کاندیدا و رودوتورولا رشد می‌نمایند.

### ج) فساد در آب‌نبات‌ها

مخمرها با رشد در آب‌نبات باعث افزایش فشار گاز در داخل آب‌نبات و شکسته شدن آب‌نبات‌ها می‌شوند. این نقص با به‌کارگیری پرکننده‌هایی که محیط مناسبی را برای میکروارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی گاز فراهم نمی‌آورند و به وسیله پوشش دادن آب‌نبات‌ها با لایه‌ای یکنواخت و ضخیم از شکلات جلوگیری می‌شود.

نکته: رشد کلستریدیوم اسپورجنس باعث ازهم پاشیدن بافت شکلات‌های کرم‌دار می‌شود.

### فساد فراورده‌های تخمیری

#### الف) فسادهای ساورکرات

فسادهای عمده این محصول نرم شدن، لزج شدن، پوسیدن و صورتی شدن می‌باشد. نرم شدن ساورکرات در اثر فعالیت زودهنگام باکتری‌هایی که معمولاً رشد و نمو خود را در مراحل نهایی آغاز می‌کنند ایجاد می‌شود. لزج شدن ساورکرات در اثر تشکیل کپسول توسط لاکتوباسیلوس پلانتاریوم و لاکتوباسیلوس کوکومریس در حرارت‌های بالا ایجاد می‌شود صورتی شدن به دلیل رشد مخمری به نام تورولاگلوتینیسیس (*T. glutinis*) در سطح محصول پدید می‌آید.

#### ب) فسادهای خیارشور

1) بادکردگی یا آمدن به سطح ظرف (BLOATER): گونه‌های مختلف انتروباکتر، لاکتوباسیلوس و پدیوکوکوس مسئول بادکردگی خیارشور می‌باشد. این حالت به واسطه‌ی تشکیل گاز در داخل محصول بروز می‌نماید.

(2) نرم شدن بافت خیارشور: این پدیده به دلیل شکسته شدن پکتین موجود در بافت خیار می‌باشد. پکتین به وسیله آنزیم‌های پکتیناز شکسته می‌شود و این آنزیم در مخمرها وجود دارد. بنابراین حضور مخمرها در ظرف تخمیر احتمال نرم شدن بافت خیار را افزایش می‌دهد. بعضی از باکتری‌های جنس باسیلوس هم می‌توانند موجب نرم شدن بافت خیارشور شوند.

(3) سیاه شدن خیارشور: عامل آن گونه‌ای از باسیلوس به نام *B.nigrificans* می‌باشد.

### ج) فسادهای زیتون

(1) فساد زاپاترا: یکی از رایج‌ترین فسادهای میکروبی در زیتون است. این وضعیت که گاهی اوقات در زیتون‌های خوابانده شده در آب‌نمک وقتی که pH بالاتر از 4/2 باشد، روی می‌دهد و به وسیله‌ی بوی نامطلوب تخمیر مشخص می‌گردد. این فساد ممکن است به وسیله گونه‌های کلستریدیوم که به وسیله باکتری‌های پروپیونیک کمک می‌شود ایجاد شود.

(2) نرم شدن زیتون‌های سبز: نرم شدن زیتون‌های سبز توسط مخمرهای رودوتورولا گلوکوتینیس واریته‌ی گلوکوتینیس، رودوتورولا مینوتا واریته‌ی مینوتا و رودوتورولا روبرا به وجود می‌آید. تولید آنزیم‌های پلی‌گالاکتوروناز توسط این ارگانسیم‌ها عامل نرم شدن بافت زیتون است.

(3) پوسته پوسته شدن زیتون‌های رسیده: عامل این پدیده رشد *Cellulomonas flavigena* می‌باشد.

(4) Fish eye در زیتون: عامل این پدیده گونه‌های انتروباکتر می‌باشد.

(5) Yeast spots در زیتون: عامل این پدیده برخلاف نام آن لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس می‌باشند.

نکته: مخمر *Pichia* بر روی زیتون ایجاد لایه سفید رنگ می‌کند.

### د) فساد سرکه

ضایعات ایجاد شده در سرکه بیش‌تر مربوط به ایجاد لزجی زیاد در سرکه و از بین رفتن اسید استیک تولید شده است. بعضی از گونه‌های باکتری‌های سرکه می‌توانند باعث لزجی شوند که گونه استوباکتر استی زیرگونه‌ی زایلینوم احتمالاً از مهم‌ترین آن‌هاست.

### فساد آب‌میوه‌ها و سبزیجات

آب‌های گرفته شده یا استخراج شده از میوه‌ها کم و بیش اسیدی هستند بسته به نوع محصول pH از حدود 2/4 برای لیمو تا 4/2 برای آب گوجه‌فرنگی متفاوت است و تمام آن‌ها دارای قند می‌باشند و مقدار آن از حدود 2 درصد در آب‌لیمو

تا تقریباً 17 درصد در انواع نمونه‌های آب انگور می‌باشد. گرچه کپک‌ها در سطح چنین آب‌هایی رشد می‌کنند اما اگر این آب‌میوه‌ها در معرض هوا و در میزان رطوبت بالا قرار گیرند، مخمرها و باکتری‌ها سریع‌تر رشد می‌کنند. بیش‌تر آب‌میوه‌ها به اندازه کافی اسیدی هستند و قند کافی برای رشد مخمرها دارند و محدوده‌ی درجه حرارت مناسب برای آن‌ها 15/6 تا 35 درجه سانتی‌گراد می‌باشد. کمبود ویتامین B رشد بعضی از باکتری‌ها را مهار می‌کند. بنابراین تغییر طبیعی آب‌میوه‌های خام در حرارت اتاق در مجاورت هوا تخمیر الکلی توسط مخمرها و اکسیداسیون الکلی در میوه‌های اسیدی توسط مخمرهای پوسته‌ای یا کپک‌هایی که در سطح رشد می‌کنند، می‌باشد و اگر باکتری‌های اسید لاکتیک وجود داشته باشند الکل اکسید شده را به اسید استیک تبدیل می‌کنند. انواع مخمرهایی که رشد می‌کنند بستگی به انواع غالب در آب‌میوه و درجه حرارت دارند. اما معمولاً مخمرهای وحشی (Wild) مثل انواع اپی‌کولیت (Apiculate)، با تولید فقط مقدار متوسطی الکل و مقدار قابل توجهی اسید فرار باعث تخمیر اولیه می‌شوند. در حرارت‌هایی نزدیک به 15/6 تا 35 درجه سانتی‌گراد مخمرهای نامطلوب احتمالاً بیش‌تر از آن‌هایی که طعم مطلوب ایجاد می‌کنند، رشد می‌نمایند. در حرارت‌های بالای 32/2 تا 35 درجه سانتی‌گراد احتمالاً لاکتوباسیل‌ها رشد می‌کنند و باعث تشکیل اسیدهای لاکتیک و بعضی اسیدهای فرار می‌شوند. زیرا این حرارت‌ها برای اکثر مخمرها زیاد می‌باشد در حرارت‌های زیر 15/6 سانتی‌گراد مخمرهای وحشی (Wild) رشد می‌کنند اما هرچه درجه حرارت بیش‌تر به طرف انجماد کاهش یابد، احتمال رشد باکتری‌ها و کپک‌ها بیش‌تر از مخمرها می‌باشد حالت اسیدی احتمال دارد توسط مخمرهای پوسته‌ای و کپک‌های روی سطح کاهش یابد.

علاوه بر تخمیر الکلی معمولی در آب‌میوه‌ها ممکن است تغییرات دیگری توسط میکروارگانیسم‌ها ایجاد شوند مانند:

(1) تخمیر اسید لاکتیک قندها که اغلب توسط لاکتوباسیلوس‌های هتروفرومانتیتو مثل لاکتوباسیلوس پاستوریانوس برویس و لوکونوستوک مزنتروئیدس در آب سیب یا آب گلابی و باکتری‌های اسید لاکتیک هموفرمنتاتو مثل لاکتوباسیلوس آرابینوزوز و لیشمانی و میکروباکتریوم ایجاد می‌شود.

(2) تخمیر اسیدهای آلی در آب‌میوه، توسط باکتری اسید لاکتیک مانند: لاکتوباسیلوس، پاستوریانوس، اسید مالیک به اسید لاکتیک و اسیدهای سوکسینیک، اسید کوئینیک (Quinic) به اسید دی‌هایدروشیکیمیک (Dehydroshikimic acid) و اسید سیتریک به اسیدهای لاکتیک و استیک تبدیل می‌شود.

(3) لزجی توسط لوکونوستوک مزنتروئیدس، لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس پلنتاریوم (L.plantarum) در آب سیب و توسط لاکتوباسیلوس پلنتاریوم و استرپتوکوکسی در آب انگور تولید می‌شود.

آب سبزیجات حاوی قند می‌باشد اما کم‌تر از آب‌میوه‌ها اسیدی هستند. اکثراً دارای pH در حدود 5 تا 5/8 می‌باشد. آب سبزیجات دارای مقدار زیادی عوامل رشد جانبی برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشند و باعث رشد باکتری‌های اسید لاکتیک می‌شوند.

تغلیظ آب سبزی و میوه‌ها به دلیل افزایش حالت اسیدیته و غلظت قند برای رشد مخمرها و گونه‌های لوکونوستوک و لاکتوباسیلوس‌های مقاوم به اسید و قند مناسب می‌باشد.

### فساد فرآورده‌های مختلف

مخمر *Zygosaccharomyces baili* عامل ایجاد فساد در سس‌های سالاد، سس گوجه‌فرنگی و نوشابه‌های گازدار می‌باشد. علاوه بر این مخمرهای جنس ساکارومایسس از فساد مایونز، سس سالاد و سس فرانسوی مؤثر هستند. لاکتوباسیلوس برویس متداول‌ترین باکتری عامل فساد در این محصولات است.

نکته: باسیلوس ولکاتوس (*B. vulgatus*) علاوه بر ایجاد رنگ سیاه در سس سالاد موجب جدا شدن فازهای امولسیون از یکدیگر می‌شود.

نکته: کاندیدا و توروپسیس معمولاً عامل فساد نوشابه‌های غیرالکلی می‌باشند.

### فساد غذاهای کنسروی

قبل از شروع بحث لازم است که تقسیم‌بندی غذاها را از نظر pH ذکر کنیم:

(1) غذاهای با اسیدیته کم (Low-acid foods)، با pH بالای 5/2 مانند نخودها، ذرت، گوشت‌ها، ماهی، ماکیان و شیر

(2) غذاهای با اسیدیته‌ی متوسط، با  $4/5 < pH < 5/3$  مانند اسفناج، مارچوبه، چغندرها و کدوتنبیل

(3) غذاهای اسیدی با  $3/7 < pH < 4/5$  مانند گوجه‌فرنگی، گلابی و آناناس

(4) غذاهای با اسیدیته بالا، با  $pH < 3/7$  مانند انواع توت‌ها و ساورکرات

نکته: دلایل عمده فساد مواد غذایی کنسرو شده عبارتند از:

(1) درز داشتن یا نشت قوطی (2) عدم کفایت و نامناسب بودن فرآیند

نکته: فراوری‌کنندگان مواد غذایی، مواد غذایی را از نظر pH به دو دسته تقسیم می‌کنند:  $pH < 4/5$  و  $pH > 4/5$

## فساد غذاهای کنسروی

(sour spoilage) فساد ترش مسطح -	(1) فساد به وسیله	فساد غذاهای کنسروی
TA spoilase -	باکتری‌های ترموفیلیک	
Sulfide stinker یا فساد سولفیدی -	اسپورزا	
فساد بوسيله گونه‌های مزوفیلیک کلاستریدیوم -	(2) فساد بوسيله باکتری‌های	
فساد بوسيله گونه‌های مزوفیلیک باسیلوس -	اسپورزا مزوفیلیک	
	(3) فساد بوسيله باکتری‌های غیراسپورزا	
	(4) فساد بوسيله مخمرها	
	(5) فساد بوسيله کپک‌ها	

### (1) فساد به وسیله باکتری‌های ترموفیلیک اسپورزا

الف) فساد ترشی مسطح (Flat sour spoilage): این فساد به طور عمده در غذاهای با اسیدیته کم ( $pH > 4/5$ ) به وسیله گونه‌های باسیلوس اتفاق می‌افتد. در این فساد ظاهر قوطی در طی ترش شدن محتویات آن به طور نرمال باقی می‌ماند. نکته: B.stearothermophilus که یک ترموفیل اجباری اسپورزا می‌باشد عامل اصلی ترشی مسطح در کنسرو غذاهای با اسیدیته کم می‌باشد.

نکته: B.coagulans (B.thermoacidurace) که ترموفیل اختیاری اسپورزا (Facultative thermophile spore former) می‌باشد عامل اصلی فساد ترشی مسطح در کنسرو گوجه‌فرنگی و آب گوجه‌فرنگی می‌باشد.

نکته: ایجاد Flat sour می‌تواند به این دلایل باشد:

- (1) کنسرو به مدت زیادی در دماهای بالا نگهداری شده است.
- (2) خنک کردن کند کنسروها بعد از خارج نمودن از اتوکلاو

### ب) TA Spoilage (Thermophilic anaerobe spoilage):

عامل اصلی این فساد Clostridium thermosaccharolyticum، باکتری اسپورزا، بی‌هوازی که اسید و گاز تولید

می‌کند می‌باشد.

نکته: در اثر این فساد مزه پنیر ترش ایجاد می‌شود.

ج) فساد سولفیدی: این فساد به وسیله *Cl.nigrificans* و *Cl.bifermentans* ایجاد می‌شود. در اثر این فساد  $H_2S$  که در کنسروهای ذرت و گوجه‌فرنگی تشکیل می‌شود به وسیله بو وقتی که قوطی باز می‌شود مشخص می‌شود. در کنسروهای ذرت لکه‌های سیاه رنگ به صورت شناور در قسمت مایع کنسرو قابل مشاهده هستند در حالی که در کنسروهای نخودفرنگی تغییر رنگ مشاهده نمی‌شود.

## 2) فساد به وسیله باکتری‌های مزوفیلیک اسپورزا

الف) فساد به وسیله گونه‌های کلستریدیوم: در صورتی که pH محتوی کنسرو بالاتر از 4/6 باشد گونه‌های پروتئولیتیک نظیر *Cl.putrefaciens* و *Cl.sporogenes*, *Cl.botulinum* می‌توانند باعث فساد شوند در اثر فعالیت این میکروارگانیسم‌ها از شکسته شدن پروتئین‌ها و تجزیه آن‌ها ترکیبات بدبویی نظیر  $H_2S$ ، مرکاپتان‌ها، آمونیا، ایندول و اسکاتول تشکیل خواهد شد. در اثر این فساد  $Co_2$  و  $H_2$  هم ایجاد خواهند شد که باعث بادکردگی قوطی کنسرو می‌شود. حال در صورتی که pH محتوی کنسرو پایین‌تر از 4/6 باشد گونه‌هایی از کلستریدیوم که تخمیرکننده‌ی قند هستند نظیر *C.pasteurianum* و *C.butyricum* می‌توانند سبب فساد شوند. این میکروارگانیسم‌ها باعث تخمیر اسید بوتیریکی همراه با تولید  $Co_2$  و  $H_2$  و در نتیجه بادکردگی قوطی کنسرو می‌شوند.

ب) فساد به وسیله گونه‌های مزوفیلیک باسیلوس: در کنسرو گوشت‌های عمل‌آوری‌شده ممکن است اسپورگونه‌های *B.subtilis* و *B.mycoides* رشد نمایند چراکه در این کنسروها از نیترات به عنوان یک بازدارنده فعالیت میکروب‌ها استفاده می‌شود که برای جلوگیری از تجزیه آن بایستی از حرارت کم‌تری در به عمل‌آوری این کنسروها استفاده کرد و به همین علت شانس زنده ماندن اسپورهای این گروه وجود دارد. همچنین ممکن است میکروارگانیسم‌ها نیترات را تجزیه کرده و نیاز اکسیژنی خود را تأمین نمایند.

نکته: گونه‌های تشکیل‌دهنده‌ی گاز باسیلوس (*B.macerans* و *B.polymyxa*) ممکن است باعث فساد کنسروهای نخودفرنگی، اسفناج، هلو و گوجه‌فرنگی بشوند.

## 3) فساد به وسیله باکتری‌های غیراسپورزا

این فساد در اثر درز داشتن قوطی کنسرو یا نشت آن ایجاد می‌شود که در این حالت گروه مختلفی از میکروارگانیسم‌ها



می‌توانند باعث فساد شوند.

