

نگهداري مواد غذايي با حرارت بالا

- علت استفاده از درجه حرارت بالا در نگهداري مواد غذايي،

– اثر تخریبي آن برروي میکروارگانیسم‌هاست که به علت:

» دناتوراسیون پروتئین‌ها

» و اختصاصاً غیر فعال شدن آنزیم‌های موردنیاز در متابولیسم می باشد.

- منظور از درجه حرارت‌های بالا دماهای بیش از دمای محیط اطراف است.

- اثر فرآیند حرارتی که سبب کشتن ارگانیسم‌ها یا اسپوره‌هایشان می شود

– بر اساس نوع ارگانیسم،

– حالتشان

– محیط حرارتی آنها فرق می‌کند.

- لذا روش اعمال حرارت براساس:

– نوع ارگانیسم‌هایی که باید کشته شوند

– روش‌های نگهداری دیگری که اعمال می‌گردد (مانند: یخچال‌گذاری، فریزر کردن و ... بعد از فرایند حرارتی)

– و اثری که حرارت برروي ماده غذايي بجا می‌گذارد انتخاب می‌شود.

فرایند حرارتی

- برای نگهداری مواد غذایی معمولاً از دو نوع فرایند حرارتی "پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون" استفاده می‌شود.
- هدف از پاستوریزاسیون:
 - از بین بردن کلیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (نظیر پاستوریزاسیون شیر)
 - افزایش طول عمر زمان نگهداری: از بین بردن میکروارگانیسم‌های عامل فساد و غیرفعال سازی آنزیم‌ها در برخی از مواد غذایی است (نظیر پاستوریزاسیون سرکه، نوشابه‌ها و ...)

Pasteurization Types

Temperature	Time	Pasteurization Type
63 °C	30 min	Low Temperature Long Time (LTLT) = Vat Pasteurization
72 °C	15 sec	High temperature Short Time (HTST) =Flash Pasteurization
89 °C	1 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
90 °C	0.5 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
94 °C	0.1 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
96 °C	0.05 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
100 °C	0.01 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
138 °C	2 sec	Ultra Pasteurization (UP)

- تیمارهای حرارتی مذکور معادل یکدیگر بوده و برای بردن از مقاومترین میکروارگانیسم های غیراسپورزای بیماری زا کافی می باشند شامل:

- *Mycobacterium tubercluosis*
- *Coxiella burnetti*
- *Mycobacterium bovis*

- علاوه بر این، درجه حرارت پاستوریزاسیون شیر برای از بین بردن کلیه مخمرها، کپک ها، باکتری های گرم منفی و بسیاری از گرم مثبت ها کافی است.

پاستوریزاسیون شیر

- دو گروه از میکروارگانیسم‌هایی که پس از پاستوریزاسیون‌ها زنده می‌مانند Thermophiles و Thermodurics ها می‌باشند.

- ارگانیسم‌های بدون اسپوری که طی پاستوریزاسیون شیر معمولاً زنده می‌مانند به جنسهای استرپتوکوکوس، لاکتوباسیلوس، کورینی باکتریوم و جنسهای دیگر از جمله میکروباکتریوم می‌باشند. میکروباکتریوم لاکتیکوم مقاومترین باکتری بدون اسپور از این گروه می‌باشد. این باکتری‌ها را معمولاً ترمودوریک می‌نامند که در درجه حرارت‌های بالا زنده می‌مانند اما رشدی ندارند. این باکتری‌ها دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه را تحمل می‌کنند.

- ولی ترموفیل‌ها آنهایی هستند که نه تنها در درجه حرارت‌های بالا زنده می‌مانند بلکه برای رشد و فعالیت‌های متابولیکی به دمای بالا نیاز دارند مهمترین آنها برخی از گونه‌های متعلق به جنس‌های باسیلوس و کلستریدیوم می‌باشند (در مواد غذایی).

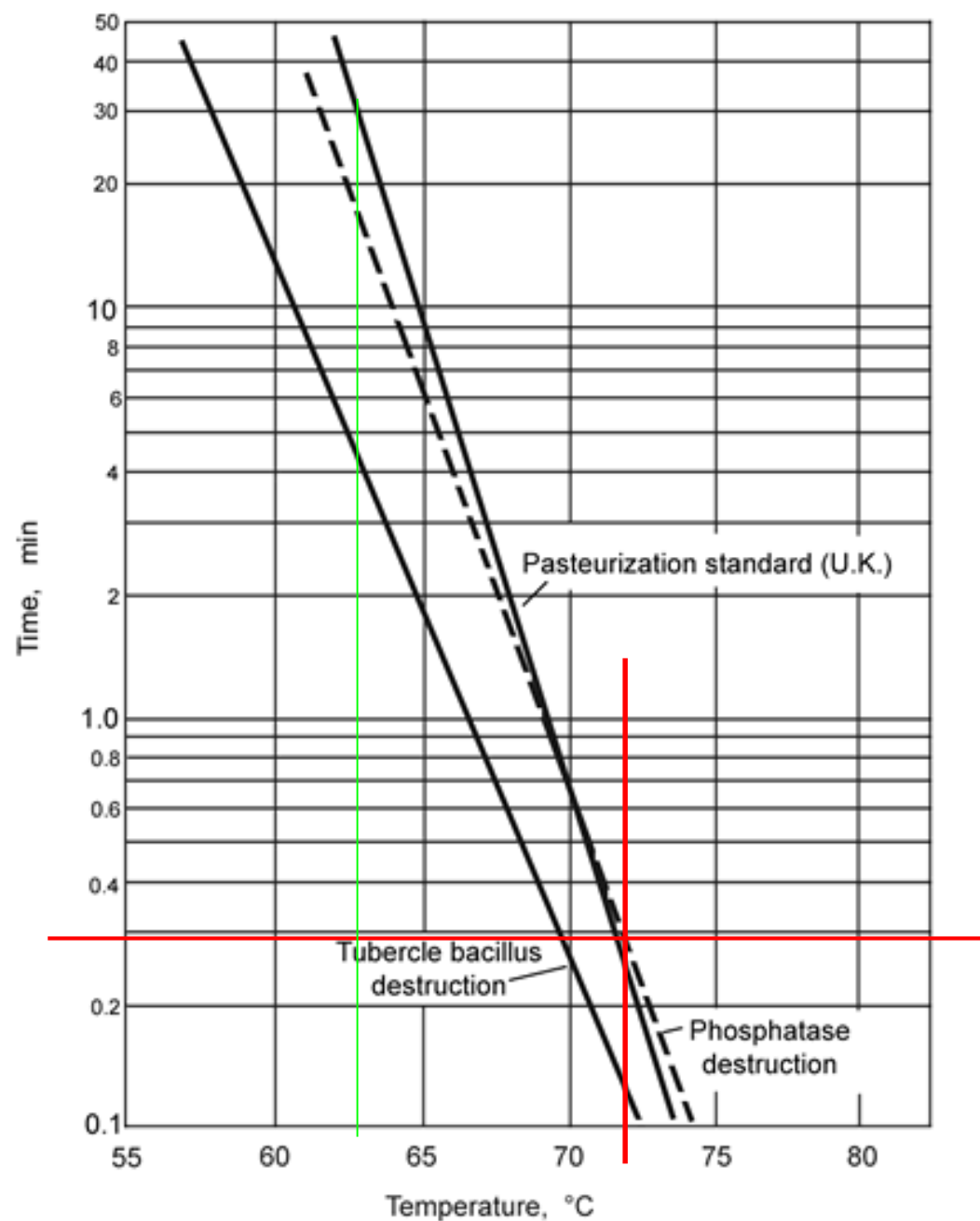
- یکی از روش‌های پاستوریزاسیون که برای از بین بردن عوامل فساد در آبجوها و نوشابه‌های غیرالکلی استفاده می‌شود معمولاً دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ تا ۱۵ دقیقه است.

