



درسنامه میکروبیولوژی مواد غذایی ۲

دانشکده صنایع غذایی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



علیرضا صادقی



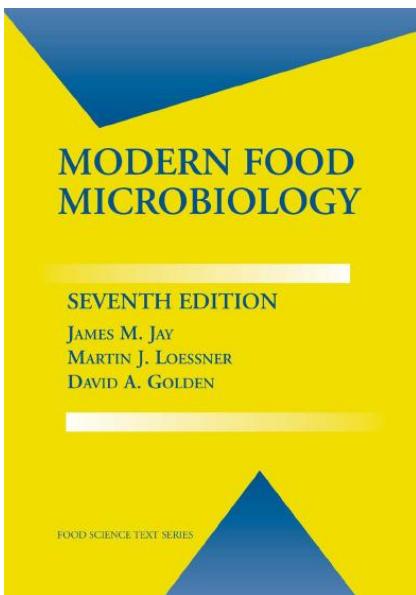
○ نوع درس و تعداد واحد

○ هدف از ارائه درس

○ سرفصل‌ها

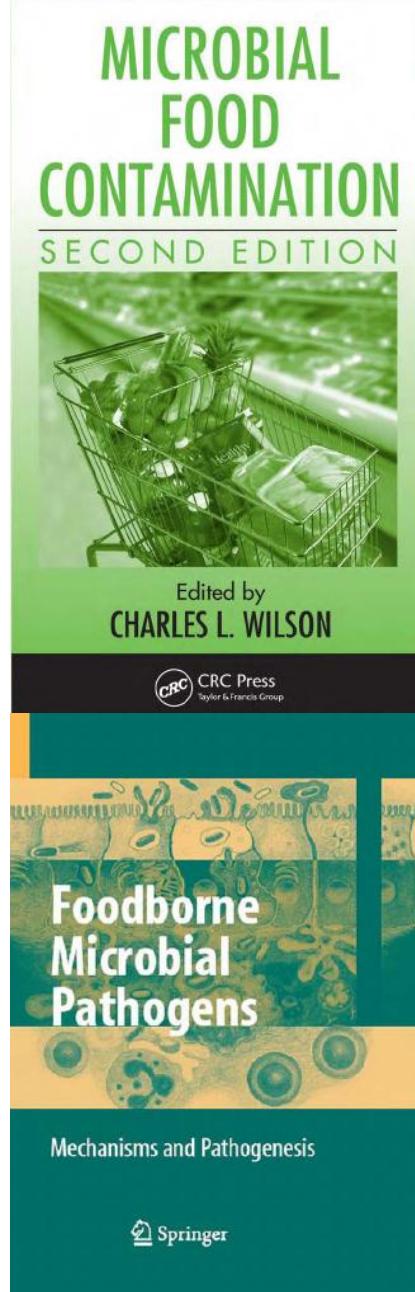
○ منابع پیشنهادی

○ نحوه ارزشیابی



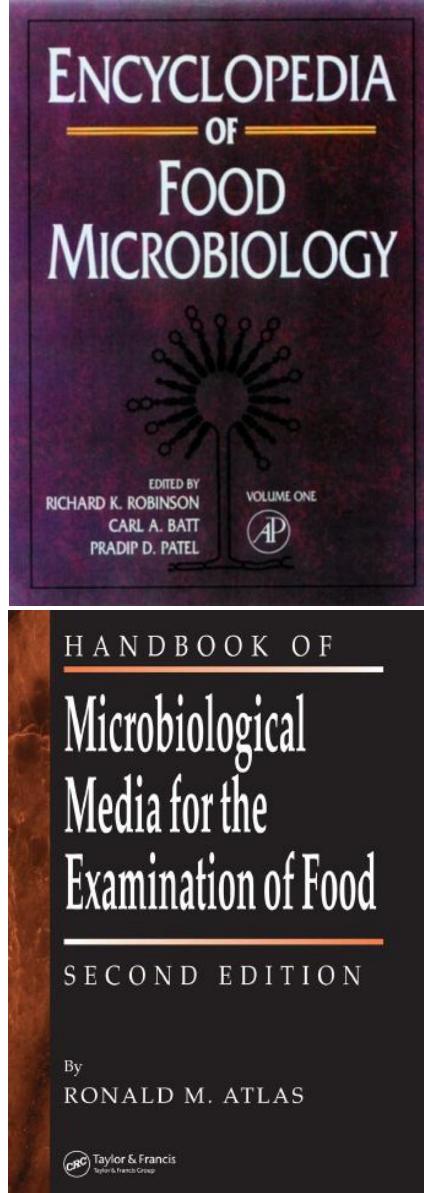
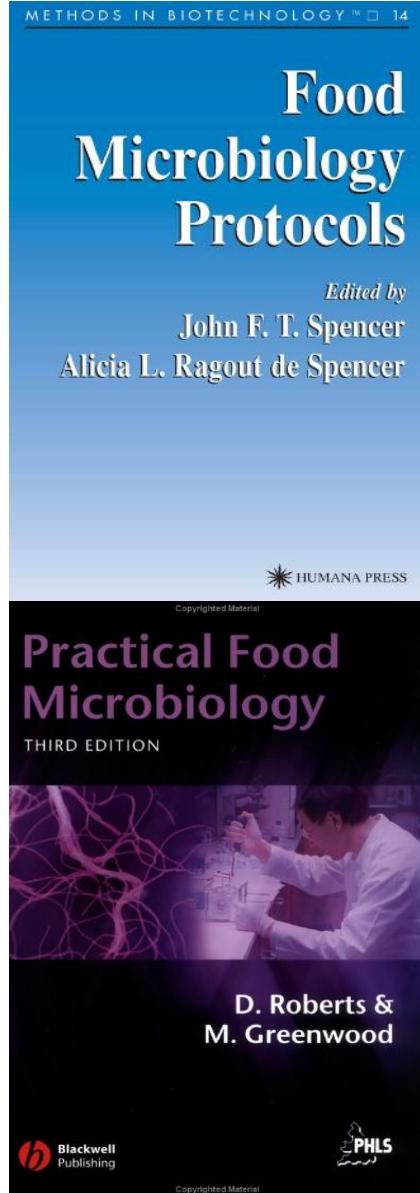
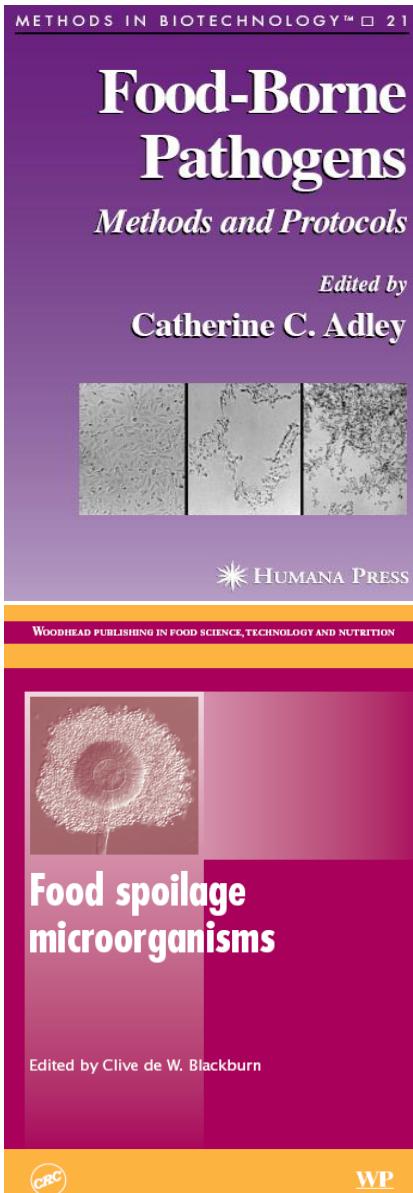
3rd Edition