#### 4) فساد به وسیله مخمرها و کپک‌ها

کنسروهای با اسیدیته بالا توسط مخمرها، کپک‌ها و باکتری‌ها فاسد می‌شوند در صورتی که شرایط فرایند نامطلوب یا قوطی کنسرو دارای درز باشد. معذالک، برخی از ارگانیسیم‌ها در مواد غذایی به‌خصوصی یافت می‌شوند. به عنوان مثال مخمرهای تورو لاکتیس - کندنسی و تورو گلوبوزا عامل باکتریدگی یا فساد توأم با ایجاد گاز در قوطی‌های شیر کندانسه‌ی شیرین بدون فرایند حرارتی گزارش شده‌اند. اسپرژیلوس رپنس موجب دلمه بستن سطح شیرهای کندانسه‌ی شیرین می‌شود.

نکته: لاکتوباسیلوس برویس عامل تخمیر شدید در سس گوجه‌فرنگی و محصولات مشابه است. لوکونوستوک مزتریودس باعث فساد گازدار کمپوت آناناس و لزج شدن کمپوت هلو می‌شوند. کپک بایسوکلامیس فولوا عامل فساد میوه‌های قوطی و شیشه‌گذاری شده می‌باشد. این کپک با تجزیه‌ی پکتین سبب از هم پاشیدن بافت میوه‌جات می‌شود. تورو لاکتاتنا قادر به رشد در  $pH = 2/5$  و ایجاد فساد در لیموترش می‌باشد.

نکته: یکی از راه‌های تشخیص فساد در غذاهای کنسروی بررسی ظاهر ظرف یا قوطی باز نشده است. دو سر قوطی در حالت عادی مسطح یا اندکی مقعر است ولی در صورت فعالیت میکروارگانیسیم‌ها و تولید گاز یک سری تغییرات قابل رؤیت در ظاهر قوطی به‌وجود می‌آید که عبارتند از:

- 1) Filipp: به حالتی اطلاق می‌شود که قوطی پس از حرارت دادن و ضربه خوردن به صورت محدب درآید.
- 2) Springer: یک طرف قوطی متورم است به طوری که اگر انتهای متورم را به سمت داخل فشار دهیم طرف دیگر با تولید صدا به شکل محدب درمی‌آید.
- 3) Soft swell (تورم نرم): به حالتی اشاره دارد که دو انتهای محدب قوطی با فشار انگشت مقعر می‌شود.
- 4) Hard swell (تورم سخت): به حالتی اشاره دارد که دو انتهای محدب قوطی با فشار انگشت به حالت اول بر نمی‌گردد. به طور کلی این تورم در مواد غذایی با اسیدیته بالا بیش‌تر ناشی از تولید گاز هیدروژن می‌باشد.

## فصل پنجم: نگهداری مواد غذایی با استفاده از ترکیبات شیمیایی

### خلاصه‌ای از نگهدارنده‌های شیمیایی GRAS

نگهدارنده‌ها	میزان ماکزیمم	میکروارگانسیم‌های تحت تأثیر قرار گرفته	غذاها
اسید پروپیونیک / پروپیونات‌ها	%0/32	کپک‌ها	نان، کیک‌ها، برخی پنیرها، جلوگیری کننده از طنابی شدن در خمیر نان
اسید سوربیک / سوربات‌ها	%0/2	کپک‌ها	پنیرهای سخت، انجیرها، شرب‌ها، ژله‌ها و کیک‌ها
اسید بنزوئیک / بنزوات‌ها	%0/1	مخمرها و کپک‌ها	مارگارین، سایدرسیب، نوشابه‌ها، کچاب گوجه‌فرنگی
پارابن‌ها	%0/1	مخمرها و کپک‌ها	فرآورده‌های نانوائی، نوشابه‌ها، شوریجات
SO <sub>2</sub>	200-300ppm	حشرات، میکروارگانسیم‌ها	ملاس‌ها، میوه‌های خشک شده، آلبیمو
اتیلن / پروپیلن اکسیدها	700ppm	مخمرها، کپک‌ها، حشرات موذی	ادویه‌جات، مغزها
سدیم دی‌استات	%0/32	کپک‌ها	نان
نیسین	%1	لاکتیک‌ها، کلستریدیوم‌ها	بعضی از پنیرها
اسید دهیدرواستیک	65 ppm	حشرات	به‌عنوان حشره‌کش در توت فرنگی
سدیم نیتريت	120 ppm	کلستریدیوم‌ها	محلول‌های عمل‌آوری گوشت
اسید کاپریلیک	-	کپک‌ها	لفاف‌های پنیر
اتیل فورمات	15-200 ppm	مخمرها و کپک‌ها	مغزها، میوه‌های خشک شده

### (1) اسید بنزوئیک و پارابن‌ها

فعالیت ضد میکروبی اسید بنزوئیک مربوط به مولکول تفکیک نشده‌ی آن است. این ترکیبات حداکثر فعالیت خود را در پایین‌ترین pH مواد غذایی نشان می‌دهند و اساساً در pH خنثی غیر مؤثرند. بنزوات‌ها همانند پروپیونات‌ها و سوربات‌ها از طریق جلوگیری از جذب سلولی مولکول‌های سوبسترا مانع رشد میکروارگانسیم‌ها می‌شوند. مرحله جوانه زدن اندوسپور حساس‌ترین مرحله به بنزوات می‌باشد.

پارابن‌ها استرهای اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک می‌باشند دو استر از این ترکیب به نام‌های متیل پارابن و پروپیل پارابن می‌باشند که به‌طور گسترده در غذاها به‌کار برده می‌شوند. اثر استرهای اسید بنزوئیک با افزایش طول زنجیره‌ی گروه استری افزایش می‌یابد. فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات نسبت به تغییرات pH حساسیت کم‌تری نشان می‌دهد که از این نظر با اسید بنزوئیک تفاوت دارند. این ترکیبات در pH بالای 8 نیز مؤثرند.

نکته: پارابن‌ها بر روی کپک‌ها بیش از مخمرها مؤثرند.

نکته: به‌طور معمول باکتری‌های گرم مثبت از باکتری‌های گرم منفی نسبت به پارابن‌ها حساس‌ترند.

نکته: هپتیل پارابن بر روی باکتری‌های مالولاکتیک مؤثر است.

## (2) اسید سوربیک

اسید سوربیک ( $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{COOH}$ ) در pH کم‌تر از 6 بهترین اثر خود را نشان می‌دهد و به‌طور معمول در pH بالاتر از 6/5 بی‌اثر است. این ترکیب در pH بین 4 تا 6 از بنزوات سدیم مؤثرتر است و در pH برابر 3 و کم‌تر از آن سوربات‌ها از پروپیونات‌ها مؤثرترند اما اثرشان همانند بنزوات سدیم است.

نکته: اسید سوربیک را می‌توان به مقدار بیش‌تری از پروپیونات‌ها بدون ایجاد طعم خاصی در کیک‌ها به‌کاربرد.

نکته: سوربات‌ها علاوه بر تأثیر بر روی کپک‌ها و مخمرها بر علیه دامنه وسیعی از مخمرها مؤثر واقع می‌شوند.

نکته: مقاومت باکتری‌های لاکتیکی به سوربات به‌خصوص در pH 4/5 یا بالاتر باعث استفاده از این ماده به عنوان یک ضدقارچ در فراورده‌های تخمیری لاکتیکی شده است.

نکته: بیش‌ترین استفاده سوربات در مواد غذایی به عنوان یک ضدقارچ در فراورده‌هایی مانند پنیرها، فراورده‌های نانوبی، آب‌میوه‌ها، نوشابه‌ها، سس‌های سالاد و فراورده‌های مشابه است.

نکته: در مورد کپک‌ها علت بازدارندگی، متوقف ساختن فعالیت سیستم‌های آنزیمی دهیدروژناز می‌باشد و سوربات علاوه بر جلوگیری از جوانه‌زدن اندوسپورها از رشد سلول‌های رویشی نیز جلوگیری می‌کند.

نکته: سوربات، بنزوات و پروپیونات همانند اسیدهای لیپوفیلیک طی مکانیسمی مشابه از رشد سلول‌های میکروبی جلوگیری می‌کنند. این مکانیسم با نیروی انتقال پروتون (PMF) در ارتباط است. اسیدهای لیپوفیلیک ضعیف به‌عنوان پروتون فورز عمل می‌کنند بدین صورت که پس از نفوذ از میان غشاء، مولکول تفکیک نشده در داخل سلول یونیزه می‌شود و pH داخل سلولی را پایین می‌آورد. این عمل منجر به تضعیف پتانسیل انتقالی غشاء شده و هم‌چنین بر روی انتقال اسیدهای آمینه در جهت منفی اثر می‌گذارد.

نکته: ترکیب سوربات به اضافه‌ی نیتريت احیاء شده در فراورده‌های گوشتی نه‌تنها به منظور جلوگیری از رشد کلستریدیوم بوتولینوم مؤثر است بلکه بر روی رشد باکتری‌های دیگر مانند استاف اورئوس و کلستریدیوم‌های مولد فساد (3679). P.A نیز اثر می‌گذارد.

## (3) پروپیونات‌ها

این ترکیب عمدتاً به عنوان یک ضدکپک مجاز شناخته شده است و علاوه بر این از اسید پروپیونیک به عنوان عامل

جلوگیری کننده از طنابی شدن در خمیر نان هم استفاده می‌شود.

#### 4) اکسید گوگرد و سولفیت‌ها

انیدرید سولفور و  $(SO_2)$ ، املاح سولفیت سدیم و پتاسیم،  $(SO_3^{2-})$ ، بی‌سولفیت  $(HSO_3^-)$  و متابی‌سولفیت  $(S_2O_5^{2-})$  همگی به صورت مشابهی عمل می‌کنند که گونه‌های یونی غالب اسید سولفور و بستگی به pH محیط دارد. در  $pH < 3$  شکل  $SO_2$  غالب، در  $3 < pH < 5$  شکل  $HSO_3^-$  و در  $pH > 6$  شکل  $SO_3$  غالب می‌باشد.

نکته: استفاده از دی‌اکسید گوگرد و سولفیت‌ها در گوشت‌ها و سایر مواد خوراکی که منبع تیامین هستند به عنوان نگه‌دارنده مجاز نمی‌باشد.

نکته:  $SO_2$  در pH پایین، ممانعت‌کننده از رشد گونه‌های استوباکتر و باکتری‌های لاکتیکی است، به طوری که بدین منظور در غلظت 100-200ppm در آب‌میوه‌ها و نوشابه‌ها مؤثر است.

نکته: اسید استیک باکتری‌ها و اسید لاکتیک باکتری‌ها و برخی قارچ‌ها در مقایسه با مخمرها به انیدرید سولفور حساسیت بیش‌تری نشان می‌دهند.

نکته: کپک‌هایی مانند بوتریتیس را می‌توان روی انگور به وسیله گازدهی متناوب  $SO_2$  کنترل کرد.

نکته: اسید سولفور و تفکیک نشده و یا انیدرید سولفور مولکولی عهده‌دار فعالیت ضد میکروبی است. تقلیل درجه pH محیط از طریق اضافه کردن یک ماده اسیدی موجب افزایش اثر ضد میکروبی انیدرید سولفور می‌شود. فعالیت ضد میکروبی این مواد شیمیایی به علت قدرت احیاء‌کنندگی شدیدی است که به این ترکیبات امکان می‌دهد فشار اکسیژن را به زیر نقطه‌ای که در آن ارگانیس‌م‌های هوازی رشد و تکثیر می‌نمایند، تقلیل دهد. هم‌چنین اثر مستقیم آن بر روی بعضی از سیستم‌های آنزیمی گزارش شده است. علاوه بر این انیدرید سولفور یک سم آنزیمی است و با جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های اساسی از رشد و تکثیر میکرو- ارگانیس‌م‌ها ممانعت به عمل می‌آورد. کاربرد انیدرید سولفور در خشک کردن مواد غذایی به منظور جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی مبتنی بر همین نظریه می‌باشد.

#### 5) نیتريت‌ها و نیترات‌ها

علت استفاده این ترکیبات در عمل‌آوری گوشت به دلایل:

- 1) تثبیت رنگ قرمز گوشت (2) جلوگیری از فعالیت میکروارگانیس‌م‌های عامل فساد (3) جلوگیری از فعالیت میکروارگانیس‌م‌های عامل مسمومیت (4) بهبود طعم می‌باشد.

یون نیتريت در نگه‌داری گوشت‌ها از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. یون نیتريت بسیار فعال بوده و قادر است هم به‌عنوان یک عامل احیاء‌کننده و هم عامل اکسیدکننده عمل نماید. در یک محیط اسیدی یون نیتريت به اسید نیترو یونیزه می‌شود که در طی مراحل بعدی فعل و انفعالات به اکسید ازت (NO) تجزیه می‌گردد. این ترکیب هم در اثر حرارت و هم‌چنین نگه‌داری از بین می‌رود.

نکته: آسکوربات یا اریتروبات باعث احیاء  $No_2$  به NO می‌شوند.

نکته: هیپوفسفیت سدیم مهم‌ترین ترکیب آزمایش شده برای جایگزینی  $No_2$  می‌باشد.

نکته: اگرچه عمل بازدارندگی نیتريت بر روی کلستریدیوم بوتولینوم دارار اهمیت به‌سزایی است، این ترکیبات بر روی باکتری‌های خانواده‌ی انتروباکتریاسه و از جمله سالمونلا و هم‌چنین بر روی باکتری‌های لاکتیک اثری ندارد.

نکته: در برخی کشورها از نیتريت به منظور جلوگیری از تولید گاز توسط کلستریدیوم بوتریکوم و کلستریدیوم تیروبویریکوم در پنیرها استفاده می‌شود. این ماده بر روی سایر کلستریدیوم‌ها از جمله اسپروژنس پرفرینجنس نیز مؤثر واقع می‌شود.

### فاکتور پریگو

اگر نیتريت بعد از اتوکلاو کردن به فراورده اضافه شود مقدار مصرفی مورد نیاز 10 برابر بیش‌تر از افزودن قبل از اتوکلاو خواهد بود، نتایج به دست آمده نشان داد که حرارت دادن محیط کشت به همراه نیتريت ایجاد ماده یا عاملی می‌نماید که قدرت بازدارندگی آن در مقایسه با نیتترات 10 برابر بیش‌تر است این عامل به عنوان فاکتور پریگو شناخته شده است.

### واکنش متقابل عمل آورنده‌ها و سایر فاکتورها

1) افزودن اسکوربات و اریتروبات موجب تثبیت بهتر رنگ (از طریق احیاء  $No_2$  به NO می‌شود) و کاهش نیتروزآمین می‌شود.

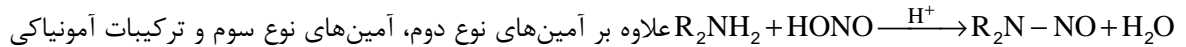
2) افزودن ساکاروز نیز موجب کاهش نیتترات و نیتريت مصرفی می‌شود.

3) افزودن سوربات باعث کاهش املاح مصرفی و تاثیر بهتر و کامل‌تری روی کلستریدیوم بوتولینوم می‌شود و بر روی استاف اورئوس نیز مؤثر است.

### تشکیل نیتروزآمین‌ها

نیتروزآمین‌ها هنگامی تشکیل می‌شوند که نیتريت با آمین‌های نوع دوم وارد واکنش شود. بسیاری از این ترکیبات

سرطان‌زا می‌باشند. روش معمول تشکیل نیتروز آمین‌ها به صورت زیر است:



نوع چهارم نیز تحت شرایط اسیدی با نیتريت واکنش داده و تولید نیتروز آمین می‌نمایند.

نکته: ایزو آسکوربات بر روی تشکیل نیتروز آمین‌ها اثر بازدارندگی دارد.

نکته: در فرانکتورتهای گوشت مرغ مخلوطی از سوربات و بتالائین در ایجاد اثر بازدارندگی بر روی کلستریدیوم پرفرینجنس از سیستم مرسوم به نیتريت مؤثرتر است.

### مکانیسم عمل نیتريت

نیتريت عمل بازدارندگی بر روی کلستریدیوم بوتولینوم را از طریق اختلال در عمل آنزیم‌های آهن- گوگرددار مانند فرودوکسین اعمال می‌دارد و در نتیجه از سنتز آدنوزین تری فسفات (ATP) حاصله از پیرووات جلوگیری می‌کند و در حقیقت باعث اختلال در بعضی از واکنش‌های TCA cycle می‌شود.

