

عوامل داخلی و خارجی مؤثر بر رشد میکروبی در مواد غذایی

- از آنجایی که اغلب مواد غذایی مورد استفاده انسان، دارای منشأ گیاهی یا جانوری است لذا بررسی ویژگی‌های بافت‌های گیاهی و جانوری و تأثیر این عوامل بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها ضروری می باشد
- کلیه منابع گیاهی و جانوری که به مصرف تغذیه می رسند دارای مکانیسم‌های دفاعی علیه تهاجم میکروارگانیسم‌ها می باشند. برخی از آنها تنها در محصولات تازه دیده می شود،
- 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)، یتانسیل 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

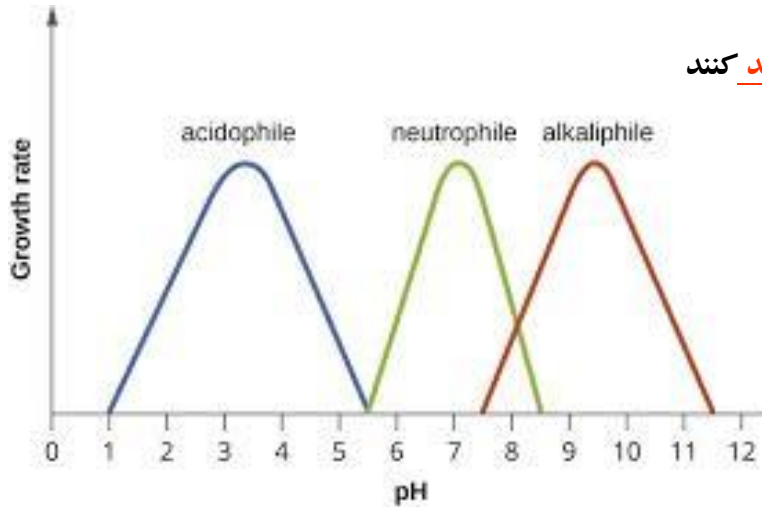
INTRINSIC PARAMETERS

- 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 اپتیمم 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 pH های خنثی را می‌پسندند اگرچه بعضی از آنها از قبیل استوباکترها و لاکتیک اسید باکتری‌ها pH های اسیدی - ۵ تا ۶، و برخی مانند باکتری‌های پروتئولیتیک در pH های بالا (مانند سفیده تخم‌مرغ) می‌توانند بخوبی رشد کنند.

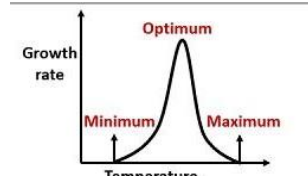
مقایسه میکروارگانیسم ها از نظر pH



- به طور کلی، کیک 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 کیک 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 ۴,۵ 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 (۴/۵-۴) 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 قلیائیت 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 ۵/۶-۵/۸** 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**

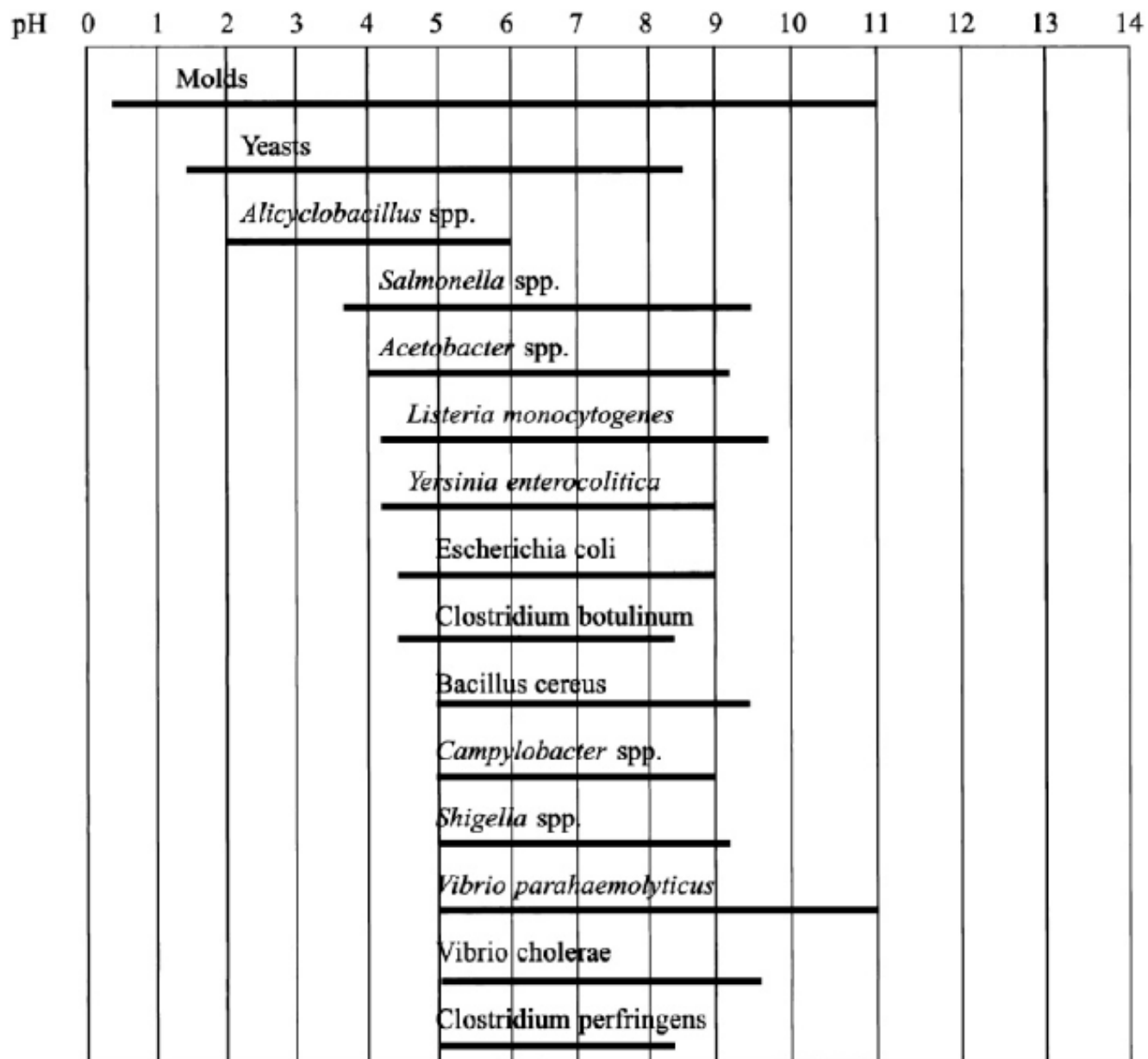
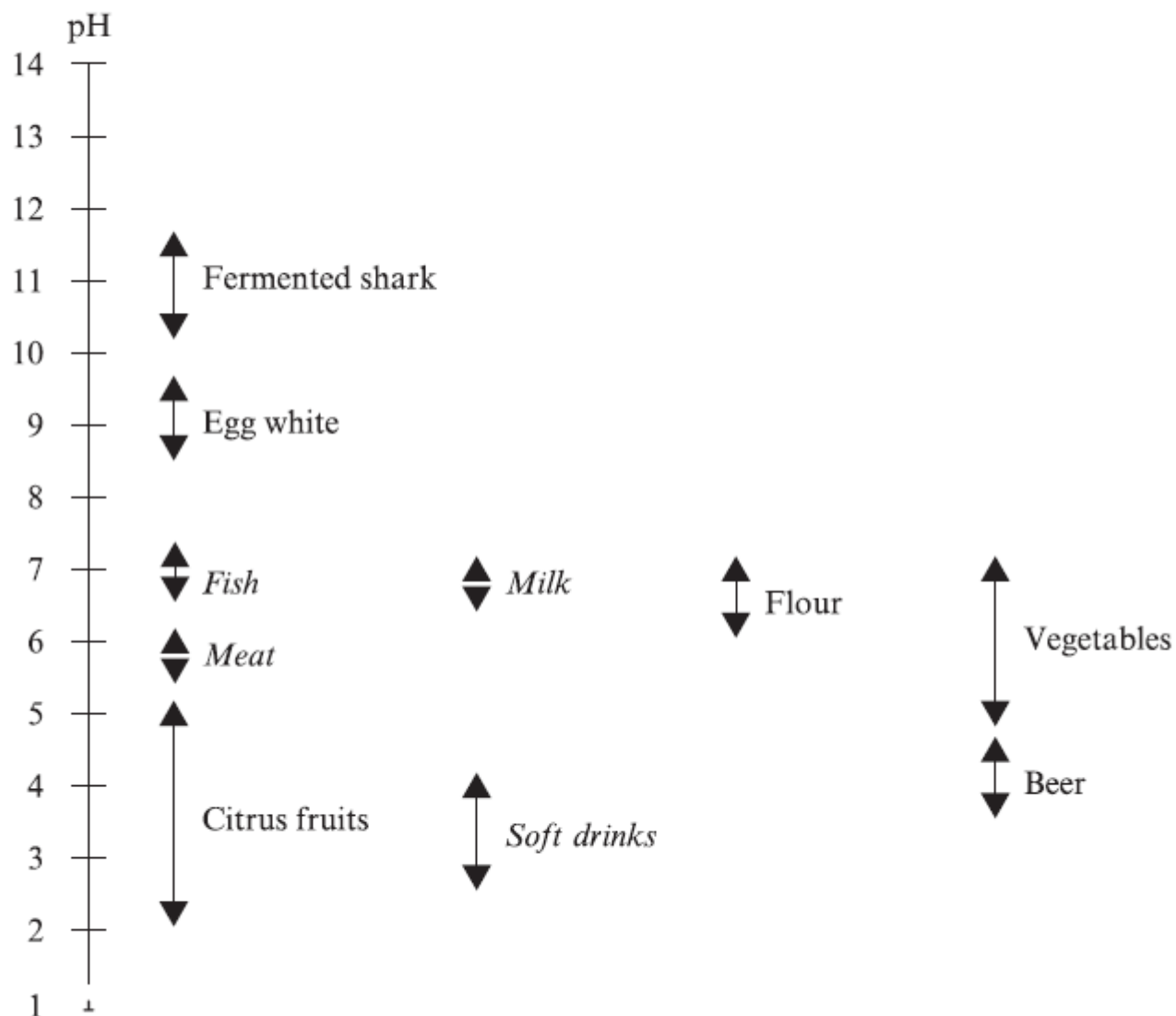


Figure 3–1 Approximate pH growth ranges for some foodborne organisms. The pH ranges for *L. monocytogenes* and *S. aureus* are similar.

