

عوامل داخلی و خارجی مؤثر به رشد میکروبی در مواد غذایی

- از آنجایی که اغلب مواد غذایی مورد استفاده انسان، دارای منشاء گیاهی یا جانوری است لذا بررسی ویژگی‌های بافت‌های گیاهی و جانوری و تأثیر این عوامل بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها ضروری می‌باشد
- کلیه منابع گیاهی و جانوری که به مصرف تغذیه می‌رسند دارای مکانیسم‌های دفاعی علیه تهاجم میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. برخی از آنها تنها در محصولات تازه دیده می‌شود،
- ولی انسان قادر است با شناخت و استفاده از این سیستم‌های طبیعی فرآورده‌های غذایی را به صورت مطلوب‌تری نگهداری نموده و فساد میکروبی آنها را به تعویق اندازد.

بطور کلی عوامل موثر در رشد و نمو میکروب‌ها دو دسته‌اند

- عوامل داخلی و عوامل خارجی (Extrinsic & Intrinsic)
- **عوامل داخلی** عبارتند از: pH, میزان رطوبت (a_w), پتانسیل اکسیداسیون و احیاء, مواد مغذی موجود در محیط, حضور مواد ضد میکروبی در غذا, ساختمان فیزیولوژی ماده غذایی.
- **عوامل خارجی** شامل خصوصیات محیط نگهداری و انباری مواد غذایی است این خصوصیات هم مواد غذایی و هم میکروارگانیسم‌ها موجود در آن را تحت تأثیر قرار میدهند مهمترین این عامل عبارتند از: درجه حرارت انبار, رطوبت نسبی محیط, حضور گاز‌های مختلف و غلظت آنها در اتمسفر انبار و حضور و فعالیت دیگر میکروارگانیسم‌ها

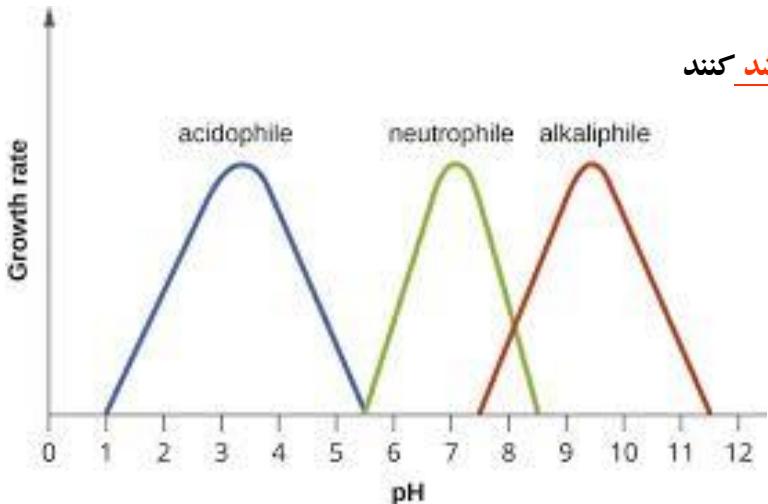
INTRINSIC PARAMETERS

- pH
- Moisture content
- Oxidation-reduction potential (Eh)
- Nutrient content
- Antimicrobial constituents
- Biological structures

pH

- حداکثر رشد میکروب‌ها در pH حدود ۷ (با این وجود هر میکروارگانیسمی دارای حداقل، حداکثر و اپتیم درجه pH برای رشد خود هستند).
- بطور کلی باکتری‌ها نسبت به قارچ‌ها و مخمرها حساسیت بیشتری در مقابل تغییرات pH از خود نشان می‌دهند
- این خصوصیت در باکتری‌های یاتوژن نمود بیشتری دارد و رشد اکثر آنها در pH زیر ۴.۵ متوقف می‌شود.
- اکثر باکتری‌ها pH‌های خنثی را می‌پسندند اگرچه بعضی از آنها از قبیل استوباكترها و لاکتیک اسید باکتری‌ها pH‌های اسیدی - ۵ تا ۶، و برخی مانند باکتری‌های پرووتولتیک در pH بالا (مانند سفیده تخمرغ) می‌توانند بخوبی رشد کنند.

مقایسه میکروارگانیسم ها از نظر pH



به طور کلی، کپک ها و مخمرها در مقایسه با باکتری ها می توانند در pH های پایین تری رشد کنند.

باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت به pH پایین حساس تر هستند.

محدوده pH رشد برای کپک ها ۱,۵ تا ۹,۰ است.

برای مخمرها ۲,۰ تا ۸,۵:

برای باکتری های گرم مثبت ۴,۰ تا ۸,۵ و

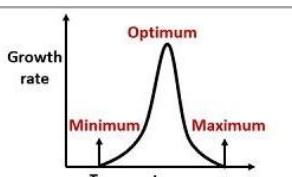
برای باکتری های گرم منفی ۴,۰ تا ۹,۰.

بر اساس محدوده pH، میکروارگانیسم ها را می توان به صورت زیر دسته بندی کرد:

1. **Neutrophiles** grow best at a pH range of 5 to 8. - Enterobacteriaceae

2. **Acidophiles** grow best at a pH below 5.5. – Lactic Acid Bacteria, Acetic Acid Bacteria

3. **Alkaliphiles** grow best at a pH above 8.5. - *Vibrio cholera*, *Alkaligenes sp*, *Agrobacterium*



Microorganisms	pH required for microbial growth		
	Minimum	Optimum	Maximum
Bacteria			
<i>Bacillus subtilis</i>	4.0	5.4 – 6.3	9.4 – 10
<i>Clostridium botulinum</i>	4.8 – 5.0	6.0 – 8.0	8.5 – 8.8
<i>Clostridium perfringens</i>	5.0 – 5.5	6.0 – 7.6	8.5
<i>Escherichia coli</i>	4.3 – 4.4	6.0 – 8.0	9.0 – 10
<i>Lactobacillus</i> (most)	3.0 – 4.4	5.5 – 6.0	7.2 – 8.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.6	6.6 – 7.0	8.0 – 9.0
<i>Salmonella Typhi</i>	4.0 – 4.5	6.5 – 7.2	8.0 – 9.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0 – 4.7	6.0 – 7.0	9.5 – 9.8
Yeasts			
<i>Hansenula</i>	–	4.5 – 5.5	–
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.0 – 2.4	4.0 – 5.0	–
<i>Saccharomyces rouxii</i>	1.5	3.5 – 5.5	8.5 – 10.5
Molds			
<i>Aspergillus niger</i>	1.2	3.0 – 6.0	–
<i>Aspergillus oryzae</i>	1.6 – 1.8	–	9.0 – 9.3
<i>Mucor</i>	–	3.0 – 6.1	9.2
<i>Penicillium</i>	1.9	4.5 – 6.7	9.3
<i>Rhizopus nigricans</i>	–	4.5 – 6.0	–

Foods	pH	Examples
Highly acidic	<3.7	Berries, Sauer-Kraut
Acidic	3.7-4.6	Tomato, Pineapple
Medium acidic	4.6-5.3	Asparagus, Pumpkins, Beets, Spinach
Low acidic	>5.3	Pear, Corn, Bean, Meat, Fish

pH

- غذاهای با pH پائین (زیر ۴/۵) معمولاً به راحتی دچار فساد باکتریایی نمی‌شوند و معمولاً به وسیله مخمرها و کپکها فاسد می‌گردند.
- کپک‌ها در رنج وسیعتری از pH (نسبت به اکثر مخمرها و باکتری‌ها) قادر به رشدند.
- اکثر مخمرهای تخمیری غذاهای با pH های پائین (۴-۴/۵ مانند آب میوه‌ها) را دوست دارند.
- مخمرهای تشکیل‌دهنده فیلم بخوبی بر روی غذاهای اسیدی مانند ساورکرات و ترشیجات قادر به رشدند.
- از طرف دیگر مخمرها در مواد با قیمتیت بالا به خوبی رشد نمی‌کنند و باید به این محیط‌ها عادت کنند.

• به دلیل اینکه **pH** محصولات گوشتی و فرآورده‌های دریایی در محدوده **۶/۵** و بالاتر است لذا این محصول بطور کلی دچار فساد ناشی از باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها می‌شوند.

• گوشت به دست آمده از **دام‌های خسته** سریعتر از گوشت حاصل از دام‌های غیر خسته فاسد می‌شود. این پدیده ارتباط مستقیمی با pH نهایی گوشت پس از اتمام مرحله صلابت نعشی دارد.

• دامی که قبل از ذبح به اندازه کافی استراحت کرده باشد پس از ذبح از ذخیره گلیکوژنی بیشتری برخوردار است و سپس با تخمیر آن در گلیکولیز و تولید اسید لاکتیک میزان کاهش pH بیشتر و از حدود **۷/۴** به **۵/۸-۵/۶** می‌رسد.

• در ارتباط با ماهیها مشخص شده است گوشت **ماهی Halibut** که pH نهایی آن تقریباً **۵/۶** است بهتر از گوشت ماهی‌ها که pH نهایی آنها حدود **۶/۲** تا **۶/۶** است، قابل نگهداری می‌باشد.

• اکثر سبزیجات pH بالاتری نسبت به **میوه‌ها** دارند لذا دچار فساد **باکتریایی** بیشتری می‌گردند.

• کیفیت محافظتی عالی غذاهای زیر کاملاً وابسته به pH آنهاست. از جمله **میوه‌ها، نوشابه‌های غیر الکلی، شیر‌های تخمیری، ساورکرات و ترشیجات**،

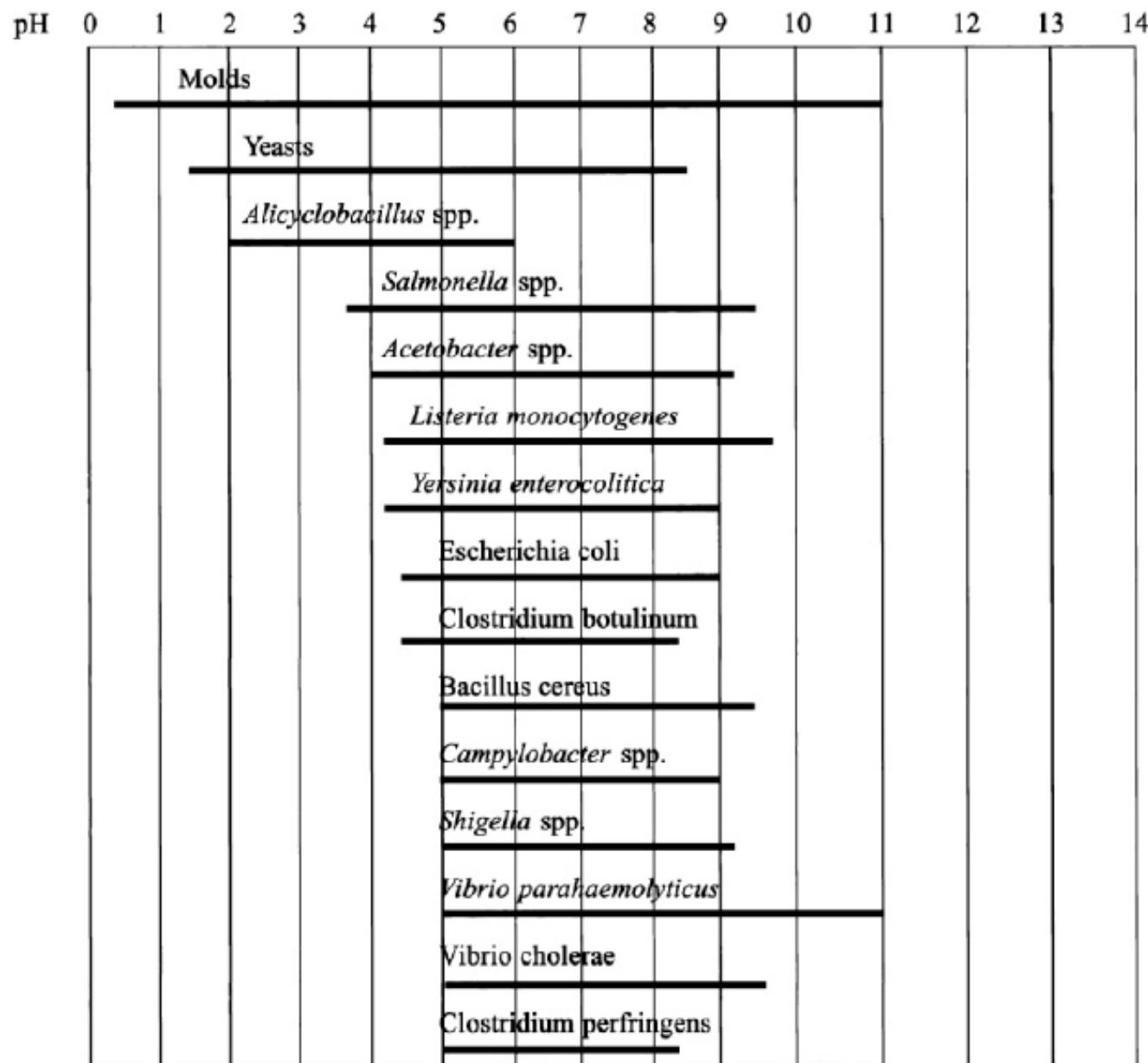
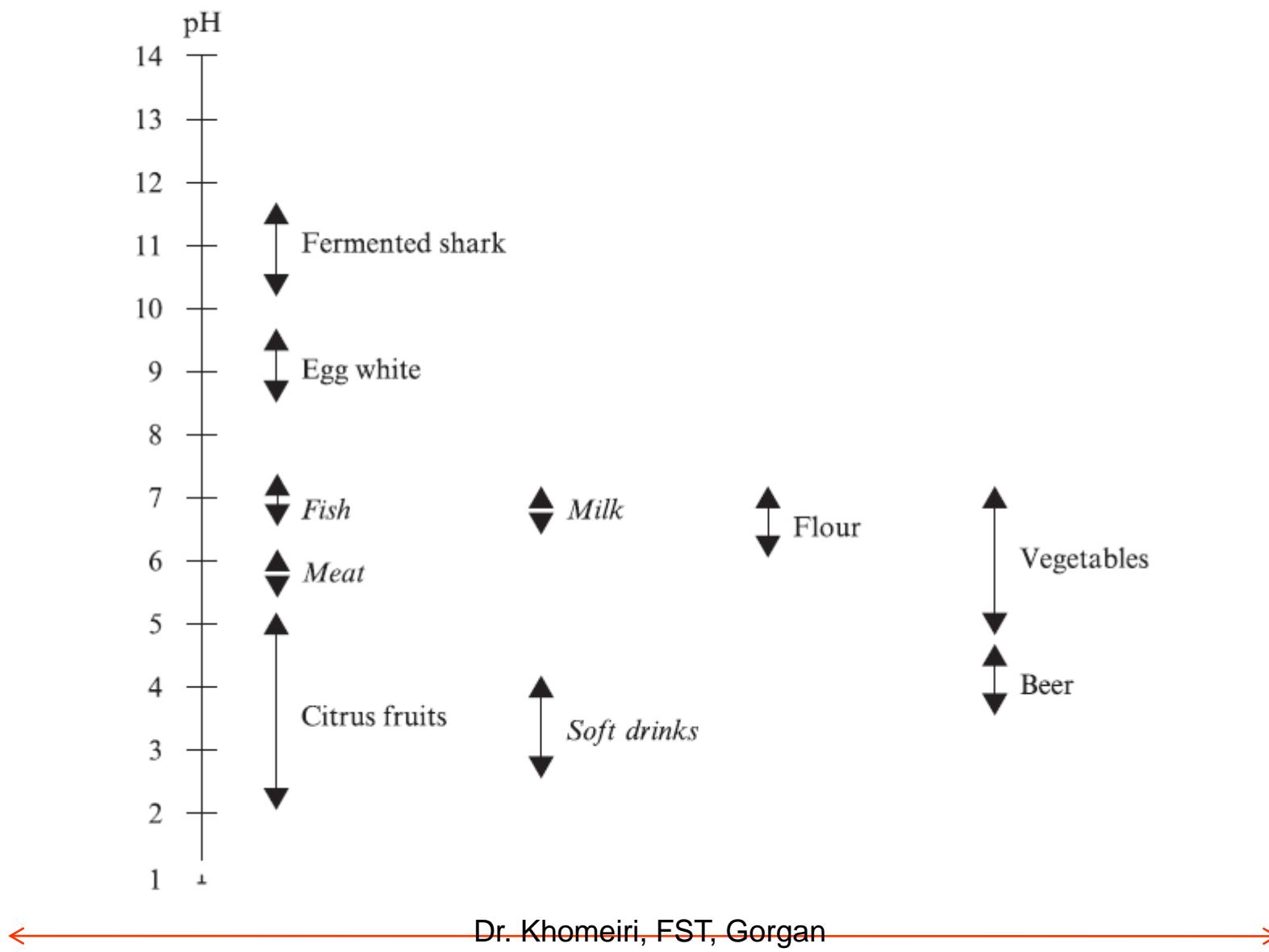