نکته: فعالیت آنتی‌بوتولینالی نیتريت به pH، مقدار نمک، دمای گرم‌خانه‌گذاری و تعداد اسپورهای بوتولینوم وابسته است. اسپورهایی که در اثر حرارت آسیب دیده‌اند بیش از اسپورهای آسیب ندیده به اثر بازدارندگی نیتريت حساسند. نیتريت تحت شرایط  $Eh^-$  مؤثرتر از  $Eh^+$  می‌باشد. نیتريت مقاومت حرارتی اسپورها را کاهش نمی‌دهد. فعالیت آنتی‌بوتولینالی این ماده تحت تأثیر آسکوربات قرار نمی‌گیرد. ولی در تشکیل پیگمان به همراه آسکوربات اثر سنیرژیستی نشان می‌دهد. نکته: نیتريت در pH پایین عموماً به صورت اسید نیترو تفکیک نشده وجود دارد. بیش‌ترین میزان تفکیک نشده این ماده و حداکثر فعالیت ضد میکروبی آن در pH بین 4/5 و 5/5 ظاهر می‌شود.

### (5) نمک طعام و قندها

غلظت‌های بالای نمک و قندها باعث ایجاد شرایط هیپرتونیک می‌شود که باعث پلاسمولیز (چروکیدگی) سلول‌های میکروبی می‌شود.

### ترکیبات ضد میکروبی غیر مستقیم

برخی ترکیبات شیمیایی ضد میکروبی که به صورت غیر مستقیم در مواد غذایی استفاده می‌شوند عبارتند از:

(1) آنتی‌اکسیدان‌ها

(2) عوامل طعم‌دهنده

(3) ادویه‌جات و روغن‌های اسانسی

(4) اسیدهای چرب زنجیره متوسط و استرها

(5) اسید استیک و اسید لاکتیک

(6) آنتی‌بیوتیک‌ها

ترکیب	کاربرد اولیه	حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها
BHA	آنتی‌اکسیدان	باکتری‌ها، برخی قارچ‌ها
BHT	آنتی‌اکسیدان	باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها
TBHQ	آنتی‌اکسیدان	باکتری‌ها، قارچ‌ها
PG	آنتی‌اکسیدان	باکتری‌ها
NDHA	آنتی‌اکسیدان	باکتری‌ها
EDTA	پایدارکننده / شلات‌کننده	باکتری‌ها
سیترات سدیم	شلات‌کننده	باکتری‌ها
اسید لوریک	عامل ایجادکننده کف	باکتری‌های $gr^+$
مونولورین	امولسیفایر	باکتری‌های $gr^+$ و مخمرها
دی‌استیل	طعم‌دهنده	باکتری‌های $gr^-$ و قارچ‌ها
D و L-کاروون	طعم‌دهنده	قارچ‌ها، باکتری‌های $gr^+$
فنیل استالدهید	طعم‌دهنده	قارچ‌ها، باکتری‌های $gr^+$
وانیلین، اتیل وانیلین	طعم‌دهنده	باکتری‌ها، قارچ‌ها
ادویه‌جات، اسانس‌های روغنی	طعم‌دهنده	باکتری‌ها، قارچ‌ها

نکته: سودوموناس‌ها به خصوص سودوموناس آئروجینوزا از مقاوم‌ترین باکتری‌ها در برابر آنتی‌اکسیدان‌ها به حساب می‌آیند.

نکته: اثرات ضدقارچی عوامل طعم‌دهنده بیش از اثرات ضد میکروبی آن‌ها می‌باشد. باکتری‌های  $gr^+$  و غیرلاکتیکی

بیشترین حساسیت و باکتری‌های لاکتیکی بیشترین مقاومت را نسبت به این ترکیبات نشان می‌دهند.

نکته: یکی از مؤثرترین ترکیبات مواد طعم‌دهنده دی‌استیل است که ایجاد آرومای کره‌ای می‌نماید. این ترکیب برخلاف اکثر ترکیبات دیگر طعم‌دهنده بر روی باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌ها بیش از باکتری‌های  $gr^+$  مؤثر است. به نظر می‌رسد که دی‌استیل در باکتری‌های گرم منفی از طریق واکنش با پروتئین‌های متصل به آرژنین بر روی مصرف آرژنین اثر آنتاگونیستی داشته باشد. باکتری‌های  $gr^+$  به دلیل فقدان پروتئین‌های اتصالی پری‌پلاسمیک مشابه و دارا بودن مقادیر بیش‌تر از اسید آمینه فعال ذخیره شده در مقابل این ماده مقاوم‌ترند.

نکته: عصاره ادویه‌جات نسبت به خود ادویه‌جات اثر بازدارندگی کم‌تری را در محیط کشت نشان می‌دهند که احتمالاً به دلیل کندی آزاد شدن ترکیبات فرار در ادویه‌جات می‌باشد.

نکته: باکتری‌های  $gr^+$  در برابر ادویه‌جات بیش از باکتری‌های  $gr^-$  حساسیت نشان می‌دهند. در بین گرم مثبت‌ها باکتری‌های اسید لاکتیکی مقاوم‌ترین باکتری‌ها به حساب می‌آیند.

نکته: مریم‌گلی و رزماری برطبق گزارشات محققین مختلف قوی‌ترین اثرات ضد میکروبی را در بین سایر ادویه‌جات نشان می‌دهند.

نکته: در بین اسیدهای چرب اشباع، اسید چرب با طول زنجیر 12 کربن و در بین غیراشباع‌ها (شامل یک پیوند دوگانه)  $C_{16}:1$  و در بین چند غیراشباع‌ها  $C_{18}:2$  بیش‌ترین اثر ضد میکروبی را نشان می‌دهد. معمولاً اسیدهای چرب بر روی باکتری‌های گرم مثبت و مخمرها تاثیر می‌گذارند به طوری که اسیدهای چرب 12-16 کربنه فعال‌ترین اسیدها در مقابل باکتری‌ها و 10-12 کربنه فعال‌ترین اسیدها در برابر مخمرها می‌باشند.

نکته: مونواسترهای گلیسرول و دی‌استرهای ساکاروز اثر ضد میکروبی بیش‌تری نسبت به اسیدهای چرب آزاد نشان می‌دهند و با اسید سوربیک و پارابن‌ها به عنوان مواد ضد میکروبی برابری می‌کنند. مونولورین (لوریسیدین) مؤثرترین مونواستر گلیسرول و دی‌کاپریلات ساکاروز مؤثرترین دی‌استر ساکاروز می‌باشد. مونولورین بر روی انواع باکتری‌های  $gr^+$  و برخی مخمرها اثر بازدارندگی دارد. این ترکیب در دامنه pH بین 5 تا 8 مؤثرتر است.

نکته: اسیدهای آلی در کشتارگاه به منظور شستشو و رعایت موازین بهداشتی لاشه حیوانات استفاده می‌شوند که میزان پاتوژن‌ها را در لاشه حیوانات کاهش داده و مدت زمان نگهداری آن‌ها را افزایش می‌دهند. اسید لاکتیک و اسید استیک به صورت محلول‌های 1 تا 3 درصد استفاده می‌شوند که محلول‌های 1% اغلب بیش‌ترین استفاده را دارند به طوری که در آب سرد و گرم و یا داغ حل شده فوراً بعد از عملیات پوست‌گیری یا پس از آن روی لاشه‌ها اسپری می‌شوند.



## (6) آنتی‌بیوتیک‌ها

## خواص برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها

خصوصیت	ناتامایسین	نیسین	تایلوزین	بوتیلین	تتراسایکلین
به‌طور گسترده در غذاها استفاده می‌شوند.	بله	بله	خیر	خیر	خیر
ساختمان شیمیایی	پلی‌ان	پلی‌پپتید	ماکرولید	پلی‌پپتید	تتراسایکلین
پایداری حرارتی	پایدار	پایدار	پایدار	پایدار	حساس
طیف میکروبی	قارچ‌ها	gr <sup>+</sup>	gr <sup>+</sup>	gr <sup>+</sup>	gr <sup>+</sup> و gr <sup>-</sup>
مصرف پزشکی	بله	خیر	بله	خیر	بله
مصرفی در غذای دام	خیر	خیر	بله	خیر	بله

## به نکات زیر توجه کنید:

- اکثریت انواع مفید آنتی‌بیوتیک‌ها توسط کپک‌ها و باکتری‌های جنس استرپتومایسس تولید می‌شوند.
- نیسین (Nisin) که به‌وسیله لاکتوکوس لاکتیس تولید می‌گردد بیش‌تر به عنوان یک باکتریوسین عمل می‌کند. باکتریوسین‌ها همانند آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیبات شیمیایی هستند که به وسیله میکروارگانیسم‌ها تولید شده و روی سایر میکروارگانیسم‌ها اثر بازدارندگی یا کشندگی دارند اما برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها این اثرات را فقط روی وابستگان نزدیک یک گونه و یا سوش‌های مختلف همان گونه اعمال دارند.
- بیش‌ترین کاربرد نیسین در پنیر می‌باشد. به منظور جلوگیری از فساد پنیر سویسی به‌وسیله کلستری‌دیوم بوتیری‌کوم - انتروکوکوس فکالیس یکی از مقاوم‌ترین باکتری‌های گرم مثبت در مقابل نیسین می‌باشد.
- فرایند حرارتی معمول برای غذاهای کنسروی کم اسید نیاز به F<sub>0</sub> از 6 تا 8 دارد با اضافه کردن نیسین عملیات حرارتی را می‌توان تا F<sub>0</sub> برابر 3 کاهش داد.
- نیسین با تاثیر بر روی سیکل رویشی اندوسپور از رویش آن‌ها جلوگیری می‌نماید.
- نیسین بیش‌ترین پایداری را در غذاهای اسیدی نشان می‌دهد.
- آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌پپتیدی نظیر نیسین، سوبتیلین بر روی باکتری‌های gr<sup>+</sup> از طریق جلوگیری از سنتز مورن دیواره عمل می‌کنند.

- ناتامایسین که از استرپتومایسین ناتالانسیس به دست می آید یک ضدقارچ می باشد و بر روی باکتری ها اثری ندارد.
- آنتی بیوتیک های پلی آن نظیر ناتامایسین از طریق اتصال به استرول های غشایی عمل می کند و موجب اختلال در قابلیت نفوذ انتخابی غشاء می گردد با توجه به این که باکتری ها فاقد استرول های غشایی هستند عدم حساسیت باکتری ها به این ماده توجیه می شود.
- به طور معمول کلروتتراسایکلین مؤثرتر از اکسی تتراسایکلین می باشد. آغشته کردن سطح گوشت های نگهداری شده در یخچال با 7-10 ppm از این مواد منجر به تغییر مدت نگهداری از 3 روز به 5 روز و تغییر فلور میکروبی از باکتری های  $gr^-$  به سمت مخمرها و کپک ها می شود.
- سوبتیلین در غذاهای کنسرو شده به منظور جلوگیری از جوانه زدن اسپورهای رویشی مؤثر است و نحوه عمل آن مشابه نیسین می باشد.
- سوبتیلین توسط سوش های باسیلوس سوبتیلیس تولید می شود ولی از لحاظ ساختمانی مشابه نیسین است.
- ماکرولیدها نظیر تایلوزین از طریق اتصال به واحدهای فرعی ریبوزومی 50s سنتز پروتئین را متوقف می سازد.

### آنتاگونیسم لاکتیکی

باکتری های لاکتیکی روی لاکتوکوکوسی ها، انتروکوکوسی ها، لاکتوباسیل ها، کارنوباکتری ها و پدیوکوکوسی ها دارای یک اثر آنتاگونیستی می باشند. در میان مواد آنتاگونیستیک تولید شده به وسیله باکتری های لاکتیکی، باکتریوسین ها و عوامل مشابه باکتریوسین وجود دارند. این مواد اصولاً از پلاسمید تولید شده، به حرارت مقاوم اند و روی سوش های تولیدکننده خودشان اثری ندارند. بسیاری از این مواد البته نه همه آنها از مواد پپتیدی می باشند که به حرارت مقاوم هستند و در عمل باکتری کش به حساب می آیند. گسترده ترین مطالعات انجام گرفته بر روی کلی سین تولید شده از سوش های اشرشیاکلی بوده است.

نکته: لاکتاسین B توسط برخی سوش های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتاسین F توسط سوش های دیگر همین گونه، هلویتیسین J به وسیله لاکتوباسیلوس هلویتیکوس، پدیوسین به وسیله پدیوکوکوس پنتوزاسوس و پلاتاسین B به وسیله لاکتوباسیلوس پلانتاروم تولید شده است.

نکته: سوش های لیستریا منوسیتوزنز به آنتاگونیسم لاکتیکی حساس می باشند.

نکته: مکانیسم دقیق اثر بازدارندگی میکروبی کشت های لاکتیکی تاکنون روشن نشده است. در بین عوامل شناسایی شده آنتی بیوتیک ها،  $H_2O_2$ ، اسیدهای آلی، کاهش pH، کمبود مواد غذایی، باکتریوسین ها و مواد مشابه باکتریوسین ها عنون

شده‌اند. در حالی که فعالیت باکتریوسین‌های لاکتیکی به نظر به واقعیت نزدیک‌تر است.

### سیستم لاکتوپراکسیداز

این سیستم بازدارنده به‌طور طبیعی در شیر گاو وجود دارد و شامل سه ترکیب لاکتوپراکسیداز، تیوسیانات،  $H_2O_2$  می‌باشد. هر سه ترکیب برای ایجاد اثرات ضد میکروبی لازم‌اند و سرما دوست‌های گرم منفی مانند سودوموناس‌ها کاملاً نسبت به آن حساسیت نشان می‌دهند. هنگامی سیستم لاکتوپراکسیداز در شیر خام فعال می‌شود که مقدار  $0/25 \text{ milmol}$  تیوسیانات به همراه همین مقدار مولی  $H_2O_2$  به محیط اضافه شود که در این صورت مدت ماندگاری از 48 ساعت به 5 روز افزایش خواهد یافت. سیستم مذکور در  $30^\circ\text{C}$  نسبت به  $4^\circ\text{C}$  مؤثرتر است. اثر ضدباکتریایی با افزایش اسیدیته زیاد می‌شود و به نظر می‌رسد که محل اثر ماده در سلول، غشای سیتوپلاسمی است.

### عوامل ضدقارچی برای میوه‌ها

بنومیل: بنومیل به صورت یکنواخت روی تمام سطح میوه‌ها به کار می‌رود و به طور وسیعی به منظور کنترل پوسیدگی سطحی و آنتراکنوز موزها و پوسیدگی انتهایی ساقه مرکبات، Dry rot و Crown rot به کار می‌رود.

دی اکسید سولفور: به منظور جلوگیری از انتشار بوتربیتیس از انگوری به انگورهای دیگر در انبارداری طولانی مدت از  $SO_2$  استفاده می‌کنند.

بی‌فنیل: به منظور کنترل فساد پنی‌سیلیومی مرکباتی که به وسیله کشتی از فواصل دور حمل می‌شوند از بی‌فنیل استفاده می‌کنند. به طوری که به طور معمول پوشش‌های مرکبات با صفحات بین آن‌ها را به این ماده آغشته می‌سازند.

### اتیلن و پروپیلن اکسیدها

این مواد برای میوه‌های خشک، دانه ادویه‌جات و غیره و به طور کلی به عنوان ترکیبات ضدقارچی استفاده می‌شوند. نکته: اکسید اتیلن به عنوان یک گاز استریل‌کننده‌ی ظروف انعطاف‌پذیر و نیمه سخت مورد استفاده در بسته‌بندی استریل مواد غذایی فراوری شده به کار می‌رود.

### سایر نگهداری‌های شیمیایی

1) دی‌استات سدیم: مشتقی از اسید استیک است که در نان و شیرینی‌ها به منظور جلوگیری از رشد و نمو کپک‌ها به کار می‌رود.

- (2)  $H_2O_2$ : این ترکیب همراه با حرارت در پاستوریزاسیون شیر و فراوری شکر به کار می‌رود اما گسترده‌ترین استفاده آن به عنوان یک عامل استریل‌کننده پلیمرهای اولفین و پلی‌اتیلن در سیستم‌های بسته‌بندی استریل می‌باشند.
- (3) اتانول: این ترکیب بیش‌تر در عصاره‌های طعم‌دهنده وجود دارد و اثر نگهدارندگی آن به دلیل خاصیت شدید خشک‌کنندگی و قدرت دناتوراسیون پروتئین آن می‌باشد.
- (4) دهیدرواستیک اسید: این ترکیب جهت نگهداری اسکواش به کار می‌رود.
- (5) دی‌اتیل پیروکربنات: این ترکیب در شراب‌های شیشه‌ای و نوشابه‌ها به عنوان یک بازدارنده‌ی مخمر به کار می‌رود این ماده به‌وسیله هیدرولیز یا الکلیز به اتانول و  $CO_2$  تجزیه می‌شود. گاهی اوقات در اثر مصرف این ترکیب، اورتان تشکیل می‌شود و چون این ترکیب سرطان‌زا است استفاده از دی‌استیل پیروکربنات در بعضی کشورها مجاز شناخته نشده است.
- (6) دود چوب: یکی از مهم‌ترین ترکیبات دود چوب فرمالدئید است این ماده به دلیل واکنش با گروه‌های آمین به صورت یک عامل دناتورکننده پروتئین عمل می‌کند.