Pasteurization Types

Temperature	Time	Pasteurization Type
63°C	30 min	Low Temperature Long Time (LTLT) = Vat Pasteurization
72 °C	15 sec	High temperature Short Time (HTST) =Flash Pasteurization
89 °C	1 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
90 °C	0.5 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
94 °C	0.1 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
96 °C	0.05 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
100 °C	0.01 sec	Higher-Heat Shorter Time (HHST)
138 °C	2 sec	Ultra Pasteurization (UP)

If the fat content of the milk product is 10 % or more, or if it contains added sweeteners;

Temperature	Time	Pasteurization Type
69°C	30 min	Low Temperature Long Time (LTLT)
80°C	25 sec	High temperature Short Time (HTST)
83°C	15 sec	High temperature Short Time (HTST)



Pasteurization curves for milk

استریلیزاسیون Sterilization

- **استریلیزاسیون** به معنای از بین بردن همه میکروارگانیسم‌هایی است که به روش یلایت یا شمارش میکروبی قابل اندازه‌گیری اند.
- برای مواد غذایی کنسرو شده عموماً اصطلاح استریلیزاسیون تجاری **Commercially sterile** استفاده می‌شود که بیانگر این نکته می‌باشد که هیچ ارگانیسم زنده‌ای با روش‌های کشت معمول قابل اندازه‌گیری نیست یا این که تعداد موجودات زنده آنقدر کم است که شرایط کنسرو کردن و نگهداری مواد غذایی هیچ اهمیتی ندارد.
- اگرچه ممکن است در این نوع از مواد غذایی بطور بالقوه تعدادی اسپور وجود داشته باشد ولی به علت مساعد نبودن pH، Eh و یا درجه حرارت قادر به رشد نمی‌باشند.

استریلیزاسیون Sterilization

- از پیشرفت‌های اخیر در صنایع شیر و فرآورده‌های آن استفاده از روشی است به نام UHT Ultra-High Temperature شیری که در این روش تولید می‌شود دارای ویژگی‌های خاص خودش است که به راحتی از شیر پاستوریزه قابل تشخیص است.

- خصوصیات عمده روش عبارتند از:

- مداوم بودن، انجام فرایندهای حرارتی خارج از ظروف بسته‌بندی و لزوم حفظ شرایط اسیپتیک Aseptic (پاستوریزاسیون مواد قبل از بسته‌بندی و پاستوریزاسیون بسته‌ها قبل از پر کردن)،

- درجه حرارت بالا (۱۵۰-۱۴۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان کوتاه (چند ثانیه، ۲-۳)

- شیر UHT را می‌توان بدون بروز تغییرات طعمی بیش از ۸ هفته در دمای محیط نگهداری کرد.

- از معایب آن نفوذ اکسیژن در مقوا (کاغذهای چند لایه) است لذا لازم است از لایه آلومینیومی استفاده کرد.

- و از تفاوت‌های اصلی با قوطی‌های فلزی عدم ایجاد فساد هیدروژنی و عدم نشت (فساد حاصل از آن) می‌باشد.

فاکتورهای مؤثر در مقاومت حرارتی میکروارگانیسم‌ها

□ آب:

- **مقاومت حرارتی** سلول‌های میکروبی با کاهش رطوبت محیط و ماده غذایی **افزایش** می‌یابد. میکروارگانیسم‌های خشک شده که در لوله آزمایش و در حمام آب گرم حرارت دیده‌اند نسبت به سلول‌های مرطوب همان میکروب‌ها مقاومت حرارتی بیشتری از خود نشان می‌دهند.
- یکی از علل این پدیده را **دنا توراسیون سریع‌تر پروتئین در آب** نسبت به هوا می‌دانند که احتمالاً باعث مرگ سلول می‌شود.
- **اعمال حرارت در حضور آب سبب تشکیل گروه‌های آزاد SH- شده** که ظرفیت اتصال به آب پروتئین‌ها را افزایش می‌دهد و باعث دناتوراسیون سریع‌تر آن می‌گردد.
- و نیز وجود آب **باعث شکسته شدن راحت‌تر پیوندهای پپتیدی** در اثر حرارت می‌گردد، که انجام این واکنش در غیاب آب نیاز به انرژی و در نتیجه حرارت بیشتر دارد.

□ چربی:

- در حضور چربی **مقاومت بعضی از میکروب‌ها بیشتر** می‌شود. به نظر می‌رسد با تأثیر مستقیم بر روی رطوبت سلول باعث افزایش مقاومت حرارتی می‌گردد.

□ نمک‌ها:

- اثر نمک‌ها بر روی میکروارگانیسم‌ها متفاوت بوده و بستگی به نوع نمک، غلظت و فاکتورهای دیگر دارد بعضی مقاومت را افزایش می‌دهند و بعضی (Ca^{2+} , Mg^{2+}) حساسیت آن را افزایش می‌دهند.
- علت این پدیده را افزایش یا کاهش فعالیت آبی می‌دانند که کاهش آن باعث افزایش مقاومت حرارتی سلول می‌شود.

□ قندها:

- وجود قندها سبب افزایش مقاومت حرارتی Morg ها می‌شود
- این اثر تا حد زیادی مربوط به افزایش غلظت و کاهش فعالیت آبی است.
- ولی بطور کلی می‌توان گفت، افزایش غلظت محلول به نوع ارگانیسم نیز بستگی دارد.
- برای مثال *Pse. fluorescens, E.coli* در مجاورت گلوکز در a_w نزدیک به حداقل برای رشد، از مقاومت حرارتی خوبی برخوردارند در حالیکه استفاده از NaCl آنها را چندان در مقابل حرارت محافظت نمی‌کند
- اما در خصوص *S. aureus* برعکس می‌باشد گلوکز عملاً هیچ محافظتی در برابر حرارت برای این باکتری ایجاد نمی‌کند یا حتی مضر است اما NaCl محافظ بسیار خوبی است.

- **pH:** اپتیمم رشد میکروارگانیسم‌ها بطور معمول حدود ۷ است و میکروارگانیسم‌ها در این pH بیشترین مقاومت را از خود نشان می‌دهند هر pH از این مقدار بالاتر یا پائین‌تر، حساسیت حرارتی نیز به همان نسبت زیاد می‌شود مزیت این ویژگی این است که در غذاهای خیلی اسیدی در مقایسه با غذاهای نزدیک خشی نیاز به حرارت کمتری وجود دارد.

- پروتئین‌ها و مواد دیگر: پروتئین‌ها در فرایند حرارتی اثر محافظت‌کنندگی روی میکروارگانیسم‌ها دارند لذا مواد غذایی با پروتئین بیشتر فرایند حرارتی بیشتری در مقایسه با مواد غذایی کم پروتئین نیاز دارند.

- تعداد میکروارگانیسم‌ها: با افزایش تعداد Morg ها مقاومت حرارتی بیشتر می‌شود بعضی علت را تولید سوبستراهای محافظت کننده بخصوص پروتئین‌های خارج سلولی می‌دانند.

- سن میکروارگانیسم‌ها: باکتری‌ها در فاز سکون و فاز لگاریتمی به ترتیب از بیشترین و کمترین مقاومت حرارتی برخوردارند اسپورها نیز اینگونه‌اند.

- **دماي رشد:** با افزايش دماي اينكوباسيون مقاومت حرارتي Morgها افزايش مي يابد براي مثال مقاومت حرارتي *Salmonella senftenberg* (س.سنف تنبرگ) كه در ۴۴ درجه سانتیگراد رشد کرده است ۳ برابر آنهایی كه در ۳۷ درجه رشد کرده اند.

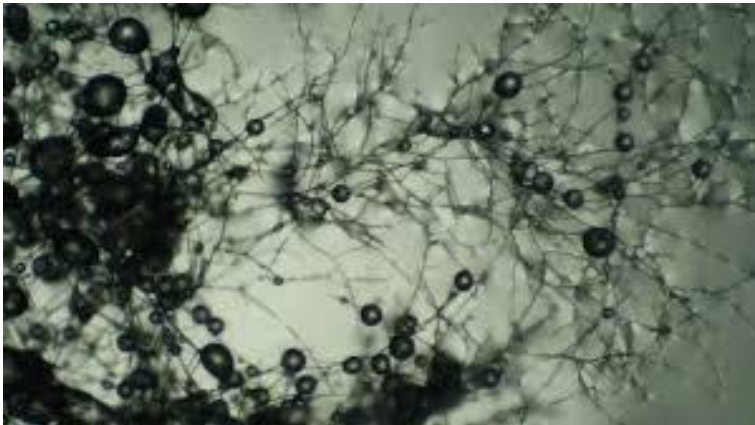
- **تركيبات مهاركنندگی:** انجام فرآيند حرارتي در حضور تركيباتي نظير آنتيبيوتيكهاي مقاوم حرارت، SO_2 و ... كه از مهاركننده هاي ميكروبی مي باشند سبب کاهش مقاومت حرارتي مي شوند.