Figure 3–1 Approximate pH growth ranges for some foodborne organisms. The pH ranges for *L. monocytogenes* and *S. aureus* are similar.
 Dr. Khomeiri, FST, Gorgan

Table 3.2 Approximate pH ranges of some common food commodities



- In general, **bacteria** grow fastest in the pH range **6.0–8.0**, **yeasts 4.5– 6.0** and **filamentous fungi 3.5–4.0**.
- plant products classed as vegetables generally have a moderately acid pH and soft-rot producing bacteria such as *Pectobacterium carotovorum* and *pseudomonads* play a significant role in their spoilage.
- In fruits, however, a lower pH prevents bacterial growth and spoilage is dominated by yeasts and moulds.

بافرها

- بافرها ترکیباتی هستند که در برابر تغییر pH مقاومت می‌کنند این ترکیبات در مواد غذایی مختلف یافت می‌شوند
- باعث می‌شود تا یک تخمیر اسیدی یا قلیایی به مدت طولانی‌تری ادامه داشته و بازده تولید افزایش یابد.
- عصاره‌های گیاهی قدرت بافرکنندگی کمری دارند لذا وقتی در مراحل اولیه تخمیر این مواد باکتری‌های اسید لакتیک رشد می‌کنند سریعاً pH محیط را کاهش داده و محیط برای رشد عواملی چون باکتری‌های پروتئولیتیک و پکتیکولیتیک نامطلوب می‌شود.
- اما غذاهایی مانند شیر و گوشت به علت دارا بودن پروتئین (یک بافر خوب) دارای ظرفیت بافری بالایی است.

- pH یک فرآورده را می‌توان به راحتی با یک pH متر اندازه‌گیری نمود اما این مقدار به تنها ی برای پیش‌بینی اثرات آن بر روی میکروب‌ها کافی نیست.
- چونکه شناخت نوع اسیدی که سبب کاهش pH یک محیط شده است نیز لازم است بعلت اینکه بعضی از اسیدها خصوصاً اسیدهای آلی قدرت مهارکنندگی بیشتری دارند.
- خواص بازدارندگی برخی از اسیدها مانند استیک، بنزوئیک، سیتریک، لاکتیک، پروپیونیک و سوربیک اسید سبب می‌شود تا از آنها به طور وسیعی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی استفاده می‌شود.

اثرات اسیدها و pH

- اثرات منفی کاهش pH را حداقل بر سه جنبه از فعالیت سلولی میکروب‌ها می‌توان مشاهده کرد:
 - ۱- اثر بر فعالیت‌های ویژه آنزیمی ۲- انتقال مواد مغذی به داخل سلول‌ها ۳- تغییر اسیدیته داخل سلول (موجب پروتونه شدن یا دپروتونه شدن پروتئینها شده که نهایتاً ساختمانهای دوم و سوم pro. تغییر کرده و بر عملکردشان تاثیر می‌گذارند)
 - غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم‌ها، نسبت به یون‌های H^+ و OH^- تقریباً غیر قابل نفوذ است.
 - لذا با بروز تغییرات وسیع در pH محیط اطراف یاخته، pH درونی ارگانیسم تقریباً ثابت باقی مانده و تغییر چندانی نمی‌کند.

نحوه اثر اسیدهای آلی

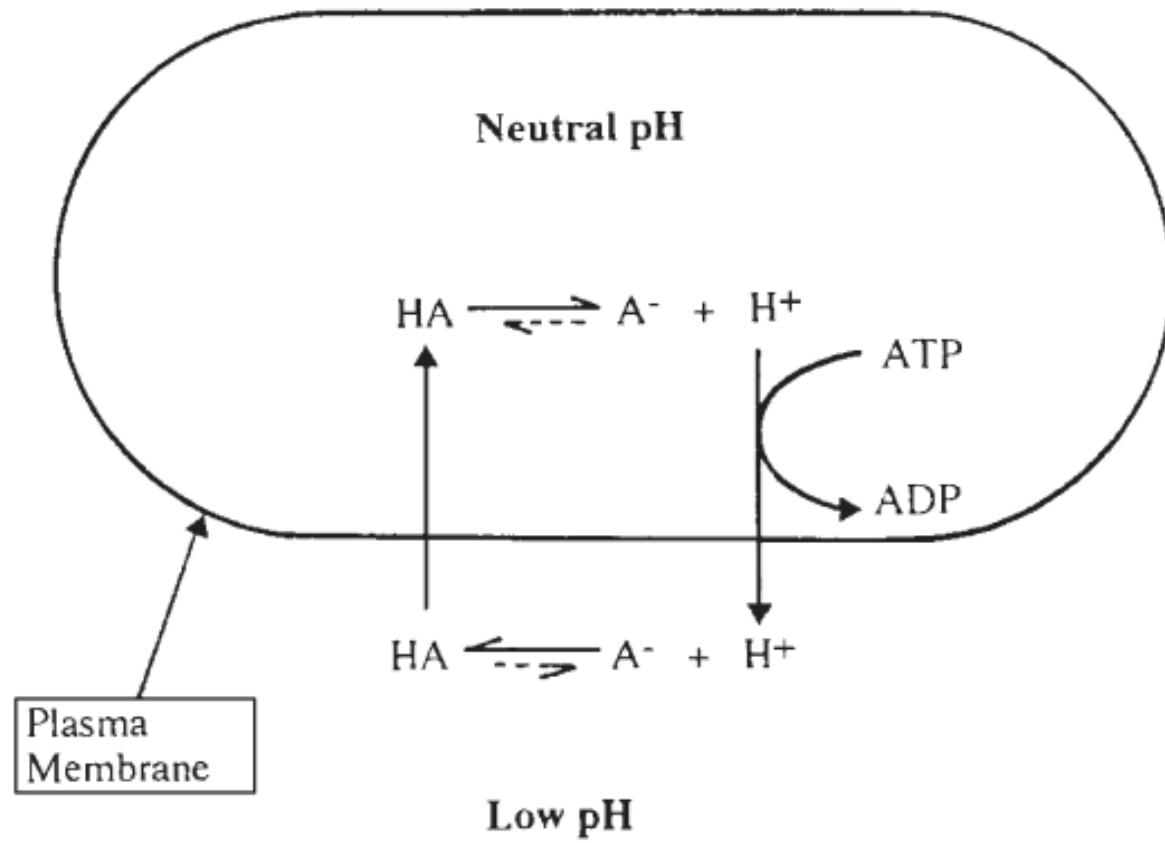


Figure 3.2 *Microbial inhibition by weak organic acids*

نحوه اثر اسیدهای آلی

- از آنجایی که غشای سیتوپلاسمی فسفولیپیدی و غیر قطبی می‌باشد. بنابراین ترکیبات قاده بار به آسانی از این لایه عبور نموده وارد سلول می‌شوند. در صورتی که یون‌ها و ترکیبات باردار این توانایی را ندارند.
- در pH خنثی و یا قلیایی اسیدهای آلی نمی‌توانند وارد سلول شوند در حالیکه در pH اسیدی، این اسیدها غیر یونیزه هستند که قادرند به راحتی از دیواره مزبور بگذرند.
- از طرفی چون pH داخل سلول خنثی است لذا این اسیدها در شرایط داخلی یونیزه شده و pH داخل را کاهش می‌دهند و باعث اختلال در فرآیندهای حیاتی می‌گردند.
- واکنش بین یون‌های H^+ و آنزیمهای غشاء سیتوپلاسمی از دیگر نتایج ناشی از تغییرات pH در سوبسترا است.

- With the exception of those soft drinks that contain **phosphoric acid**, most foods owe their acidity to the presence of **weak organic acids**.
- These do not dissociate completely into protons and conjugate base in solution but establish an **equilibrium**:
این اسیدها بطور کامل به پروتون و باز کونژگه تفکیک نمی شوند اما تعادل برقرار می شود.





- The equilibrium constant for this process, K_a , is given by

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

- This expression can be rearranged

$$\frac{1}{[\text{H}^+]} = \frac{1}{K_a} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

- If we take logarithms to the base 10 we get:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

- Equation (3.13) is known as the Henderson–Hasselbalch equation and describes the relationship between the pH of a solution, the strength of the acid present and its degree of dissociation.
- When the pH is equal to an acid's pK_a , then half of the acid present will be undissociated.

وقتی pH برابر pK_a اسید می شود که نیمی از اسیدهای موجود تفکیک نشده باشد.

- If the pH is increased then dissociation of the acid will increase as well,
- so that when $pH = pK_a + 1$ there will be 10 times as much dissociated acid as undissociated.
- Similarly as the pH is decreased below the pK_a the proportion of undissociated acid increases.
- Table 3.3 presents a list of some common food-associated acids and their pK_a values.

- the pH minima of certain lactobacilli have been shown to be dependent on the type of acid used,
- with citric, hydrochloric, phosphoric, and tartaric acids permitting growth at a lower pH value than acetic or lactic acids.

Table 3.3 *pK_a values of some common food acids*

<i>Acid</i>	<i>pK_a</i>
Acetic (ethanoic)	4.75
Propionic	4.87
Lactic	3.86
Sorbic	4.75
Citric	3.14, 4.77, 6.39
Benzoic	4.19
Parabens	8.5
Phosphoric	2.12, 7.12, 12.67
Carbonic	6.37, 10.25
Nitrous	3.37
Sulfurous	1.81, 6.91