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.

بافر ها

- بافرها ترکیباتی هستند که در برابر تغییر pH مقاومت می کنند این ترکیبات در مواد غذایی مختلف یافت می شوند
- باعث می شود تا يك تخمیر اسیدی یا قلیایی به مدت طولانی تري ادامه داشته و بازده تولید افزایش یابد.
- عصاره های گیاهی قدرت بافرکنندگی کمتری دارند لذا وقتی در مراحل اولیه تخمیر این مواد باکتری های اسید لاکتیک رشد می کنند سریعاً pH محیط را کاهش داده و محیط برای رشد عواملی چون باکتری های پروتئولیتیک و پکتیکولیتیک نامطلوب می شود.
- اما غذاهایی مانند شیر و گوشت به علت دارا بودن پروتئین (يك بافر خوب) دارای ظرفیت بافري بالایی است.

- pH يك فرآورده را مي‌توان به راحتی با يك pH متر اندازه‌گيري نمود اما اين مقدار به تنهائي براي پيش‌بيني اثرات آن برروي ميكروب‌ها كافي نيست.

- چونكه شناخت نوع اسيدي كه سبب كاهش pH يك محيط شده است نيز لازم است بعلت اينكه بعضي از اسيدها خصوصاً اسيدهاي آلي قدرت مهاركنندگي بيشتري دارند.

- خواص بازدارندگي برخي از اسيدها مانند استيك، بنزوئيك، سيتريك، لاکتيك، پروپيونيک و سوريك اسيد سبب مي‌شود تا از آنها به طور وسيعي به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذايي استفاده مي‌شود.

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

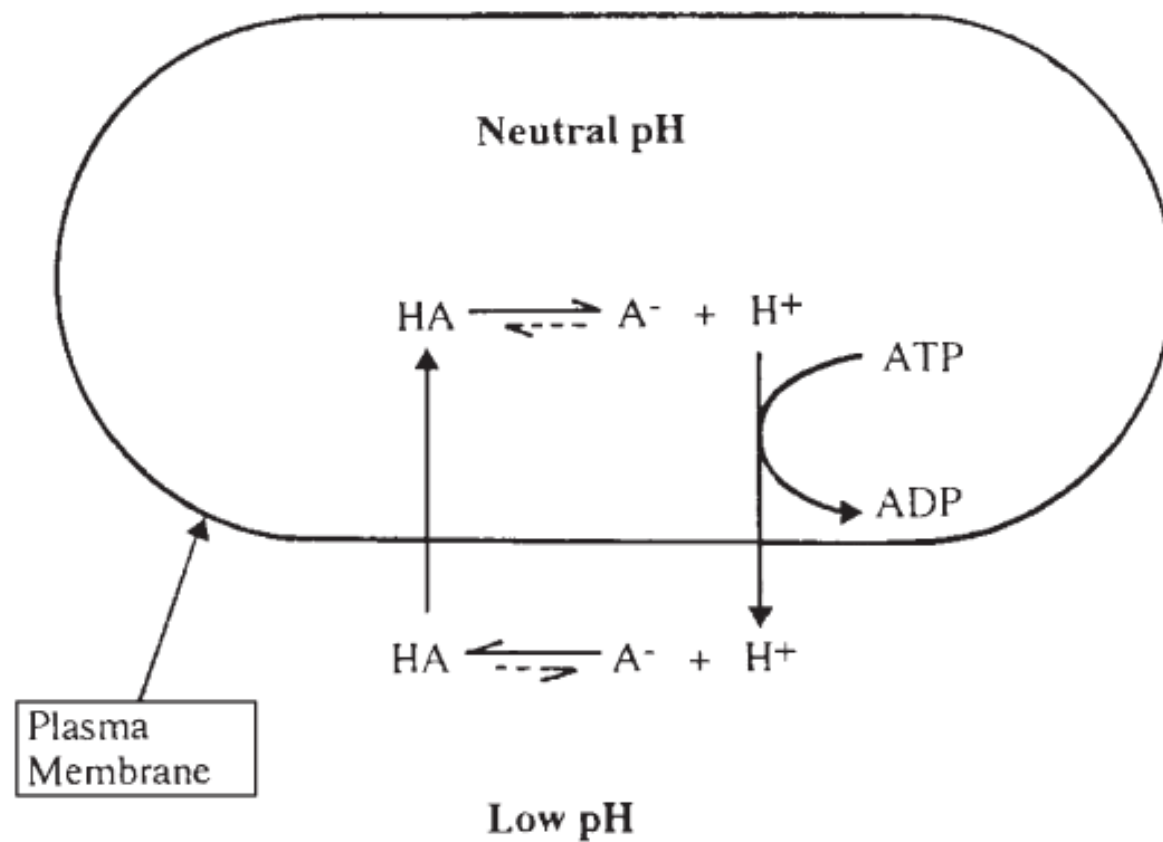


Figure 3.2 *Microbial inhibition by weak organic acids*

نحوه اثر اسیدهای آلی

- از آنجایی که غشای سیتوپلاسمی فسفولیپیدی و غیر قطبی می‌باشد. بنابراین ترکیبات فاقد 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 آنزیم‌ها در غشاء سیتوپلاسمی از دیگر نتایج ناشی از تغییرات pH در سوستر 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 pKa**, then half of the acid present will be undissociated.
- وقتی pH برابر pK 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 $\text{pH} = \text{pKa} + 1$ there will be 10 times as much dissociated acid as undissociated.
- Similarly as the pH is decreased below the pKa the proportion of undissociated acid increases.
- Table 3.3 presents a list of some common food-associated acids and their pKa 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

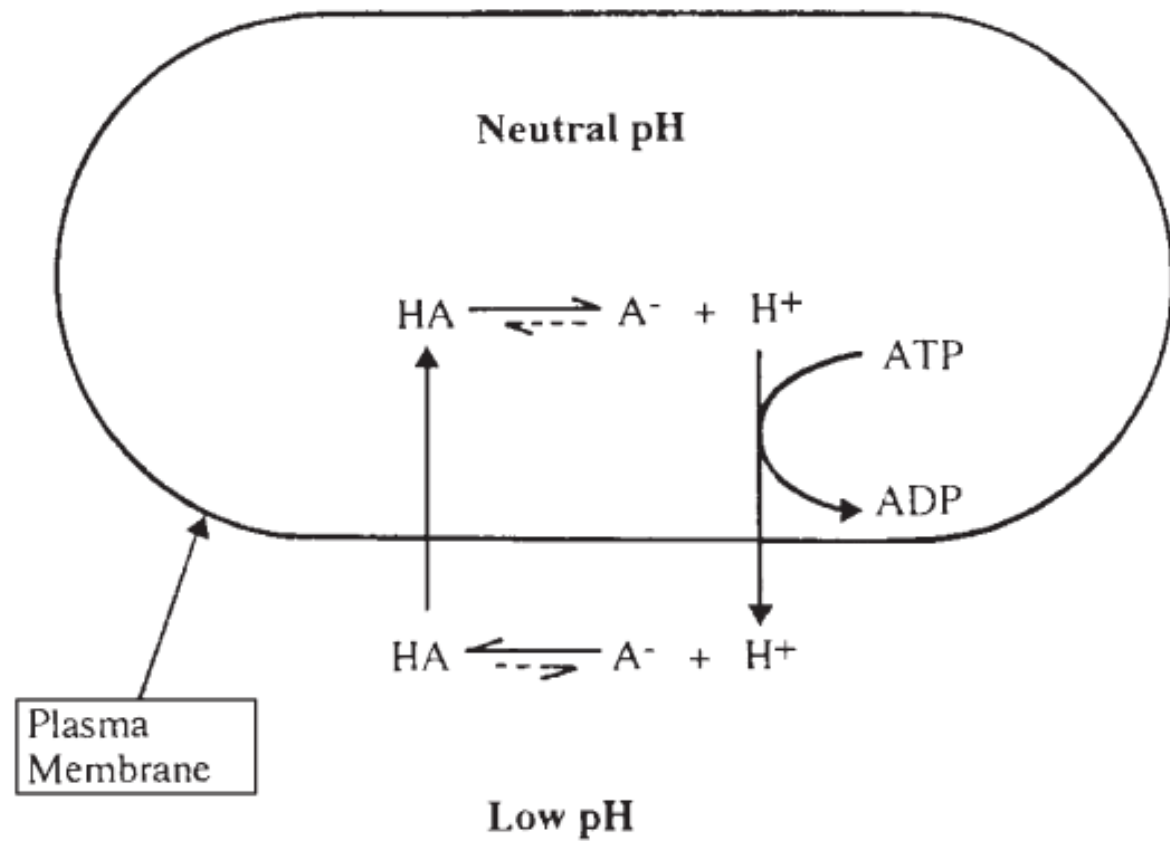


Figure 3.2 *Microbial inhibition by weak organic acids*

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 یون H^+ معادل آن از سیتوپلاسم دفع کند زیرا ترکیبات کلیدی سلول نظیر DNA و ATP 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 تعدیل خود به خودی pH محیط یاخته در محدوده خنثی می‌باشند. آنزیم‌های مذکور توانایی رشد و تکثیر در محیط اسیدی را به سلول می‌بخشند.
- اپتیمم 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 کارایی را دارند.