## فصل ششم: نگاه‌داری مواد غذایی با استفاده از اشعه

اشعه الکترومغناطیس در نگاه‌داری مواد غذایی از بیش‌ترین اهمیت برخوردار می‌باشد. طیف تشعشعات الکترومغناطیس از لحاظ اهمیت در نگاه‌داری مواد غذایی به صورت ذیل تقسیم‌بندی می‌شود که عبارتند از: میکروویوها، تشعشعات ماوراءبنفش، تشعشعات X، تشعشعات گاما. تشعشعات یونیزه‌کننده از بیش‌ترین اهمیت در نگاه‌داری مواد غذایی برخوردارند. این تشعشعات با طول موج 2000A و یا کم‌تر مشخص می‌گردند؛ نظیر ذرات  $\alpha$ ، اشعه  $\beta$ ، اشعه  $\gamma$ ، اشعه X و اشعه کیهانی.

نکته: با توجه به این‌که تشعشعات بدون نیاز به افزایش درجه حرارت ظاهری می‌توانند میکروارگانیزم‌ها را نابود سازند این فرایند تحت عنوان استریلیزاسیون سرد خوانده می‌شود.

نکته: جلوگیری از جوانه‌زدن و هجوم حشرات موذی از مهم‌ترین دلایل کاربرد اشعه در مواد غذایی می‌باشند.

واحدهای بیانگر شدت اشعه:

$$1 \text{ Rad} = 100 \text{ Erg/gr}$$

$$100 \text{ Rad} = 1 \text{ Gray}$$

$$1 \text{ MRad} = 10 \text{ K Gray}$$

تابش‌های  $g$  (گاما)

تشعشعات الکترومغناطیسی هستند که از هسته‌های برانگیخته شده‌ی عناصری نظیر  $Co^{60}$  و  $Cs^{137}$  ساطع می‌شوند و از اهمیت ویژه‌ای در نگاه‌داری مواد غذایی برخوردارند. این اشعه ارزان‌ترین شکل اشعه جهت نگاه‌داری مواد غذایی است و از قدرت نفوذ بسیار خوبی برخوردار است.

### مکانیسم تخریب میکروارگانیزم‌ها توسط اشعه

1) نوع میکروارگانیزم: باکتری‌های  $gr^+$  نسبت به باکتری‌های  $gr^-$  در مقابل اشعه مقاوم‌تر می‌باشند.

به نکات زیر توجه کنید:

- سودوموناس‌ها و فلاووباکترها حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به اشعه هستند.

- درمیان باکتری‌های اسپورزا باسیلوس لاروا نسبت به اکثر اسپورزاهای هوازی مقاوم‌تر می‌باشد و اسپورهای کلستریدیوم

بوتولینوم نوع A از تمام اسپورهای کلستریدیومی دیگر مقاوم تراند.

- مقاومت برخی از سوش‌های کاندیدا مشابه بعضی از اندوسپورهای باکتریایی می‌باشد.

ترتیب افزایش مقاومت در برابر اشعه‌ها به صورت زیر می‌باشد:

- آنزیم‌ها < ویروس‌ها < مخمرها < کپک‌ها < باکتری‌ها < حشرات < جوانه‌های سیب‌زمینی، پیاز و سیر < انسان

(2) تعداد ارگانسیم‌ها: هنگام استفاده از میزان مشخصی اشعه، با افزایش تعداد سلول‌ها اثر اشعه کاهش می‌یابد.

(3) ترکیب محلول‌های سوسپانسیون (مواد غذایی): به طور کلی وقتی میکروارگانسیم‌ها به صورت سوسپانسیون در

محلول‌های بافر قرار بگیرند در مقایسه با حالتی که در محیط حاوی پروتئین قرار داشته باشند نسبت به اشعه حساس‌تر

خواهند بود.

(4) حضور یا عدم حضور اکسیژن: مقاومت میکروارگانسیم‌ها نسبت به اشعه در غیاب اکسیژن بیش‌تر از حالتی است که

اکسیژن حضور داشته باشد. به‌طور معمول افزودن مواد احیاء‌کننده نظیر ترکیبات سولنیدریل اثر مشابهی در افزایش

مقاومت سلول نسبت به اشعه در یک محیط بی‌هوازی دارد. در حالی که آسکوربات سبب افزایش حساسیت نسبت به

اشعه می‌شود.

(5) حالت فیزیکی ماده غذایی: به‌طور کلی مقاومت سلول‌های خشک نسبت به اشعه بیش‌تر از سلول‌های مرطوب

می‌باشد. مقاومت سلول‌های منجمد در مقابل اشعه بیش‌تر از سلول‌های غیرمنجمد می‌باشد.

(6) سن ارگانسیم: باکتری‌ها در فاز تأخیر (Lag phase) و دقیقاً قبل از تقسیم سلولی بیش‌ترین مقاومت را نسبت به

اشعه از خود نشان می‌دهند. حساسیت سلول‌ها با ورود آن‌ها به فاز لگاریتمی افزایش می‌یابد و در انتهای این فاز مقاومت

آن‌ها به حداقل می‌رسد.

### راداپرتیزاسیون، رادیسیداسیون و رادوریزاسیون مواد غذایی

- راداپرتیزاسیون (استریلیزاسیون سرد)

معادل استریلیزاسیون توسط اشعه و یا به عبارت دیگر استریلیزاسیون تجارتي که در صنعت کنسروسازی مصطلح

می‌باشد، مقدار لازم اشعه برای این منظور 30-40KGray (3-4 MRad) می‌باشد.

نکته: دُز لازم جهت نابودی باسیلوس سرئوس در راداپرتیزاسیون در پنیر و بستنی بین 40-50 KGray می‌باشد.

نکته: استفاده از فرایند تشعشع جهت طرح 12D در گوشت به منظور نابودی کلستریدیوم بوتولینوم اثری بر ذرات

ویروسی نخواهد داشت مگر این که قبلاً ویروس‌ها با روش‌های دیگر نظیر فرایند حرارتی از بین رفته باشند.

#### - رادیسیداسیون (Radicidation)

معادل پاستوریزاسیون می‌باشد. این واژه به معنی کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های زنده‌ی غیراسپورزای بیماری‌زا و غیرمتحرک به جز ویروس‌ها می‌باشد. دُز لازم اشعه برای این منظور 10-2/5 KGray می‌باشد. رادیسیداسیون در گوشت خام طیور از بیش‌ترین اهمیت برخوردار است چرا که اغلب آلوده به سالمونلا می‌باشند و از آن‌جا که فرایند رادیسیداسیون بر محصولاتی که از قبل بسته‌بندی شده‌اند مؤثر است احتمال انتقال آلودگی حذف می‌گردد.

نکته: میزان اشعه تعیین شده از طرف سازمان بهداشت جهانی که در تمام شرایط برای انسان بی‌ضرر است تا 7 KGray (0/7 Mrad) می‌باشد.

#### - رادوریزاسیون (Radurization)

این واژه از طریق کاهش قابل قبول تعداد میکروارگانیسم‌های عامل فساد به کمک اشعه بر کیفیت ماده غذایی دلالت دارد. دز لازم جهت این فرایند 2/5-0/75 KGray می‌باشد.

به نکات زیر توجه کنید:

- باکتری‌های میله‌ای غیراسپورزای گرم منفی که میکروارگانیسم‌های اصلی عامل فساد در فراورده‌های دریایی هستند. حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به اشعه می‌باشند. این باکتری‌ها نسبت به اشعه یونیزه‌کننده حساس‌اند به طوری که به کمک اشعه با دز 2/5 KGray، 99% از کل فلورمیکروبی عامل فساد نابود می‌شوند.

- فساد نهایی مواد غذایی و رادوریزه شده و در انبار سرد نگهداشته شده همواره توسط یک یا چند نوع باکتری اسید لاکتیک، موراکسلا و یا اسینتوباکتر ایجاد می‌شود.

- به‌طور کلی، زمان نگهداری میوه‌های رادوریزه شده کم‌تر از گوشت‌ها و فراورده‌های دریایی رادوریزه شده است چرا که مقاومت کپک‌ها در مقابل تشعشع بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی است و باکتری‌های مذکور عامل فساد فراورده‌های اخیر می‌باشند.

- تخم و لارو حشرات با استفاده از 1 KGray اشعه از بین می‌روند در حالی که سیستمی سرسی‌های کرم کدوی خوک (تنیاسولیوم) و کرم کدوی گاو (تنیا ساجیناتا) با دُزهای کم‌تر اشعه نابود می‌گردند. به‌طوری که می‌توان لاشه‌های حاوی کیست را به کمک 0/2-0/5 KGray اشعه عاری از انگل نمود.

## روش‌های جلوگیری از طعم نامطلوب در مواد غذایی در اثر پرتودهی

(1) انجام پرتودهی در درجه حرارت‌های زیر نقطه انجماد

(2) انجام پرتودهی در شرایط بی‌هوازی

(3) استفاده از Scavengerها برای جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد تولید شده

(4) کاهش دُز پرتودهی

(5) Concurrent radiation distillation

به نکات زیر توجه کنید:

- اسیدهای آمینه آروماتیک حساس‌تر از سایر اسیدهای آمینه می‌باشند و ساختار حلقوی‌شان دچار تغییر می‌شود.
- سیستم حساس‌ترین اسید آمینه نسبت به تشعشع با پرتو الکترونی می‌باشد.
- از بین ویتامین‌های حساس به اشعه ویتامین‌های محلول در چربی به ویژه K به پرتوافکنی حساس‌تراند.
- سطوح بالای پرتودهی باعث ایجاد طعم اشعه به‌خصوص در گوشت می‌شود.
- با انجام پرتودهی میزان ریبوفلاوین، پانتوتنیک اسید و فولیک اسید افزایش می‌یابد احتمالاً این ویژگی به علت آزاد شدن ویتامین‌های اتصال یافته می‌باشد.
- بر روی مواد غذایی که میزان کم اشعه یونیزه را دریافت کرده‌اند برچسب Picowaved زده می‌شود.

## ماهیت مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر اشعه

الف) مقاوم‌ترین باکتری‌های غیراسپورزا در برابر اشعه: کوکسی‌های گرم مثبت نظیر میکروکوکوس، استافیلوکوکوس و انتروکوکسی‌ها می‌باشند.

ب) مقاوم‌ترین باکتری‌های اسپورزا: (1) چهارگونه از دینوکوکوس ( $gr^+$ ) (2) دینوباکتر ( $gr^-$ ) (3) رابروباکتر ( $gr^+$ ) (4) اسینتوباکتر ( $gr^-$ )

نکته: دینوکوکوس رادیوفیلوس مقاوم‌ترین گونه نسبت به اشعه می‌باشد.

نکته: وجود مکانیسم‌های ترمیم اسید نوکلئیک یکی از دلایل مقاومت زیاد برخی از میکروارگانیسم‌ها نسبت به اشعه می‌باشد.



## فصل هفتم: نگهداری مواد غذایی با استفاده از دمای پایین و خصوصیات میکروارگانیسم‌های سایکروتروف

استفاده از دماهای پایین جهت نگهداری مواد غذایی بر این اصل استوار است که فعالیت میکروارگانیسم‌های موجود در مواد غذایی در حرارت‌های بالای انجماد کند و به‌طور معمول در حرارت‌های پایین‌تر از انجماد متوقف می‌گردد، چراکه تمامی واکنش‌های متابولیکی میکروارگانیسم‌ها توسط آنزیم کاتالیز می‌شود و سرعت واکنش‌های آنزیمی نیز به درجه حرارت وابسته است.

### ضریب حرارت $Q_{10}$

$$Q_{10} = \frac{\text{سرعت واکنش در درجه حرارت معین}}{\text{سرعت واکنش در درجه حرارت معین}}$$

$Q_{10}$  در اکثر سیستم‌های بیولوژیکی بین 1/5-2/5 می‌باشد به طوری که به ازای افزایش هر  $10^{\circ}\text{C}$  در دامنه حرارتی مناسب سرعت واکنش دو برابر می‌شود و کاهش هر  $10^{\circ}\text{C}$  نیز سرعت واکنش را به نصف کاهش می‌دهد.

### سایکروتروف‌ها

سایکروتروف به میکروارگانیسم‌هایی گفته می‌شود که قادر به رشد در دماهای بین  $0-7^{\circ}\text{C}$  باشند.

- استنوسایکروتروف: این ارگانیسم‌ها در عرض 5 روز کلنی‌های قابل رؤیت ایجاد می‌کنند و در  $40^{\circ}\text{C}$  قادر به رشد نمی‌باشند. نظیر: سودوموناس فراچی و آئروموناس هیدروفیلا
- اوری سایکروتروف: در عرض 10-6 روز کلنی‌های قابل رؤیت ایجاد نمی‌کنند و در  $43^{\circ}\text{C}$  نیز رشد مناسبی دارند. نظیر: انتروباکتر کلوسه، هافنیا آلویی و یرسینیا انتروکولیتیکا

سایکروتروف‌ها

نکته: میکروارگانیسم‌های سایکروتروف قادر به رشد بر روی محیط غیرانتخابی در حرارت  $43^{\circ}\text{C}$  به مدت 24 ساعت نمی‌باشند این روش یکی از روش‌های جداسازی سایکروتروف‌ها از میکروارگانیسم‌های دیگر می‌باشند.

نکته: میکروارگانیسم‌ها از نظر کاهش دمای مطلوب رشد به ترتیب عبارتند از: تروموفیل‌ها، مزوفیل‌ها، اوری

سایکروتروف‌ها، استنوسایکروتروف‌ها و سایکروفیل‌ها

نکته: کم‌ترین دمای رشد یک میکروارگانیسم در مواد غذایی  $34^{\circ}\text{C}$  - بوده است که مربوط به یک مخمر صورتی می‌باشد.

## انجماد مواد غذایی و اثرات آن

سریع: دمای مواد غذایی در عرض 30 دقیقه به $20^{\circ}\text{C}$ - کاهش می‌یابد.	انجماد
آهسته: درجه حرارت و دمای مطلوب در عرض 27-3 ساعت حاصل می‌شود.	

به نکات زیر توجه کنید:

- در روش انجماد آهسته کریستال‌های بزرگ خارجی سلولی به وجود می‌آیند در حالی که در روش انجماد سریع کریستال‌های کوچک داخلی سلولی حاصل می‌شوند.
- در اثر انجمادزدایی آن دسته از مواد غذایی که با روش انجماد آهسته منجمد شده‌اند شیرابه بیشتری نسبت به مواد غذایی که با روش سریع منجمد شده‌اند از دست می‌دهند.
- Freezer burning در نتیجه از دست رفتن رطوبت سطحی است که در این وضعیت فراورده مورد نظر در نقطه‌ای که دچار تغییر رنگ شده است دارای خلل و فرج بیشتری نسبت به حالت اولیه می‌باشد این حالت برگشت‌ناپذیر است.
- کاهش تعداد سلول‌ها در حرارت نزدیک نقطه انجماد (به‌خصوص در حدود  $2^{\circ}\text{C}$  -) نسبتاً سریع است اما در حرارت پایین‌تر میزان کاهش کم‌تر می‌شود و در پایین‌تر از  $20^{\circ}\text{C}$  - کاهش تعداد میکروب‌ها به کندی صورت می‌گیرد.
- کوکسی‌ها از باکتری‌های میله‌ای  $\text{gr}^{-}$  در برابر انجماد مقاوم‌تر هستند.
- اندوسپورها و توکسین‌های مولد مسمومیت غذایی تحت تأثیر دماهای پایین قرار نمی‌گیرند.
- شرایط اسیدی باعث کاهش مقاومت سلول‌ها در برابر انجام می‌شود.
- حداکثر زمان نگهداری مواد غذایی منجمد براساس میکروبیولوژیکی آن‌ها نمی‌باشد بلکه براساس خصوصیات از قبیل بافت، طعم، تردی، رنگ و کیفیت تغذیه پس از انجماد و پخش مشخص می‌گردد.

## اثرات انجماد

- 1) آبی که منجمد می‌شود آب آزاد خوانده می‌شود. فرایند انجماد باعث تبدیل آب آزاد به کریستال‌های یخ می‌شود. انجماد باعث خالی شدن سلول‌ها از آب قابل مصرف سلولی می‌شود و بدین ترتیب یک عمل آب‌گیری از سلول‌ها انجام می‌شود.
- 2) انجماد منجر به افزایش ویسکوزیته ماده سلولی می‌شود که این امر در نتیجه‌ی تبدیل آب به کریستال‌های یخ اتفاق

می‌افتد.