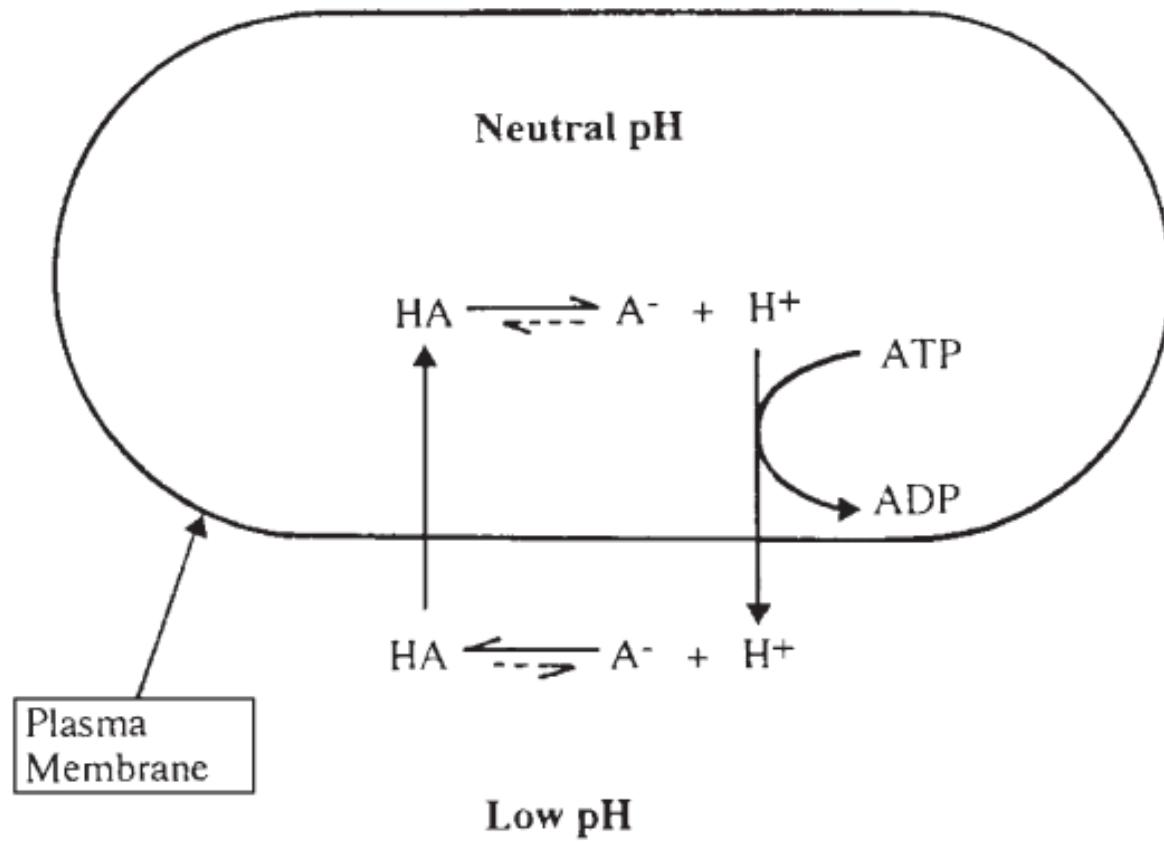


Figure 3.2 *Microbial inhibition by weak organic acids*

روش‌های مقابله در برابر تغییر pH

- pH اکثر قریب به اتفاق میکروارگانیسم‌ها تقریباً خنثی است.
- چنانچه ارگانیسم‌ها در محیط واقع شوند که pH آن پایین‌تر یا بالاتر از محدوده خنثی باشد توانایی آنها به ادامه فعالیت و تکثیر بستگی به این واقعیت خواهد داشت که تا چه اندازه بتوانند pH محیط را در جهت مقدار اپتیم خود تغییر دهند.
- بنابراین وقتی میکروب در محیط اسیدی قرار گرفت:
 - باید از ورود یونهای H^+ به داخل سلول نیز جلوگیری نماید
 - یا همزمان با ورود یک یون H^+ معادل آن از سیتوپلاسم دفع کند زیرا ترکیبات کلیدی سلول نظیر ATP و DNA نیازمند شرایط خنثی هستند.
- اکثر میکروارگانیسم‌ها در چنین شرایطی فعالیت‌های متابولیکی خود را در جهتی تنظیم می‌کنند که سبب افزایش pH محیط گردد و بالعکس فعالیت یاخته‌ها در محیط قلیایی بنحوی است که باعث کاهش pH می‌شود.

روش‌های مقابله در برابر تغییر pH

- لذا آنزیم‌هایی نظیر آمینو اسید دکربوکسیلاز و آمینو اسید دامیناز وجود دارد که عامل تعديل خود به خودی pH محیط یاخته در محدوده خنثی می‌باشد. آنزیم‌های مذکور توانایی رشد و تکثیر در محیط اسیدی را به سلول می‌بخشند.
- اپتیم فعالیت آمینو اسید دکربوکسیلاز pH حدود ۴ است و در pH، ۵.۵ فعالیت آن متوقف می‌شود.
- در عمل زمانی که اسید‌های آمینه دکربوکسیله می‌شوند به دلیل ایجاد آمین در محیط pH افزایش می‌یابد.
- بالعکس وقتی که محیط میکروارگانیسم دارای شرایط قلیایی است آنزیم‌هایی از گروه دامیناز، فعال شده آمین را از اسید‌های آمینه جدا می‌کند و بدین ترتیب باعث ایجاد شرایط اسیدی و کاهش pH در محیط می‌شوند. این آنزیم‌ها در pH حدود ۸ بیشترین کارآیی را دارند.

روش‌های مقابله در برابر تغییر pH

- باکتری‌هایی نظیر *Clostridium acetobutylicum* از طریق تبدیل اسیدبوتریک به بوتanol موجب افزایش pH محیط کشت می‌شوند.
- همچنین باکتری‌هایی مانند *Enterobacter aerogenous* برای افزایش pH، اسید پیرویک را به استوئین تبدیل می‌کند.
- علاوه بر این مرفوژی برخی از میکروارگانیسم‌ها نیز ممکن است تحت تأثیر pH تغییر کند
- برای مثال درازای هیف پنیسیلیوم کرایزوژنوم *Pencillium chrysogenum* در محیط با pH حدود ۶ کاهش می‌یابد و نیز در حدود pH 6.7 و در محیط‌های مایع، به جای تشکیل هیف آزاد، کپک تمایل بیشتری به آیجاد Pellet (کلني) کروی شکل که در نتیجه رشد قارچ‌ها در محیط کشت مایع به وجود می‌آید دارد.

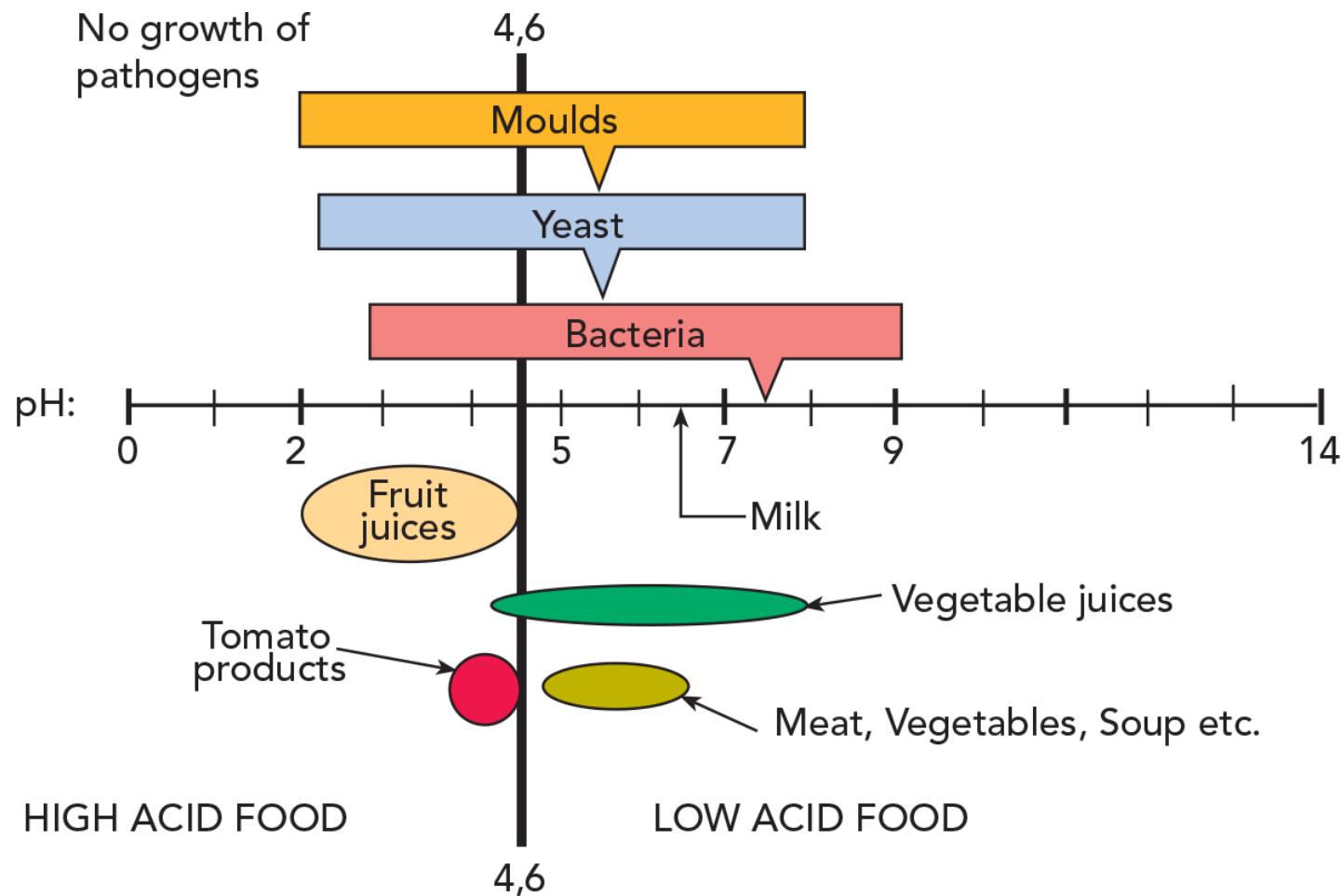


Fig. 4.10: Effect of acidity on growth.
Ref. Dairy processing Handbook, Tetra Pak

<i>Product</i>	<i>pH</i>	<i>Product</i>	<i>pH</i>
Vegetables			Fruits
Asparagus (buds and stalks)	5.7–6.1	Apples	2.9–3.3
Beans (string and Lima)	4.6–6.5	Apple cider	3.6–3.8]
Beets (sugar)	4.2–4.4	Apple juice	3.3–4.1
Broccoli	6.5	Bananas	4.5–4.7
Brussels sprouts	6.3	Figs	4.6
Cabbage (green)	5.4–6.0	Grapefruit (juice)	3.0
Carrots	4.9–5.2; 6.0	Grapes	3.4–4.5
Cauliflower	5.6	Limes	1.8–2.0
Celery	5.7–6.0	Melons (honeydew)	6.3–6.7
Corn (sweet)	7.3	Oranges (juice)	3.6–4.3
Cucumbers	3.8	Plums	2.8–4.6
Eggplant	4.5	Watermelons	5.2–5.6
Lettuce	6.0		
Olives	3.6–3.8		
Onions (red)	5.3–5.8		
Parsley	5.7–6.0		
Parsnip	5.3		
Potatoes (tubers and sweet)	5.3–5.6		
Pumpkin	4.8–5.2		
Rhubarb	3.1–3.4		
Rutabaga	6.3		
Spinach	5.5–6.0		
Squash	5.0–5.4		
Tomatoes (whole)	4.2–4.3		
Turnips	5.2–5.5		

Table 3–3 Approximate pH Values of Dairy, Meat, Poultry, and Fish Products

<i>Product</i>	<i>pH</i>	<i>Product</i>	<i>pH</i>
Dairy products		Fish and shellfish	
Butter	6.1–6.4	Fish (most species)*	6.6–6.8
Buttermilk	4.5	Clams	6.5
Milk	6.3–6.5	Crabs	7.0
Cream	6.5	Oysters	4.8–6.3
Cheese (American mild and cheddar)	4.9; 5.9	Tuna fish	5.2–6.1
		Shrimp	6.8–7.0
		Salmon	6.1–6.3
		White fish	5.5
Meat and poultry			
Beef (ground)	5.1–6.2		
Ham	5.9–6.1		
Veal	6.0		
Chicken	6.2–6.4		

*Just after death.

اثر توام سایر پارامترهای محیطی

- سایر پارامترهای محیطی می‌توانند با pH دارای اثر متقابل باشد به عنوان نمونه با افزایش دما اثر اسیدی سوبسترا افزایش می‌باید (مانند شیر فاسد و حرارت دادن آن).
- غلظت نمک هرگاه از حد مطلوب خود تجاوز کند دامنه pH قابل تحمل میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌باید.
- تغییرات pH سبب افزایش حساسیت سلول‌ها نسبت به بسیاری از عوامل سمی می‌شود.
- چون pH مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها در یک دامنه بیان می‌شود بدیهی است این دامنه دارای نقاط می‌نیم و ماگزیم است ثابت شده است که قرار گرفتن سلول در هر کدام از این نقاط جهت رشد، سبب طولانی شدن دوره کمون آن می‌گردد.
- افزایش دوره کمون به معنی توقف بیشتر سلول در محیط است هر چه ظرفیت بافry بیشتر این توقف بیشتر می‌شود. زیرا سلول مدت زمان زیادی نیاز دارد تا pH محیط را به مطلوب خود نزدیک گند.

بیشتر بدانیم

- **pH** Definition and Origin
- **pH** is an abbreviation for "power of hydrogen" where "**p**" is short for the German word for power, **potenz** and H is the element symbol for hydrogen.
- The H is capitalized because it is standard to capitalize element symbols.

رطوبت

- میکروارگانیسم‌ها برای رشد به آب نیاز دارند و بدون آن قادر به رشد و تکثیر نیستند. اما مقدار آب مورد نیاز میکروارگانیسم‌های مختلف متفاوت است.
- بهترین بیان برای تعریف این مقدار آب مورد نیاز اصطلاح فعالیت آبی یا **Water activity** است که با a_w نشان می‌دهند.
- در تعریف نسبت فشار بخار آب در ماده غذایی و در دمای معین به فشار بخار آب خالص در همان دما را گویند.

$$a_w = \frac{P}{P_o}$$

رطوبت

- بین فعالیت آب و رطوبت نسبی (RH) یک فرآورده ارتباط نزدیکی وجود دارد.
- $RH = 100 \times a_w$
- آب خالص ۱ است برای یک محلول امولار برابر ۰.۹۸۲۳ و محلول a_w نمک طعام ۰.۸۶ و محلول اشباع آن ۰.۷۵ (w/v) است.
- میزان a_w اکثر مواد غذایی خام و تازه حدود ۰.۹۹ است.

آب ممکن است به چند روش از دسترس خارج شود

- ۱- **جب آب وسیله یون‌ها و مواد محلول**، بنا بر این با افزایش غلظت مواد حل شونده مانند نمک و شکر در اثر خشک کردن مقدار آب قابل دسترسی کاهش می‌یابد، علاوه بر این در صورت بیشتر شدن غلظت خارج سلول نسبت به داخل، آب در اثر اسمز از سلول خارج می‌شود.
- ۲- **کلئیدهای هیدروفیل (gels)**. بطوری که ۳ تا ۴ درصد آگار در محیط سبب می‌شود تا آب قابل استفاده میکروب‌ها بسیار کاهش یابد.
- ۳- **آب کریستالیزاسیون و هیدراتاسیون** معمولاً از دسترس میکروب‌ها دور می‌ماند. وقتی آب به صورت یخ کریستاله می‌شود a_w بخش غیر کریستاله کاهش می‌یابد (فشار بخار یخ به فشار بخار آب).
- آب خالص در صفر درجه سانتی‌گراد ۱، در ۰-۵، ۹۵۳ و در ۰-۱۰، ۹۰۷ و همین‌طور a_w کاهش دما کاهش می‌یابد. در مواد غذایی نیز با افزایش انجماد غلظت مواد در بخش منجمد نشده افزایش یافته و باعث کاهش a_w می‌شود.