Food Microbiology

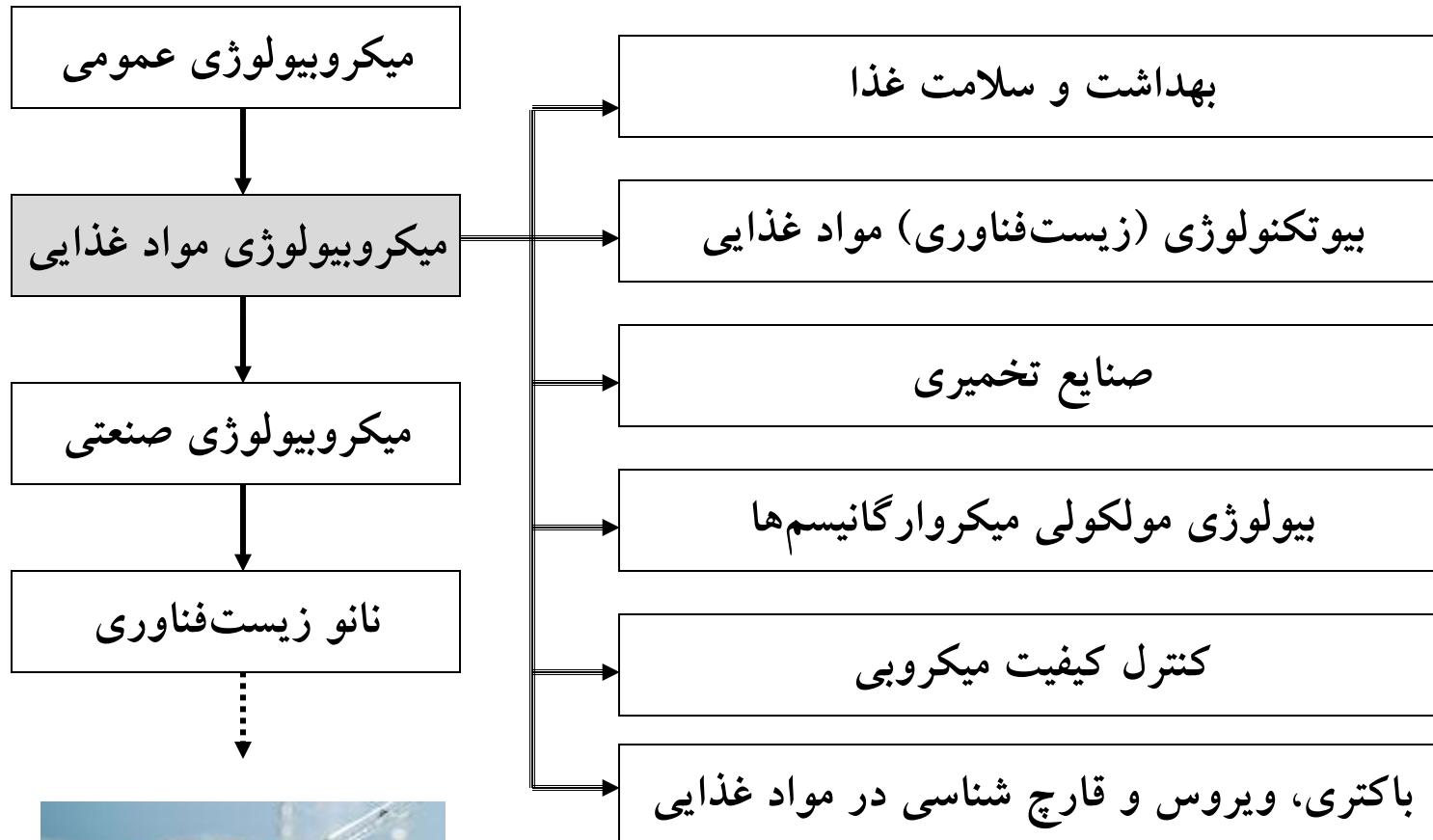


Springer

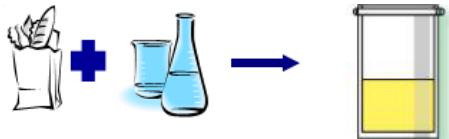
سایر مراجع پیشنهادی مرتبط با میکروبیولوژی مواد غذایی



□ جایگاه میکروبیولوژی مواد غذایی در واحدهای درسی رشته علوم و صنایع غذایی



❖ مهمترین سرفصلهای میکروب شناسی مواد غذایی



میکروبیولوژی مواد غذایی



معرفی و طبقه بندی مهمترین میکروارگانیسمها

ارزیابی عوامل موثر بر رشد و نمو میکروارگانیسمها

روشهای ردیابی و تشخیص میکروارگانیسمها

گروه های عمدۀ غذایی و میکروارگانیسمهای شاخص آنها

روشهای نگهداری مواد غذایی و تاثیر آنها بر میکروارگانیسمها

کنترل کیفیت میکروبی و سیستمهای تضمین کیفیت میکروبی

فرآورده های غذایی تخمیری و میکروارگانیسمهای مفید

میکروب شناسی گروه های عمده مواد غذایی

Fresh Meats and Poultry

Processed Meats and Seafoods

Vegetable and Fruit Products

Milk, Fermentation, and Fermented and Nonfermented Dairy Products

Nondairy Fermented Foods and Products

Miscellaneous Food Products



روشهای نگهداری مواد غذایی

مطالعه اثر فرایند (Process effect) و نحوه تاثیر (Mode of action) بر عوامل میکروبی