- **زمان و درجه حرارت:** هرچه زمان حرارت دهی بیشتر باشد اثر كشنده گي نیز بیشتر خواهد شد. دماي بالاتر اثر كشنده گي بیشتری دارد و لذا به زمان كم تري جهت كشتن تعداد معيني از ميكروب ها نیاز دارد. اندازه لوله ها، ظروف حرارتي و نیز جنس آنها از قبيل شیشه، پلاستيك، فلز و ... نیز مهم مي باشند- مثلاً در ظرف بزرگتر دما ديرتر به همه جا مي رسد.

- **اولتراسونيك Ultrasonic:** اگر اسپور باكتري ها را درست قبل يا حين حرارت دادن در معرض اولتراسونيك قرار دهند سبب کاهش مقاومت حرارتي آن مي شود.

مقایسه مقاومت حرارتی نسبی میکروارگانیزم

- عموماً مقاومت حرارتی میکروارگانیزم‌ها به دمای رشدشان بستگی دارد. مزوفیل‌ها حساس‌تر از ترموفیل‌ها و سایکروفیل‌ها حساسترین آنهاست.
- باکتری‌های اسپورزا مقاوم‌تر از بدون اسپور و ترموفیل‌های اسپورزا از مزوفیل‌های اسپورزا مقاوم‌ترند.
- حساسیت مخمرها و کپک‌ها در حد متوسطی است مقاومت حرارتی اسکوسپورها مخمرها اندکی بیشتر از مخمرهای رویشی است.
- مقاومت حرارتی اسپورهای غیر جنسی کپک‌ها کمی بیشتر از میسیلیوم کپک‌ها می‌باشد.
- در این دسته اسکلروشا Sclerotia از بیشترین مقاومت حرارتی برخوردار بوده لذا در کنسرو میوه‌ها زنده مانده و مشکل‌آفرین می‌شوند.



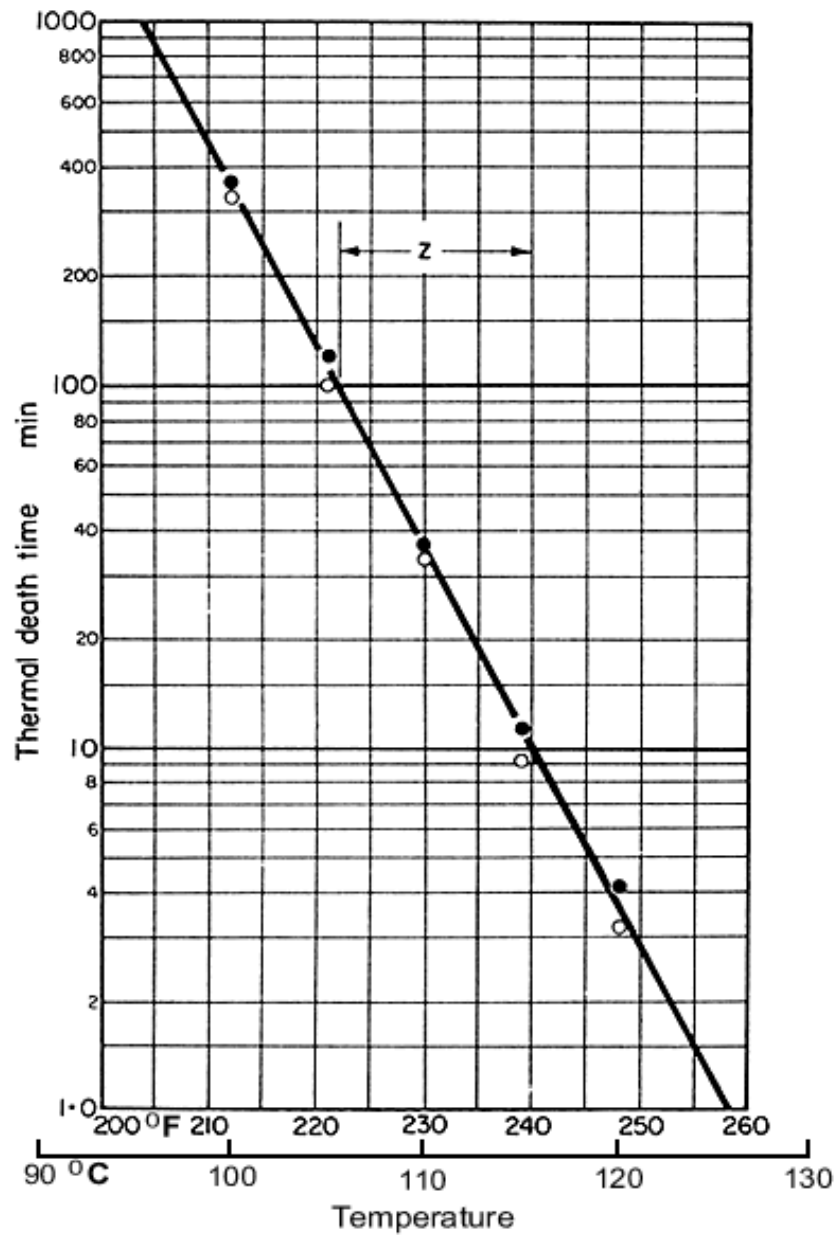
Thermal Death Time

تعیین مقاومت حرارتی

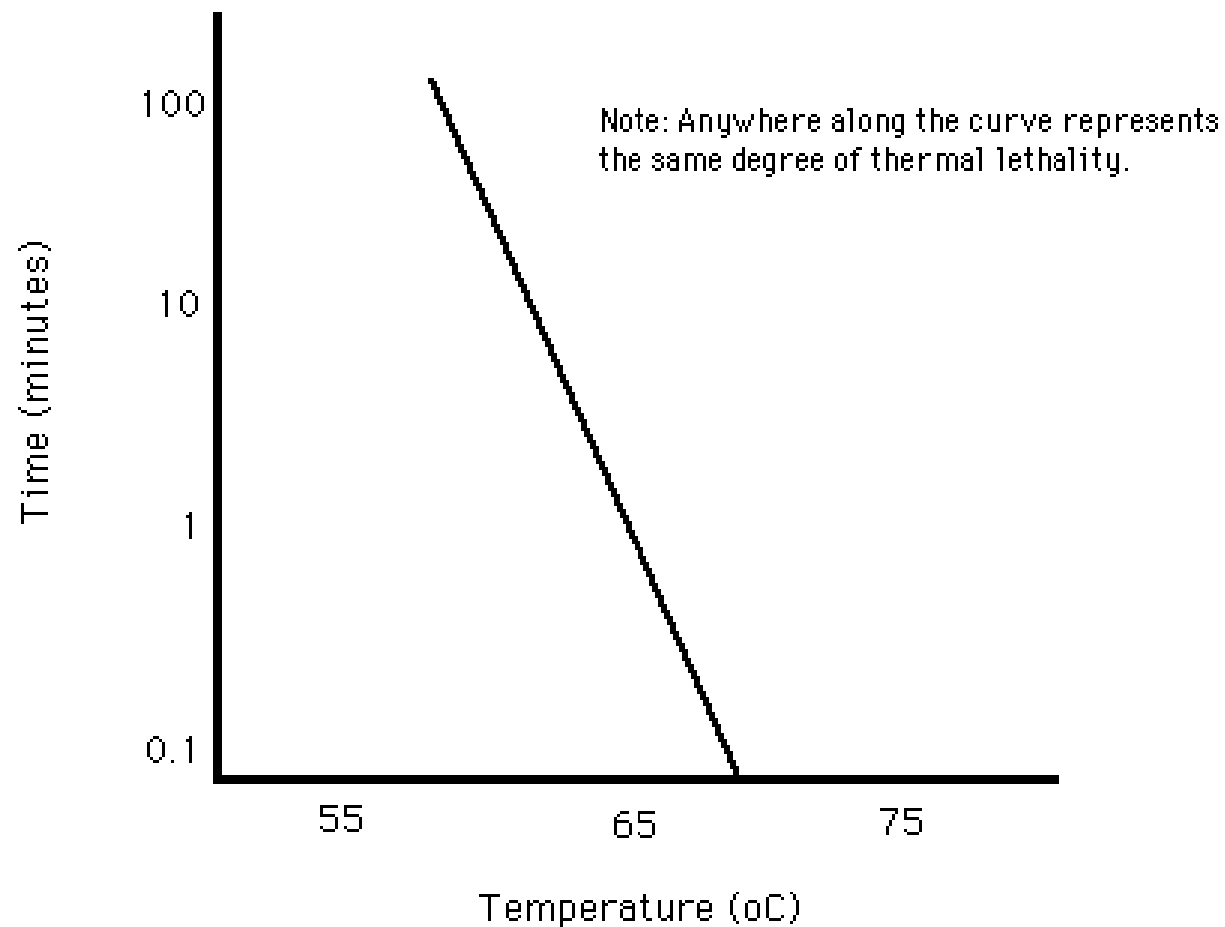
- برای **درک بهتر تخریب حرارتی میکروارگانیسم‌ها** در فرایندهای حرارتی (استریلیزاسیون و پاستوریزاسیون) از روش‌های خاصی استفاده می‌شود از جمله آنها تعیین Thermal Death Time (TDT) زمان مرگ حرارتی و یا Thermal Death Point (TDP) است.
- TDT: **زمان لازم** برای از بین بردن تعداد مشخصی از میکروارگانیسم‌ها در یک دمای معین است در این روش **درجه حرارت ثابت فرض شده** زمان از بین رفتن تمام سلول‌ها تعیین می‌گردد.
- TDP: نقطه مرگ حرارتی از اهمیت کمتری برخوردار است و عبارت است از **دمای لازم برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها در زمان ثابت که معمولاً ۱۰ دقیقه است**.