Table 3.10 *Minimum water activities at which active growth can occur*

<i>Group of micro-organism</i>	<i>Minimum a_w</i>
Most Gram-negative bacteria	0.97
Most Gram-positive bacteria	0.90
Most yeasts	0.88
Most filamentous fungi	0.80
Halophilic bacteria	0.75
Xerophilic fungi	0.61

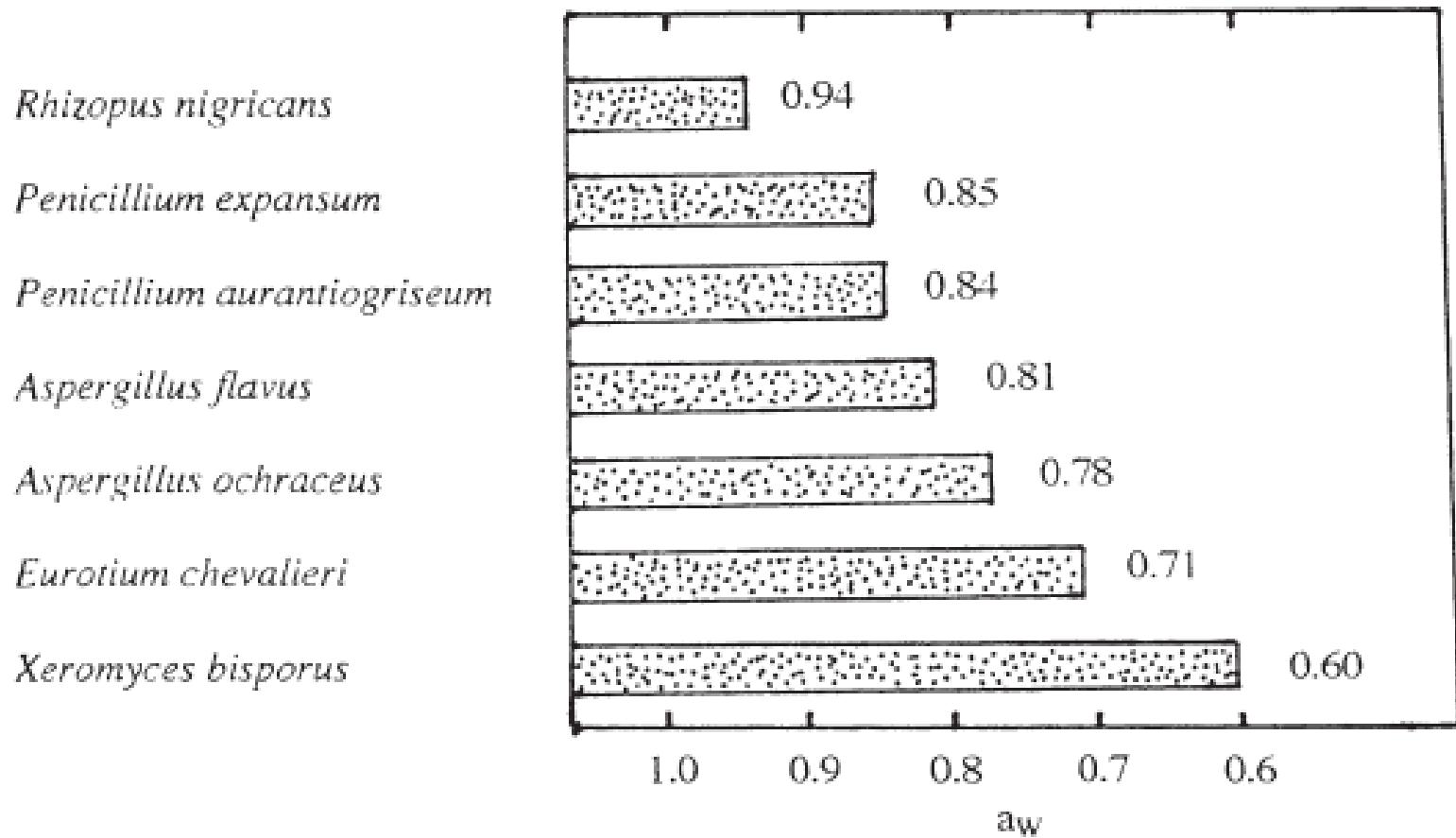


Figure 3.7 Range of a_w values allowing growth of a number of species of micro-organisms

• باکتری‌ها در مقایسه با کپک‌ها برای انجام فعالیت‌های حیاتی خود به a_w بیشتری نیاز دارند و نیز احتیاجات آبی G^- ‌ها بیشتر از G^+ ‌ها است.

• اکثر باکتری‌های مولد فساد در $a_w < 0.91$ قادر به رشد نمی‌باشند ولی کپک‌ها حتی در ۰.۸ نیز می‌توانند رشد کنند.

• قارچ‌ها و مخمرها نسبت به باکتری‌ها دارای دامنه وسیعتری از a_w برای فعالیت می‌باشند

• $a_w = 0.75$ که برای باکتری‌های هالوفیل گزارش شده است برای قارچ‌ها و مخمرهای خشکی دوست و اسموفیل به ترتیب حدود ۰.۶۲ و ۰.۶۱ نیز گزارش شده است.

Aspergillus echinulatus 0.64

Zygosaccharomyces rouxii 0.62

Xeromyces bisporus 0.61

- Cytoplasm is an aqueous solution and so must have a lower water activity than pure water; thus a micro-organism in an environment of pure water will experience a net flow of water molecules into the cytoplasm. If it cannot control this it will increase in size and burst.
- Bacteria, fungi and algae cope by having a rigid strong wall capable of withstanding the osmotic pressure of the cytoplasm which may be as high as 30 atm (ca. 3 MPa) in a Gram-positive bacterium or as little as 5 atm (ca. 0.5 MPa) in a Gram-negative species.

- بین a_w و پارامترهای مانند حرارت و مواد مغذی روابط متقابلی وجود دارد که از جمله:
- رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در هر درجه حرارتی با کاهش a_w کاهش می‌یابد.
- میکروارگانیسم‌ها در دماي اپتيم دامنه وسيعتری از a_w را تحمل می‌کند.
- وجود تركيبات مختلف مغذي سبب می‌شود میکروارگانیسم‌ها در دامنه گستردگی از a_w فعالیت کنند.
- حداقل فعالیت آبی برخی از میکروب‌ها نسبت به نوع تركيبات موجود در محیط تغییر می‌کند به عنوان مثال اگر در محیط Na_2SO_4 باشد حساسیتش بیشتر است از حالتی که NaCl وجود دارد و بر این اساس افزایش حساسیت



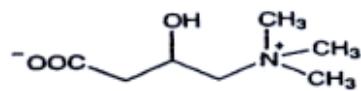
اثر a_w پائین

- به طور کلی کاهش a_w به نحوی که مقدار آن از حد مطلوب برای میکروب‌ها کمتر شود
 - سبب طولانی شدن فاز کمون می‌شود.
 - این عامل سبب می‌شود تا از سرعت رشد و اندازه بیکر میکروارگانیسم‌ها کاسته شود.
 - بعلاوه کاهش فعالیت آب (a_w) باعث کاهش نفوذ آب به درون سلول شده که کاهش فعالیت‌ها متابولیسمی را بهمراه خواهد داشت.
- در هر صورت a_w تحت تأثیر پارامترهایی مانند دما، pH، Eh و برخی ترکیبات موجود در محیط می‌باشد.
- برای مثال در مطالعه برروی کلستریدیوم پرفرینجنس نشان داده شد اگر از ساکاروز یا کلوروسدیم برای تنظیم محیط استفاده شود حداقل a_w لازم جهت رویش اسپور و رشد باکتری حدود ۰.۹۷ - ۰.۹۵ است ولی اگر از گلکسیرون استفاده شود این مقدار به ۰.۹۳ و کمتر نیز خواهد رسید.
- در تحقیق دیگری مشخص شد هرگاه جهت کنترل a_w از کلوروسدیم و کلسیم استفاده شود بهتر می‌توان از رویش اسپور با سیلوس‌ها و کلستریدیوم‌ها جلوگیری کرد.

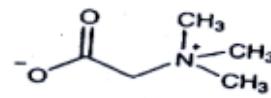
استراتژی مورد استفاده برای حفاظت سلول در مقابل فشارهای

- اثرات کاهش آب و اثر واکتیویته بخصوص در موقع نیاز سلول به مواد غذایی بیشتر خود را نشان داده و گاهی سبب قطع کامل فرآیند تغذیه می‌گردد.
- بعلاوه با کاهش a_w غشاء سلولی حالت تراوایی خود را از دست داده و آب از داخل سلول تا وقتی که به تعادل برسد از آن خارج می‌شود.
- اما در همه میکروارگانیسم‌ها اینگونه نیست زیرا بسیاری از آنها قادر به مقابله با این شرایط می‌باشند
- مهمترین استراتژی مورد استفاده برای حفاظت سلول در مقابل فشارهای اسموتیک جمع مواد محلول مناسب مانند نمک‌ها، پلی‌الها، اسیدهای آمنه و سایر ترکیبات در داخل سلول است.

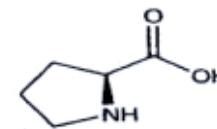
موادی که به وسیله باکتری‌ها استفاده می‌شود عبارت است از: یون‌های K^+ ، گلوتامات، گلوتامین، گلایکوزیل گلیسرول، γ -آمینوبوتیرات، ساکاروز، آلانین، گلایسین بتائین، کاربیتین، پروولین.



پروولین



گلایسین بتائین



کاربیتین

گرم منفی‌ها بیشتر تمایل به **جمع کردن پروولین** در داخل سلول دارند که به وسیله مکانیسم‌های **انتقال** صورت می‌گیرد.

استافیلوکوکوس ارئوس که قادر به تحمل نمک می‌باشد با کاهش a_w میزان اسیدهای آمینه جاذب اب درون سلولی خود را افزایش می‌دهند و نیز اقدام به **جمع پروولین (از طریق انتقال)** و **شروع به سنتز گلوتامین** می‌نمایند.

کاهش a_w موجب می‌شود برخی از متابولیت‌های خارج سلولی دیگر تولید نشود. برای مثال در *S. aureus* این **پدیده سبب عدم تولید انتروتوکسین نوع B** می‌شوند.

Table 3–5 Approximate Minimum a_w Values for Growth of Microorganisms Important in Foods

Organisms	a_w	Organisms	a_w
Groups		Groups	
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.61
Specific Organisms		Specific Organisms	
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Geotrichum candidum</i>	ca. 0.90
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Trichothecium</i> spp.	ca. 0.90
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Byssochlamys nivea</i>	ca. 0.87
<i>Clostridium botulinum</i> , types A and B	0.94	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Eurotium repens</i>	0.72
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Aspergillus glaucus</i> *	0.70
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
		<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
		<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
		<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61

*Perfect stages of the *A. glaucus* group are found in the genus *Eurotium*.

Eh= O/R Potential- احیا پتانسیل اکسیداسیون

- توانایی یک ماده در کسب یا از دست دادن الکترون را گویند. آنها بی راحتی الکترون از دست می‌دهند احیاء کننده خوبی هستند و بالعکس آنها بی که الکترون می‌گیرند اکسید کننده خوبی هستند. ترکیب یک ماده با اکسیژن و یا از دست دادن آن را نیز اکسید شدن و احیا گویند.



- وقتی که الکترون از یک جسم به جسم دیگر منتقل می‌شود بین آنها اختلاف پتانسیلی بوجود می‌آید که مقدار آن بر حسب mv با استفاده از دستگاه‌های مناسب قابل اندازه‌گیری است.

پتانسیل اکسیداسیون- احیا En= O/R Potential

- مقدار پتانسیل اکسیداسیون- احیاء مواد غذایی متفاوت است در گوشت تازه حدود $mv +250$ ، گوشتی که در حالت جمود نعشی است $mv -200$ تا -250 ، پنیر -20 تا -200 - کنسروها 15 - تا 300 در آب میوه‌ها $+400$ تا $+300$ + گوشت خرد شده $+225$.

پتانسیل اکسیداسیون- احیا Eh= O/R Potential

- بطور کلی وقتی سیستم اکسید کننده قوی است Eh مثبت و اگر احیاکننده قوی است Eh منفی،
- میکروارگانیسم ها Eh مورد نیاز متفاوتی دارند، میکروب های هوایی به Eh مثبت نظیر سودوموناس های هوایی $+100$ تا $+400$.
- باکتری های بی هوایی اختیاری محدوده Eh آنها از منفی تا مثبت تغییر می کند مثلاً استافیلوکوکوس اورئوس -200 تا $+200$ و
- برای بی هوایی ها، منفی مثلاً -300 تا -200 مطلوب برای کلستریدیوم هاست.

- میکروارگانیسم‌ها همانطور که pH محیط را تغییر می‌دهند موجب تغییر در Eh سوبسترا نیز می‌شوند، بعضی از متابولیت‌های تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها مانند H_2S (سولفیدهیدروژن) نیز سبب کاهش Eh می‌شوند.
- در محیط‌های قلیایی اغلب Eh پائین است
- بعلاوه بعضی از ترکیبات موجود در مواد غذایی بروی میزان Eh مؤثرند از جمله اسید اسکوربیک و قندهای احیا در سبزیجات و میوه‌ها و نیز گروه‌های سولفیدریلی SH- و گلوتاچیون در گوشت‌ها از نظر تنظیم Eh در درجه اول اهمیت قرار دارند.