Food Protection with Chemicals, and by Biocontrol

Food Protection with Modified Atmospheres

Radiation Protection of Foods, and Nature of Microbial Radiation Resistance

Protection of Foods with Low-Temperatures

Food Protection with High Temperatures

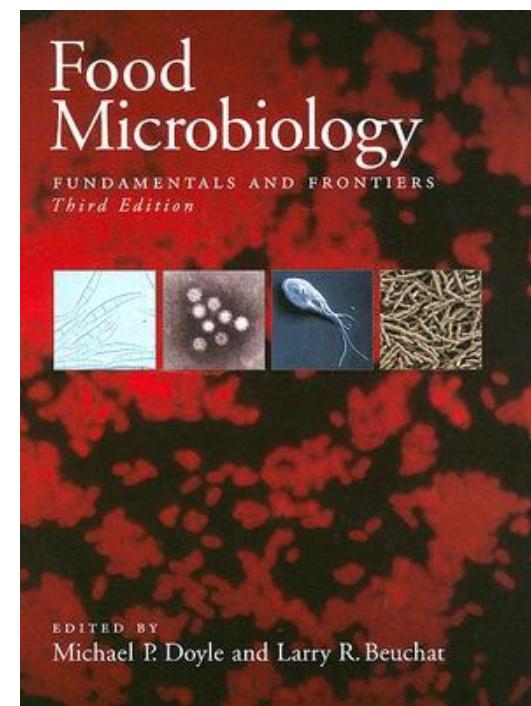
Protection of Foods by Drying

Other Food Protection Methods

Foodborne Animal Parasites

Foodborne Fungi and Mycotoxins

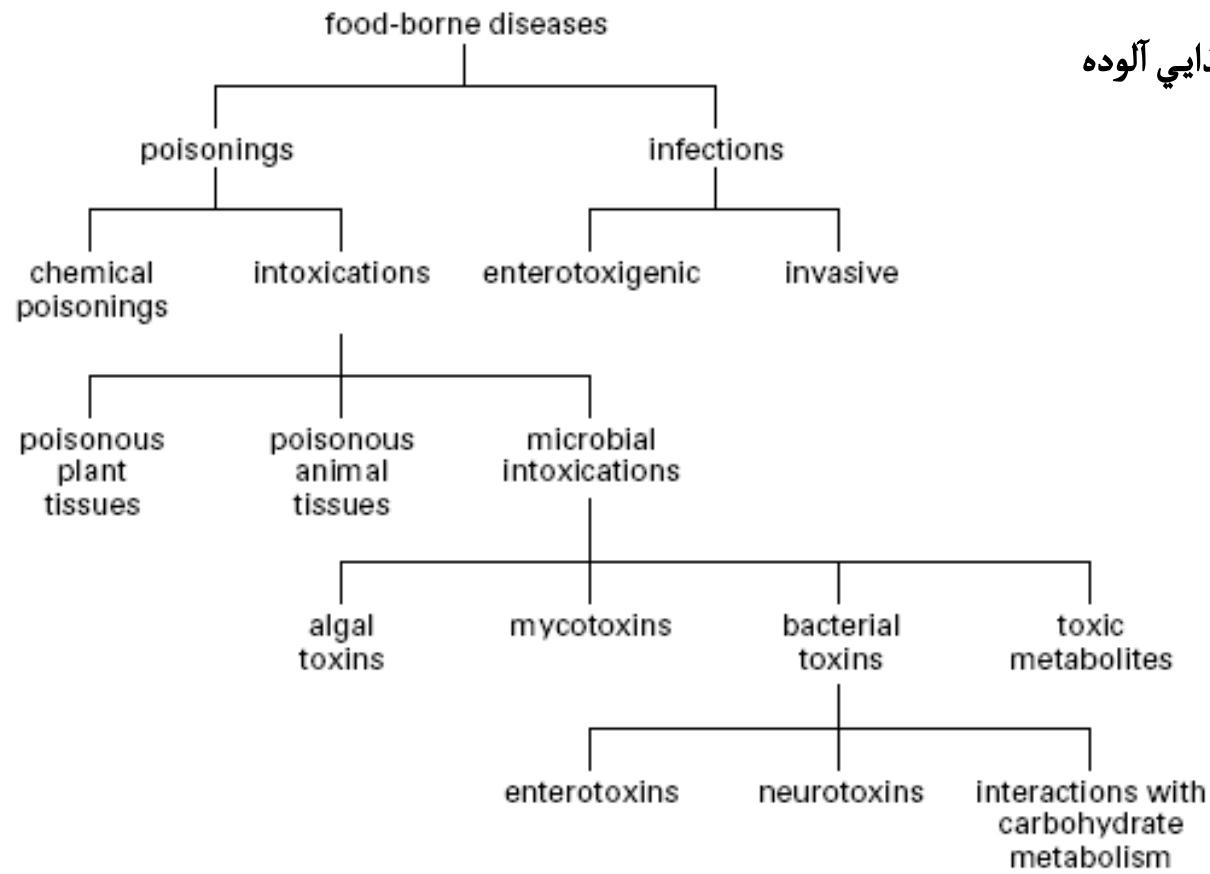
Viruses and Some other Foodborne Biohazards