روشهای مقابله در برابر تغییر pH

- باکتری‌هایی نظیر *Clostridium acetobutylicum* از طریق تبدیل اسیدبوتریک به بوتانل موجب افزایش pH محیط کشت می‌شوند.
- همچنین باکتری‌هایی مانند *Enterobacter aerogenus* برای افزایش pH، اسید پیرویک را به استوئین تبدیل می‌کند.
- علاوه بر این مرفولوژی برخی از میکروارگانیسم‌ها نیز ممکن است تحت تأثیر pH تغییر کند
- برای مثال درازای هیف *Penicillium 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 ایجاد Pellet (کلی کروی شکل که در نتیجه رشد قارچ‌ها در محیط کشت مایع به وجود می‌آید) دارد.

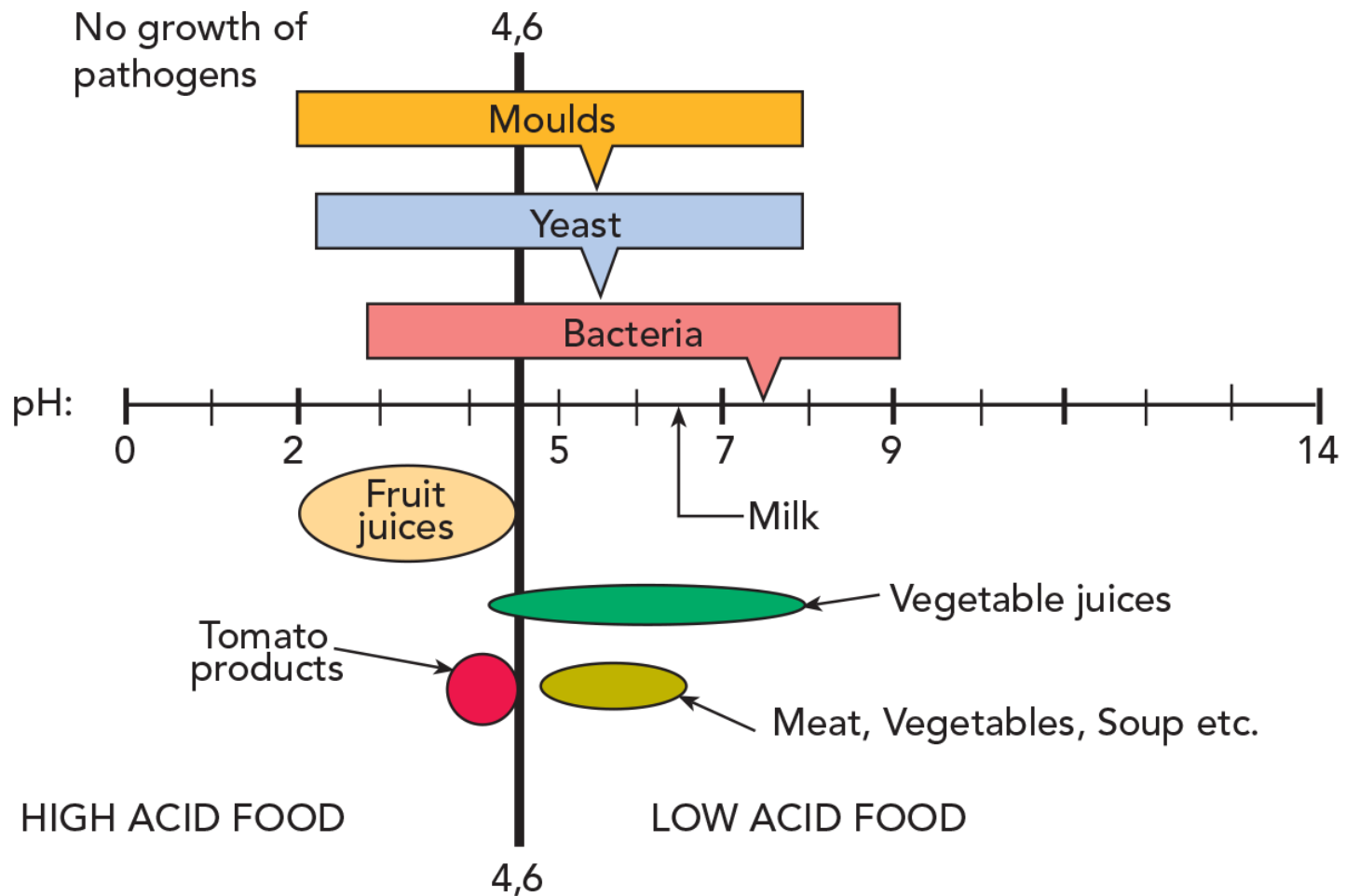


Fig. 4.10: Effect of acidity on growth.

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 می‌یابد (مانند شیر فاسد و حرارت دادن آن).
- غلظت نمک هرگاه از حد مطلوب خود تجاوز کند دامنه pH قابل تحمل میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد
- تغییرات pH سبب افزایش حساسیت سلول‌ها نسبت به بسیاری از عوامل سمی می‌شود.
- چون pH مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها در يك 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 بافری بیشتر این توقف بیشتر می‌شود. زیرا سلول مدت زمان زیادی نیاز دارد تا pH محیط را به pH مطلوب خود نزدیک کند.

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 دمایی 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.
- $RH=100 \times a_w$
- a_w آب خالص ۱ است برای یک محلول امولار برابر ۰.۹۸۲۳ و محلول (w/v) ۲۲٪ نمک طعام ۰.۸۶ و محلول اشباع آن ۰.۷۵ 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- جذب آب وسیله یون‌ها و مواد محلول، بنابراین 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- کلوئیدهای 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).
- a_w آب خالص در صفر درجه سانتی‌گراد ۱، در ۵-، ۰.۹۵۳ و در ۱۰-، ۰.۹۰۷ و همینطور با 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

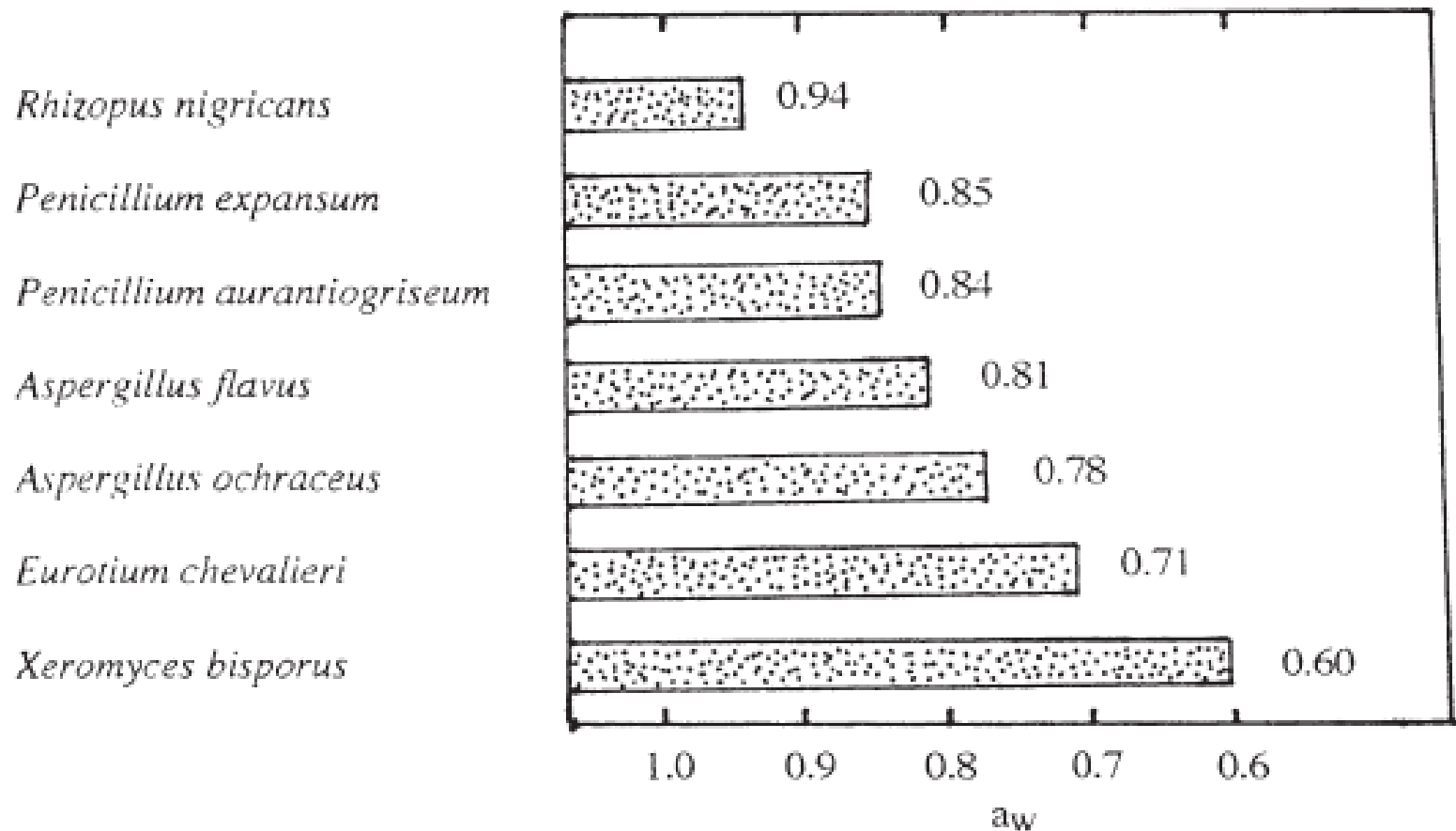


Figure 3.7 Range of a_w values allowing growth of a number of species of micro-organisms