اثر کاهش Eh بر روی تولید لیپید در ساکارومایسز سرویزیه

- اثر کاهش Eh بر روی تولید لیپید در ساکارومایسز سرویزیه مورد مطالعه قرار گرفت که مشخص شد رشد این میکروب در شرایط بی‌هوازی باعث می‌شود
 - تا مقدار کل لیپید تولیدی کاهش یابد،
 - اجزاء مختلف گل瑟یدی تغییر یافته میزان استرونها و فسفولیپیدهای تولیدی نیز کاهش می‌یابد.
 - علاوه بر این لیپیدهای تولید شده در شرایط بی‌هوازی دارای اسیدهای چرب ۸ تا ۱۴ کربن فراوان (بیش از ۵۰ درصد کل اسیدچربها) و دارای مقادیر کمی از اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپید خود می‌باشند.
- به عکس سلول‌هایی که در شرایط هوازی رشد می‌کنند دارای فسفولیپیدهایی با اسیدهای چرب غیراشباع ۱۶:۱ و ۱۸:۱ به میزان بیشتری می‌باشد.

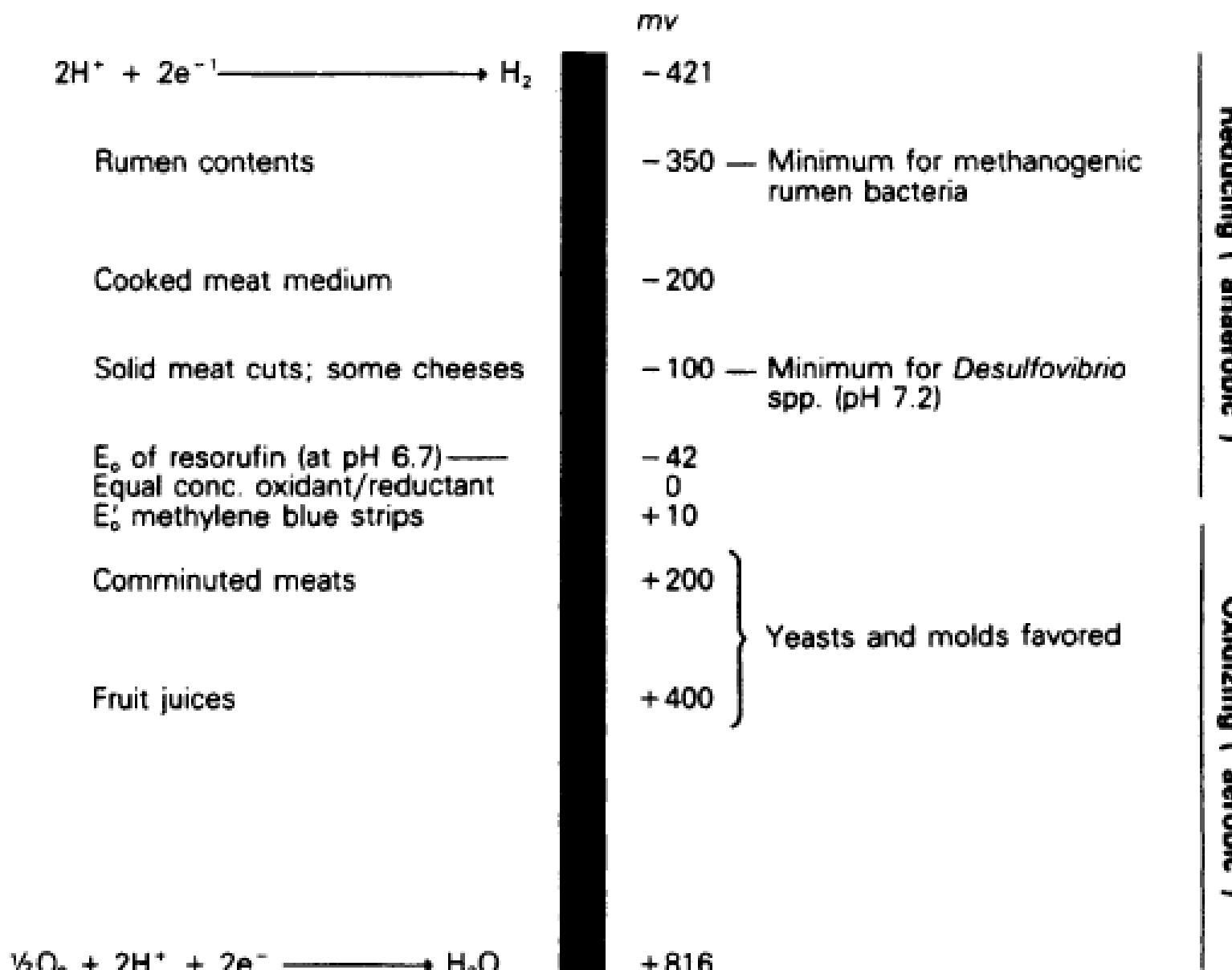
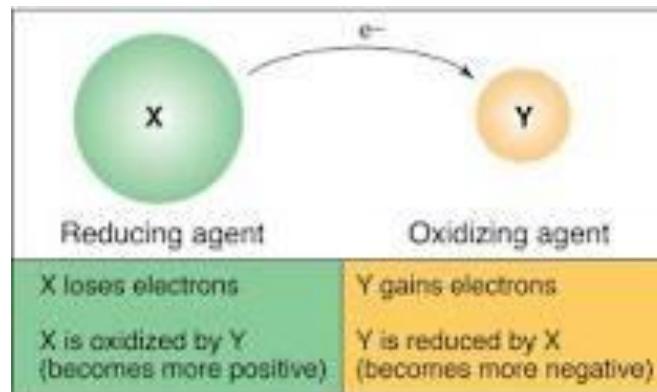


Figure 3–3 Schematic representation of oxidation-reduction potentials relative to the growth of certain microorganisms.

Oxidation / Reduction Potential

- Reduction potential (also known as redox potential, **oxidation** / reduction potential, ORP, pE, ε , or) is a measure of the tendency of a chemical species to acquire electrons and thereby be reduced. Reduction potential is measured in volts (V), or millivolts (mV).



ترکیبات مغذی فرآورده غذایی

- میکروارگانیسم‌ها جهت رشد و تکثیر و انجام فعالیت‌های حیاتی خود احتیاج به مواد مغذی دارند که در این رابطه آب، منابع انرژی، منابع ازت، ویتامین‌ها و فاکتورهای رشد و مواد معدنی حائز اهمیت می‌باشند.
- از نظر شدت نیاز قارچ‌ها دارای حداقل نیاز و پس از آنها به ترتیب مخمرها، باکتری‌های گرم منفی و باکتری‌های گرم مثبت قرار دارند.

ترکیبات مغذی فرآورده غذایی

- میکروارگانیسم‌ها جهت رشد ابتدا نیاز به منبع انرژی دارند. میکروب‌های غذازد برای این منظور عموماً از قند‌ها، الکل‌ها و آمینو اسید‌ها استفاده می‌نمایند.
- عده‌ای قادر به مصرف ترکیبات کمپلکس مانند نشاسته، گلیکوژن و سلولز به عنوان منبع انرژی می‌باشند و برخی نیز از چربی‌ها استفاده می‌کنند که البته تعداد این گروه بسیار کم است.
- اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها مهمترین منابع ازت دار برای استفاده میکروب‌هاست. تعدای از ترکیبات نیتروژن‌دار مانند نوکلئوتیدها و اسیدهای آمینه آزاد نیز توسط برخی از میکروارگانیسم‌ها مصرف می‌شوند.

- بطور کلی تقریباً همه میکروارگانیسم‌ها قبل از اینکه ترکیبات پیچیده‌ای از قبیل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها با وزن مولکولی زیاد را مورد حمله قرار دهند ابتدا ترکیبات ساده‌تر مانند آمینو اسیدها فندهای ساده و اسیدهای چرب را مورد استفاده قرار می‌دهند.
- برخی از میکروارگانیسم‌ها به مقادیر کمی از ویتامین‌های گروه B نیاز دارند که در اکثر قریب به اتفاق غذاهای طبیعی این ویتامین‌ها یافت می‌شوند.
- بطور کلی باکتری‌های گرم مثبت کمترین توانایی سنتز این ویتامین‌ها را داشته و باید همواره یک یا تعدادی از این ترکیبات به عنوان عامل رشد در محیط کشت آنها فرآهم آورده.

• باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌ها احتیاجاتشان را از طریق سنتز فراهم می‌نمایند لذا این دو گروه را می‌توانند روی غذاهای با ویتامین B کمتر رشد کنند.

• این واقعیت همراه با pH پائین‌تر، Eh مثبت از جمله عواملی است که موجب می‌شود که قارچ‌ها بیش از باکتری‌ها میوه‌ها را مورد حمله قرار دهند.

ترکیبات ضد میکروبی

- مقاومت برخی از غذاها در برابر حمله میکروارگانیسم‌ها به دلیل حضور ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در آنهاست.

- برخی گونه‌های شناخته شده گیاهی دارای روغن‌های اسانسی **Essential Oil** هستند که نقش ضد میکروبی دارند.

- از جمله آنها:

- اوژنول **Eugenol** ← در **میخ**
- آلیسین **Allicin** ← در **سیر**
- سینامیک آلدئید **Cinnamic aldehydes** و اوژنول ← دارچین،
- آلیل ایزو‌تیوسبتانات **Allylisothiocyanate** ← در **خردل**
- کارواکرول (ایزو‌تیمول) **Carvacrol** و تیمول ← در **پونه کوهی**

ترکیبات ضد میکروبی در شیر

- شیر گاو حاوی چندین ترکیبات ضد میکروبی است از جمله لاکتوفرین کانگلوتنین Lactoferrin و سیستم لاکتویراکسیداز Lactoperoxidase.
- شیر خام به طوری که گزارش شده است دارای مهار کننده رشد روترو ویروس‌ها نیز هست. این ترکیب به وسیله پاستوریزاسیون از بین می‌رود.
- کازئین شیر و بعضی از اسیدهای چرب آزاد تحت شرایط خاصی دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند.
- لیزوزیم یکی دیگر از ترکیبات ضد میکروبی شیر است.

یک آنزیم پلی ساکاریداز است که پیوند $\beta - 1,4$ بین N- استیل گلوکز آمین و N- استیل مورامیک اسید موجود در لایه پیتندوگلیکان دیواره سلولی باکتری‌های گرم مشبت را می‌شکند.

سیستم لاکتوپراکسیداز (LPS)

- سیستم ضد میکروبی قوی (معمولًاً بر روی ارگانیسم های گرم منفی مانند باکتری های گرم منفی اشیرشیا کلای، سالمونلا و استرپتوكوکوس های گرم مثبت گروه A) خصوصاً سودومonas ها به آن بسیار حساسند.
- اکثر باکتری های گرم مثبت مانند لیستریا و گروه های دیگر استرپتوكوکسی به این سیستم نسبتاً مقاومند و به کندی رشد می کنند.
- نقش اصلی LPS در شرایط **In Vivo** حفاظت گو ساله در برابر ارگانیسم هایی مانند *E. coli* می باشد.

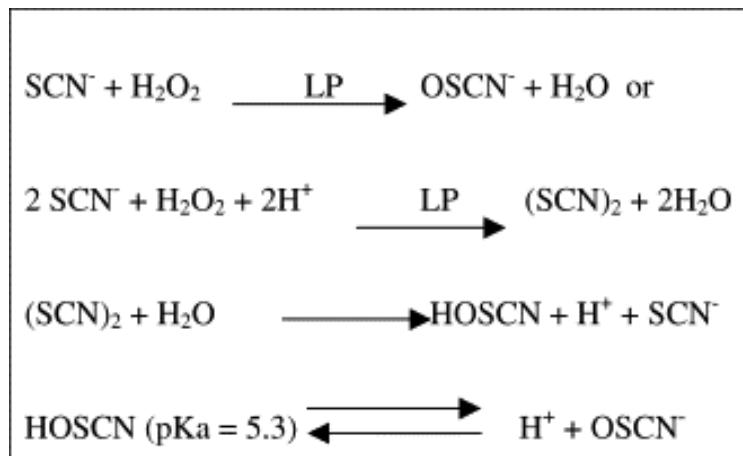


Figure 1. Lactoperoxidase- catalysed thiocyanate oxidation reactions (Thom as 1985) SCN -- thiocyanate ion; OCSN --hypothiocyanate ion; HOSCN -hypothiocyanic acid

• تخم مرغ نیز حاوی ترکیبات ضد میکروبی مانند لیزو زیم، کن البو مین(مهار کننده یون آهن)، آویدین(مهار کننده بیوتین)، فلاؤویروتین(مهار کننده ریبو فلاوین) و اواینه بیتور (مهار کننده پروتئاز های میکروبی، تریپسین) می باشد.

• مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید (P- کوماریک، فرولیک، کافینیک و کلرژنیک اسید) در میوه ها، سبزیجات، چای، ملاس و منابع گیاهی دیگر یافت می شوند که همگی دارای خواص ضد باکتریایی و بعضی نیز دارای خواص ضد قارچی است.

ساختار بیولوژیک

- پوشش طبیعی برخی از مواد خوراکی محافظت بسیار خوبی در مقابل ورود و ایجاد فساد به وسیله میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.
- از جمله می‌توان از ساختمان پوسته خارجی و پوشش سطحی میوه‌ها، پوست سخت محصولات روغنی مانند گردو، بادام، پست و چرم حیوانات و پوسته خارجی تخم مرغ را نام برد.
- بطور کلی شکستن و ترک خوردن پوسته‌ها و غشاهاي موجود بر روی انواع مواد غذایی سبب می‌شود تا انواع میکروارگانیسم‌ها از آنها استفاده نمود و فاسد نمایند.