روش مورد استفاده عموماً TDT است که به شرح زیر:

- ۱- نهیة سوسپانسیون های میکروبی با **تعداد مشخصی از سلول های رویشی یا اسپورها** در ظروفی مانند لوله های آزمایش قوطی، فلاسک (ارلن)، بشر، لوله بدون درب، لوله مؤین.
- ۲- ظروف حاوی سوسپانسیونهای میکروبی را در **حمام روغن** قرار داده و برای مدت های مشخصی حرارت می دهند.
- ۳- پس از حرارت دهی ظروف را از آن در آورده **سریعاً سرد نموده** و از آن بر روی محیط های مغذی کشت می دهند. رشد یا عدم رشد پس از گرمخانه گذاری با ایجاد کلنی ها یا عدم آن مشخص می گردد.
- **کمترین زمانی که هیچ رشدی دیده نشود TDT** مورد آزمایش را تعیین می کند.
- اگر این آزمایش در **دماهای مختلف** انجام شده و **زمان مورد نیاز در هر دما** تعیین گردد می توان منحنی TDT را رسم کرد
- سپس بعد از وصل کردن این اعداد به **هم خطی به دست می آید که می تواند برای هر دمایی** استفاده شده و TDT را بر روی آن به دست آورد.



Thermal death time curve for *Clostridium botulinum*



Thermal Death Time Curve for
Coxiella burnetii, $z = 40^{\circ}\text{C}$

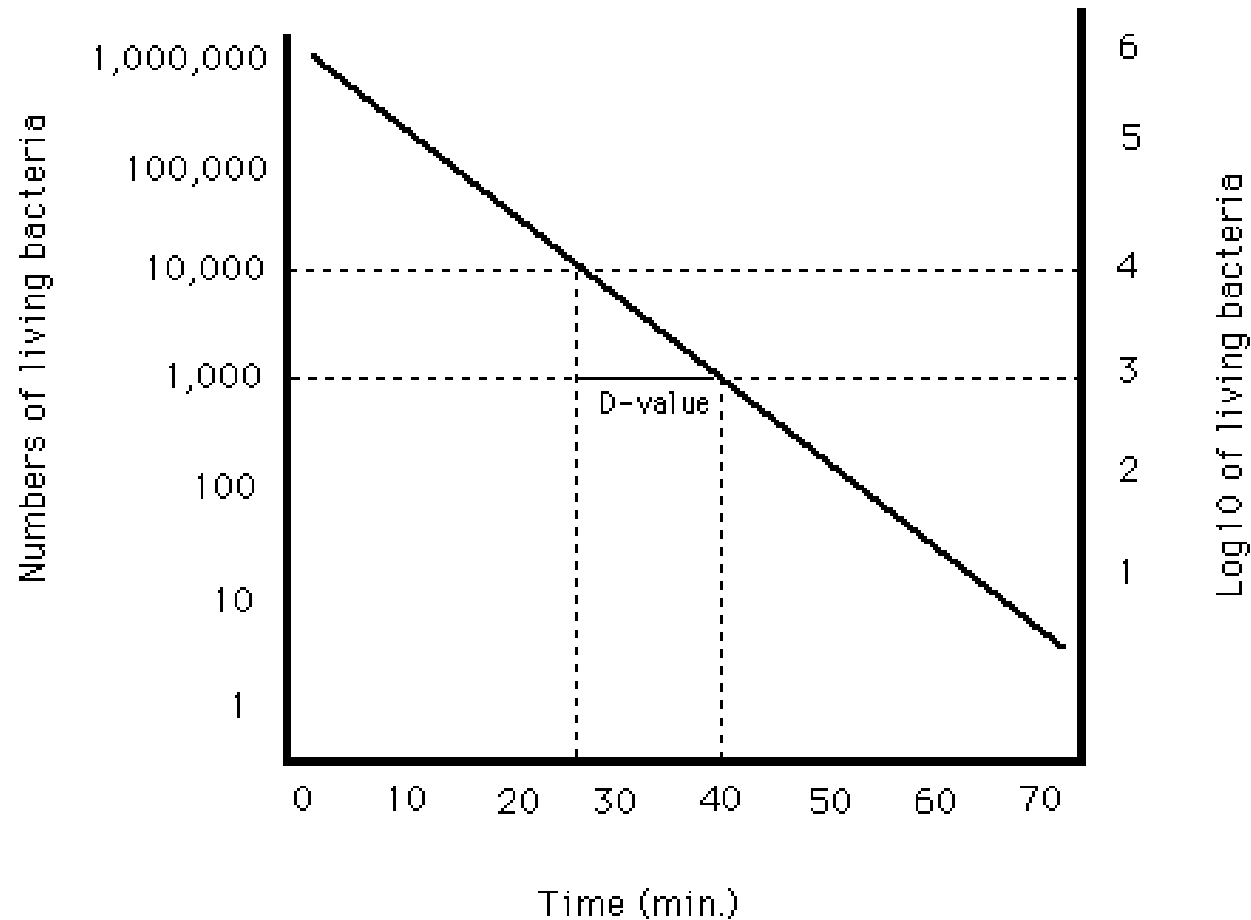
D-Value عد D

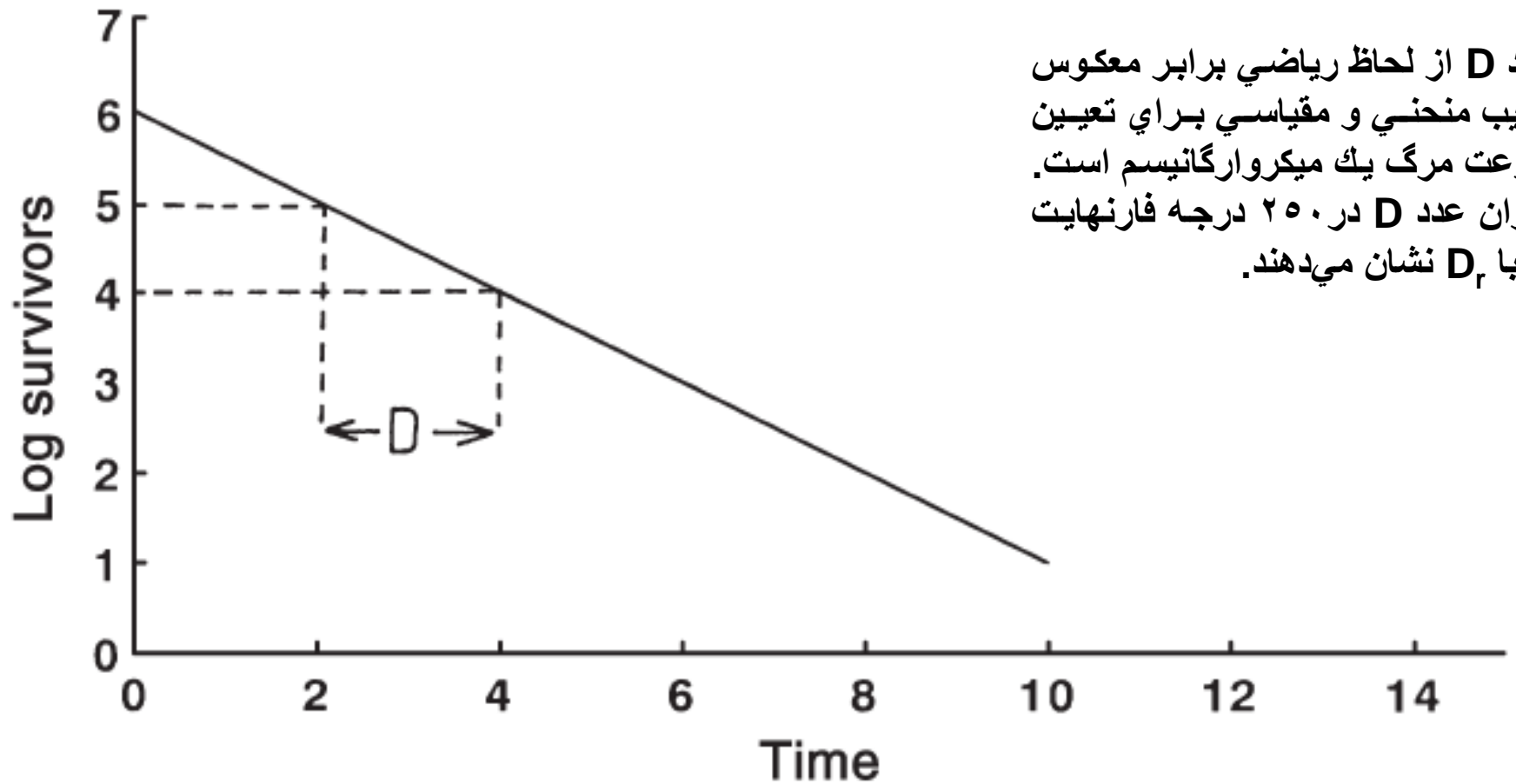
- اگر نمودار دیگری تهیه شود که تعداد میکروارگانیسم‌های موجود بر روی محور Y ها و به صورت لگاریتمی نوشته می‌شود زمان بر روی محور X ها.
- در این صورت خط حاصل در این حالت منحنی سرعت مرگ **Death rate** میکروارگانیسم را نشان می‌دهد و با علامت **D** نشان داده می‌شود.

D-Value عد D

- علامت **D** نشان دهنده **Decimal reduction** یا کاهش اعشاری میکروارگانیسم‌هاست در تعریف زمان کاهش يك فاز لگاریتمی یا زمان لازم (بر حسب دقیقه) برای از بین بردن ۹۰ درصد از ارگانیسم‌هاست. این مقدار برابر تعداد دقایق لازم در منحنی سرعت مرگ حرارتی برای کاهش يك سيكل لگاریتمی است. (نمودار B صفحه بعد)

عدد D از لحاظ ریاضی برابر معکوس شیب منحنی و مقیاسی برای تعیین سرعت مرگ یک میکروارگانیسم است. میزان عدد D در ۲۵۰ درجه فارنهایت را با D_r نشان می‌دهند.





عدد D از لحاظ ریاضی برابر معکوس شیب منحنی و مقیاسی برای تعیین سرعت مرگ یک میکروارگانیسم است. میزان عدد D در ۲۵۰ درجه فارنهایت را با D_r نشان می‌دهند.