3) انجماد باعث کاهش گازهای سیتوپلاسمی مانند  $O_2$  و  $CO_2$  می‌شود. کاهش  $O_2$  در سلول‌های هوازی باعث توقف واکنش‌های تنفسی، هم‌چنین افزایش انتشار  $O_2$  باعث افزایش فعالیت‌های اکسیداتیو در سلول می‌شود.

4) انجماد باعث تغییر pH ماده سلولی می‌شود. گزارشاتی نیز مبنی بر افزایش pH در طی انجماد و کاهش pH هنگام انجمادزدایی وجود دارد.

5) انجماد باعث تغلیظ الکترولیت‌های سلول می‌شود.

6) انجماد باعث تغییر حالت کلونیدی پروتوپلاسم سلول می‌شود.

7) انجماد تا حدودی باعث دناتوره شدن پروتئین‌های سلولی می‌شود.

8) انجماد باعث ایجاد شوک حرارتی در برخی میکروارگانیسم‌ها می‌شود.

9) انجماد باعث آسیب متابولیکی به برخی از سلول‌های میکروبی نظیر برخی از گونه‌های سودوموناس می‌شود.

نکته: ویروس‌های عامل بیماری در پا و دهان و عامل ایجاد تریشینوزیس (تریشنیلا اسپیرالیس) قادر به زنده ماندن در حالت انجماد نیستند در حالی که اکثر باکتری‌ها این توانایی را دارا می‌باشند. پروتوزوآها در صورتی که ترکیبات محافظت‌کننده در محیط وجود نداشته باشند به طور معمول در دمای کم‌تر از  $5^{\circ}C$  یا  $10^{\circ}C$  از بین می‌روند.

### اثرات انجمادزدایی

هرچه سرعت انجمادزدایی بیش‌تر باشد تعداد باکتری‌های زنده مانده بیش‌تر خواهد بود. این نکته قابل توجه است که

انجمادزدایی اصولاً آهسته‌تر از انجماد صورت می‌گیرد به همین دلیل انجمادزدایی اثرات مخرب بیش‌تری دارد.

نکته: اگر انجمادزدایی به طور خیلی آهسته انجام شود فرصت کافی برای وقوع واکنش‌های شیمیایی، کریستالیزاسیون مجدد و حتی رشد میکروبی فراهم خواهد شد.

نکته: یکی از اثرات انجمادزدایی بافت‌های حیوانی آزاد شدن آنزیم‌های لیزوزومی نظیر کاتپسین‌ها، نوکلئازها، فسفاتازها،

گلیکوزیدازها و غیره است. هنگامی که این آنزیم‌ها آزاد شوند منجر به تجزیه ماکرومولکول‌ها شده و بدین ترتیب

ترکیبات ساده‌تری که به راحتی مورد استفاده‌ی میکروارگانیسم‌های عامل فساد قرار می‌گیرند در دسترس آن‌ها واقع

می‌شوند.

## برخی خصوصیات سایکروتروفها و سایکروفیلها

### (1) افزایش اسیدهای چرب غیراشباع

اکثر سایکروتروف لیپیدهای خنثی سنتز می‌کنند و هنگامی که این ارگانیسیم‌ها در دمای پایین رشد می‌کنند نسبت به رشد در دمای بالاتر فسفولیپیدهای غشای سلولی آن‌ها اسیدهای چرب غیراشباع بیش‌تری دارند. افزایش درجه غیراشباعی اسیدهای چرب منجر به کاهش نقطه ذوب چربی می‌شود. به نظر می‌رسد که افزایش بیش‌تر اسیدهای چرب غیراشباع در دمای پایین باعث نگهداری چربی در حالت مایع و متحرک می‌گردد که به این وسیله به غشاء سلولی اجازه‌ی ادامه‌ی فعالیت داده می‌شود. این اثر به عنوان «تئوری استحکام چربی» مشهور است.

نکته: برخلاف اکثر سایکروتروفها، میکروکوکوس کریوفیلوس در عکس‌العمل نسبت به دماهای پایین متحمل کوتاه شدن طول زنجیر اسیدهای چرب ساختمان لیپیدی می‌گردد که این امر به ظاهر نقطه‌ی ذوب لیپیدهای غشایی آن را کاهش می‌دهد.

نکته: براساس پدیده‌ی شوک سرد (Cold shock) به محض کاهش ناگهانی دمای سوسپانسیون حاوی مزوفیل‌های در حال رشد و در دمای مناسب اغلب آن‌ها از بین می‌روند. این پدیده مختص باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. شوک سرد همراه با آزاد شدن محتویات سلولی که وزن مولکولی پائینی دارند صورت می‌گیرد و احتمال می‌رود که این اثر منجر به آسیب به غشاء پلاسمایی شود. سرد کردن ناگهانی منجر به انجماد برخی از لیپیدهای غشایی شده که در نتیجه آن محتویات سلولی به طور ناگهانی آزاد می‌شوند و به دنبال آن حفراتی در غشاء پدید می‌آید این پدیده باعث ایجاد شوک سرد می‌شود.

نکته: دامنه‌ی دمایی رشد یک ارگانیسیم بستگی به توانایی آن ارگانیسیم در تنظیم سیالیت چربی در دامنه مشخص دارد.

### (2) سایکروتروفها مقادیر زیادی از پلی‌ساکاریدها را سنتز می‌کنند

تولید دکستران‌های خارج سلولی به‌وسیله‌ی گونه‌های لوکونوستوک و پدیوکوکوس در دماهای پایین‌تر از دمای اپتیمم رشد این میکروارگانیسیم‌ها صورت می‌گیرد. تولید بیش‌تر دکستران در دماهای پایین بر مبنای این واقعیت است که دکستران سوکراز در دماهای بالای 30°C بسیار سریع غیرفعال می‌شود.

### (3) تشکیل پیگمان تقویت می‌شود

بهترین مثال برای این پدیده تولید پیگمان به‌وسیله سراتیامارسنس می‌باشد. این ارگانیسیم آنزیمی حساس به حرارت

تولید می‌کند که جفت شدن یک منوپیرول و بی‌پیرول را به منظور تشکیل پرودیژوسین (پیگمان قرمز رنگ) کاتالیز می‌نماید. این پدیده در مورد مخمرها نیز صدق می‌کند. از طرف دیگر هیچ‌کدام از گرمادوست‌هایی که عمدتاً مورد مطالعه قرار گرفته‌اند تولیدکننده پیگمان نبوده‌اند.

#### 4) برخی سوش‌ها، سوبسترا را به روش‌های مختلفی مصرف می‌نمایند

تخمیر قند در دمای زیر  $30^{\circ}\text{C}$  اسید و گاز و در دمای بالای  $30^{\circ}\text{C}$  فقط اسید تولید می‌نماید.

### اثرات دماهای پایین بر روی مکانیزم فیزیولوژیک میکروبی

#### 1) سایکروتروف‌ها سرعت متابولیسم کندتری دارند

کاهش سرعت سنتز پروتئین‌ها، بدون تغییر در میزان DNA ممکن است با کاهش دما صورت گیرد. یکی از دلایل این امر ممکن است با کاهش دما صورت گیرد. یکی از دلایل این امر ممکن است افزایش باندهای هیدروژنی داخل مولکولی باشد که در دماهای پائین صورت می‌گیرد و منجر به افزایش تاخوردگی آنزیم و به دنبال آن کاهش فعالیت کاتالیتیکی آنزیم می‌شود. همچنین ممکن است در دماهای پایین صحت عمل mRNA در مدت سنتز پروتئین تحت تأثیر قرار گیرد. در اشرشیاکلی عدم تشکیل پلی‌زوم به هنگام کاهش دما به پایین‌تر از حداقل دمای رشد آن به صورت معکوس بر روی سنتز پروتئین‌ها اثر می‌گذارد.

#### به نکات زیر توجه کنید:

- حداقل دمای رشد ارگانیسم‌ها ممکن است به‌واسطه‌ی ساختار آنزیم‌ها، غشاء سلولی و همین‌طور سنتز آنزیم تعیین شود.

- عدم تولید آنزیم‌ها در دماهای بالا توسط سایکروتروف‌ها به ظاهر ناشی از غیرفعال شدن واکنش‌های سازنده آنزیم است تا غیرفعال شدن خود آنزیم.

- مولکول‌های effector مولکول‌های کوچکی می‌باشند که بر روی عمل آنزیم اثر بازدارندگی دارند.

- پروتئین Allosteric مولکولی است که دو مکان اتصال دارد یک مکان فعال که با سوبسترا باند می‌شود و دیگری مکان Allosteric که با بازدارنده باند می‌شود.

## 2) غشای سلولی سایکروتروفها محلولها را به کارایی بیش تری منتقل می کند

به محض کاهش دمای رشد مزوفیلها به دامنه دمایی سایکروتروفها جذب محلولها کاهش می یابد. حداقل دمای رشد مزوفیلها از طریق دمایی که در آن مکانیسمهای انتقال غیرفعال می گردند تعیین می شود. سه مکانیسم اصلی که به وسیله آنها دمای پایین روی جذب محلولها اثر می گذارد عبارتند از:

الف) غیرفعال شدن پروتئینهای پرمیاز

ب) تغییرات در ساختمان مولکولی غشای سیتوپلاسمی که از عمل پروتئین پرمیاز ممانعت می کند.

ج) کاهش انرژی لازم برای انتقال فعال محلولها

نکته: سیستم انتقال قند مقاوم به سرما شاخص ترین خاصیتی است که صفت مناسبی برای سایکروتروف بودن می باشد.

## 3) برخی سایکروتروفها سلولهای بزرگ تری تولید می کنند

مخمرها و کپکها تحت شرایط سایکروتروفی در مقایسه با شرایط مزوفیلی سلولهای بزرگ تری تولید می نمایند.

## 4) کارایی بیش تر در سنتز تاژک

## 5) هوادهی به طور قابل ملاحظه ای رشد سایکروتروفها را تقویت می نماید

ماهیت مقاومت حرارتی کم سایکروتروف

1) بسیاری از آنزیمهای تنفسی در حداکثر دمای رشد انواع مختلف سایکروتروفها غیرفعال می شوند.

2) قرار دادن برخی از سایکروتروفها در دمای بالاتر از حداکثر رشدشان مشخص نموده که مرگ سلولی در اثر خروج

ترکیبات مختلف درون سلولی به خارج سلول رخ می دهد.

## فصل هشتم: نگهداری مواد غذایی به وسیله حرارت و بررسی خصوصیات میکروارگانیسم‌های ترموفیل

### پاستوریزاسیون

هدف از پاستوریزاسیون از بین بردن کلیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (نظیر پاستوریزاسیون شیر) و یا از بین بردن یا کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های عامل فساد در برخی از مواد غذایی است. پاستوریزاسیون شیر به دو صورت عمده انجام می‌شود که عبارتند از:

(1) پاستوریزاسیون در دمای  $62/8^{\circ}\text{C}$  به مدت 30 min (LTLT)

(2) پاستوریزاسیون در دمای  $71/7^{\circ}\text{C}$  به مدت 15 sec (HTST)

نکته: در گذشته پاستوریزاسیون شیر به روش LTLT در دمای  $61/7^{\circ}\text{C}$  انجام می‌شود به دلیل این که شاخص پاستوریزاسیون نابودی عامل باکتری سل یعنی *Mycobacterium tuberculosis* بود در حالی که روش جدید LTLT در دمای  $62/8^{\circ}\text{C}$  انجام می‌شود به دلیل این که امروزه شاخص پاستوریزاسیون عامل تب Q یعنی *Coxiella burnetti* می‌باشد.

## فاکتورهای مؤثر در مقاومت حرارتی

### میکروارگانیسم‌ها

#### (1) آب

کاهش رطوبت باعث افزایش مقاومت حرارتی سلول‌ها می‌شود. حرارت دادن پروتئین‌های مرطوب سبب تشکیل گروه‌های SH آزاد شده، ظرفیت اتصال به آب پروتئین‌ها را افزایش می‌دهد. وجود آب موجب شکسته شدن پیوندهای پپتیدی در اثر حرارت می‌گردد. انجام این واکنش در غیاب آب نیاز به انرژی و در نتیجه حرارت بیشتری دارد.

#### (2) چربی

در حضور چربی‌ها، مقاومت حرارتی برخی از میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌یابد. اسیدهای چرب زنجیر بلند اثر محافظت‌کنندگی بهتری نسبت به اسیدهای چرب زنجیر کوتاه برخوردارند.

### (3) نمک‌ها

برخی از نمک‌ها با کاهش  $a_w$  باعث افزایش مقاومت حرارتی سلول‌ها می‌شوند و برخی دیگر مانند L-گلوتامین، L-پرولین و پلی‌فسفات‌ها با افزایش  $a_w$  باعث کاهش مقاومت حرارتی سلول‌ها می‌شوند.

### (4) کربوهیدرات‌ها

وجود قندها در سوسپانسیون‌ها سبب افزایش مقاومت حرارتی میکروارگانیسم‌های موجود در آن می‌شود. این اثر تا اندازه زیادی مربوط به کاهش فعالیت آبی محیط از طریق افزایش غلظت قندهاست.

در فعالیت‌های آبی یکسان اثر قندها بر روی مقاومت حرارتی میکروارگانیسم‌ها به صورت زیر می‌باشد:

گلیسرول > فروکتوز > سوربیتول > گلوکز > ساکاروز

### (5) pH

در pH اپتیمم رشد که به‌طور معمول حدود 7 است. میکروارگانیسم‌ها بیش‌ترین مقاومت حرارتی را از خود نشان می‌دهند. پاستوریزاسیون حرارتی سفیده‌ی تخم‌مرغ نمونه‌ای از فرآورده غذایی قلیایی است که قبل از اعمال فرایند حرارتی، pH آن به حد خنثی رسانیده می‌شود. این حساسیت در هیچ ماده غذایی دیگر دیده نمی‌شود. پاستوریزاسیون تخم‌مرغ در دمای  $60-62^{\circ}\text{C}$  به مدت 3/5-4 min انجام می‌شود. افزودن نمک‌های آلومینیوم و آهن پایداری کونالومین، پروتئین بسیار حساس به حرارت تخم‌مرغ، را به اندازه‌ای افزایش می‌دهد که پاستوریزاسیون  $60-62^{\circ}\text{C}$  را تحمل نماید. مقاومت حرارتی باکتری‌ها در سفیده تخم‌مرغ مایع برخلاف دیگر مواد در pH 5/4-5/6 بیش‌تر از pH 8/5-8 است. البته در صورتی این امر صادق است که pH توسط اسیدی نظیر HCl کاهش یابد. اما وقتی از اسیدهای آلی نظیر اسید استیک و اسید لاکتیک به منظور کاهش pH استفاده گردد مقاومت حرارتی کم می‌شود.

### (6) پروتئین‌ها و مواد دیگر

پروتئین‌ها در فرایند حرارتی اثر محافظت‌کنندگی روی میکروارگانیسم‌ها دارند.

### (7) تعداد میکروارگانیسم‌ها

با افزایش تعداد ارگانیسم‌ها در محیط مقاومت حرارتی بیش‌تر می‌شود.



### 8) سن میکروارگانیسم‌ها

سلول‌های باکتری در فاز سکون (سلول‌های پیر) و فاز لگاریتمی به ترتیب از بیش‌ترین و کم‌ترین مقاومت حرارتی برخوردارند. اسپوره‌های پیر مقاومت حرارتی بیش‌تری از اسپوره‌های جوان دارند.

### 9) دمای رشد

با افزایش دمای اینکوباسیون، مقاومت حرارتی میکروارگانیسم‌ها نیز زیاد می‌شود.

### 10) ترکیبات ممانعت‌کننده

وقتی فرایند حرارتی در حضور آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم به حرارت،  $SO_2$  و دیگر ممانعت‌کننده‌های میکروبی انجام می‌گیرد مقاومت حرارتی میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد.

### مقاومت حرارتی نسبی میکروارگانیسم‌ها

باکتری‌های  $gr^+$  مقاوم‌تر از باکتری‌های  $gr^-$  هستند. هم‌چنین کوکسی‌ها از میله‌ای غیراسپورزا مقاوم‌ترند. در بین اسپوره‌های غیرجنسی کپک‌ها، اسکروتیاها از بیش‌ترین مقاومت حرارتی برخوردار هستند و گاهی اوقات در کنسرو میوه‌ها زنده مانده و مشکل‌آفرین می‌باشند.

فاکتورهای مؤثر در مقاومت حرارتی اسپورها و اندوسپورها عبارتند از: 1) آب‌زدایی از پروتوپلاست 2) مینیرالیزاسیون 3) سازگاری حرارتی که آب‌زدایی و تقلیل میزان پروتوپلاست فاکتور اصلی در مقاومت حرارتی اسپورها هستند.