عوامل خارجی مؤثر بر رشد میکرووارگانیسم‌ها

- عوامل خارجی شامل خصوصیات محیط نگهداری و انباری مواد غذایی است
- این خصوصیات هم مواد غذایی و هم میکرووارگانیسم‌ها موجود در آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند
- مهمترین این عوامل عبارتند از:
 - درجه حرارت انبار
 - رطوبت نسبی محیط،
 - حضور گازهای مختلف و غلظت آنها در اتمسفر انبار
 - حضور و فعالیت دیگر میکرووارگانیسم‌ها

۱ - درجه حرارت

- دامنه حرارتی مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها بسیار گسترده است **پائین‌ترین درجه حرارتی** که تا کنون برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است **حدود ۴ درجه سانتی‌گراد** و **بالاترین دمای رشد** گزارش شده کمی بالاتر از **۱۰۰ درجه سانتی‌گراد** است. به طور معمول میکروارگانیسم‌ها را بر اساس نیازمندی‌های حرارتی‌شان برای رشد به ۳ گروه اصلی تقسیم می‌شوند:

Psychrophiles

- سایکروفیل‌ها (سرما دوست‌ها)

Mesophiles

- مزووفیل‌ها (میانه دوست‌ها)

Thermophiles

- ترموفیل‌ها (گرما دوست‌ها)

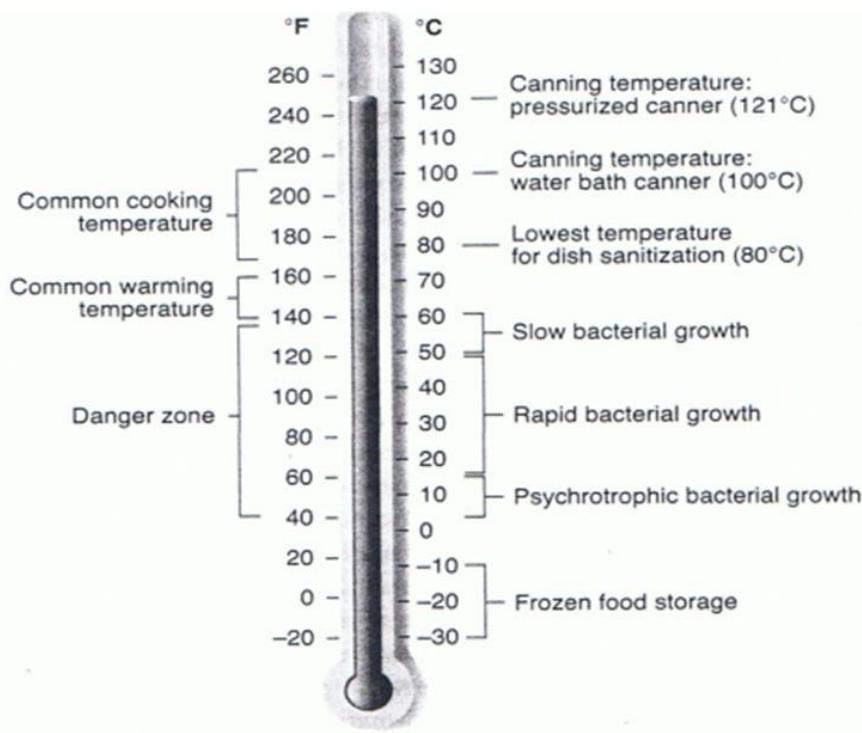
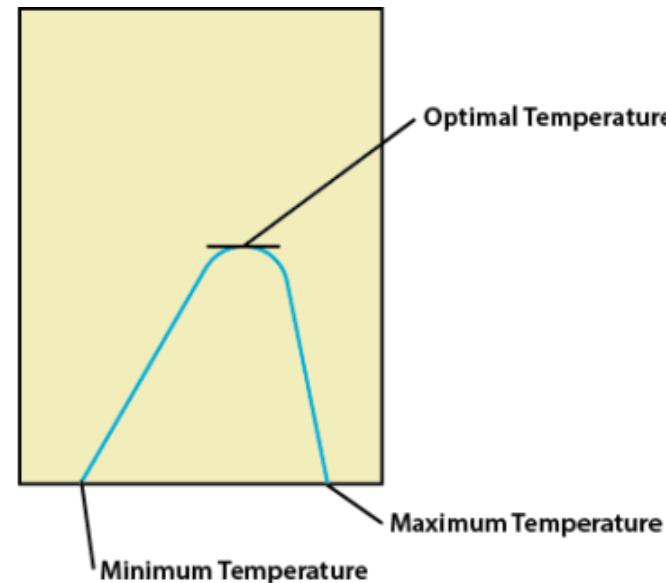
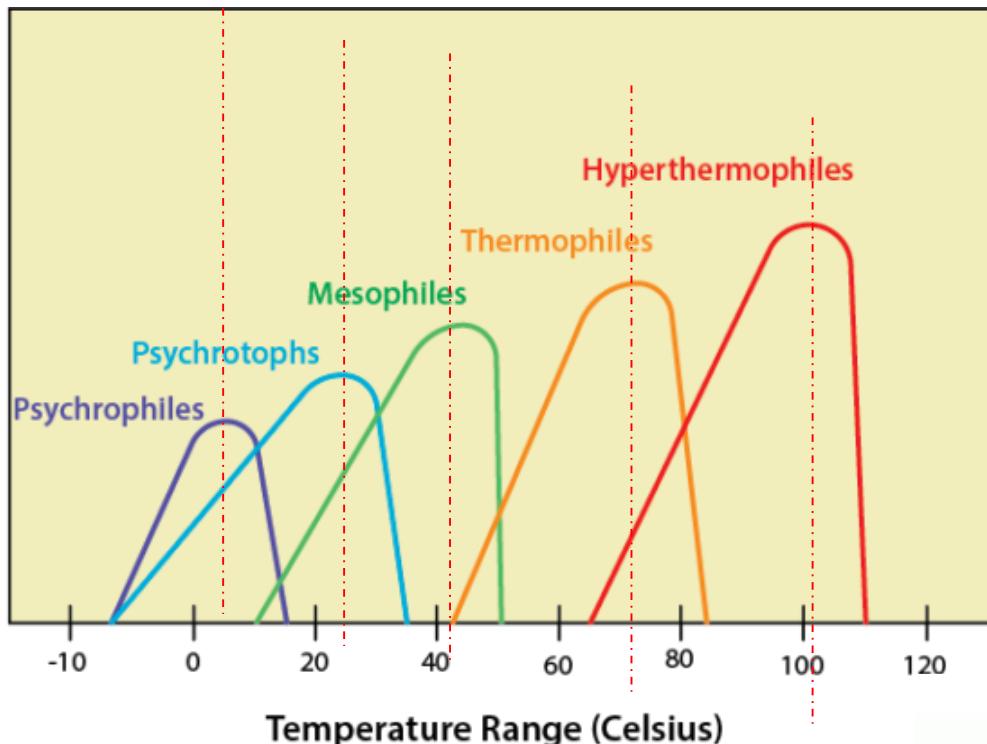
ساکروفیل‌ها باکتری‌هایی که بین **۰ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد رشد** می‌کنند و درجه حرارت اپتیم رشد آنها **۱۰ تا ۱۵ درجه** است.

مزوفیل‌ها باکتری‌هایی که بین **۲۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد رشد** می‌کنند و معمولاً **اپتیم رشدشان ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد** است. اکثر باکتری‌های شناخته شده در **مواد غذایی** دارای گونه‌ها یا نژادهای **مزوفیلیک** می‌باشند

اما باکتری‌هایی که **بالای ۴۵ درجه سانتی‌گراد رشد** می‌کنند و **اپتیم رشدشان بین ۶۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد** است **ترموفیل خوانده** می‌شوند.

- علاوه بر گروههای ذکر شده، زیر گروههای **ساکروتروف** و **ترومودوریک‌ها** می‌باشند.
- **ساکروتروف Psychrotroph** اصطلاحی است که حدود سال‌های ۱۹۶۰ پیشنهاد گردید. در حالی که ساکروفیل از سال ۱۹۰۲ معمول شده است.
- ساکروتروف اصطلاحی است که توسط **میکروبیولوژیست‌های غذایی** پذیرفته شده و به میکروارگانیسم‌هایی اطلاق می‌شود که در دماهی ۷ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کنند و در طول ۷ تا ۱۰ روز بر روی محیط‌های جامد ایجاد کلني‌های قابل مشاهده می‌نمایند (یا در محیط‌های مایع تولید دورت می‌نمایند)
- چون دمای اپتیم رشد این باکتری‌ها ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد است و بعضی از آنها در دماهی ۳۴ درجه سانتی‌گراد هم قادر به رشدند لذا این گروه از باکتری‌ها در حقیقت از مزوفیل‌ها می‌باشند.

Rate of Microbe Growth



سايكروتروف ها

- با اين تعاريف انتظار مي رود **سايكروفيلها** را تنها بر روی **فرآورده‌های دریایی** یا **مناطق سرد یافت**
- ولی ميكروب‌هایی که باعث **فساد گوشت‌ها مکیان و سبزیجات** در **دماي يخجال** (۵-۰ درجه سانتی‌گراد) می‌شوند از **سايكروتروفها** می‌باشند.
- پلیت‌کانت سایکروتروف‌ها به **مدت ۷ روز** در **دماي ۷ درجه سانتی‌گراد** بيشتر از **تعداد آنها در دماي ۳۰ يا بيشتر** است.
- از جمله باكتري‌های سرمادوست سودومonas‌ها، انتروباكتر، ويبريو، شوانلا، ميكروكوكوس، ليسيريا، اسينتوباكتر، سایکرباكتر، فلاوباكتروبيوم، آلترموناس، ائروموناس

فرق ترمودویک‌ها و ترموفیل‌ها

- ترمودویک‌ها باکتری‌هایی هستند که دماهای نسبتاً بالا را تحمل می‌کنند.
- اما قادر به رشد در آن نیستند ولی ترموفیل‌ها علاوه بر تحمل دماهای بالا قادر به رشد در آن هم می‌باشند.
- اکثر ترموفیل‌های مهم در مواد غذایی مربوط به برخی از گونه‌های پاسیلوس‌ها و کلستریدیوم ها است اگر چه تنها تعداد کمی از آنها ترموفیل هستند اما دارای اهمیت خاص در صنعت کنسرو سازی می‌باشند.

کیک‌ها

- کیک‌ها از نظر دمایی نیز در محدوده وسیع‌تری نسبت به باکتری‌ها قادر به رشد و تکثیرند.
- بسیاری از کیک‌ها قادرند در دماهای یخچالی نیز رشد کنند مانند گونه‌هایی از *Thamendum* و *Cladosporium, Aspergillus* که ممکن است بر روی تخم مرغ، گوشت‌های گوساله و میوه‌جات آنها را یافته.
- **مخمرها** در دماهای مزوفیلیک و ساپکروتروفیک رشد می‌کنند اما معمولاً در دماهای تروموفیلیک قادر به رشد نیستند.

رطوبت نسبی محیط

- رطوبت نسبی محیط از دو جهت مهم است؛ ۱- ثبات رطوبت در مواد غذایی ۲- رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در سطح فرآورده‌های غذایی
- وقتی که a_w یک محصول مثلاً حدود ۰.۶ درصد است باید در شرایطی نگهداری شود که نتواند از اتمسفر محیط رطوبت جذب کند و در نتیجه باید مانع از افزایش a_w قسمت سطحی و تحت سطحی آن شد. زیرا این امر سبب ایجاد محیطی مناسب برای رشد میکروارگانیسم هاست.
- باید دقت شود تا غذاهایی که بیشتر دیگر فساد سطحی می‌گردند در انبارهایی نگهداری شوند که دارای رطوبت نسبی کمی هستند ولی باید توجه داشت کاهش رطوبت نسبی به حدی نباشد که ماده غذایی آب خود را از دست دهد که سبب ایجاد تغییرات نامطلوب دیگر می‌شود. لذا در انتخاب رطوبت نسبی دو پارامتر را باید با هم در نظر گرفت:
 - فساد سطحی در کدام رطوبت نسبی ایجاد می‌شود؟
 - محصول در چه رطوبت نسبی نگهداری می‌شود تا حداقل تغییرات کیفی در آن پیدید آید؟

حضور و غلظت گازها

- بطور کلی انبارهایی که میزان CO_2 در فضای آنها بیش از ۱۰ درصد است به نام انبارهای با اتمسفر کنترل شده Controlled Atmosphere یا انبارهای با اتمسفر اصلاح شده (MA Storage) Modified Atmosphere نامیده می‌شود.
- CO_2 لازم از منابع مکانیکی یا یخ جامد (خشک) فراهم می‌آید.
- غلظت زیاد CO_2 مانع از فساد میوه‌ها که عامل آن تهاجم انواع قارچ‌ها است، می‌شود.
- مکانیسم عمل CO_2 در به تاخیر انداختن فساد میوه ها دقیقاً روش نیست اما اثر خود را از طریق رقابت با اتیلن اعمال می‌کند.

اثر CO_2

- pH گوشت‌هایی که در غلظت زیاد CO_2 نگهداری می‌شوند به علت حل شدن گاز و تولید اسیدکربنیک در انها اندکی پائین‌تر از گوشت‌های نگهداری شده در اتمسفر معمولی است.
- باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت‌ها به CO_2 حساس‌ترند و سودوموناس‌ها از جمله حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به CO_2 است
- و بالعکس اسیدلاکتیک باکتری‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی از جمله مقاوم‌ترین انواع در مقابل این گاز است.
- معمولاً اثر بازدارندگی CO_2 با کاهش دما افزایش می‌یابد که به علت افزایش حلalیت این گاز در درجه حرارت‌های پائین است.

مکانیسم اثر CO_2

- دلیل استفاده از غلظت زیاد CO_2 در اتمسفر سرد خانه‌های نگهداری گوشت‌های بسته‌بندی شده تغییر فلورمیکروبی آنهاست.
- در نتیجه این امر فلورمیکروبی هتروژن گوشت که اغلب مرکب از انواع گرم منفی‌ها است، تغییر کرده و فلوری بوجود می‌آید که عمدتاً از لاکتوباسیلوس‌ها و دیگر اسیدلاکتیک باکتری‌ها تشکیل یافته است.
- و غالب شدن این باکتری‌ها خود باعث کاهش pH در فراوده‌های گوشتی می‌شود.
- یکی از نظریه‌هایی که قابلیت پذیرش بیشتری در مورد مکانیسم تأثیر CO_2 دارد این است که CO_2 بر نفوذپذیری غشاء سلول اثر می‌کند و از این طریق برروی میکروب‌ها مؤثر واقع می‌شود.