The D value

$$D = (t_2 - t_1) / (\log N_1 - \log N_2)$$

- در استریلیزاسیون غذاهای کم اسید و غیر اسید فرض بر این است که مقاومترین میکروبهای پاتوژن به گرما در آنها وجود دارند.
- به این دلیل مبنای کار را بر روی میکروب اسپوردار غیر هوازی به نام *C. botulinum* که در غذاهای کم اسید سم بسیار خطرناکی را تولید می‌کنند، قرار داده‌اند.
- اگر یک فرآیند حرارتی این ارگانیسم را از بین نبرد، آن فرایند برای استریلیزاسیون مواد غذایی مناسب و کافی نیست.
- ولی چون کارکردن با آنها همراه با مخاطراتی است از نوعی میکروب که دارای مقاومت حرارتی بیشتری است، استفاده می‌نمایند این باکتری سروتیمی از *C. sporogenes* معروف به PA 3679 (Putrefactive anaerobe) است.
- که در حین فعالیت پروتئین‌ها را شکسته و بوی متعفن تولید می‌کند. یکی از عوامل بسیار مؤثر بر روی عدد D، pH محیط است.

- A frequently used **indicator organism** is *Clostridium botulinum*.
 - ✓ This particular organism is a **very important food poisoning** organism as it produces a deadly toxin and
 - ✓ also its spores are amongst the **most heat resistant**.

Sterilization

- The object of sterilization is to
 - **destroy all microorganisms**, that is, bacteria, yeasts and moulds, in the food material to prevent decomposition of the food, which makes it unattractive or inedible.
 - Also, sterilization prevents any **pathogenic (disease-producing) organisms** from surviving and being eaten with the food.

- با افزایش درجه حرارت میزان D کاهش می یابد. این کاهش در دامنه های حرارتی مورد استفاده در فرایند مواد غذایی به صورت نمایی است. بنابراین رسم منحنی لگاریتم D در برابر درجه حرارت باعث ایجاد یک خط مستقیم می شود از این مسئله می توانیم پارامتر دیگری را در فرایندهای حرارتی بدست آوریم که عدد Z نامیده می شود

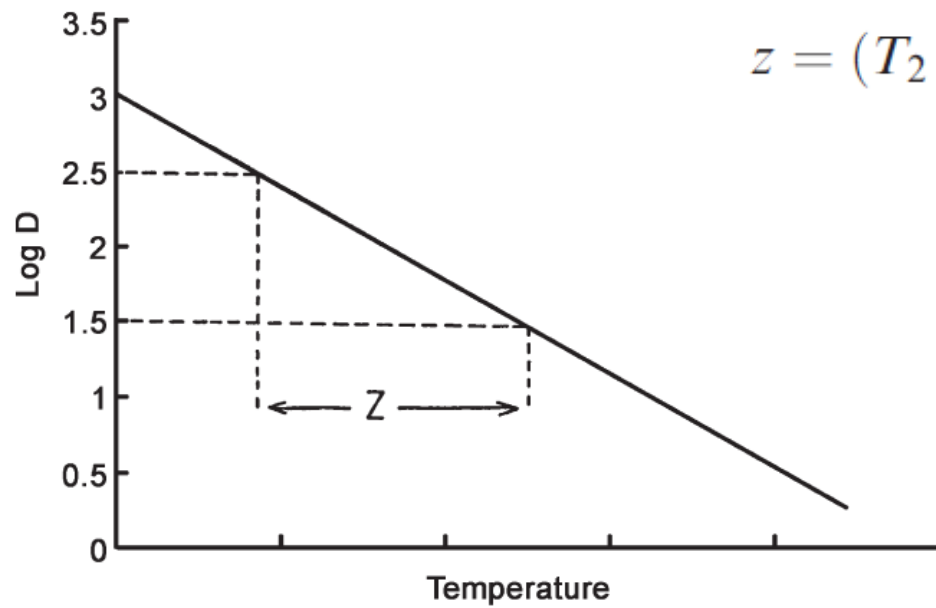
- عدد Z یا Z value: عبارت است از تعداد درجات لازم برای کاهش يك سيكل لگاریتمی در عدد D. از لحاظ ریاضی برابر است با معکوس شیب منحنی.