### تخریب حرارتی میکروارگانیسم‌ها (TDT) Thermal Death Time

مقدار زمان لازم برای نابودکردن تعداد مشخصی از میکروارگانیسم‌ها در یک دمای معین

### (TDP) Thermal Death Point

دمای لازم برای از بین بردن تعداد مشخصی از میکروارگانیسم‌ها در زمان ثابت (به طور معمول 10 دقیقه)

### $D_{value}$ (زمان کاهش لگاریتمی)

زمان لازم برای از بین بردن 90% از میکروارگانیسم‌ها در یک درجه حرارت معین یا زمان لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی در نمودار Survivor curve می‌باشد.

$$D = \frac{1}{\text{شیب منحنی مرگ حرارتی}}$$

نکته: میزان  $D_{value}$  در دمای  $250^{\circ}F$  با  $D_r$  نشان داده می‌شود.

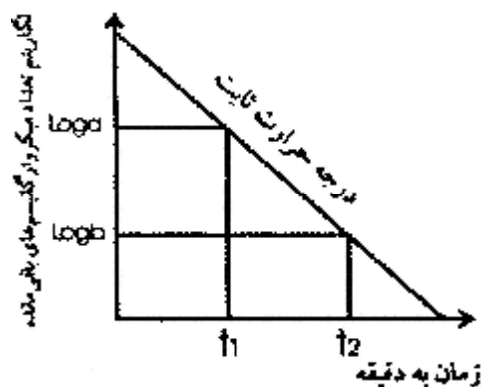
نکته: مقاومت حرارتی تقریبی اسپور ارگانیس‌های عامل فساد گرمادوست و مزوفیل را می‌توان با استفاده از مقادیر  $D_r$  با یکدیگر مقایسه نمود:

$D_r$	نوع میکروارگانیس‌م
4-5	باسیلوس استئارو ترموفیلوس
3-4	کلستریدیوم ترموساکارولیتیکم
2-3	کلستریدیوم نیگریفیکانس
0/1-0/2	کلستریدیوم بوتولینوم نوع A و B
0/01-0/07	کلستریدیوم اسپوروجنس ( $PA 3679$ )

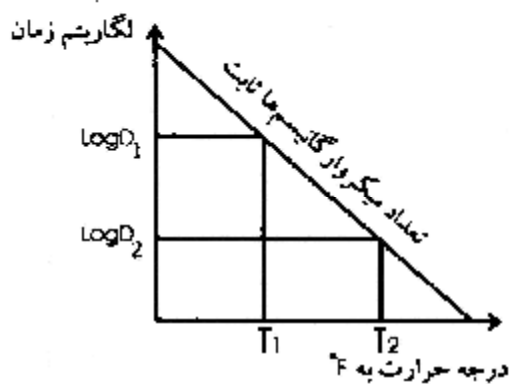
نمودار مرگ حرارتی (Survivor curve)

$$D = \frac{1}{\text{شیب منحنی survivor}} = \frac{1}{\log a - \log b} \cdot (t_2 - t_1)$$

$$D = \frac{t_2 - t_1}{\log a - \log b}$$



منحنی TDT



$Z_{value}$

تعداد درجه فارنهایت لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی در منحنی TDT یا زمان مرگ حرارتی و به عبارت دیگر

تعداد درجه فارنهایت لازم برای کاهش عدد D به میزان 90%

$$Z = \frac{1}{\text{شیب منحنی TDT}} = \frac{1}{\frac{\log D_1 - \log D_2}{T_2 - T_1}} = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

$F_{value}$

عدد F برابر است با زمان برحسب دقیقه در فرایندهای حرارتی که در دمای 250°F انجام گرفته‌اند و  $F_0$  برای بیان

میزان F در صورتی که عدد Z برابر 18 است، می‌باشد.

$$F_s = F_0 = D_r (\log a - \log b) = D_r \log \frac{a}{b}$$

$a$  = تعداد میکروارگانیزم‌ها یا اسپوره‌های اولیه

$b$  = تعداد میکروارگانیزم‌ها یا اسپوره‌های باقی‌مانده

$$\log \frac{t}{F} = \frac{250 - T}{Z}$$

نکته:

$$\frac{t}{F} = 10^{\frac{250 - T}{Z}}$$

$$t = F \times 10^{\frac{250 - T}{Z}}$$

$t =$  زمان لازم برای استریلیزاسیون در صورتی که دما غیر از دمای  $250^{\circ}\text{F}$  باشد و به عبارت دیگر مقدار زمانی (t) که استریلیزاسیون با شرایط (250 °F, F) معادل با استریلیزاسیون با شرایط (T, t) شود.

نکته: کسرکشندگی یا Lethal rate

$$\text{Lethal Rate} = \frac{1}{\text{TDT}} = 10^{\frac{T-250}{Z}}$$

### طرح 12D

12D زمان لازم فرایند در صنعت کنسروسازی است و عبارتست از حداقل فرایند حرارتی که احتمال زنده ماندن مقاومترین اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم به حرارت را به  $10^{-12}$  می‌رساند. از آنجا که اسپورهای کلستریدیوم در pH زیر 4/6 رویش نکرده و سم تولید نمی‌نمایند. طرح 12D فقط جهت مواد غذایی با pH بالای 4/6 در نظر گرفته می‌شود.

$$F_0 = D_r (\log a - \log b)$$

$$F_0 = 0/21 (\log 1 - \log 10^2)$$

$$F_0 = 0/21 \log 10^2$$

$$F_0 = 0/21 \times 12 = 2/52 \text{ min}$$

### برخی خصوصیات ترموفیل‌ها

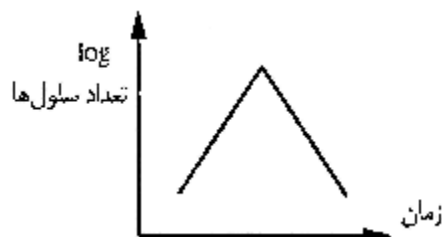
(1) ترموفیل‌ها دارای حداقل دمای رشد  $45^{\circ}\text{C}$  و دمای مطلوب بین  $50-60^{\circ}\text{C}$  و حداکثر دمای  $70^{\circ}\text{C}$  و بیش تر هستند.

(2) منحنی رشد ترموفیل‌ها سه خصوصیت دارد (شکل):

الف) فاز سکون ندارند یا کوتاه است.

ب) فاز لگاریتمی سریع است.

ج) فاز مرگ سریع است.



(3) از دست دادن توانایی زنده ماندن و یا اتواستریلیزاسیون در زیر محدوده‌ی رشد ترموفیلی به علت به وجود آوردن

- متابولیت‌های خاص توسط خودشان از خصوصیات این نوع میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.
- 4) داشتن آنزیم‌های مقاوم به گرما که خود این آنزیم‌ها به سه دسته تقسیم می‌شوند:
- الف) یک دسته آنزیم‌هایی هستند که برای از بین بردن‌شان درجه حرارت بیشتری نسبت به درجه حرارت تولیدشان لازم است نظیر ATPase، آلدولاز و مالیک‌دهیدروژناز
- ب) گروه دوم آنزیم‌هایی هستند که اگر در هنگام تولیدشان، سوبسترا در اختیار آن‌ها قرار نگیرد از بین می‌روند نظیر آنزیم‌های پیروویک اکسیداز و کاتالاز.
- ج) آنزیم‌های مقاوم به حرارتی هستند که به عنوان Real thermostable نامیده می‌شوند نظیر پروتئاز و  $\alpha$  آمیلاز.
- دلایل مقاومت این آنزیم‌ها عبارتند از:
- 1) وجود یک سری پروتئین به صورت محافظ در اطراف این آنزیم‌ها
  - 2) اتصال این آنزیم‌ها به یون  $Mg^{++}$
  - 3) میزان بالای اسیدهای آمینه آب‌گریز این آنزیم‌ها
- نکته: هرچه پروتئین دارای خاصیت آب‌گریزی بیشتری باشد مقاومت حرارتی آن بیشتر است.
- 4) داشتن ریبوزوم‌های مقاوم به حرارت: RNA ریبوزومی C-G بیش‌تری دارد.
- 5) داشتن تاژک‌های مقاوم به حرارت: به علت وجود پیوندهای هیدروژنی بیش‌تر در تاژک‌های ترموفیلی
- نکته: اگر مزوفیل‌ها در دمای بالاتر از دمای حداکثر رشد خود کشت شوند میزان چربی کاهش یافته و درجه‌ی اشباع بودن افزایش می‌یابد.

## فصل نهم: نگهداری مواد غذایی با استفاده از فرایند خشک کردن

مواد غذایی خشک شده و یا با رطوبت کم (LMF) به آن دسته از مواد غذایی گفته می‌شود که حداکثر رطوبتی معادل 25% فعالیت آبی بین 0-0/6 دارند. گروه دیگری از مواد غذایی وجود دارند که از قابلیت نگهداری مناسبی برخوردارند. این دسته از مواد غذایی رطوبتی معادل 15-50% و فعالیت آبی بین 0/6-0/85 دارند و به آن‌ها غذاهای با رطوبت متوسط (IMF) گفته می‌شود. برای این‌که بتوان ماده غذایی خشک شده را به مدت چند سال نگهداری کرد باید فعالیت آبی نهایی آن به حد 0/65-0/75 رسانیده شود و اکثراً فعالیت آبی 0/7 را پیشنهاد می‌نمایند.

برخی از انگل‌های آلوده‌کننده‌ی ماده غذایی و یا همه‌ی آن‌ها مانند ترشینیلا اسپیرالیس در طی فرایند خشک کردن ماده غذایی زنده می‌مانند. از دیدگاه میکروبیولوژی هدف اصلی در تولید فراورده‌های خشک این است که شمارش کلی میکروبهای آن بیش از 100000/gr نباشد. تعداد کلی فرم‌ها در ماده غذایی خشک شده باید صفر و یا نزدیک به صفر باشد و نباید هیچ میکروارگانیزم عامل مسمومیت غذایی در آن مشاهده شود. البته اگر تعداد کمی کلستریدیوم پرفرینجنس وجود داشته باشد مشکلی به وجود نمی‌آید.

نکته: از آن‌جا که استاف اورئوس تنها باکتری است که از نظر سلامتی مهم بوده و قادر به رشد در محیطی با فعالیت آبی نزدیک به 0/86 می‌باشد. فرمولاسیون IMF می‌تواند طوری انجام شود که میزان رطوبت در محصول 15-50% باشد و با استفاده از مواد تغلیظ‌کننده فعالیت آبی آن به زیر 0/86 رسانیده شود.

### روش‌های معمول ذیل جهت تغییر فعالیت آبی محیط هنگام تهیه IMF کاربرد دارند

#### (1) نفوذ مرطوب

قطعات ماده غذایی جامد در یک محلول مناسب شناور و یا پخته می‌شوند تا این‌که میزان آب محصول نهایی به حد موردنظر برسد (دفع)

#### (2) نفوذ خشک

ابتدا قطعات ماده غذایی جامد آب‌زدایی می‌شوند، سپس نفوذ رطوبت از طریق غوطه‌وری در محلول حاوی عوامل اسمزی انجام می‌پذیرد (جذب)

### 3) مخلوط کردن

تمام ترکیبات IMF، وزن شده، ادغام و پخته می‌شوند و سپس اکسترود می‌گردند و یا به روش دیگری مخلوط می‌گردند تا فعالیت آبی محصول نهایی به حد مورد نظر برسد.

### 4) خشک کردن به کمک نیروی اسمزی

با غوطه‌وری ماده غذایی در محیطی با فعالیت آبی کمتر عمل آب‌زدایی انجام می‌گیرد.

## فصل دهم: مواد غذایی تخمیری و فراورده‌های وابسته به تخمیر

در برخی مواد مقدار ویتامین ماده غذایی تخمیر شده افزایش یافته، قابلیت هضم مواد خام نیز زیاد می‌شود. فرایند تخمیر در برخی از مواد غذایی باعث کاهش سمیت می‌گردد (به عنوان مثال در گاری و پنوجنوم) در حالی که در برخی دیگر از مواد غذایی باعث ایجاد سمیت شدید می‌شود (در بونگ کرک). براساس شواهد و اطلاعات علمی موجود اهمیت هیچ ماده غذایی در سطح جهان به‌خصوص از نظر ارزش تغذیه‌ای به اندازه غذاهای تخمیری نمی‌باشد.

### خصوصیات ارگانوسم‌های تخمیرکننده مثل باکتری‌های اسید لاکتیک

- (1) فاقد سیستم‌های انتقال الکترون مجهز به هم یا سیتوکروم می‌باشند.
- (2) انرژی خود را از طریق فسفریلاسیون به‌دست می‌آورند.
- (3) فاقد چرخه‌ی کربس می‌باشند.
- (4) مانند اکثر مخمرها فاقد آنزیم‌های آمیلاز می‌باشند.
- (5) برای رشد به اسیدهای آمینه، ویتامین‌های گروه B و بازهای پورین و پیریمیدین نیاز دارند به همین دلیل باکتری‌های پرتوقعی می‌باشند.

باکتری‌های اسید	- هموفرمانتیتیو: اسید لاکتیک فراورده‌ی اصلی یا تنها فراورده‌ی اصلی از تخمیر گلوکز است.
لاکتیک	- هتروفرمانتیتیو: از تخمیر گلوکز مقادیر مساوی لاکتات، CO <sub>2</sub> و اتانول تولید می‌کنند.

باکتری‌ها هموفرمانتیتیو نظیر جنس‌های استرپتوکوکوس، پدیوکوکوس، لاکتوکوکوس و واگوکوکوس و باکتری‌های هتروفرمانتیتیو نظیر جنس لاکونوستوک می‌باشند.

### خصوصیات باکتری‌های همولاکتیک

- (1) دارای آنزیم‌های آلدولاز و هگزوزایزومراز می‌باشند.
- (2) این باکتری‌ها فاقد آنزیم فسفوکتولاز هستند.
- (3) از طریق EMB، لاکتات تولید می‌کنند.



### خصوصیات باکتری‌های هترولاکتیک

- 1) فاقد آنزیم‌های آلدولاز و هگزوزایزومراز می‌باشند.
  - 2) دارای آنزیم‌های فسفوکتولاز می‌باشند.
  - 3) لاکتات را از طریق هگزوز مونوفسفات یا پنتوز مونوفسفات تولید می‌کنند.
- نکته: در یک مقدار معین گلوکز تولید انرژی توسط همولاکتیک‌ها در حدود دو برابر هترولاکتیک‌ها می‌باشد.

### تقسیم‌بندی لاکتوباسیلوس‌ها

این جنس دارای گونه‌های هموفرمانتیتیو و هترو- فرمانتیتیو می‌باشند.

#### 1) بتا باکتریوم‌ها

تمامی لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمانتیتیو در این دسته قرار می‌گیرند.

#### 2) استرپتوباکتریوم‌ها

مانند لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌باشند که 1/5% اسید لاکتیک تولید می‌کنند و دمای مطلوب رشد آن‌ها 30°C می‌باشد.

#### 3) ترموباکتریوم‌ها

مانند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس که 3% اسید لاکتیک تولید می‌کنند و دمای مطلوب رشد آن‌ها 40°C می‌باشد.

### اندازه‌گیری بازدهی رشد مولی (Molar growth yield)

اطلاعاتی را درباره ارگانسیم‌های تخمیرکننده در رابطه با سوبستراها و روش‌های تخمیرشان به دست می‌دهد با این روش میکروگرم وزن خشک سلول‌های تولید شده در نتیجه تخمیر یک میکرومول سوبسترا به عنوان ثابت بازدهی مولی (molar constant yield) تعریف می‌گردد که آن را با Y نشان می‌دهند.

$$Y_G = \frac{\text{میکروگرم وزن خشک سلول‌ها}}{\text{میکرومول‌های گلوکز تخمیر شده (وقتی سوبسترا گلوکز باشد)}}$$

$$y_{ATP} = \frac{\text{مول‌های ATP تشکیل شده}}{\text{مول‌های سوبسترای تخمیر شده}} \times \text{گرم وزن خشک سلول‌ها}$$

## فراورده‌های تخمیری

### (1) فراورده‌های لبنی

برای تولید این فراورده‌ها اکثراً از استارترهای لاکتیک استفاده می‌شود که همواره دربرگیرنده باکتری‌هایی است که لاکتوز را به اسید لاکتیک تبدیل می‌نمایند و به‌طور معمول شامل لاکتوباسیلوس لاکتیس، لوکونوستوک کرموریس یا لوکونوستوک دی‌استی لاکتیس می‌باشد. در مواقعی که تولید ترکیبات طعم و آروما مانند دی‌استیل در نظر باشد استارتر لاکتیک حاوی یک هترولاکتیک مانند لوکونوستوک سیترووروم، لاکتوکوکوس دی‌استی لاکتیس یا لوکونوستوک دکسترانیکوم خواهد بود.

نکته: لاکتوکوکوسی‌ها به‌طور معمول 90% یک کشت استارتر لبنی مخلوط را تشکیل می‌دهند.