- 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 ۰.۷۵ 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 دمای ایتیمم دامنه وسیعتری از a_w را تحمل می‌کند.
- - وجود ترکیبات مختلف مغذی سبب می‌شود میکروارگانیسم‌ها در دامنه گسترده‌تری از a_w فعالیت کنند.
- - حداقل فعالیت آبی برخی از میکروب‌ها نسبت به نوع ترکیبات موجود در محیط تغییر می‌کند به‌عنوان مثال اگر در محیط Na_2SO_4 باشد حساسیتش بیشتر است از حالتی که NaCl وجود دارد و بر این اساس افزایش حساسیت

گلیسرول > NaCl > Na_2SO_4 .

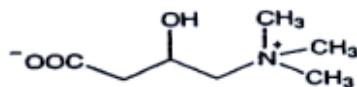
اثر a_w یائین

- 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 پیکر میکروارگانیسم‌ها کاسته شود.
 - بعلاوه کاهش فعالیت آب (a_w) باعث کاهش نفوذ آب به درون سلول شده که کاهش فعالیت‌ها متابولیسمی را به همراه 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 بر روی کلستریدیوم پرفرینجنس نشان داده شد اگر از ساکاروز یا کلرورسیدیم برای تنظیم a_w محیط استفاده شود حداقل a_w لازم جهت رویش اسپور و رشد باکتری حدود ۰.۹۷ – ۰.۹۵ است ولی اگر از گلسیرول استفاده شود این مقدار به ۰.۹۳ و کمتر نیز خواهد رسید
- در تحقیق دیگری مشخص شد هرگاه جهت کنترل a_w از کلرورسیدیم و کلسیم استفاده شود بهتر می‌توان از رویش اسپور با سیلوس‌ها و کلستریدیوم‌ها جلوگیری کرد.

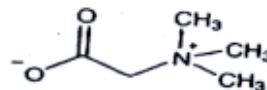
استراتژی مورد استفاده برای حفاظت سلول در مقابل فشارهای

- اثرات کاهش آب و اثر واتراکتیویته بخصوص در مواقع 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 تجمع مواد محلول مناسب مانند نمک‌ها، پلی‌الها، اسیدهای آمینه و سایر ترکیبات در داخل سلول است.

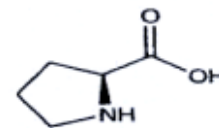
- موادی که به وسیله باکتری‌ها استفاده می‌شود عبارت است از: یون‌های K^+ ، گلوتامات، گلوتامین، گلیکوزیل گلسیرویل، γ -آمینوبوتیرات، ساکاروز، آلانین، گلیسین بتائین، کارنیتین، پرولین.



پرولین



گلیسین بتائین



کارنیتین

- گرم منفی‌ها بیشتر تمایل به جمع کردن پرولین در داخل سلول دارند که به وسیله مکانیسم‌های انتقال صورت می‌گیرد.
- استافیلوکوکوس اوروئوس که قادر به تحمل نمک می‌باشند با کاهش a_w میزان اسیدهای آمینه جاذب آب درون سلولی خود را افزایش می‌دهند و نیز اقدام به تجمع پرولین (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 انترتوکسین 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*.

پتانسیل اکسیداسیون- احیا Eh= O/R Potential

- توانایی یک ماده در کسب یا از دست دادن الکترون را گویند. آنهایی را که به راحتی الکترون از دست می دهند احیاء کننده خوبی هستند و بالعکس آنهایی که الکترون می گیرند اکسیدکننده 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 می شود بین آنها اختلاف پتانسیلی بوجود می آید که مقدار آن بر حسب mv با استفاده از دستگاه های مناسب قابل اندازه گیری است.

پتانسیل اکسیداسیون- احیا $E_n = O/R$ Potential

- مقدار پتانسیل اکسیداسیون- احیاء مواد غذایی متفاوت است در گوشت تازه حدود $+250 \text{ mv}$ ، گوشتی که در حالت جمود نعشی است -200 mv 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 احیا کننده قوی است Eh منفی،
- میکروارگانیسم ها Eh مورد نیاز متفاوتی دارند، میکروب های هوازی به Eh مثبت نظیر سودوموناس های هوازی ۱۰۰+ تا ۴۰۰+.
- باکتری های بی هوازی اختیاری محدوده Eh آنها از منفی تا مثبت تغییر می کند مثلاً استافیلوکوکوس اورئوس ۲۰۰- تا ۲۰۰+ و
- برای بی هوازی ها، منفی مثلاً ۲۰۰- تا ۳۰۰- مطلوب برای کلستریدیوم هاست.

- میکروارگانسیم‌ها همانطور که pH محیط را تغییر می‌دهند موجب تغییر در Eh سوبسترا نیز می‌شوند، بعضی از متابولیت‌های تولید شده توسط میکروارگانسیم‌ها مانند H_2S (سولفیدروژن) نیز سبب کاهش Eh می‌شوند.

- در محیط‌های قلیایی اغلب Eh پائین است

- بعلاوه بعضی از ترکیبات موجود در مواد غذایی بر روی میزان Eh مؤثرند از جمله اسید اسکوربیک و قندهای احیا در سبزیجات و میوه‌ها و نیز گروه‌های سولفیدریلی $-SH$ و گلوتاتیون 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 گلسیریدی تغییر یافته میزان استرول‌ها 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 غیر اشباع 18:1 و 16:1 به میزان بیشتری می‌باشد.

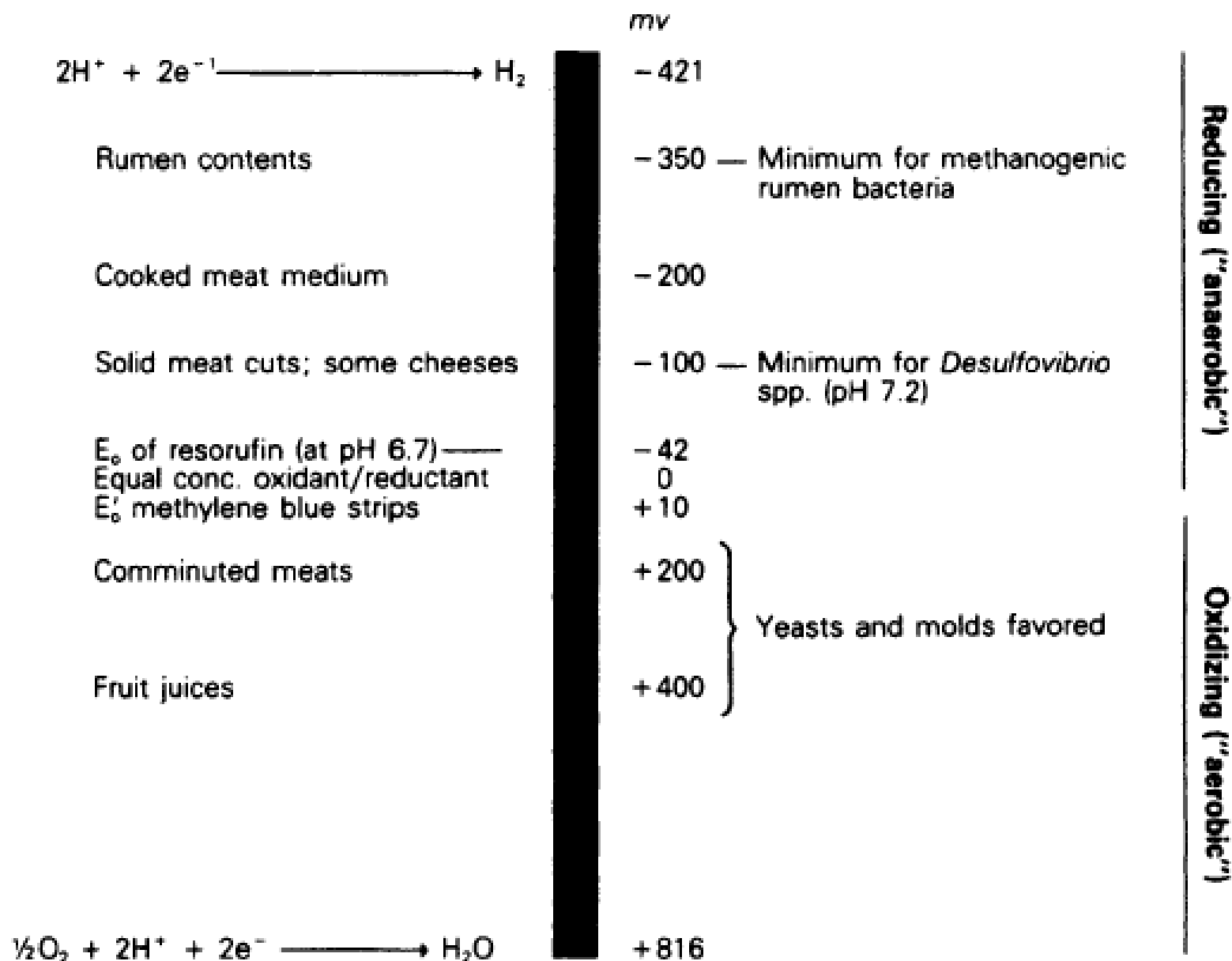
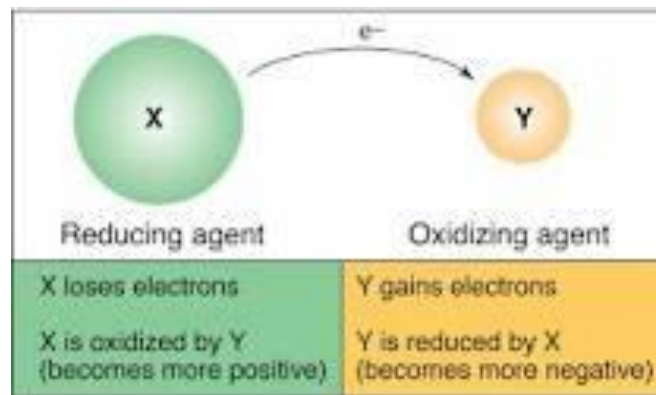