$$z = (T_2 - T_1) / (\log D_1 - \log D_2)$$

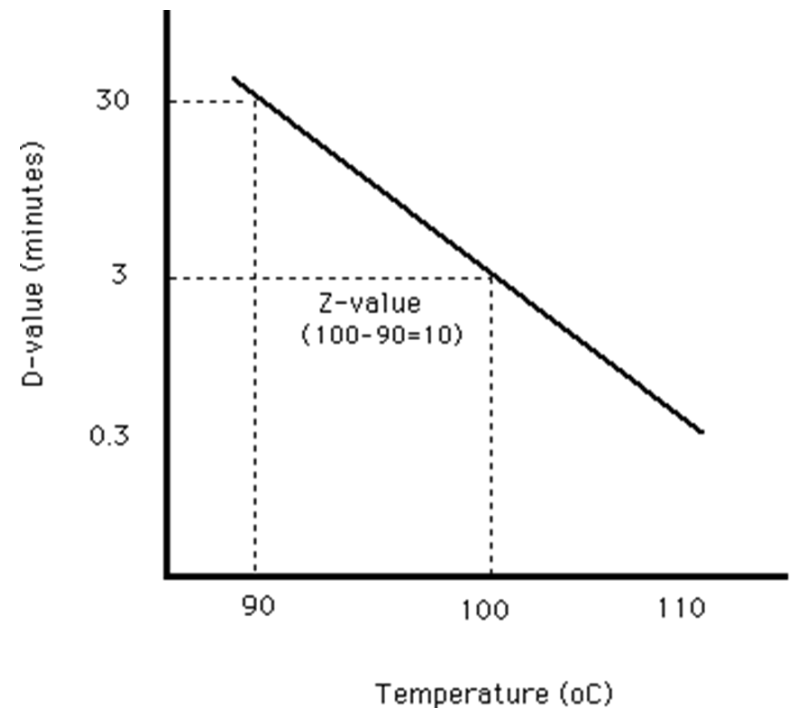
- عدد D مقاومت يك میکروارگانیسم را در درجه حرارت خاصی نشان می دهد در حالیکه عدد Z نشان دهنده مقاومت نسبی يك ارگانیسم در درجه حرارت های نابود کننده مختلف می باشد. به کمک این پارامتر می توان فرایندهای حرارتی معادل را در درجه حرارت های مختلف محاسبه نمود برای مثال اگر مدت فرایند حرارتی کافی 140°F درجه برابر $3/5$ دقیقه و Z معادل ۸ باشد در دماهای 148°F و نیز 132°F درجه به ترتیب $0/35$ و 35 دقیقه معادل آن خواهند بود.

- عدد F: برابر است با زمان بر حسب دقیقه در فرایندهای حرارتی (که در واقع انرژی دریافتی معادل انرژی است که فرایند در دمای 250°F درجه انجام شود). در واقع F معیاری برای اندازه گیری ظرفیت حرارتی استریلیزاسیون است که زمان لازم برای استریل کردن را مشخص می کند.

$$z = (T_2 - T_1) / (\log D_1 - \log D_2)$$



The z-value



این عدد برابر است با زمان لازم (بر حسب دقیقه) در فرآیندهای حرارتی که در 250°F ($121/1^{\circ}\text{C}$) برای از بین بردن اسپورها یا سلول‌های رویشی یک ارگانیسم خاص به کار برده می‌شود. کل زمانی که تمام نقاط یک ظرف محتوی مواد غذایی در طی فرآیند حرارتی در معرض دماهای کشنده قرار می‌گیرد را با F_0 یا F_z نشان می‌دهند. این عدد شاخصی از قابلیت یک فرآیند حرارتی در کاهش تعداد اسپورها یا سلول‌های رویشی یک ارگانیسم خاص در هر ظرف می‌باشد. هرگاه گرم کردن و سرد کردن کل یک ظرف محتوی اسپورها، سلول‌های رویشی یا ماده‌ی غذایی را به‌طور لحظه‌ای در نظر بگیریم، می‌توان F_0 را از رابطه‌ی زیر به‌دست آورد:

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

که در این رابطه a تعداد اولیه‌ی سلول‌ها و b تعداد نهایی سلول‌ها می‌باشند.

طرح ۱۲D:

- طرح ۱۲D زمان فرایند در صنعت کنسروسازی است و عبارت است از حداقل فرایند حرارتی که احتمال زنده ماندن مقاومترین اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم را به ۱۰^{-۱۲} می‌رساند (برای مثال اگر ۱۰^{-۱۲} در هر قوطی باشد به ۱ اسپور می‌رسد) حتی آلوده‌ترین مواد غذایی کنسرو شده به ندرت ممکن است جمعیت میکروبی بیش از یک میلیارد به ازاء هر قوطی داشته باشد اندیس ۱۲D شرایط قوطی را به استریلیته کامل بدل می‌کند.
- از آنجایی که اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم زیر pH 4.5، رویش نکرده و سم تولید نمی‌کنند طرح ۱۲D فقط جهت مواد غذایی با pH بالای 4.5 در نظر گرفته می‌شود.
- اگر در نظر بگیرید هر قوطی تنها دارای یک اسپور *C. botulinum* است F_0 را می‌توان با استفاده از معادله عمومی منحنی سرعت مرگ و دیگر فرضیات پذیرفته شده قبلی محاسبه کرد.
- $F_0 = D_r (\text{Log} a - \text{Log} b)$
- $F_0 = 0.21 (\text{Log } 1 - \text{Log } 10^{-12}) = 0.2$ $F_{121} = D_{121} (\log N_0 - \log N)$
- فرایندی معادل 2.52 دقیقه در ۲۵۰ F درجه خواهد توانست تعداد اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم را به ۱ اسپور در ۱ قوطی از یک بیلیون قوطی کاهش دهد.

مفهوم ۱۲D

مفهوم ۱۲D به طول فرآیند حرارتی لازم در فرآیند کنسروسازی اشاره داشته و به معنی حداقل فرآیند حرارتی است که احتمال زنده ماندن مقاوم‌ترین اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم را به 10^{-12} برساند. از آنجا که اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم در pH کمتر از ۴/۶ قادر به جوانه‌زنی و تولید سم نیستند، این مفهوم تنها برای غذاهای با pH بالاتر از این مقدار استفاده می‌شود. استامبو این مفهوم را از لحاظ فناوری کنسروسازی به صورت زیر توضیح می‌دهد. اگر فرض کنیم که هر قوطی کنسرو حاوی تنها یک اسپور کلستریدیوم بوتولینوم باشد، F_0 را می‌توان با استفاده از معادله‌ی کلی منحنی بقا و با در نظر گرفت فرضیات اشاره شده در بالا محاسبه نمود:

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

$$F_0 = 0.21(\log 1 - \log 10^{-12})$$

12D

- The rates of destruction can in TDT way be related to:
 1. The numbers of viable organisms in the initial container or batch of containers.
 2. The number of viable organisms which can safely be allowed to survive.
- Of course the surviving number must be small indeed, very much less than one, to ensure adequate safety.
- However, this concept, which includes the admissibility of survival numbers of much less than one per container, has been found to be very useful.
- From such considerations, the ratio of the initial to the final number of surviving organisms becomes the criterion that determines adequate treatment.
- A **combination of historical reasons and extensive practical experience** has led to this number being set, for *C. botulinum*, at $10^{12}:1$.
- For other organisms, and under other circumstances, it may well be different.

نگهداري مواد غذايي با دماهاي پائين

- استفاده از درجه حرارت پائين براي نگهداري مواد غذايي ناشي از اين حقيقت است که **فعاليت ميكروبهاي غذازا در درجه حرارتهاي بالاي انجماد كندتر شده و معمولاً در درجه حرارتهاي زير انجماد متوقف ميشود.**
- دليل اين امر آن است که همه واكنشهاي متابوليكي ميكروارگانيسمها توسط **آنزيمها كاتاليز** ميگردد و سرعت واكنشهايي که با آنزيم انجام ميشوند به درجه حرارت وابسته است.
- افزايش درجه حرارت سبب افزايش سرعت واكنش ميشود. ضريب حرارتي Q_{10} (*Temperature coefficient*) به شكل زير تعريف ميشود.

$$Q_{10} = \frac{(\text{Velocity at a given temperature} + 10C^0)}{\text{Velocity at temperature } T}$$

- Q_{10} در اكثر سيستم هاي بيولوژيكي (حياتي) 1.5 تا 2.5 است، بدین معني که به ازاي هر ۱۰ درجه سانتیگراد افزايش درجه حرارت در رنج مناسب، سرعت واكنش حدود ۲ برابر افزايش مي يابد. کاهش هر ۱۰ درجه سانتیگراد نیز سرعت را نصف مي کند.