□ مروی بر مهم‌ترین روش‌های نگهداری مواد غذایی (Food preservation methods)

<i>Procedure</i>	<i>Factor influencing growth or survival</i>
Cooling, chill distribution and storage	Low temperature to retard growth
Freezing, frozen distribution and storage	Low temperature and reduction of water activity to prevent growth
Drying, curing and conserving	Reduction in water activity sufficient to delay or prevent growth
Vacuum and oxygen-free 'modified atmosphere' packaging	Low oxygen tension to inhibit strict aerobes and delay growth of facultative anaerobes
Carbon dioxide-enriched 'modified atmosphere' packaging	Specific inhibition of some micro-organisms by carbon dioxide
Addition of acids	Reduction of pH value and sometimes additional inhibition by the particular acid
Lactic fermentation	Reduction of pH value <i>in situ</i> by microbial action and sometimes additional inhibition by the lactic and acetic acids formed and by other microbial products, e.g. ethanol, bacteriocins
Emulsification	Compartmentalization and nutrient limitation within the aqueous droplets in water-in-oil emulsion foods
Addition of preservatives	Inhibition of specific groups of micro-organisms
Pasteurization and appertization	Delivery of heat sufficient to inactivate target micro-organisms to the desired extent
Radurization, radicidation and radappertization	Delivery of ionizing radiation at a dose sufficient to inactivate target micro-organisms to the desired extent
Application of high hydrostatic pressure Pascalization	Pressure-inactivation of vegetative bacteria, yeasts and moulds

□ بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده



□ مروری بر مهم‌ترین عوامل میکروبی بیماری‌زا یا موLD فساد در گروه‌های مختلف مواد غذایی

FOOD	PATHOGENS	
	Infective	Toxin and/or spore producers
Meat, poultry and eggs	<i>Salmonella</i> spp. <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Trichinella spiralis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i>
Fin fish	<i>Salmonella</i> spp. <i>Vibrio</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> Hepatitis A virus	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium botulinum</i> Microbial by-products (Histamine poisoning)
Shellfish	<i>Salmonella</i> spp. <i>Vibrio</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Shigella</i> spp. Hepatitis A virus Norovirus	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium botulinum</i> Microbial by-products (Paralytic shellfish poisoning)
Fruits and vegetables	<i>Salmonella</i> spp. <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Shigella</i> spp. Hepatitis A virus Norovirus <i>Giardia lamblia</i>	<i>Clostridium botulinum</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i>
Cereal, grains, legumes and nuts	<i>Salmonella</i> spp. Aflatoxins (mold) Hepatitis A virus Norovirus	<i>Clostridium botulinum</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i>
Spices	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Clostridium botulinum</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Milk and dairy products	<i>Salmonella</i> spp. <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