Figure 3–3 Schematic representation of oxidation-reduction potentials relative to the growth of certain microorganisms.

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

- میکروارگاناسمها جهت رشد ابتدا نیاز به منبع انرژی دارند. میکروبهای غذازاد برای این منظور عموماً از قندها، الکلها و آمینواسیدها استفاده می نمایند.
- عده ای قادر به مصرف ترکیبات کمپلکس مانند نشاسته، گلیکوژن و سلولز به عنوان منبع انرژی می باشند و برخی نیز از چربی ها استفاده می کنند که البته تعداد این گروه بسیار کم است.
- اسیدهای آمینه و پروتئین ها مهمترین منابع ازت دار برای استفاده میکروبهاست. تعدادی از ترکیبات نیتروژن دار مانند نوکلئوتیدها و اسیدهای آمینه آزاد نیز توسط برخی از میکروارگاناسمها مصرف می شوند.

- بطور کلی تقریباً همه میکروارگانسیم‌ها قبل از اینکه ترکیبات پیچیده‌ای از قبیل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها با وزن مولکولی زیاد را مورد حمله قرار دهند ابتدا ترکیبات ساده‌تر مانند آمینو اسیدها قندهای ساده و اسیدهای چرب را مورد استفاده قرار می‌دهند.

- برخی از میکروارگانسیم‌ها 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 فراهم آورد.

- 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 میخک
- آلیسین Allicin ← در سیر
- سینامیک آلدئید Cinnamic aldehydes و اوژنول ← در دارچین،
- آلیل ایزوتیوسیانات Allyl isothiocyanate ← 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 Lactoferrin کانگلوتنین Conglutinin و سیستم لاکتوپراکسیداز Lactoperoxidase.
- شیر خام به طوری که گزارش شده است دارای مهار کننده رشد روترو ویروس ها نیز هست. این ترکیب به وسیله پاستوریزاسیون از بین می رود.
- کازئین شیر و بعضی از اسیدهای چرب آزاد تحت شرایط خاصی دارای خواص ضد میکروبی می باشند.
- لیزوزیم یکی دیگر از ترکیبات ضد میکروبی شیر است.

یک آنزیم پلی ساکاریداز است که پیوند β - ۱، ۴ بین N - استیل گلوکز آمین و N - استیل مورامیک اسید موجود در لایه پتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت را می شکند.

سیستم لاکتوپراکسیداز (LPS)

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

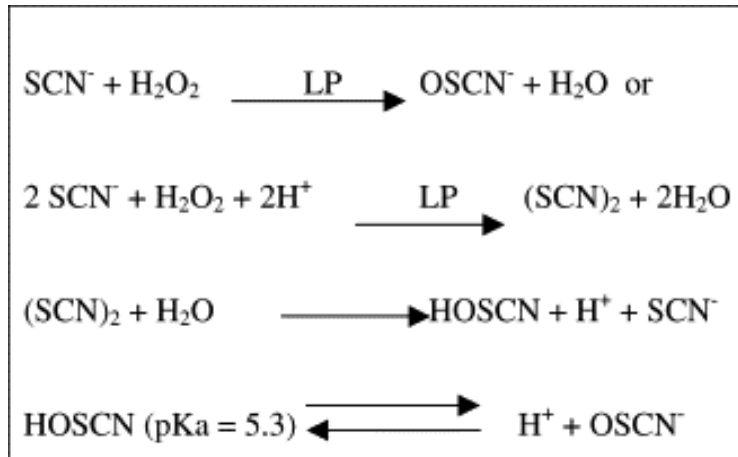


Figure 1. Lactoperoxidase- catalysed thiocyanate oxidation reactions (Thom as 1985) SCN⁻ -- thiocyanate ion; OSCN⁻ --hypothiocyanate ion; HOSCN -hypothiocyanic acid

- **تخم مرغ** نیز حاوی ترکیبات ضد میکروبی مانند لیزوزیم، کن آلبومین (مهارکننده یون آهن)، آویدین (مهارکننده بیوتین)، فلاووپروتئین (مهارکننده ریپوفلاوین) و اواینهیبیتور (مهارکننده پروتئازهای میکروبی، تریپسین) می باشند.

- مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید (P- کوماریک، فرولیک، کافیک 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 محافظ 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، پوست و چرم حیوانات و پوسته خارجی تخم‌مرغ را نام برد.
- بطور کلی شکستن و ترک خوردن پوسته‌ها و غشاهای موجود بر روی انواع مواد غذایی سبب می‌شود تا انواع میکروارگانیسم‌ها از آنها استفاده نمود و فاسد نمایند.

عوامل خارجی مؤثر بر رشد میکروارگانیسم‌ها

- 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 عوامل عبارتند از:

- درجه حرارت انبار

- رطوبت نسبی محیط،

- حضور گازهای مختلف و غلظت آنها در اتمسفر انبار

- حضور و فعالیت دیگر میکروارگانیسم‌ها

۱- درجه حرارت

- دامنه حرارتي مناسب براي فعاليت ميكروارگانيسمها بسيار گسترده است **پائين ترين درجه حرارتي** كه تا كنون براي فعاليت ميكروارگانيسمها گزارش شده است حدود ۳۴- درجه سانتیگراد و **بالا ترين دمائي** رشد گزارش شده كمی بالاتر از ۱۰۰ درجه سانتیگراد است. به طور معمول ميكروارگانيسمها را بر اساس نياز مندي هاي حرارتي شان براي رشد به ۳ گروه اصلي تقسيم مي شوند:

Psychrophiles

- - سايكروفيل ها (سرما دوست ها)

Mesophiles

- - مزوفيل ها (ميانه دوست ها)