سایکروفیل و سایکروتروف

- عبارت **سایکروفیل در سال ۱۹۰۲** در مورد میکروارگانیسمهایی استفاده شد که در صفر درجه سانتیگراد رشد می کنند. امروزه به عنوان اصطلاحی برای باکتری های قادر به رشد از رنج دمایی **صفر تا 20°C** است و بهینه دمای رشد آنها بین **10°C - 10°C** است.
- سایکروتروف به ارگانیسمی اطلاق می شود که قادرند در **دماهای بین 7°C - 0°C** رشد کند و در عرض **۷-۱۰ روز کلنی های** قابل رویت یا کدورت ایجاد نماید
- بخاطر اینکه بعضی از این باکتری ها می توانند در **دماهای بالا** رشد کنند (تا دمای مورد نظر **۴۳ درجه سانتیگراد**) لذا آنها را جزء مزوفیل ها می دانند.
- با توجه به تعریف ارائه شده برای این واژه ها انتظار می رود که **سایکروفیلها منحصرأ بر روی فراورده های بدست آمده از آب دریاها و اقیانوسها یا از مناطق خیلی سرد** وجود داشته باشند.
- از طرفی دیگر انتظار می رود که ارگانیسمهای عامل فساد **گوشتها، طیور و سبزیجات** در دماهای **5°C - 0°C** جزء **گروه سایکروتروفها** باشند. سایکروتروفها قادر به رشد در محیطهای غیر اختصاصی در **43°C** به مدت ۲۴ ساعت نمی باشند و از این روش برای جداسازی سایکروتروفها از سایر باکتری ها استفاده می شود.

به دلیل اینکه تمام سایکروتروف‌ها در دامنه دمایی ۷-۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت یکسانی رشد نمی‌کنند از این رو آنها را به دو دسته تقسیم می‌کنند.

۱. آنهایی که تا ۶ الی ۱۰ روز یا بیشتر تولید کلنی می‌کنند *Eurypsychrotroph* (نامحدود یا گسترده)
 ۲. آنهایی که در عرض کمتر از ۵ روز کلنی قابل مشاهده ایجاد می‌کنند. *Stenopsychrotroph* (محدود یا کوتاه)
- سایکروتروفهایی از که در 7°C و در عرض ۱۰ روز به خوبی رشد می‌کنند و در 3°C رشد مناسبی دارند می‌توان از *انتروباکتر کلواکه*، *هافنیا آلویی* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* نام برد. که از باکتریهای گروه یوری سایکروتروف می باشد.
 - شاخص باکتریهای استئو سایکروتروف *سودوموناس فراژی* و *ائروموناس هیدروفیلا* می باشد. که در ۷ درجه سانتی‌گراد در عرض ۳ تا ۵ روز به خوبی رشد می‌کنند ولی در ۴۰ درجه سانتی‌گراد نمی‌توانند رشد کنند.

دماهای پائین برای نگهداری مواد غذایی

- الف- دمای سرد **chilling temperatures** دماهای معمول مورد استفاده در یخچال‌ها (۵-۷ درجه سانتی‌گراد) و دماهای محدود (۱۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد) این دماها برای نگهداری سبزیجات و میوه‌ها از قبیل خیار و سیب‌زمینی و (Limon) لیمون‌ها مناسب است.
- ب- درجه حرارت‌های یخچالی **Refrigerator temperatures** (بین ۰-۷ درجه سانتی‌گراد) که بطور معمول زیر ۴۰ F درجه را در نظر می‌گیرند.
- ج- دمای فریزر **Freezer temperatures** ۱۸- درجه سانتی‌گراد یا پائینتر را گویند تحت شرایط نرمال (طبیعی) رشد همه میکروارگانیسم‌ها در دماهای فریزر متوقف می‌شود. اگر هم بعضی قادر به رشد باشند سرعت رشد بسیار پائین است.

کمترین درجه حرارت رشد

- کمترین درجه حرارت گزارش شده برای رشد میکروارگانیسم‌ها در غذا ۳۴- درجه سانتی‌گراد است که مربوط به یک مخمر صورتی رنگ **pink Yeast** است.
- احتمال رشد مخمرها و کیک‌ها در درجه حرارت‌های زیر صفر بیشتر از باکتری‌هاست که با توانایی رشد قارچ‌ها در a_w پائین مطابقت دارد.
- پائین‌ترین درجه حرارت‌های گزارش شده برای باکتری‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد و حدود ۱۲- درجه سانتی‌گراد است
- غذاهایی که احتمالاً برای رشد میکروبی در دماهای زیر صفر نیز مناسب است عبارتند از کنسانتره‌های آب میوه‌ها، بستنی، **bacon** «گوشت نمک زده پهلو خوک» و بعضی از میوه‌ها. این فرآورده‌ها داری ترکیباتی هستند که قادرند دمای انجماد آب را پائین بیاورند.

آماده‌سازی مواد غذایی برای انجماد:

- عملیات آماده‌سازی سبزیجات برای فریز کردن عبارت است از انتخاب، جدا کردن (سورت) همراه با طبقه‌بندی، شستن، بلاچینگ و بسته‌بندی قبل از انجماد.
- از منجمد شدن آن دسته از غذاهایی که دارای فساد مشهود هستند باید پرهیز شود.
- گوشت‌ها، مرغ‌ها، غذاهای دریایی، تخم‌مرغ‌ها و غذاهایی دیگر باید تا حد ممکن تازه باشند.

Blanching

- **Blanching** را می‌توان به دو صورت انجام داد:

۱- استفاده از آب داغ «غوطه‌ور کردن آن»

۲- استفاده از بخار

- هدف از آن عبارت است از:

- غیر فعال کردن آنزیم‌هایی که ممکن است در طول نگهداری در حالت انجماد تغییرات نامطلوبی ایجاد کنند.

- افزایش یا تثبیت رنگ سبز بعضی از سبزیجات

- کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها

- تسهیل در بسته‌بندی سبزیجات برگی به وسیله ایجاد پژمردگی

- تخلیه هوای محبوس در بافت‌های گیاهی

- کاهش بار میکروبی تا ۹۹ درصد نیز در مورد بلانچینگ گزارش شده است اگر چه هدف اصلی نابودی میکروارگانیسم‌ها نمی‌باشد.

انجماد مواد غذایی و اثرات انجماد

- روش انجماد سریع یا Quick یا Fast freezing فرایندی است که درجه حرارت مواد غذایی در عرض ۳۰ دقیقه تا دمای ۲۰- درجه سانتیگراد کاهش می‌یابد.
- این عملیات ممکن است بوسیله غوطه‌ور کردن مستقیم یا تماس غیر مستقیم مواد غذایی با مواد سرمازا «منجمدکننده» انجام شود
- یا با استفاده از جریان هوای خیلی سردی که به مواد غذایی در حال انجماد وزیده می‌شود.
- **Slow freezing** به فرایندی گفته می‌شود که از این طریق يك ماده غذایی در عرض ۳ تا ۷۲ ساعت به دمای مطلوب انجماد می‌رسد، که مثال بارز آن فریز کردن در فریزرهای خانگی است انجماد سریع از نظر حفظ کیفیت مواد غذایی دارای مزایای بیشتری نسبت به انجماد کند است.