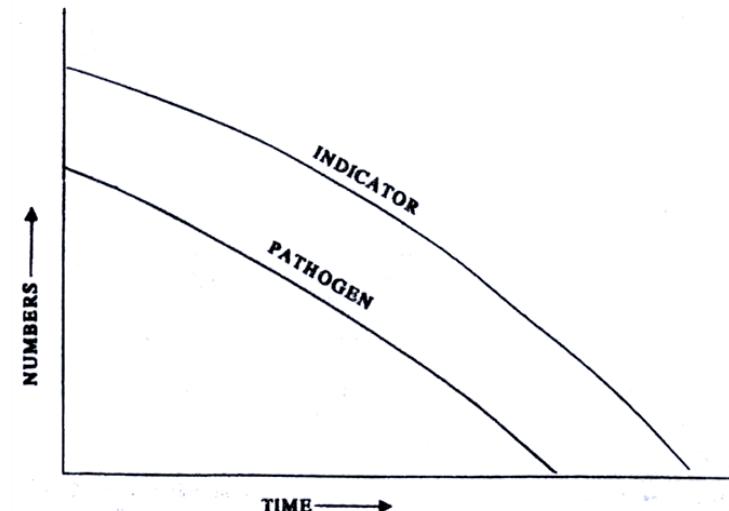


□ میکروارگانیسم‌های شاخص و مخاطرات ناشی از عوامل میکروبی در مواد غذایی

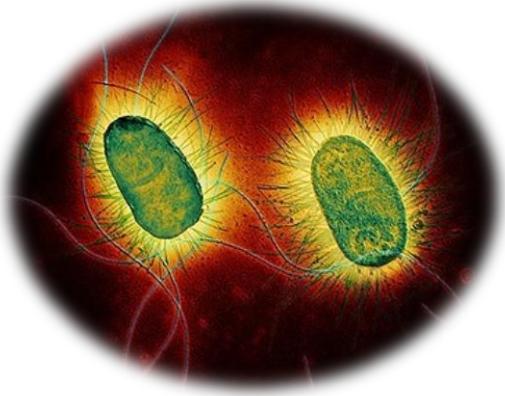
○ ویژگی‌های میکروارگانیسم‌های شاخص

1. They should be present and detectable in all foods whose quality (or lack thereof) is to be assessed.
2. Their growth and numbers should have a direct negative correlation with product quality.
3. They should be easily detected and enumerated and be clearly distinguishable from other organisms.
4. They should be enumerable in a short period of time, ideally within a working day.
5. Their growth should not be affected adversely by other components of the food microbiota.

Organisms	Products
<i>Acetobacter</i> spp.	Fresh cider
<i>Bacillus</i> spp.	Bread dough
<i>Byssochlamys</i> spp.	Canned fruits
<i>Clostridium</i> spp.	Hard cheeses
Flat-sour spores	Canned vegetables
<i>Geotrichum</i> spp.	Fruit cannery sanitation
Lactic acid bacteria	Beers, wines
<i>Lactococcus lactis</i>	Raw milk (refrigerated)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Sugar (during refinery)
<i>Pectinatus cerevisiiphilus</i>	Beers
" <i>Pseudomonas putrefaciens</i> "	Butter
Yeasts	Fruit juice concentrates
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Mayonnaise, salad dressing



□ مخاطرات ناشی از باکتری‌های شاخص در میکروب‌شناسی مواد غذایی



Staphylococcal Gastroenteritis

Staphylococcus aureus

Food Poisoning Caused by Gram-Positive Sporeforming Bacteria

Botulism (*Clostridium botulinum*)

Bacillus cereus Gastroenteritis

Foodborne Listeriosis

Listeria monocytogenes

Foodborne Gastroenteritis Caused by Salmonella and Shigella

Salmonellosis (*S. typhimurium*, *S. enteritidis*)

Shigellosis (*S. flexneri*)