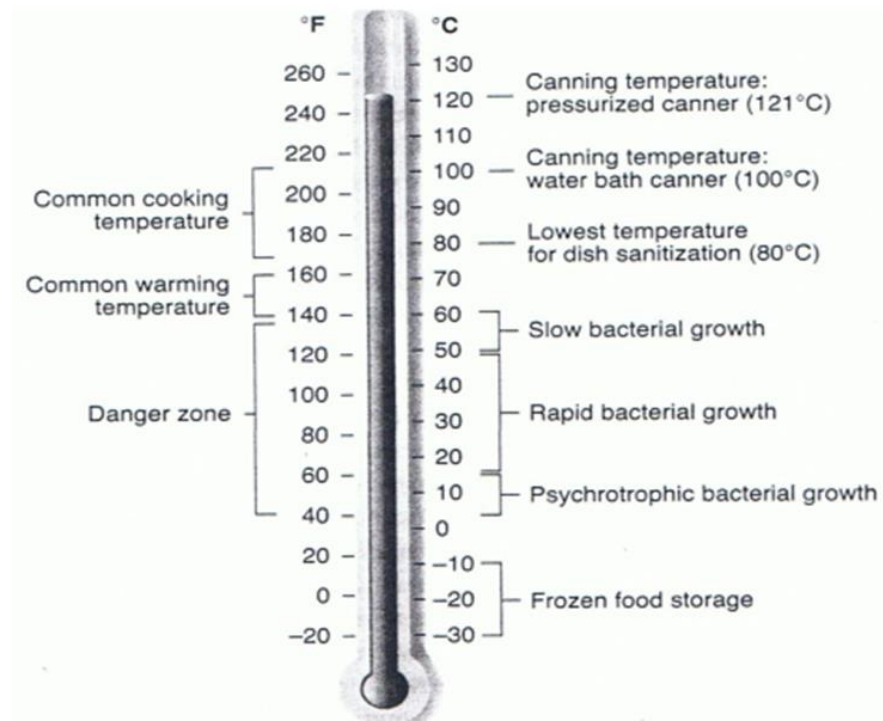
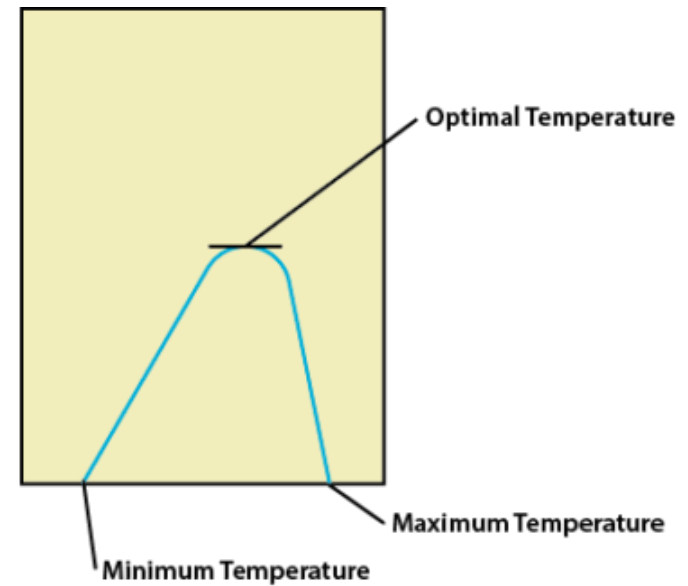
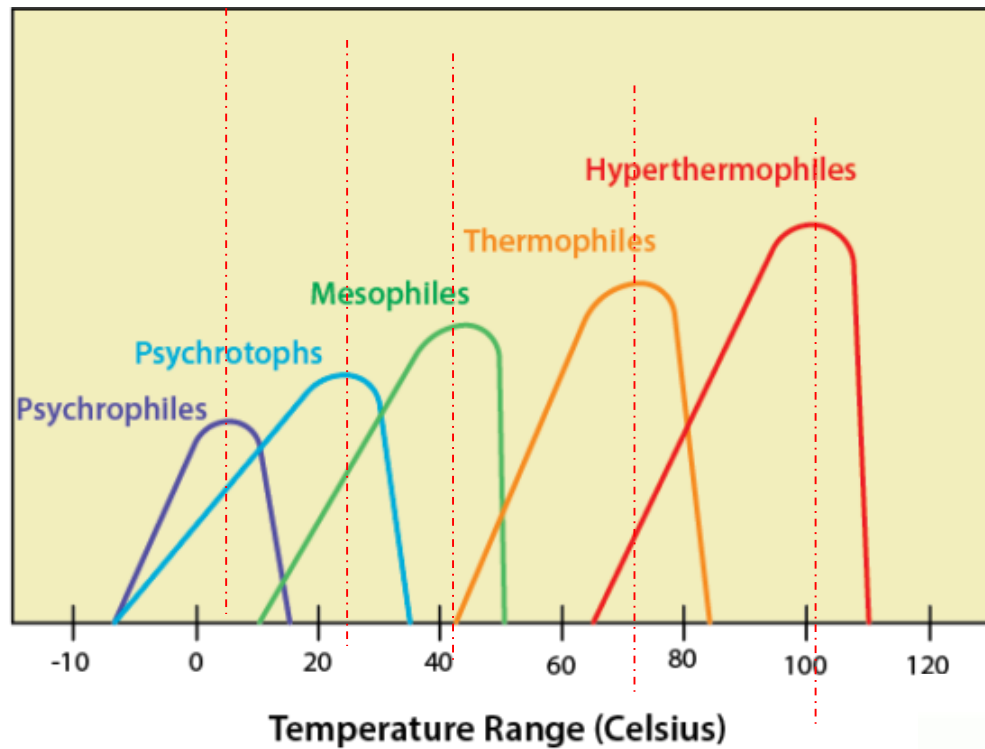
Thermophiles

- - ترموفيل ها (گرما دوست ها)

- **سايكروفيل ها** باكتري هايي كه بين ۰ تا ۲۰ درجه سانتیگراد **رشد** مي كنند و درجه حرارت ايتيم رشد آنها ۱۰ تا ۱۵ درجه است.
- **مزوفيل ها** باكتري هايي كه بين ۲۰ تا ۴۵ بخوبي رشد مي كنند و معمولاً ايتيم رشدشان ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتیگراد است. اكثر باكتري هاي شناخته شده در مواد غذايي داراي گونه ها يا نژادهاي مزوفيليك مي باشند
- اما باكتري هايي كه بالاي ۴۵ درجه سانتیگراد رشد مي كنند و ايتيم رشدشان بين ۵۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد است **ترموفيل** خوانده مي شوند.

- علاوه بر گروه‌های ذکر شده، زیر گروه‌های سایکروتروف و ترومودوریک‌ها می‌باشند.
- **سایکروتروف Psychrotroph** اصطلاحی است که حدود سال‌های ۱۹۶۰ پیشنهاد گردید. در حالی که سایکروفیل از سال ۱۹۰۲ معمول شده است.
- سایکروتروف اصطلاحی است که توسط میکروبیولوژیست‌های غذایی پذیرفته شده و به میکروارگانیسم‌هایی اطلاق می‌شود که در دمای ۰ تا ۷ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کنند و در طول ۷ تا ۱۰ روز بر روی محیط‌های جامد ایجاد کلنی‌های قابل مشاهده می‌نمایند (یا در محیط‌های مایع تولید کدورت می‌نمایند)
- چون دمای ایتیمم رشد این باکتری‌ها ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است و بعضی از آنها در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد هم قادر به رشدند لذا این گروه از باکتری‌ها در حقیقت از مزوفیل‌ها می‌باشند.

Rate of Microbe Growth



سایکروتروف ها

- با این تعاریف انتظار می رود **سایکروفیل ها** را تنها بر روی فرآورده های دریایی یا مناطق سرد یافت
- ولی میکروب هایی که باعث فساد گوشت ها ماکیان و سبزیجات در دمای یخچال (۵-
۰ درجه سانتی گراد) می شوند از **سایکروتروف ها** می باشند.
- پلیت کانت سایکروتروف ها به مدت ۷ روز در دمای ۷ درجه سانتی گراد بیشتر از
تعداد آنها در دمای ۳۰ یا بیشتر است.
- از جمله باکتری های سرمادوست سودوموناس ها، انتروباکتر، ویبریو، شوانلا،
میکروکوکوس، لیستریا، اسینتوباکتر، سایکروباکتر، فلاوباکتروویوم، آلترموناس،
ائروموناس

فرق ترمودویک‌ها و ترموفیل‌ها

- **ترمودویک‌ها Thermoduric** 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 باسیلوس‌ها و کلستریدیوم ها است اگر چه تنها تعداد کمی از آنها ترموفیل هستند اما دارای اهمیت خاص در **صنعت کنسرو سازی** می‌باشند.

كِيك‌ها

- كِيك‌ها از نظر دمایی نیز در محدوده وسیع‌تری نسبت به باکتری‌ها قادر به رشد و تکثیرند.
- بسیاری از كِيك‌ها قادرند در دماهای یخچالی نیز رشد کنند مانند گونه‌هایی از *Thamendium* و *Cladosporium, Aspergillus* که ممکن است بر روی تخم‌مرغ، گوشت‌های گوساله و میوه‌جات آنها را یافت.
- مخمرها در دماهای مزوفیلیک و سایکروتروفیک 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 يك محصول مثلاً حدود 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 میکروارگانیسم‌هاست.
- باید دقت شود تا غذاهایی که بیشتر دچار 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 پدید 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 (خشك) 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 روشن 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 آنها 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 حلالیت 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 فلور میکروبی آنهاست.
- در نتیجه این امر فلور میکروبی 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 بر روی 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 بازدارندگی یا کشندگی داشته باشد از جمله آنها، **آنتی‌بیوتیک‌ها**، **باکتریوسین‌ها**، **هیدروژن پراکسید**، **اسیدهای آلی و دی‌استیل** است.
- دو پدیده مهم در این خصوص **Interference** و **آنتاگونیسم لاکتیکی** 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 يك بررسی مشخص شد فلور طبیعی نوعی کلوچه گوشتی منجمد که با سلول‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشیرشیا کلای و سالمونلاتیفی 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.

– درحالت Interference :

• اولاً مجموعه میکروارگانیسم‌هایی که اثر بازدارندگی دارند بیشتر از تعداد آنهایی است که از فعالیت‌شان جلوگیری می‌شود.

• ثانیاً مجموعه باکتری‌های شرکت کننده معمولاً هم‌وزن نیستند و نقش‌های خاصی که هر يك 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.

Lactic Antagonism آنتاگونیسم لاکتیکی

- 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 يك **باکتری اسیدلاکتیکی** اعمال شده و سبب مهار رشد یا کشندگی ارگانیسم‌های 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، باکتریوسین‌ها و یا عواملی شبیه باکتریوسین‌ها.**
- باکتریوسین نایسین **Nisin** بهترین نمونه شناخته شده و مطالعه شده است که توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک تولید می‌شود.

- پروپیونی باکتریوم فرودنروچی *Propionibacterium freudenreichii* sp. *Shermani* زیر گونه شرمانی وقتی 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 مهارکنندگی 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)

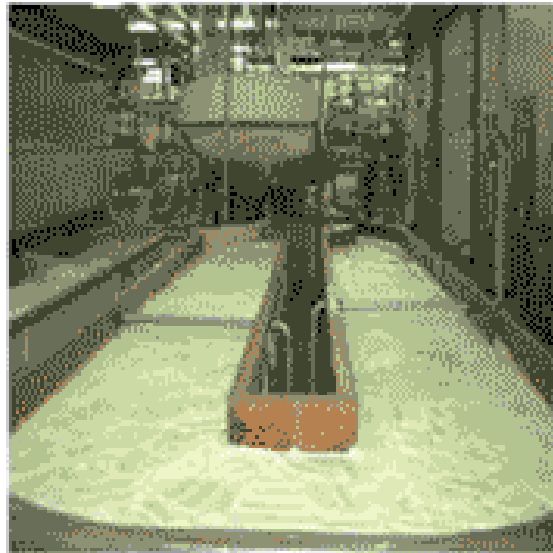
- (۲) ایجاد اثرات مفیدی در محصول نماید

- (۳) اثرات منفی بروی خواص حسی نداشته باشد

- (۴) در شرایط نا مطلوب به عنوان یک اندیکاتور عمل نماید.