(1-1) کره: در کشت استارتر کره نسبت استرپتوکوکوس به لوکونوستوک باید در حدود 9 به 1 باشد.

نکته: آروما و مزه کره به‌طور عمده مربوط به دی‌استیل می‌باشد.

(2-1) ماست: به‌وسیله استارتر ماست تولید می‌شود که یک کشت مخلوط با نسبت 1:1 از استرپتوکوکوس ترموفیلوس و

لاکتوباسیلوس بولگاریکوس می‌باشد. استرپتوکوکوس سریع‌تر از لاکتوباسیلوس رشد می‌کند و عمدتاً مسؤول تولید اسید بوده در حالی که لاکتوباسیلوس بر میزان طعم و آروما می‌افزاید.

نکته: استالدهید مهم‌ترین ترکیب فرار مولد آروما در ماست می‌باشد.

نکته: یک ماست مناسب از 5°C به مدت 2-1 هفته به خوبی قابل نگهداری است.

نکته: اسید لاکتیک در ماست اکثراً از تخمیر بخش گلوکزی مولکول لاکتوز تولید می‌شود و گالاکتوز در این امر نقش کم‌تری دارد.

(3-1) کفیر: با استفاده از دانه‌های کفیر تولید می‌شود که حاوی لاکتوکوکوس لاکتیس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و

گونه‌های تورو لا می‌باشند. این ارگانیسیم‌ها توسط لایه‌هایی از پروتئین منعقد شده در کنار یک‌دیگر نگهداری می‌شوند.

تولید اسید به‌وسیله باکتری‌ها کنترل می‌شود و تولید الکل توسط مخمر صورت می‌گیرد. غلظت نهایی اسید لاکتیک و

الکل ممکن است حداکثر 1% باشد.

4-1) کومیس: فراورده‌ای شبیه کفیر می‌باشد با این تفاوت که در تولید آن از شیر مادین استفاده می‌شود. مقدار الکل در این محصول ممکن است به 2% برسد.

5-1) شیر اسیدوفیلوس: از تلقیح یک سوش قابل رشد در سیستم گوارشی از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به شیر پس چرخ استریل تولید می‌شود.

6-1) دوغ بلغاری: با استفاده از لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به عنوان مایه‌ی تلقیح یا استارتر تولید می‌شود. اما لاکتوباسیلوس بولگاریکوس برخلاف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قابل رشد در سیستم گوارشی انسان نمی‌باشد.

7-1) پنیر: نوع استارتر مورد استفاده در تولید پنیر بستگی به میزان حرارت به کار رفته برای دلمه‌ها دارد. از استرپتوکوکوس ترموفیلوس به منظور تولید اسید در دلمه‌های پخته استفاده می‌شود چرا که از مقاومت حرارتی بیشتری نسبت به سایر استارترهای لاکتیکی برخوردار می‌باشد. جهت دلمه‌هایی که در مرحله پخت حرارت‌های متوسطی را دریافت می‌دارند می‌توان از مخلوط استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوکوس لاکتیس استفاده نمود. نکته: اکثر پنیرهای رسیده فراورده فعالیت‌های متابولیکی باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشند.

#### 7-1-1) پنیر سوئیسی:

کشت مورد استفاده در این پنیر شامل میکروارگانیسم‌های زیر می‌باشد:

1) لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

2) استرپتوکوکوس ترموفیلوس

3) پروپیونی باکتریوم شرمانی یا فرودنریشی

که میکروارگانیسم آخری در گسترش طعم و ایجاد چشمک در این پنیر مؤثر می‌باشد.

7-2-1) پنیرهای آبی: در تهیه پنیرهای آبی مانند راکوفورت، اسپورها کپک پنی‌سیلیوم راکوفورتی را در دلمه تلقیح می‌نمایند. این کپک در فرایند رسیدن مؤثر بوده هم‌چنین در ایجاد رگه‌های آبی که ویژگی ظاهری این نوع پنیر می‌باشد نقش دارد.

7-3-1) پنیر کاممبرت: در تولید پنیر کاممبرت نیز از شیوه‌ی مشابهی استفاده می‌گردد. بدین صورت که اسپورهای پنی‌سیلیوم کاممبرتی را در شیر و یا در سطح پنیر تلقیح می‌نمایند.

نکته: عمل رسیدن در تمامی انواع پنیرهای چدار توسط باکتری‌ها و به مدت 16-2 ماه انجام می‌گیرد و در پنیرهای نیمه

سخت مانند مونستر و گودا فرایند رسیدن توسط باکتری‌ها و به مدت 8-1 ماه انجام می‌گیرد.  
نکته: لیمبرگر یک نمونه از پنیرهای نرم است که رسیدن آن به کمک باکتری‌ها انجام می‌گیرد در حالی که بری و کاممیرت پنیرهای نرمی هستند که رسیدن در آن‌ها به کمک کپک صورت می‌پذیرد.

## 2) فراورده‌های گوشت و ماهی

2-1) سوسیس‌های تخمیری: استارترهای تجاری جهت تولید سوسیس‌های تخمیری عبارتند از: پدیوکوکوس سرویزیه و پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی در صورت عدم استفاده از استارتر در سوسیس‌ها گونه‌های هموفرمانتور لاکتوباسیلوس پلانتاروم بیش‌ترین گونه‌های موجود در سوسیس می‌باشند.  
2-2) سس‌های ماهی: از اثر گونه‌های هالوفیلیک باسیلوس بر روی ماهی‌های کوچکی که امعاء و احشاء آن‌ها خارج نشده به‌دست می‌آیند.

## 3) فراورده‌های غذایی غیرنوشیدنی با منشأ گیاهی

3-1) ساورکرات: لاکتوباسیلوس پلانتاروم مهم‌ترین باکتری‌هایی هستند که در تولید ساورکرات شرکت دارند.  
3-2) خیارشور: پدیوکوکوس سرویزیه و لاکتوباسیلوس پلانتاروم مهم‌ترین باکتری‌هایی هستند که در تولید خیارشور شرکت دارند.  
3-3) زیتون تخمیری: قبل از تهیه زیتون تخمیری، زیتون سبز را تحت یک فرایند قلیایی قرار می‌دهند تا ماده‌ی تلخ زیتون یعنی اولئوروپئین به اسید النولیک و یک قسمت غیرقندی شکسته شود سپس زیتون‌ها تحت فرایند تخمیر توسط میکروارگانسیم‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم قرار می‌گیرد.  
3-4) سس سویا: در یک روش دو مرحله‌ای تولید می‌شود. در مرحله اول بر اثر تلقیح اسپورهای آسپرژیلوس اوریزا یا آسپرژیلوس سویا از لوبیای سویا، اوجی به‌دست می‌آید و در مرحله دوم از اثر لاکتوباسیلوس دلبروکی و زیگوساکارمایسس روکسی بر روی اوجی، مورومی به‌دست می‌آید.  
3-5) تمپه: یکی از فراورده‌های تخمیری لوبیای سویا می‌باشد که از اثر ریزوپوس اوریزا یا ریزوپوس آریزوس بر روی لوبیای سویا به‌دست می‌آید. البته از اثر ریزوپوس الیگوسپوروس بر روی دانه‌های گندم، تمپه گند به‌دست می‌آید.  
3-6) اوجی: از اثر میکروارگانسیم‌های لاکتوباسیلوس پلانتارومی، لاکتوباسیلوس و زیگوساکارومایسس روکسی بر روی

دانه‌های ذرت به دست می‌آید.

3-7) گاری: این فراورده‌ی تخمیری از ریشه گیاه کاساوا تهیه می‌شود. ریشه‌ی این گیاه حاوی یک گلیکوزید سیانوژنیک می‌باشد. تخمیر این فراورده طی دو مرحله انجام می‌گیرد در مرحله اول کورینی باکتریوم مانی هوت با تخمیر نشاسته و تولید اسید، pH را کاهش می‌دهد. تحت شرایط اسیدی، گلیکوزید سیانوژنیک متحمل هیدرولیز خودبه‌خودی می‌شود که با آزاد شدن اسید هیدروسیانیک گازی همراه است. از طرفی شرایط اسیدی باعث تقویت رشد گونه‌های جنوتريشوم می‌گردد که مسؤول ایجاد آروما و مزه خاص گاری می‌باشند.

3-8) بونگ کرک: این فراورده از اثر ریزوپوس الیگوسپوروس بر روی کنجاله حاصل از پرس نارگیل به دست می‌آید. در تهیه بونگ کرک در صورتی که pH بالای 5/5 باشد امکان رشد سودوموناس کوکونانس وجود دارد. این میکروارگانیسم دو ماده سمی به نام‌های توکسوفلاوین و اسید بونگ کرک تولید می‌کند. این دو ترکیب مقاوم به حرارت بوده، فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی دارند و همچنین برای انسان و حیوانات نیز سمی می‌باشند.

3-9) أنتجوم: این فراورده از اثر نوروسپورا سیتوفیلا و ریزوپوس الیگوسپوروس بر روی کنجاله حاصل از پرس بادام‌زمینی به دست می‌آید.

#### 4) فراورده‌های نوشیدنی

4-1) سایدر: از تخمیر ملایم عصاره سیب توسط گونه‌های ساکارومایسس که به طور طبیعی در آن وجود دارند حاصل می‌گردد.

نکته: گونه‌های زیمووناس، باکتری‌های گرم منفی تخمیرکننده‌ی گلوکز به اتانول می‌باشند که از سایدرها جدا شده‌اند و تصور می‌رود که به مقدار کمی در این فراورده موجود باشند.

4-2) دانه‌های قهوه: جهت جدا کردن لایه‌ی نرم خارجی و پوشش موسیلاژی دانه‌های قهوه معمولاً از روش مرطوب که شامل جداکردن پوسته نرم، موسیلاژی‌گیری و سپس خشک کردن می‌باشد استفاده می‌شود. جدا کردن پوسته‌ی نرم به صورت مکانیکی و موسیلاژی‌گیری به کمک تخمیر غیرطبیعی صورت می‌گیرد. لایه‌ی موسیلاژی عمدتاً از مواد پکتیکی ساخته شده است و میکروارگانیسم‌های پکتینولیتیک نقش مهمی در حذف این لایه دارند. اروپینیا دیسولونس مهم‌ترین باکتری در تخمیر موسیلاژدایی از دانه‌های قهوه تیره‌رنگ هاوایی و کونگو می‌باشد. در برخی از گونه‌های دانه‌های قهوه اسید لاکتیک باکتری‌ها در تخمیر نقش مهمی دارند و در برخی گونه‌های دیگر مخمرهای پکتینولیتیکی نظیر

ساکارومایسس مارکسیانوس، ساکارومایسس بایانوس، ساکارومایسس الیپسویدوس و گونه‌های شیزوساکارومایسس نقش مهمی در نرم کردن و برداشتن لایه‌های موسیلاژی ایفا می‌کنند.

نکته: آسپرژیلوس اوکراسئوس، گونه‌ای است که به‌طور مکرر از دانه‌های قهوه ضد عفونی نشده ایزوله شده است و پس از آن آسپرژیلوس نیجر و گونه‌های گروه آسپرژیلوس گلاکوس قرار می‌گیرند.

3-4) دانه‌های کاکائو: فرایند تخمیر دانه‌های کاکائو در دو مرحله صورت می‌گیرد. در مرحله اول قندهای پالپ اسیدی (با pH حدود 3/6) تبدیل به الکل می‌شوند و در مرحله دوم شامل اکسید شدن الکل به اسید استیک می‌باشد. مخمرها و باکتری‌های تولیدکننده اسید استیک مهم‌ترین ارگانیس‌های تخمرکننده دانه‌های کاکائو می‌باشند.

## 5) نان‌ها

1-5) ایدلی: از اثر لوکونوستوک مزنترویدس بر روی آرد برنج به دست می‌آید.

2-5) نان‌های حجیم و کیک‌ها: از اثر ساکارومایسس سرویزیه بر روی آردهای گندم به دست می‌آیند.

3-5) نان خمیر ترش سان‌فرانسیسکو: از اثر *S.exiguus* (ساکارومایسس اکیسیگوس) و *L.sanfrancisco* (لاکتوباسیلوس سانفرانسیسکو) بر روی آرد گندم به دست می‌آید.

## 6) پروتئین تک‌یاخت SCP

به دلیل این که مخمرها دارای میزان بالایی از پروتئین‌ها می‌باشند و از نظر ویتامین‌های گروه B غنی می‌باشند. بیش‌ترین مصرف را در تهیه SCPها دارند البته باید توجه کرد که SCPها از نظر متیونین و سیستئین دارای کمبود می‌باشند.

در صورتی که سوبسترای مصرفی برای تولید SCPها پایه سلولزی داشته باشد از سلولوموناس و تریکودرما ویریده استفاده می‌شود و در صورتی که سوبسترای مصرفی برای تولید SCPها پایه نشاسته‌ای داشته باشد از ساکارومایکوپسیس فیبولیجرا و کاندیدا یوتیلیس استفاده می‌شود.

نکته: وجود مقادیر زیاد اسید نوکلئیک در SCP باعث تشکیل سنگ کلیه و یا نقرس می‌گردد.

نکته: ساکنین حداقل یک بخش از آفریقا سلول‌های کامل اسپیرولینا ماکسیما رابه عنوان ماده غذایی مصرف می‌کنند.

نکته: سلول‌های جلبکی بیش‌ترین و باکتری‌ها کم‌ترین مقدار چربی را دارا می‌باشند.

فواید مواد غذایی تخمیری

- (1) رفع مشکل افرادی که عدم تحمل لاکتوز دارند.
- (2) کاهش کلسترول سرم خون
- (3) فعالیت ضدسرطانی

آنزیم‌های میکروبی (منبع و مورد استفاده)

کاربرد	صنعت	منبع	آنزیم
	نانوایی	آسپرژیلوس نیجر	آمیلاز
	آب‌جوسازی	آسپرژیلوس اوریزا	
مواد غذایی پخته شده	مواد غذایی	باسیلوس سوبتیلیس	
تهیه شربت	مواد غذایی	گونه‌های ریزوپوس	
		موکور روکسی	
	مواد غذایی	آسپرژیلوس نیجر	سلولاز
تهیه مایع قهوه غلیظ		تریکودرما ویریده	
	مواد غذایی	لوکونوستوک	دکستران ساکاراز
دکستران برای استفاده‌های مختلف		مزونتروئید	
	مواد غذایی	آسپرژیلوس نیجر	گلوکز اکسیداز/ اینورتاز
خارج کردن گلوکز از تخم‌مرغ جامد، عسل مصنوعی	مواد غذایی	ساکارومایسس سروزیه	
جلوگیری از دانه‌دانه شدن قسمت نرم شیرینی‌ها		ساکارومایسس فراژیلیس	لاکتاز
هیدرولیز لاکتوز	لبنیات	آسپرژیلوس نیجر	لیپاز
ایجاد طعم در پنیر		گونه‌های موکور	
		گونه‌های ریزوپوس	
	مواد غذایی	آسپرژیلوس نیجر	پکتیاز
شفاف کردن مشروبات و آب‌میوه‌ها		گونه‌های پنی‌سیلیوم	

کاربرد	صنعت	منبع	آنزیم
گونه‌های ریزوپوس			
جلوگیری از کدورت نامشخص در آب‌جو	آب‌جوسازی	آسپرژیلوس اوریزا	پروتئاز (پروتئیناز)
	نان	باسیلوس سوبتیلیس	
ترد کردن گوشت	مواد غذایی		
گونه‌های موکور			
گونه‌های ریزوپس			
انعقاد شیر برای پنیر	مواد غذایی	Mucor miehei	آنزیم‌های شبه رنین
		موکور پرسیلوس	



## فصل یازدهم: شاخص‌های میکروبی کیفی و بهداشتی مواد غذایی

### خصوصیات ارگانیسیم‌های شاخص کیفیت

- 1) ارگانیسیم‌های مورد بررسی باید در کلیه مواد غذایی که کیفیت‌شان مورد ارزیابی قرار می‌گیرند حضور داشته و قابل ردیابی باشند.
- 2) رشد و شمارش آن‌ها می‌بایست رابطه معکوس با کیفیت فرآورده داشته باشد.
- 3) این ارگانیسیم‌ها می‌بایست به راحتی شناسایی و شمارش شوند و به سادگی از سایر ارگانیسیم‌ها تشخیص داده شوند.
- 4) آن‌ها می‌بایست در مدت زمان کوتاهی و ترجیحاً در طی یک روز کاری قابل شمارش باشند.

### متابولیت‌های میکروبی

این ترکیبات نیز ممکن است برای ارزیابی و پیش‌بینی میکروبی برخی محصولات مورد استفاده قرار گیرند که برخی از این متابولیت‌های میکروبی در جدول بالا آورده شده است.