Foodborne Gastroenteritis Caused by *Escherichia coli*

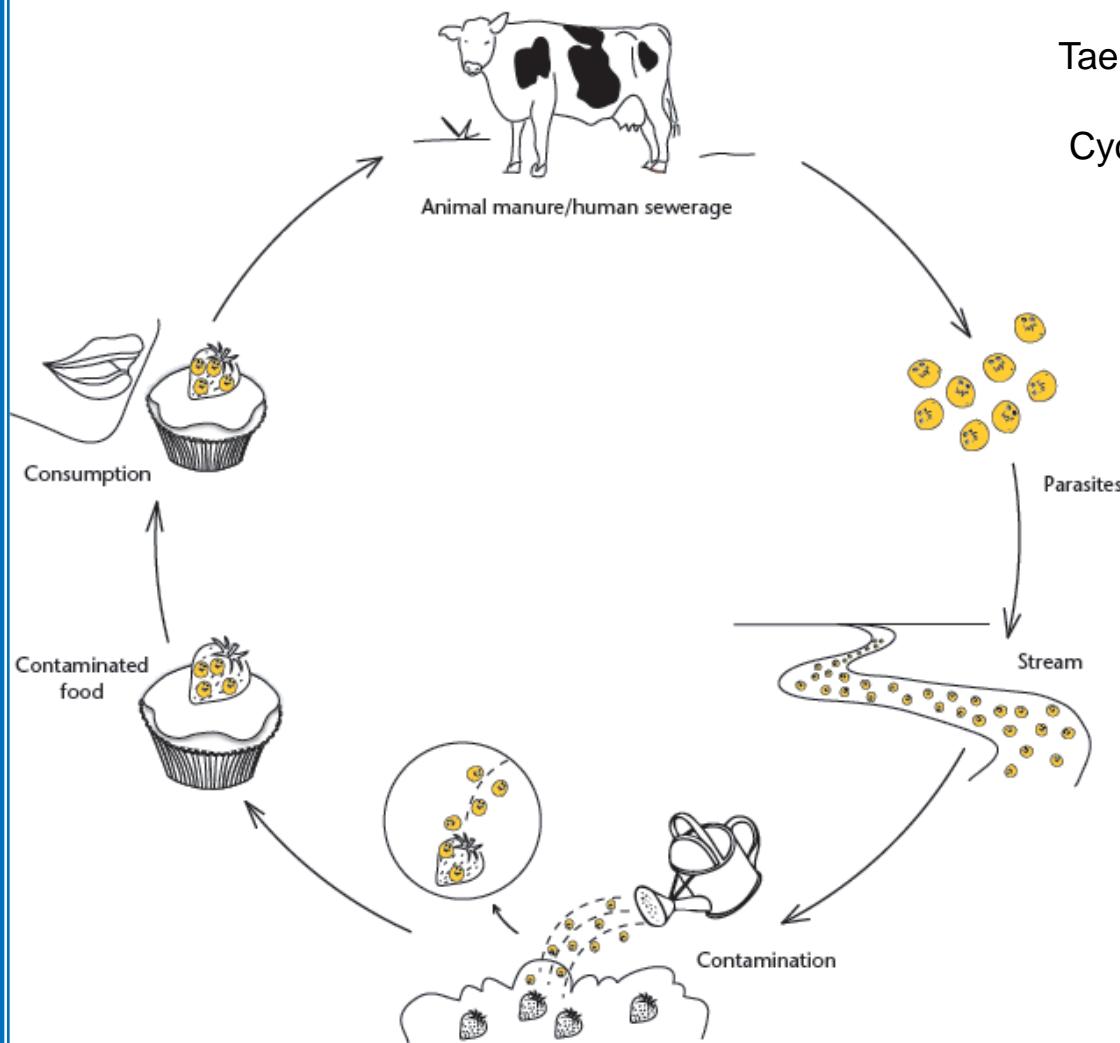
Foodborne Gastroenteritis Caused by Vibrio, Yersinia, and Campylobacter Species

Vibrio parahaemolyticus

Yersinia enterocolitica

Campylobacter jejuni

□ انگل‌ها و بیماری‌های ناشی از آنها



Cryptosporidiosis (*Cryptosporidium parvum*)

Taeniasis (*Taenia saginata*, *Taenia solium*)

Cyclosporiasis (*Cyclospora cayetanensis*)

Amebiasis (*Entamoeba histolytica*)