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

- تنوع نژادهایی که تولیدکننده باکتریوسین در بین گونه های اسیدلاکتیک باکتری هاست به طور گسترده ای متفاوت است در یک بررسی بروی 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.

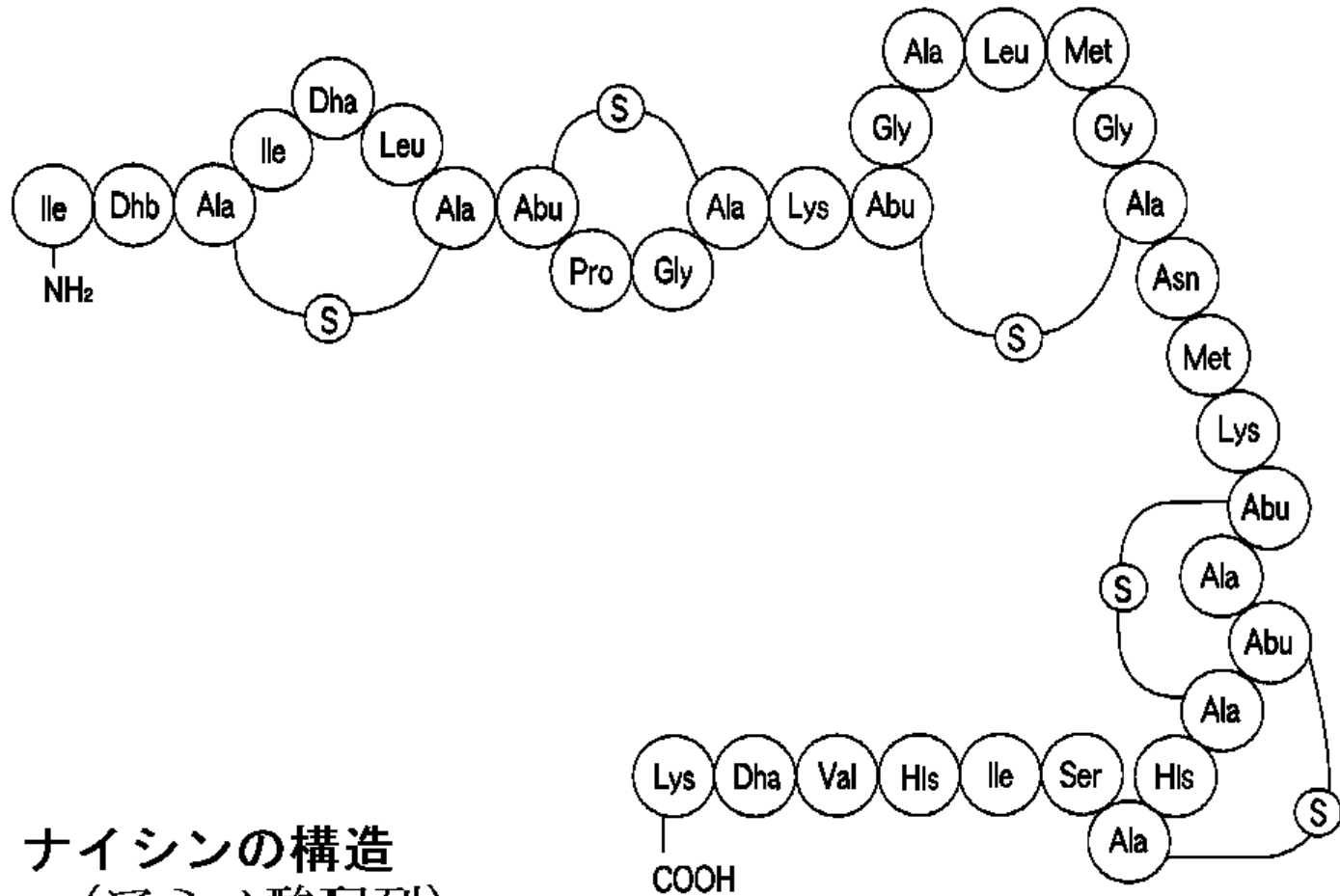
Nisin

- 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 .



ナイスンの構造 (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 جمعیت 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. آنهایی که بالاترین ضریب رشد ویژه را دارند احتمالاً در طول زمان غالب خواهند شد. این البته به شرایط حاکم بستگی دارد.
- بسیاری از کیک ها 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 کاهش pH یا a_w مهار می شوند، کیک ها نقش مهمی در فساد دارند.
- از طرف دیگر، دو موجود زنده ممکن است حداکثر نرخ رشد ویژه مشابهی داشته باشند اما از نظر تمایل به سوپسترای محدود کننده رشد (K_s) متفاوت باشند. اگر مقدار آن سوپسترا 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 ضمنی

- 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 ضد میکروبی از بین می روند و اغلب هر چه سرعت رشد آنها سریعتر باشد، راحتتر کشته می شوند.
- این به طور شهودی منطقی است برای مثال عواقب تصادف مربوط به ماشینی که با سرعت بیشتری می راند همیشه جدی تر از ماشینی است در آن زمان کندتر حرکت کند.
- در سرعت های رشد بالاتر، جایی که فعالیت سلولی بیشتر و متعادل تر است، آسیب ناشی از یک ضربه خفیف به سیستم شدیدتر از همان اختلال در سلول هایی است که خیلی آهسته رشد می کنند یا اصلاً رشد نمی کنند.
- مکانیسم دقیق عاملی که منجر به مرگ سلولی می شود، تقریباً همیشه بسیار پیچیده است.
- یکی از تئوری های ارائه شده در این خصوص این است که آسیب کشنده عمدتاً در نتیجه یک انفجار اکسیداتیو 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 ارگانیسم-های تک سلولی است.
- در این سیستم بسیاری از باکتری‌ها قادر به تولید، ترشح و شناسایی مولکول‌های کوچک پیام رسان (القائه کننده‌های خود به خودی) 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 سیستم LuxS وجود دارد.
- در سیستم LuxI/LuxR که اکثراً در باکتری‌های گرم منفی مورد استفاده قرار می‌گیرد، آسیل هموسرین لاکتون به عنوان مولکول‌های کوچک پیام رسان نقش ایفا می‌کند
- که توسط آسیل هموسرین لاکتون سنتتاز (پروتئین LuxI) تولید می‌شود و پروتئین LuxR نیز به عنوان گیرنده این مولکول‌ها نقش دارد.