حضور و غلظت گازها

- گاز ازن نیز ترکیبی است که گاهی به اتمسفر انبار افزوده می‌شود.
- این گاز در حد **چند ppm** می‌تواند علیه میکروارگانیسم‌های عامل فساد- در مورد برخی از میوه‌ها مؤثر واقع شود.
- اما به دلیل اینکه یک **اکسیدان قوی** است نمی‌توان از آن برای نگهداری مواد غذایی پرچرب استفاده کرد چون باعث اکسیداسیون چربی و تند شدن آن می‌گردد.

حضور و فعالیت دیگر میکروارگانیسم‌ها

- بعضی از میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی ترکیباتی تولید می‌کنند که ممکن است دارای اثر بازدارنده‌ی کشندگی یا آنتی بیوتیک‌ها، باکتریوسین‌ها، هیدروژن پراکسید، اسیدهای آلی و دی‌استیل است.
- دو پدیده مهم در این خصوص **Interference** و آنتاگونوسم لاكتیکی است.
- Interference** (تعارض میکروبی) پدیده‌ای است که با فعالیت گروهی از میکروارگانیسم‌های همراه سبب تخریب سلولی یا مهار فعالیت یک میکروارگانیسم می‌شود.
- این پدیده حالت عام و غیر اختصاصی دارد

حضور و فعالیت دیگر میکروارگانیسم‌ها

- در یک پررسی مشخص شد فلور طبیعی نوعی کلوچه گوشتی منجمد که با سلول‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشیرشیا کلری و سالمونلاینی موریوم تلقیح شده بود از رشدشان جلوگیری نمود.
- اثر بازدارندگی مجموعه میکروبی باکتری‌های هوازی بر علیه رشد **کلستریدیوم بوتولینوم** در گوشت‌های تازه به خوبی به اثبات رسیده است.
- در حالت : **Interference**
- اولاً مجموعه میکروارگانیسم‌هایی که اثر بازدارندگی دارند بیشتر از تعداد آنهایی است که از فعالیتشان جلوگیری می‌شود.
- ثانیاً مجموعه باکتری‌های شرکت کننده معمولًا هموژن نیستند و نقش‌های خاصی که هر یک از گونه‌ها بازی می‌کند مشخص نیست.
- از جمله مواردی که برای شرح تعارض میکروبی می‌توان عنوان کرد عبارت است از:
 - ۱- رقابت برای غذا ۲- رقابت برای اتصال یا چسبیدن به جایگاه‌ها ۳- ایجاد شرایط نامطلوب محیطی ۴- ترکیب این موارد.

آنتاگونیسم لاكتیکی Lactic Antagonism

- پدیده‌ای است اختصاصی. در مورد این پدیده محققین مواد غذایی بخصوص پس از دهه‌های ۶۰ و ۷۰ بررسی‌ها مختلفی انجام داده‌اند.
- پدیده‌ای است که توسط یک **بакتری اسیدلاكتیکی** اعمال شده و سبب مهار رشد یا کشندگی آرگانیسم‌های عامل فساد یا عفونت غذایی می‌شود و در کشت‌های مخلوط تا بیش از ۷۰ روز این اثر قابل مشاهده است.
- از جمله عوامل شناخته دخیل در این پدیده عبارتند از: وجود آنتیبیوتیک‌ها، هیدروژن پراکسید، کاهش pH، دیاستیل، کاهش مواد غذایی، بакتریوسین‌ها و یا عواملی شبیه بакتریوسین‌ها.
- بакتریوسین نایسین Nisin بهترین نمونه شناخته شده و مطالعه شده است که توسط بакتری‌های اسیدلاكتیک تولید می‌شود.

پروپیونی باکتریوم فرودنزویچی *Propionibacterium freudenreichii* sp. *Shermani* زیر گونه شرمنی و قتی که در شیر بدون چربی پاستوریزه کشت می شود یک سیستم ناشناخته یا چند ترکیب مهارکننده تولید می کند که بر علیه گرم منفی ها و کپک ها در پنیر کاتیج مؤثر است.

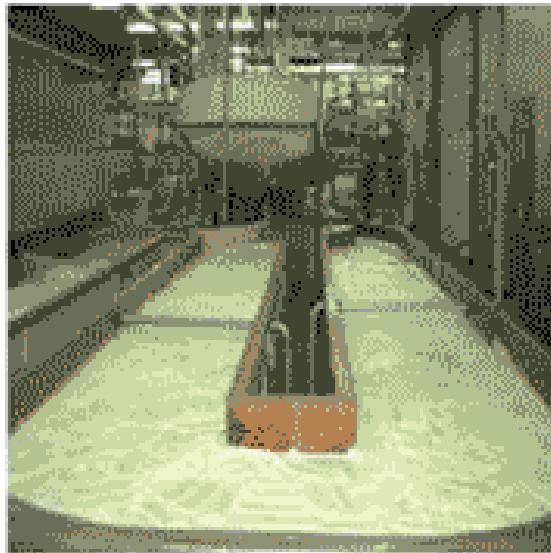
این میکروارگانیسم ها به دلیل اثرات مهارکننده گی شان به مواد غذایی افزوده می شود که به آنها محیط های محافظ Protective culture می گویند.

از جمله خواص مطلوب این محیط ها که باید دارا باشند:

- ۱) بدون خطر باشد (از نظر سلامتی)
- ۲) ایجاد اثرات مفیدی در محصول نماید
- ۳) اثرات منفی بر روی خواص حسی نداشته باشد
- ۴) در شرایط نامطلوب به عنوان یک اندیکاتور عمل نماید.

لاکتیک اسید باکتری ها مهمترین و بزرگترین دسته باکتری هاست که دارای این چند خواصند.

تنوع نژادهایی که تولید کننده باکتریوسین در بین گونه های اسید لاکتیک باکتری هاست به طور گسترده ای متفاوت است در یک بررسی بر روی ۲۸۰ گونه مشخص شد ۵ درصد آنها قادر به تولید باکتریوسین یا عوامل شبیه باکتریوسین ها می باشد.

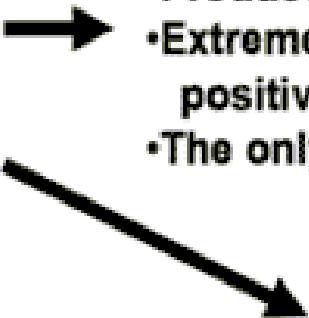


Cheese Whey

- By-product of cheese industry;
- 85-90% of the milk volume and used for cheese manufacturing;
- Retains 50% milk nutrients;
- 30 million tones of liquid whey are produced annually in the U.S.

Nisin

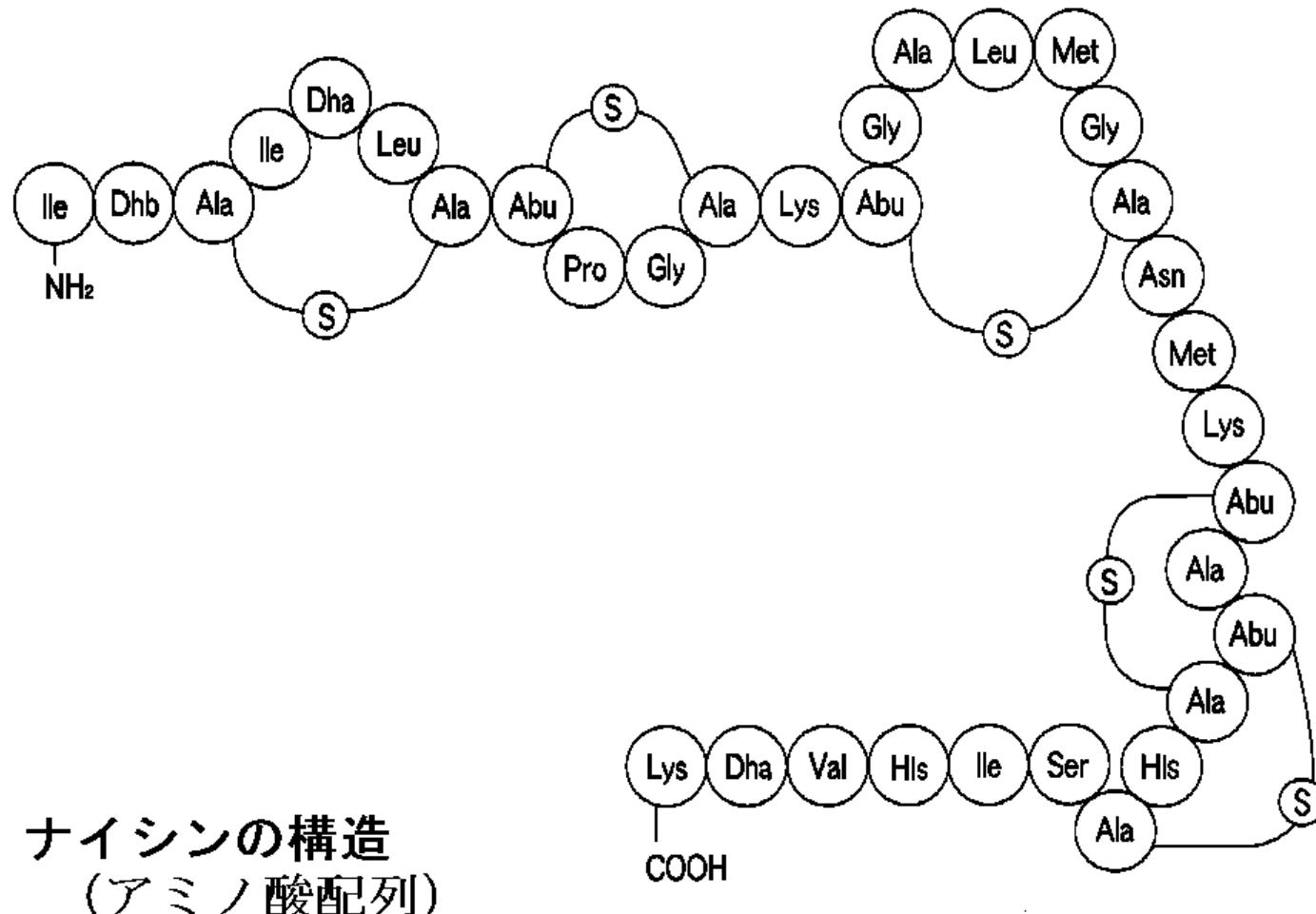
- A peptide composed of 34 amino acids;
- Produced by lactic acid bacteria;
- Extremely effective against Gram-positive bacteria and their spores;
- The only commercialized bacteriocin.



Application

- Generally Recognized as Safe (GRAS) by FDA;
- Approved for use in over 40 countries;
- Used in processed cheese, meat, fresh and recombined milk, dressings and sauces, canned foods, crumpets, etc

This natural peptide produced by the microbe *Lactococcus lactis* found in milk that has "gone off" has already been used widely as a food preservative in heat processed and low pH foods. Its potential as an antibiotic drug was first alluded to by A Hirsch in 1951 who first isolated it and then coerced *Streptococcus lactis* to produce it .



ナイシンの構造
(アミノ酸配列)

(藤田泰仁：「乳酸菌の科学と技術」(乳酸菌研究集談会編), p.207, 学会出版センター, 1996より)
Dr. Khomeiri, FST, Gorgan

فاکتورهای ضمنی

Implicit Factors

- دسته سوم از عوامل موثر بر فعالیت میکروارگانیسم ها، عواملی هستند که در تعیین ماهیت جمیعت های میکروبی موجود در غذاها مهم هستند، عوامل ضمنی نامیده می شوند شامل ویژگی های خود موجودات، نحوه واکنش آنها با محیط و تعامل با یکدیگر است.
- در ساده ترین حالت، ضریب رشد ویژه یک موجود، تعیین کننده اهمیت آن را در میکرو فلور مواد غذایی است. آنها یکی که بالاترین ضریب رشد ویژه را دارند احتمالاً در طول زمان غالب خواهند شد. این البته به شرایط حاکم بستگی دارد.
- بسیاری از کیکها می توانند به خوبی روی غذاهای تازه مانند گوشت رشد کنند، اما کندتر از باکتری ها رشد می کنند و در نتیجه رقابتی ندارند.
- در غذاهایی که رشد سریع تر باکتری ها توسط عواملی مانند کاهاش pH یا a_w مهار می شوند، کیکها نقش مهمی در فساد دارند.
- از طرف دیگر، دو موجود زنده ممکن است حداقل نرخ رشد ویژه مشابهی داشته باشند اما از نظر تمایل به سوبسترای محدود کننده رشد (K_s) متفاوت باشند. اگر مقدار آن سوبسترا به قدری کم باشد که بعنوان یک عامل محدود کننده رشد عمل کند، آنگاه ارگانیسمی که K_s کمتری دارد (میل ترکیبی بیشتر) از دیگری پیشی خواهد گرفت.

فاکتورهای ضمئی

- پاسخ میکروارگانیسم ها به فاکتورهای مختلف موثر بر رشد به وضعیت فیزیولوژیکی ارگانیسم بستگی دارد.
- سلولهای فاز نمایی تقریباً همیشه راحتتر و سریعتر از سلولهای فاز ثابت توسط گرما، pH پایین یا مواد ضدمیکروبی از بین میروند و اغلب هر چه سرعت رشد آنها سریع‌تر باشد، راحت‌تر کشته می‌شوند.
- این به طور شهودی منطقی است برای مثال عواقب تصادف مربوط به ماشینی که با سرعت بیشتری می‌راند همیشه جدی‌تر از ماشینی است در آن زمان کندتر حرکت کند.
- در سرعت‌های رشد بالاتر، جایی که فعالیت سلولی بیشتر و متعادل‌تر است، آسیب ناشی از یک ضربه خفیف به سیستم شدیدتر از همان اختلال در سلولهایی است که خیلی آهسته رشد می‌کنند یا اصلاً رشد نمی‌کنند.
- مکانیسم دقیق عاملی که منجر به مرگ سلولی می‌شود، تقریباً همیشه پسیار پیچیده است.
- یکی از تئوری‌های ارائه شده در این خصوص این است که آسیب کشنده عمدتاً در نتیجه یک انفجار اکسیدانتیو است، یعنی تولید مقدار زیادی رادیکال های آزاد مخرب در سلول در پاسخ به استرس فیزیکی یا شیمیایی که اعمال شده است.
- این بدان معناست که مرگ سلولی در واقع تابعی از پاسخ ارگانیسم به استرس است تا اثر مستقیم خود استرس.