نکته: تولید تری‌متیل آمین (TMA) از تری‌متیل آمین N-اکسید (TMAO) که در نتیجه عوامل فاسدکننده ماهی به وجود می‌آید همراه با تولید اسید لاکتیک می‌باشد.

### شاخص‌های ایمنی مواد غذایی

شاخص‌های میکروبی اغلب به منظور ارزیابی ایمنی و بهداشت مواد غذایی به کار می‌روند تا تعیین کیفیت محصول شاخص ایمنی ماده غذایی می‌بایست معیارهای مهم و معنی را دارا باشد که عبارتند از:

Metabolites	Applicable Food Product
Cadaverine and putrescine	Vacuum-packaged beef
Diacetyl	Frozen juice concentrate
Ethanol	Apple juice, Fishery products
Histamine	Canned tuna
Lactic acid	Canned vegetables
Trimethylamine (TMA)	Fish
Total volatile bases (TVB)	Seafoods
Total volatile nitrogen (TVN)	Seafoods
Volatile fatty acids	Butter, cream

- (1) به راحتی و به سرعت قابل شناسایی باشد.
- (2) به راحتی از سایر اجزای فلور میکروبی ماده‌ی غذایی قابل تشخیص باشد.
- (3) داشتن سابقه همراهی ثابت با عامل بیماری‌زایی که حضور آن مورد نظر است.
- (4) هنگامی که عامل بیماری‌زایی مربوطه وجود دارد آن ارگانیزم نیز به‌طور معمول حضور داشته باشد.
- (5) شمارش ارگانیزم می‌بایست ترجیحاً با شمارش عامل بیماری‌زایی مربوطه در ارتباط باشد.
- (6) دارا بودن احتیاجات رشد و سرعت رشدی برابر با عامل بیماری‌زا
- (7) داشتن سرعت مرگی حداقل برابر عامل بیماری‌زا و به صورت ایده‌آل کم‌تر از عامل بیماری‌زای مربوطه
- (8) در مواد غذایی که فاقد عامل بیماری‌زایی مورد نظر هستند وجود نداشته باشد مگر در حداقل. در صورت استفاده از شاخص‌های مدفوعی در ایمنی مواد غذایی معیارهای دیگری نیز باید در نظر گرفته شوند که عبارتند از:
- (9) باکتری‌های انتخاب شده بایستی به طور خاص فقط در محیط روده وجود داشته باشند.
- (10) این باکتری‌ها بایستی به تعداد بسیار زیادی در مدفوع وجود داشته باشند به‌طوری که بتوان محیطی که میزان آلودگی آن مورد ارزیابی است در رقت‌های بالا نیز با آن‌ها مواجه شد.
- (11) در محیط خارج از دستگاه گوارش که ارزیابی آلودگی مورد نظر است مقاومت بالایی داشته باشند.
- (12) تشخیص آن‌ها باید نسبتاً آسان باشد و حتی هنگامی که در تعداد بسیار کمی وجود دارند کاملاً به صورت قابل اطمینان ارزیابی شوند.

### (1) کلی فرم‌ها

کلی فرم‌ها باکتری‌های گرم منفی، میله‌ای و بدون اسپور هستند که لاکتوز را در 48 ساعت تخمیر کرده، بر روی محیط کشت آگار تولید کلنی‌های تیره با جلای فلزی می‌نماید. عموماً کلی فرم‌ها چهار جنس خانواده انتروباکتریاسه را تشکیل می‌دهند که عبارتند از: سیتروباکتر، انتروباکتر، اشرشیا و کلبسیلا.

نکته: تعریف کلی فرم‌ها بر مبنای قابلیت تولید اسید و گاز در محیط کشت مایع EC در دمای بین  $44^{\circ}\text{C}$  و  $46^{\circ}\text{C}$  و به‌طور معمول  $44/5^{\circ}\text{C}$  یا  $45^{\circ}\text{C}$  تعریف می‌شوند.

نکته: EHEC قادر به رشد در محیط EC در دمای  $44/5^{\circ}\text{C}$  نمی‌باشند.

نکته: اشرشیاکلی بیش از سایر جنس‌ها و گونه‌های مذکور معرف آلودگی مدفوعی می‌باشد.

نکته: E.coli به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی آب مورد استفاده قرار می‌گیرد.

نکته: تنها در غذاهای اسیدی است که اشرشیاکلی را می‌توان به دلیل مقاومت نسبی به شرایط pH پائین به عنوان یک ارگانسیم شاخص مناسب به کار برد.

### شناسایی و شمارش کلی فرمها

کلی فرمها قادر به رشد در حضور نمک‌های صفاوی می‌باشند در صورتی که این ترکیبات روی ردش باکتری‌های  $gr^+$  اثر بازدارندگی دارند. به همین دلیل VRBA محیط کشت انتخابی کلی فرمها می‌باشد.

با این که روش شمارش مستقیم و بیشترین تعداد احتمالی (MPN) به 24 تا 48 ساعت برای حصول نتیجه نیاز دارند ولی این روش‌ها به عنوان روش‌های مرجع ارزش خود را حفظ کرده‌اند. روش‌های سوبسترای فلوروژنیک و تکثیر (PCR) DNA از جمله جدیدترین و کاربردی‌ترین روش‌های تحقیق به حساب می‌آیند.

### تست IMVIC

یک روش کلاسیک است که در آن تولید اندول (I)، واکنش متیل رد (MR)، واکنش ووگس روسگائور (VR) (تولید استوئین) و مصرف سیترات © مدنظر است. روش تمایز دو میکروارگانسیم E.coli و انتروباکتر آئروژنس (آئروباکتر آئروژنس) به صورت زیر است:

I	M	V	C	
+	+	-	-	اشرشیاکلی
-	-	+	+	انتروباکتر آئروژنس

### محدودیت‌های استفاده از کلی فرمها به عنوان شاخص ایمنی غذایی

برای سبزی‌های بلانچ شده منجمد، شمارش کلی فرم شاخص بهداشتی به حساب نمی‌آید زیرا برخی باکتری‌ها و به‌خصوص انواع انتروباکتر به طور طبیعی با زندگی گیاهی در ارتباط‌اند. به هر حال حضور اشرشیاکلی ممکن است شاخصی از وجود اشکال در فرایند در نظر گرفته شود. در فراورده‌های طیور کلی فرمها معرف‌های بهداشتی مناسبی به حساب نمی‌آیند زیرا ممکن است سالمونلا قبل از کشتار در دام وجود داشته باشد و بنابراین آزمایشات مثبت کلی فرم‌های مدفوعی ارتباطی با آلودگی پس از کشتار نداشته باشد. آزمایش استاندارد کلی فرم برای گوشت نیز مناسب نیست. آزمایشات کلی فرمی به طور وسیعی در مورد بهداشت نرم‌تنان صدف‌دار به کار می‌رود اما این آزمایشات همواره

کیفیت بهداشتی فرآورده را به خوبی پیش‌بینی نمی‌کند. در صدف‌های خوراکی بین حضور کلی‌فرم‌های مدفوعی و ویبریوکلا یا بین اشرشیاکلی و ویبریوپارا همولیتیکوس و یا بین اشرشیاکلی ویرسینیا انتروکولیتیکا رابطه‌ای وجود ندارد. کلی‌فرم‌ها نه ارزشی در پیش‌گویی مسمومیت اسکومبروئید دارند و نه به طور معمول می‌توانند برای تعیین وجود ویروس‌های روده‌ای به کار برده شوند.

نکته: منشأ اصلی *E.coli* روده‌ی بسیاری از حیوانات خون‌گرم می‌باشد و منشأ اصلی آئروباکتر آئروژنس در روی گیاهان می‌باشد.

## (2) انتروکوکسی‌ها

### طبقه‌بندی استرپتوکوکوس‌ها بر اساس خواص فیزیولوژیک

الف) *Pyogenes*: این استرپتوکوکوس‌ها در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  و  $10^{\circ}\text{C}$  رشد نمی‌کنند نظیر *S.agalactii* و *S.pyogenes*  
 ب) *Viridans*: این استرپتوکوکوس‌ها قادر به رشد در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  می‌باشند ولی در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  رشد نمی‌کنند نظیر *S.bovis* و *S.thermophilus*

ج) *Enterococcus*: باکتری‌های این گروه قادر به رشد در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  و  $45^{\circ}\text{C}$  می‌باشند نظیر *E.facium*, *E.durans* و *E.faecalis*

د) *Lactis*: این باکتری‌ها قادر به رشد در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  نمی‌باشند ولی در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  قادر به رشد هستند نظیر *S.lactis*

نکته: گروه سوم را استرپتوکوکوس‌های مدفوعی یا انتروکوکوس‌های کلاسیک می‌نامند. خصوصیات این ارگانسیم‌ها عبارتند از:

(1) این باکتری‌ها ترمودوریک هستند.

(2) انتروکوکوس‌ها میکروآئروفیل هستند ولی توانایی تولید کاتالاز را ندارند.

(3) انتروکوکوس‌ها در دامنه‌ی وسیع‌تری از pH نسبت به سایر باکتری‌های موجود در مواد غذایی رشد می‌کنند و می‌توانند در  $\text{pH} = 9/6$  هم رشد کنند.

(4) قادر به رشد در دامنه‌ی وسیعی از درجه حرارت هستند برخی از گونه‌ها قادر به رشد در دمای  $5-8^{\circ}\text{C}$  و اکثر آن‌ها قادر به رشد در دمای  $48-50^{\circ}\text{C}$  می‌باشند.

5) این میکروارگانسیم‌ها پرتوقع هستند.

نکته: در صورت کشت استرپتوکوکوس‌ها بر روی آگار خون‌دار گلبول‌های قرمز به صورت متفاوتی هیدرولیز می‌شوند که عبارتند از:

- 1) استرپتوکوکوس‌های  $\alpha$  همولیتیک که در محیط کشت آگار خون‌دار گلبول‌های قرمز را به طور ناقص تجزیه می‌کنند.
- 2) استرپتوکوکوس‌های  $\beta$  همولیتیک که در محیط کشت آگار خون‌دار گلبول‌های قرمز را به طور کامل تجزیه می‌کنند.
- 3) استرپتوکوکوس‌های  $\gamma$  همولیتیک که در محیط کشت آگار خون‌دار بر روی هموگلوبین گلبول‌های قرمز خون بی‌اثراند.

نکته: برای تعیین خصوصیات آنتی‌ژنی استرپتوکوکوس‌ها از جدول لانسفیلد استفاده می‌شود.

خصوصیات انتروکوکوس‌های کلاسیک که آن‌ها را به عنوان شاخص آلودگی آب معرفی می‌نمایند عبارتند از

- 1) آن‌ها به طور معمول در آب تکثیر نمی‌یابند به خصوص اگر مقدار مواد آلی آب کم باشد.
- 2) به طور معمول در مدفوع انسان تعداد کم‌تری از آن‌ها نسبت به اشرشیاکلی وجود دارد.
- 3) انتروکوکسی‌ها در آب نسبت به کلی‌فرم‌ها آهسته‌تر از بین می‌روند.

### انتشار انتروکوکسی‌ها

انتروکوکوس فاسیوم بیش‌تر در خوک و گرازهای وحشی دیده شده است. انتروکوکوس فکالیس با این‌که اغلب منشأ مدفوعی دارد برخی از سوش‌های آن به‌طور معمول روی گیاهان به‌سر می‌برند و از این رو زمانی که در مواد غذایی یافت شوند، شاخص بهداشتی به‌شمار نمی‌روند البته شاخص‌های غیرمدفوعی را می‌توان به‌وسیله واکنش در شیر تورنسل‌دار و واکنش‌های تخمیری آن‌ها در محیط‌های مایع حاوی ملی‌بیوز و ملی‌زیتوز از اکثریت انتروکوکس‌های مدفوعی تشخیص داد.

### رابطه انتروکوکسی‌ها با کیفیت بهداشتی مواد غذایی

انتروکوکسی‌ها به عنوان شاخص بهداشتی مواد غذایی نسبت به کلی‌فرم‌ها به‌خصوص در مواد غذایی منجمد برتری داشته‌اند.

نکته: در سبزی‌های منجمد شده تجارتي کلی‌فرم‌ها قبل از انجماد شاخص‌های بهداشتی بهتری نسبت به انتروکوکسی‌ها می‌باشند در حالی‌که بعد از انجماد و انبار کردن انتروکوکسی‌ها برتری دارند.

### 3) بیفیدوباکتری‌ها

جنس بیفیدوباکتریوم شامل حداقل 25 گونه کاتالاز منفی می‌باشد. این ارگانیسیم‌ها بی‌هوازی، میله‌ای شکل،  $gr^+$  و غیرمتحرک‌اند و حداقل و حداکثر دمای رشدشان به ترتیب 25 تا 28 درجه سانتی‌گراد و 43 تا 45 درجه سانتی‌گراد می‌باشد. بهترین رشد آن‌ها در محدوده‌ی  $pH = 5-8$  صورت می‌گیرد و محصولات عمده متابولیسم کربوهیدرات در آن‌ها اسید لاکتیک و اسید استیک می‌باشد.

### انتشار بیفیدوباکتری‌ها

تعداد بیفیدوباکتری‌ها در مدفوع انسان 10 تا 100 برابر بیش‌تر از کلی‌فرم‌ها و انتروکوکوسی‌ها می‌باشد. در دمای یخچال براساس سرعت از بین رفتن به ترتیب بیفیدوباکتری‌ها سپس کلی‌فرم‌ها و در نهایت انتروکوکوسی‌ها قرار دارند. این باکتری‌ها تنها منشأ مدفوعی دارند.

نکته: این باکتری‌ها به عنوان شاخص‌های آلودگی مدفوعی در آب‌های تازه نواحی گرم‌سیری پیشنهاد شده‌اند زیرا سریع‌تر از کلی‌فرم‌ها و انتروکوکوسی‌ها از بین می‌روند.

نکته: از آن‌جا که تمایل به رشد این باکتری‌ها در فراورده‌های دریایی و گوشت‌ها بیش از سبزی‌هاست احتمال می‌رود که این ارگانیسیم‌ها قادر باشند به عنوان شاخص گوشت‌ها و فراورده‌های دریایی عمل نمایند.

### محیط‌های کشت بیفیدوباکتری‌ها

محیط‌های کشت بیفیدوباکتری‌ها عبارتند از: YN-6, YN-17, HBSA (Human Bifid Sorbitol Agar) و BIM-25 (Bifidobacterium Iodoacetate Medium) می‌باشند.

نکته: آگار کلمبیا حاوی 5 میلی‌لیتر در لیتر اسید پروپیونیک (محیط انتخابی بیفیدوباکتری‌ها) در  $pH = 5$  نه تنها اثر انتخابی برای بیفیدوباکتری‌ها دارد بلکه رشد آن‌ها را تقویت می‌نماید.

### 4) کلیفاژها

آزمون‌های کلیفاژ به عنوان یک روش ارزیابی اشرشیاکلی یا کلی‌فرم‌ها به عنوان شاخص مستقیمی از ویروس‌های روده‌ای به کار می‌روند.

## فصل دوازدهم: بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده

### عفونت‌های غذایی (Food Infections)

این گروه از بیماری‌ها به وسیله مصرف مواد غذایی حاوی میکروبهای بیماری‌زا در شخص ایجاد می‌شوند. بدین شکل که غذا، عاملی برای رشد و تکثیر میکروبهای بوده و خود میکروبهای با خوردن غذا وارد بدن می‌شوند. حضور میکروبهای در دستگاه گوارش موجب می‌گردد که بافت سلول‌های بدن نسبت به آن‌ها عکس‌العمل نشان داده و یا این‌که با آن‌ها مقابله کنند.

دو نوع عفونت غذایی می‌تواند توسط مواد غذایی ایجاد شود:

الف) میکروارگانیسم موجود در غذا پس از مصرف در سلول‌های مخاطی معده و روده نفوذ کرده و در آن‌جا شروع به تکثیر می‌کند. با افزایش تعداد این میکروبهای، فلور میکروبی روده تغییر نموده و ناراحتی‌های دستگاه گوارش پس از یک دوره کمون معین، خود را نشان می‌دهند مانند سالمونلا و شیگلا

ب) میکروارگانیسم آلوده‌کننده مواد غذایی پس از مصرف شدن در روده و یا پوشش مخاطی روده تکثیر نموده و پس از آن، تولید سم (انتروتوکسین) می‌نمایند مانند کلستریدیوم پرفرینجنس و باسیلوس سرئوس.

### مسمومیت‌های غذایی (Food Intoxication)

در این دسته از ناراحتی‌های گوارشی، مواد غذایی به‌وسیله سموم مترشحه از میکروبهای (Exotoxin) آلوده شده است و زنده یا مرده بودن میکروبهای در غذا اهمیتی ندارد.