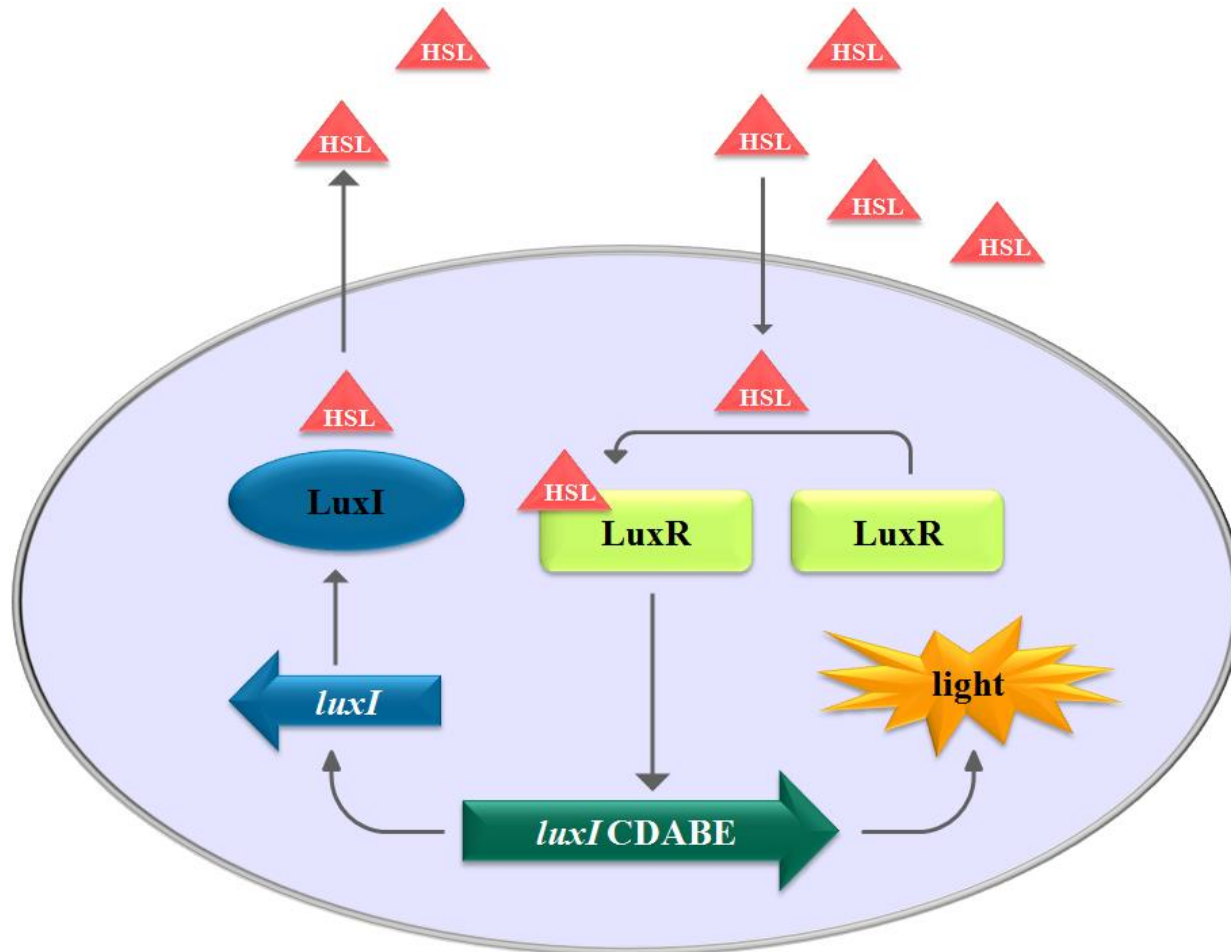
ادراک حد نصاب یا Quorum Sensing

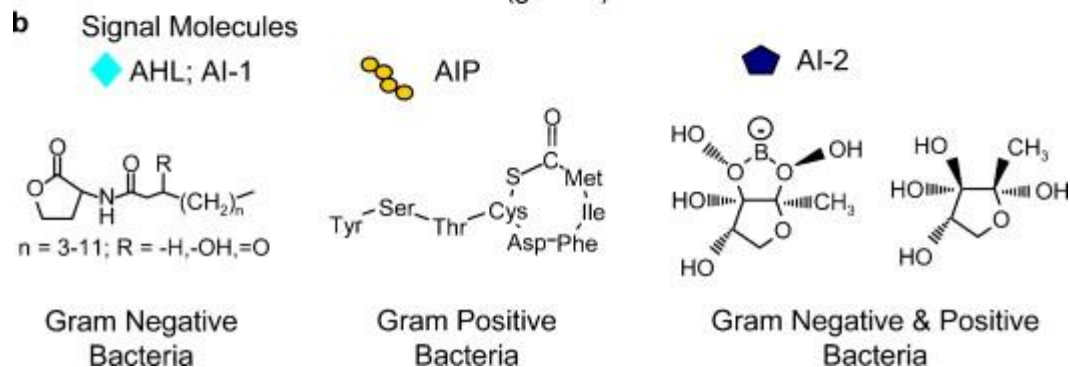
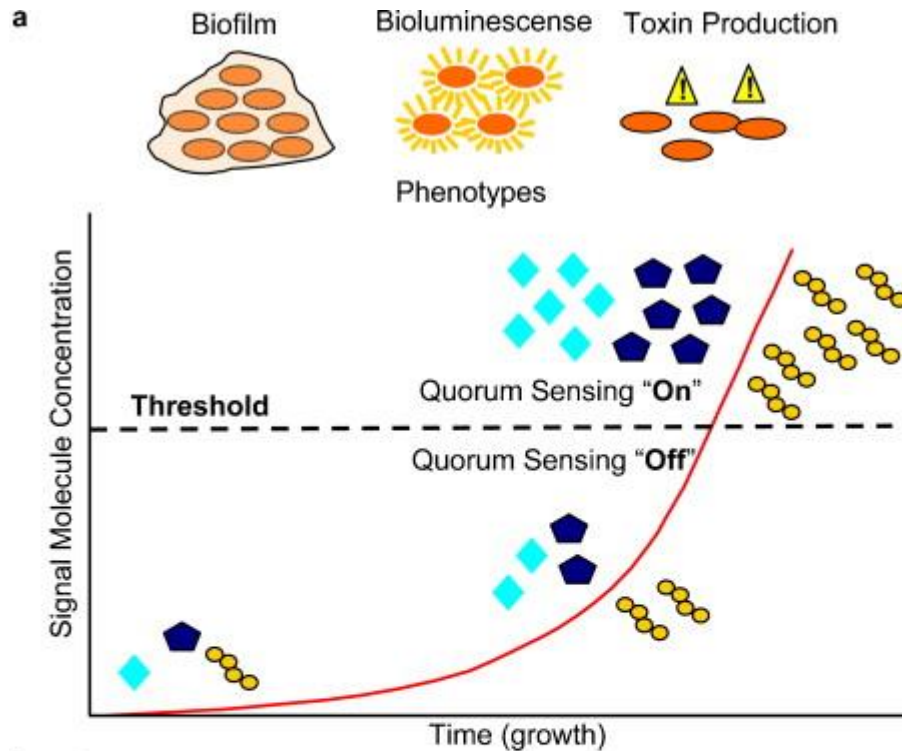
- کمپلکس آسیل هموسرین لاکتون و پروتئین LuxR باعث شروع رونویسی ژن‌های مربوط به تشکیل بیوفیلم، تولید اسپور، سنتز توکسین‌های خارج سلولی و فاکتورهای بیماری‌زا مثل آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی می‌شود.
- هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی، میکروآنروفیل، پاتوژن گاستریک و میله‌ای خمیده که در مخاط معده مستقر است (اسکرایبر و همکاران ۲۰۰۴).
- هلیکوباکتر پیلوری دارای القاء کننده‌های خود به خودی ۲ (AI-2) است که تولید AI-2 به فعالیت پروتئین LuxS بستگی دارد.
- به طوری که طی یک سری واکنش‌های آنزیمی از S-آدنوزیل متیونین (SAM)، یک گروه متیل و بعلاوه S-ریبوزیل هموسیستئین (SRH) حاصل می‌شود
- پروتئین LuxS باعث شکسته شدن SRH و تولید ۴ و ۵ دی هیدروکسی ۲ و ۳ پنتادی ان می‌شود و در نهایت، در اثر دهیدراسیون و حلقوی شدن ۴ و ۵ دی هیدروکسی ۲ و ۳ پنتادی ان مولکول‌های AI-2 حاصل می‌شود
- در چندین مطالعه نشان داده شده که سیستم LuxS در هلیکوباکتر پیلوری باعث افزایش تولید فلاژل، افزایش تحرک و کلونیزاسیون می‌شود.
- باکتری‌های گرم مثبت سیگنال‌هایی از جنس پیتیدها تولید می‌کنند و به AIP معروف هستند.

ادراک حد نصاب یا Quorum Sensing

- باتوجه 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، اسانس و عصاره‌های گیاهی و آنزیم‌ها و ترکیبات تولیدی توسط برخی از میکروارگانیسم‌ها 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 بیماری‌زایی هلیکوباکتر پیلوری باشد.
- علاوه بر آن ترکیبات مهار کننده سیستم ادراک حد نصاب باعث نابودی یا توقف رشد پاتوژن نمی‌شوند بلکه باعث کنترل فاکتورهای بیماری‌زا و مانع گسترش سویه‌های مقاوم می‌شوند

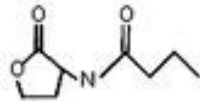
Light is produced after transcription activation of the lux operon



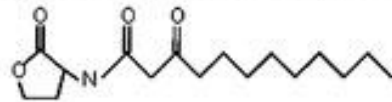


Signaling molecules are diverse

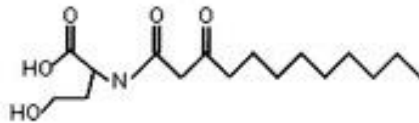
AHLs and derivatives



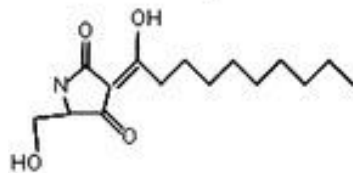
Butyryl-homoserine lactone (C4 AHL)



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



3-oxo-dodecanoyl homoserine

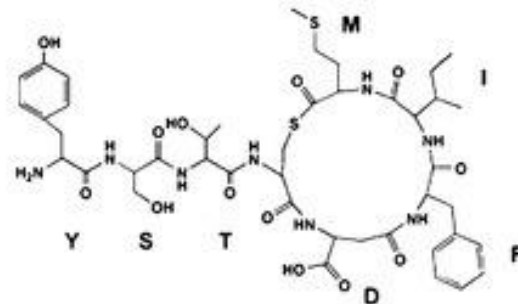


3-(1-hydroxydecylidene)-5-(2-hydroxyethyl)pyrrolidine-2,4-dione



3-OH-palmitic acid methylester

Gram-positive peptide signals



Staphylococcus aureus AIP

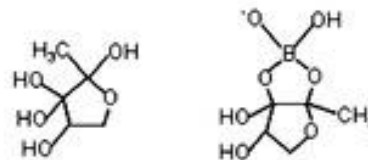
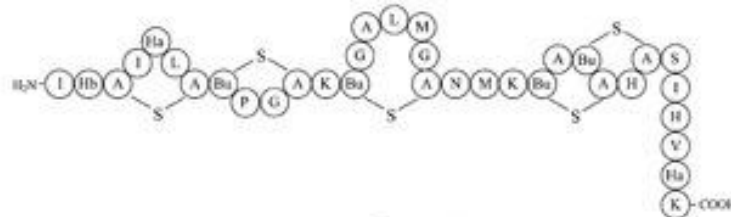
Bacillus subtilis ComX

ADDPITRQWGD

Bacillus subtilis CSF

ERGMT

Lactococcus lactis



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

Quorum-quenching