ادراک حد نصاب یا Quorum Sensing

- ادراک حد نصاب یا Quorum Sensing, سیستم ارتباطی سلول به سلول در ارگانیسم‌های تک سلولی است.
- در این سیستم بسیاری از باکتری‌ها قادر به تولید، ترشح و شناسایی مولکول‌های کوچک پیام رسان (القاء کنندگان خود به خود) از طریق اتصال به پروتئین‌های گیرنده هستند که افزایش جمعیت سلولی باعث افزایش غلظت این مولکول‌ها شده در نتیجه باکتری‌ها قادر به درک جمعیت باکتریایی می‌شوند.
- در باکتری‌های گرم منفی دو نوع مکانیسم ادراک حد نصاب شامل سیستم LuxI/LuxR و SyS وجود دارد.
- در سیستم LuxI/LuxR که اکثرًا در باکتری‌های گرم منفی مورد استفاده قرار می‌گیرد، آسیل هموسرین لاكتون به عنوان مولکول‌های کوچک پیام رسان نقش ایفا می‌کند
- که توسط آسیل هموسرین لاكتون سنتتاز (پروتئین LuxI) تولید می‌شود و پروتئین LuxR نیز به عنوان گیرنده این مولکول‌ها نقش دارد.

ادراک حد نصاب یا Quorum Sensing

کمپلکس آسیل هموسرین لاکتون و پروتئین LuxR باعث شروع رونویسی ژن‌های مربوط به تشکیل بیوفیلم، تولید اسپور، سنتز توکسین‌های خارج سلولی و فاکتورهای بیماری‌زا مثل آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی می‌شود.

هليکوباكتر پيلوري باكتري گرم منفي، ميكروآثيروفيل، پاتوزن گاستريک و ميله‌اي خميده که در مخاط معده مستقر است (اسکرايبر و همكاران ۴۰۰).

هليکوباكتر پيلوري داراي القاء کننده‌های خود به خودی AI-2 است که تولید AI-2 به فعالیت پروتئین LuxS بستگی دارد.

به طوری که طی يك سري واکنش های آنزیمی از S-آدنوزیل متیونین (SAM)، يك گروه متیل و برلاوه SRB پروتئین هموسيستين (SRH) حاصل می‌شود

پروتئين LuxS باعث شکسته شدن SRH و تولید 4 و 5 دی هيدروكسی 2 و 3 پنتادی ان می‌شود و در نهايّت، در اثر دهيدراسيون و حلقوی شدن 4 و 5 دی هيدروكسی 2 و 3 پنتادی ان MOLKOLهای AI-2 حاصل می‌شود

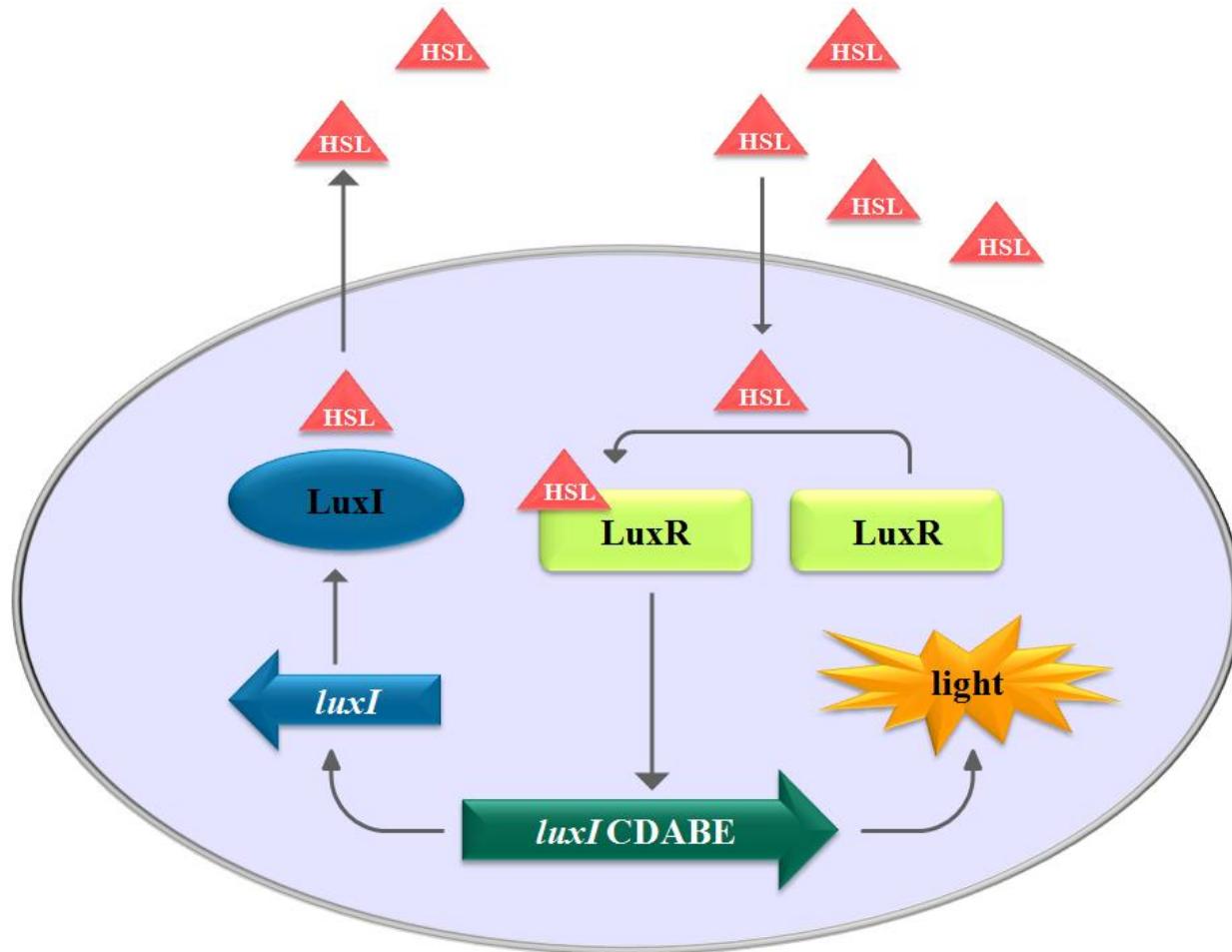
در چندين مطالعه نشان داده شده که سистем LuxS در هليکوباكتر پيلوري باعث افزایش تولید فلاژل، افزایش تحرك و كلونيزاسيون می‌شود.

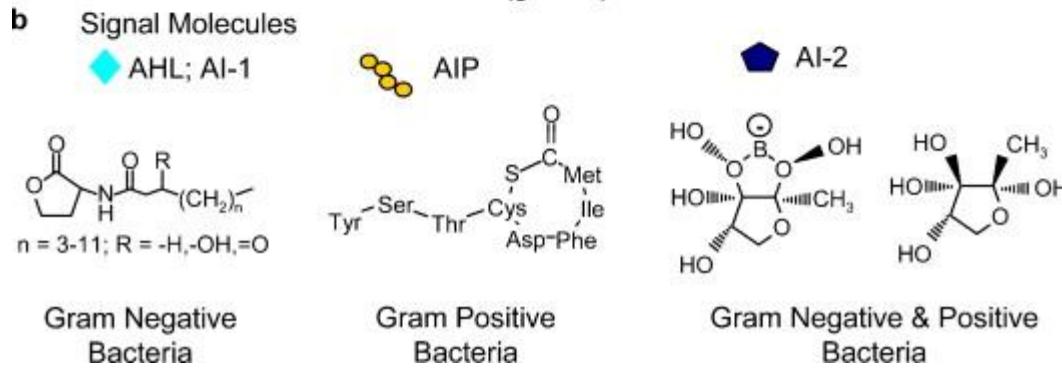
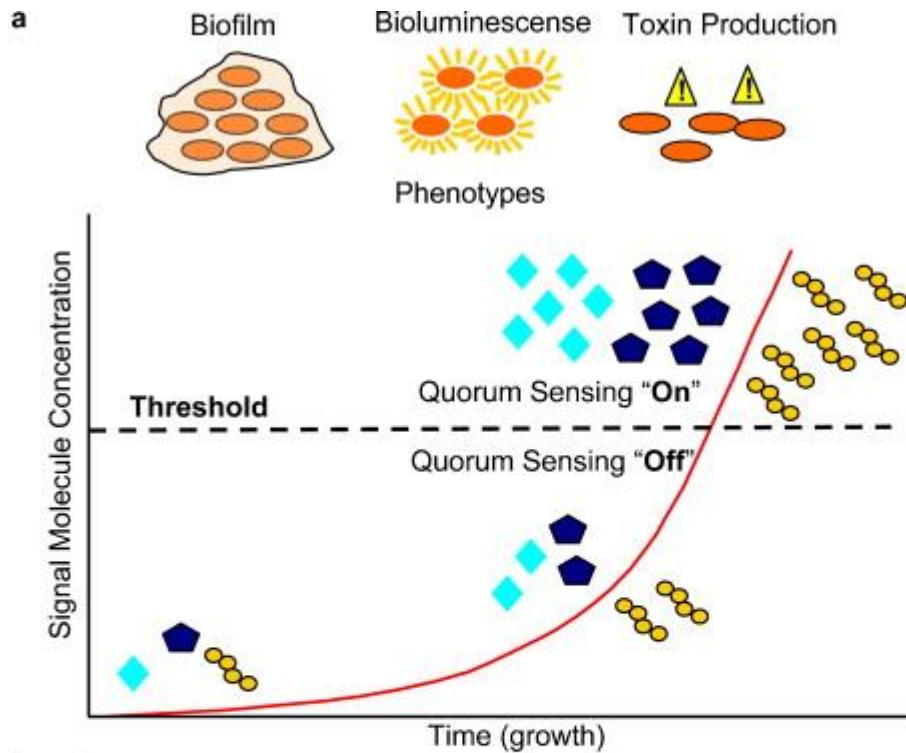
باكتري های گرم مثبت سيگنانل‌هایی از جنس پيتيدها تولید می‌کند و به AIP معروف هستند.

ادراک حد نصاب یا Quorum Sensing

- با توجه به این موضوع و به دلیل کاربردهای دارویی، صنعتی و بیوتکنولوژی در سال‌های اخیر توجه پژوهشگران به مطالعات مهار سیستم ادراک حد نصاب افزایش یافته است.
- در مطالعات مربوط به مهار سیستم ادراک حد نصاب خواص ضد کروم سینسینگی جلبک‌ها، انسان و عصاره‌های گیاهی و آنزیم‌ها و ترکیبات تولیدی توسط برخی از میکرووارگانیسم‌ها به اثبات رسیده است.
- علاوه بر آن در مطالعات قبل به اثبات رسیده است که موتانت‌های LuxS نسبت به نوع وحشی به طور معنی‌داری تحرک و عفونت کمتری داشته است.
- بنابراین مهار سیستم ادراک حد نصاب می‌تواند روشی نوین و استراتژی خوبی برای جلوگیری یا کاهش خواص بیماری‌ای هلیکوباکتر پیلوری باشد.
- علاوه بر آن ترکیبات مهار کننده سیستم ادراک حد نصاب باعث نابودی یا توقف رشد یاتوزن نمی‌شوند بلکه باعث کنترل فاکتورهای بیماری‌زا و مانع گسترش سویه‌های مقاوم می‌شوند.

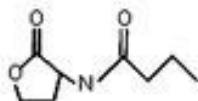
Light is produced after transcription activation of the lux operon



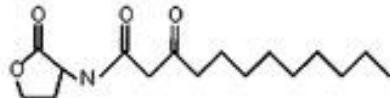


Signaling molecules are diverse

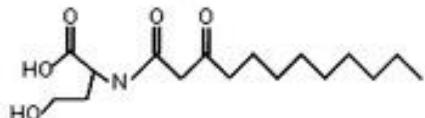
AHLs and derivatives



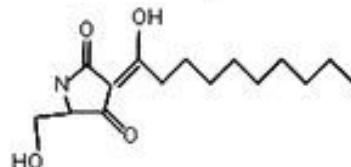
Butyryl-homoserine lactone (C4 AHL)



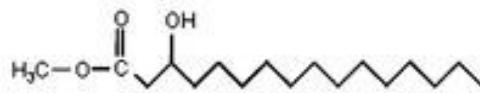
3-oxo-dodecanoyl-homoserine lactone (3-oxo-C12 AHL)



3-oxo-dodecanoyl homoserine

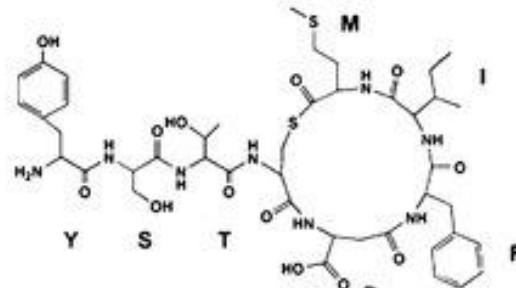


3-(1-hydroxydecylidene)-5-(2-hydroxyethyl)pyrrolidine-2,4-dione



3-OH-palmitic acid methylester

Gram-positive peptide signals



Staphylococcus aureus AIPE

Isp

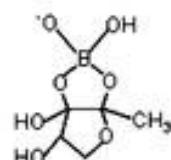
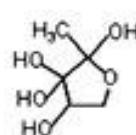
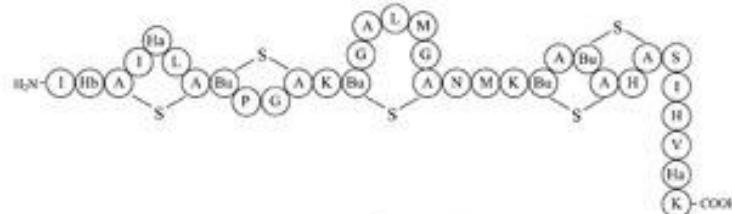
Bacillus subtilis ComX

ADDPITRQWGD

Bacillus subtilis CSF

ERGMT

Lactococcus lactis



AI-2 structures for *S. typhimurium* (left)
and *V. harveyi* (right)

Quorum-quenching