تابلوی ۱۶-۱ مقایسه‌ی روش‌های انجماد

انجماد سریع	انجماد کند
<ul style="list-style-type: none"> ● کریستال‌های کوچک یخ تشکیل می‌شوند ● متابولیسم متوقف می‌شود ● محصول مدت کوتاهی در برابر عوامل زیان‌آور قرار می‌گیرد ● هیچ سازگاری در دماهای پایین صورت نمی‌گیرد ● شوک دمایی (تغییر حالت خیلی شدید) وجود دارد ● اثر محافظتی ندارد ● میکروارگانیزم‌ها به صورت کریستال منجمد می‌شوند ● مانع از عدم موازنه‌ی سوخت و ساز درونی می‌شود 	<ul style="list-style-type: none"> ● کریستال‌های بزرگ یخ تشکیل می‌شوند ● روابط متابولیکی مختل می‌شوند ● قرار گرفتن در معرض عوامل مضر یا آسیب‌رسان به مدت طولانی ● سازگاری تدریجی ● عدم وجود شوک دمایی ● تجمع مواد تغلیظ شده همراه با اثرات مفید

انجماد سریع:

- ۱- کریستال‌های تشکیل‌شده یخ ریز است
- ۲- متابولیسم‌ها متوقف یا به حداقل می‌رسند
- ۳- فرآورده به مدت کوتاه‌تری در برابر عوامل زیان‌آور شدید قرار می‌گیرد
- ۴- هیچ سازگاری (تطبیقی) با دماهای پائین ایجاد نمی‌شود
- ۵- ایجاد شوک حرارتی (تغییر حالت خیلی شدید)
- ۶- هیچ اثر محافظتی ندارد (برای میکروب‌ها)
- ۷- انجماد میکروب‌ها در داخل کریستال‌ها
- ۸- جلوگیری از عدم تعادل متابولیکی داخلی (از عدم موازنه سوخت و ساز درونی اجتناب می‌شود)

انجماد کند

- ۱- کریستال‌های یخ درشت استدر انجماد زدایی باعث تخریب ماده غذایی
- ۲- روبرط متابولیکی مختل می‌شود. ممکن است تأثیر روش بجا بگذارد مانند افزایش نیاز مواد غذایی
- ۳- فرآورده به مدت طولانی‌تری در برابر عوامل مضر فرآوری قرار می‌گیرد.
- ۴- سازگاری تدریجی ایجاد می‌شود
- ۵- شوک حرارتی ایجاد نمی‌شود
- ۶- همراه با تغلیظ مواد محلول اثرات مطلوبی برای میکروب‌ها بجا می‌گذارد.

سوختگی حاصل از انجماد Freezer burn

- پدیده‌ای است که در مورد مواد غذایی با بسته‌بندی نامطلوب در طول نگهداری در حالت انجماد رخ می‌دهد. در این پدیده مواد غذایی مانند پوست گوشت جوجه قهوه‌ای رنگ می‌شود که علت آن از دست رفتن رطوبت سطحی محصول است که در این وضعیت فرآورده مورد نظر در نقطه‌ای که دچار تغییر رنگ شده است دارای خلل و فرج بیشتری نسبت به حالت اولیه است.

قوانینی که در حالت انجماد ممکن است در رابطه با میکروارگانیسم‌ها صادق باشد به صورت زیر خلاصه شده است.

- ۱- بعضی از گونه‌های میکروبی در اثر رسیدن به نقطه انجماد فوراً می‌میرند.
- ۲- تعداد سلول‌هایی که بلافاصله پس از انجماد زنده می‌مانند در طول نگهداری در حالت انجماد بتدریج کم می‌شوند.
- ۳- کاهش تعداد سلول‌ها در حرارت‌های نزدیک انجماد (بخصوص ۲- درجه سانتی‌گراد) بیشتر از حرارت‌های پایین‌تر است.
- و از ۲۰- درجه سانتی‌گراد پایین‌تر کاهش تعداد میکروب‌ها به کندي صورت می‌گیرد. (معمولاً ۲۴- درجه متوقف می‌شود)
- باکتری‌ها از نظر میزان زنده ماندن در دمای انجماد با هم فرق می‌کنند بطوری‌که کوکسی‌ها معمولاً مقاوم‌تر از باکتری‌های میله‌ای گرم منفی اند. (مانند استافیلوکوکوس آرنوس و سالمونلاها)

پدیده‌هایی که به هنگام انجماد سلول‌ها رخ می‌دهند و بر رشد میکروارگانیسم‌ها مؤثرند به شرح زیر است:

- ۱- در حالت انجماد، آبی که یخ می‌زند آب آزاد است و آب متصل منجمد نمی‌شود و انجماد باعث خالی شدن سلول‌ها از آب قابل مصرف می‌شود. (به انجماد سریع کریستال‌های یخ درون سلول و انجماد کند در خارج آن)
- ۲- افزایش ویسکوزیته ماده سلولی (به دلیل تبدیل آب به کریستال‌های یخ)
- ۳- کاهش گازهای سلولی O_2 و CO_2 که وجود O_2 سبب انجام فعالیت‌های اکسیداتیو سلول و کاهش آن باعث توقف واکنش‌های تنفسی است.
- ۴- pH مواد سلولی ممکن است افزایش یابد.
- ۵- افزایش غلظت الکترولیت‌های سلولی به دلیل کریستاله شدن آب
- ۶- تغییر در حالت کلونیدی پرتوپلاسم سلول (مانند پروتئین‌ها)
- ۷- دناتوره شدن پروتئین‌ها (احتمالاً در اثر از بین رفتن برخی از گروه‌های -SH)
- ۸- ایجاد شوک دمایی سرد بخصوص در مورد مزوفیل‌ها و ترموفیل‌ها و اگر کاهش درجه حرارت در بالای نقطه انجماد به طور ناگهانی انجام شود اثر کشندگی بیشتری روی سلول‌ها خواهد داشت.
- ۹- انجماد باعث آسیب متابولیکی به برخی از سلول‌های میکروبی می‌شود مثلاً در مورد سودوموناس‌ها که این حالت پس از انجمادزدایی ممکن است احتیاجات غذایی یک میکروب را افزایش دهد.

Lipid solidification

- مقدار لیپیدها در بیشتر باکتری ها معمولاً بین ۲درصد و ۵درصد قرار دارد که بیشتر یا تمام آن در غشای سلول قرار دارد. چربی های باکتریایی از استر های گلیسرول شامل لیپیدهای خنثی و فسفولیپیدها تشکیل شده اند. در لیپیدهای خنثی، یک، دو یا هر گروه گلیسرول با OH- اسیدهای چرب زنجیر بلند استری شده اند. اکثر باکتری ها تولید می کنند (با اسید چرب زنجیر بلند) و هنگامی که در دمای پائین رشد کنند فسفو لیپیدهای آنها میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتری دارند.

- به نظر می رسد که علت این است که با افزایش درجه غیراشباعی اسیدهای چرب نقطه ذوب چربی کاهش یابد که در این حالت باعث نگهداری چربی در حالت مایع و متحرک می گردد که به این وسیله به غشاء اجازه فعالیت داده می شود. این ایده به عنوان تئوری استحکام چربی Lipid solidification معروف است.

- اما در همین ارتباط پدیده شوک سرد cold shock نیز مطرح است که به محض کاهش دمای سوسپانسیون حاوی مزوفیل های در حال رشد در دمای مناسب، اغلب آنها از بین می روند که احتمال می رود به دلیل آسیب به غشای پلاسمایی است زیرا سرد کردن ناگهانی منجر به انجماد برخی از لیپیدهای غشایی شده که در نتیجه محتویات سلولی به طور ناگهانی آزاد می شود و به دنبال آن حفراتی در غشاء ایجاد می شود که این پدیده ها سبب ایجاد شوک سرد می شود.

TABLE 11.3**Typical Chilling Storage Conditions for Some Fruits and Vegetables**

Product	Storage Temperature (°C)	Relative Humidity (%)	Shelf Life
Apples	-1 to 4	90–95	1–8 months
Bananas	11–16	85–90	5–10 days (ripe) 10–30 days (green)
Lemons	10–14	90	1–6 months
Oranges	2–7	90	1–4 months
Aubergines	7–12	90–95	1–2 weeks
Broccoli	0–1	95–100	1–2 weeks
Cucumbers	8–15	90–95	1–2 weeks
Peas	0–1	95–100	1–3 weeks
Spinach	0–1	95–100	1–2 weeks

Sources: Adapted from Fellows, P.J., *Food Processing Technology: Principles and Practice*, 2nd ed., CRC Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, U.K., 2000; Aled, J., *Fruit and Vegetable Processing—Improving Quality*, Ed., Jongen, W., CRC Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, U.K., 2002.