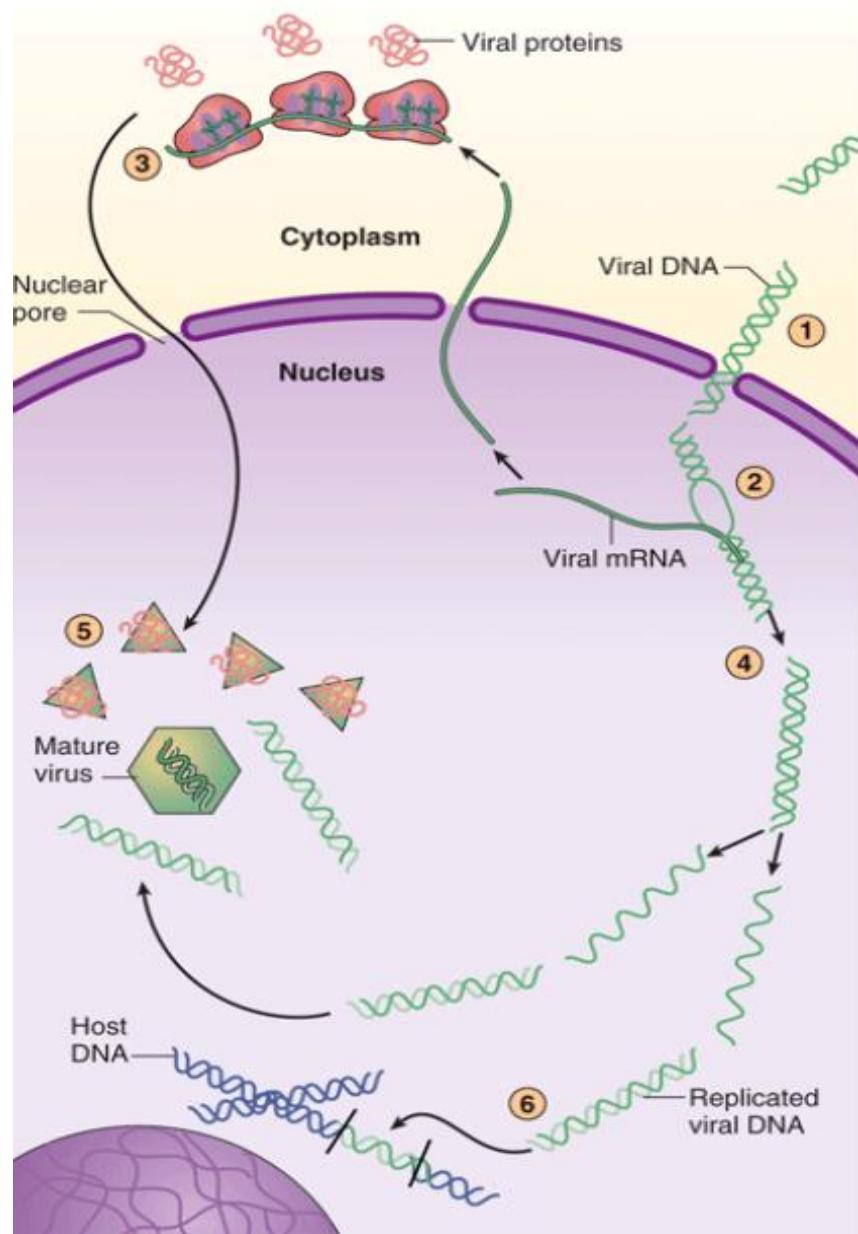
Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*)

Fascioliasis (*Fasciola hepatica*)

Trichinosis (*Trichinella spiralis*)

Giardiasis (*Giardia lamblia*)

ویروس‌ها



Coliphages/Enteroviruses

Hepatitis A Virus

Noroviruses

Rotaviruses

Polioviruses

سوم قارچی و سایر میکروارگانیسم‌ها



Aflatoxins (*Aspergillus flavus*)

Zearalenone (*Fusarium spp.*)

Ochratoxins (storage fungi)

Patulin (penicillia, aspergilli, *Byssochlamys*)

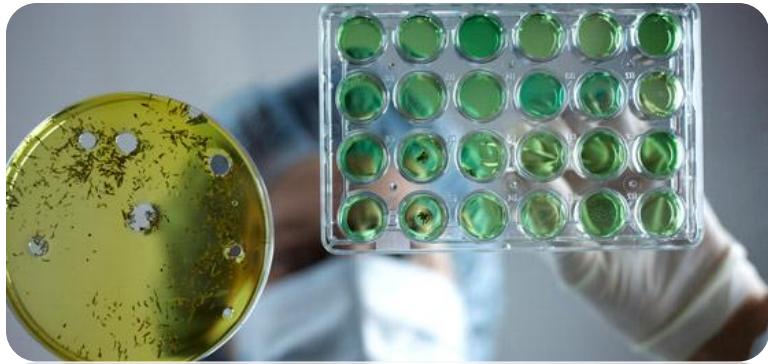
Sterigmatocystin (aspergilli)

Toxigenic Phytoplankton

Paralytic Shellfish Poisoning

Ciguatera Poisoning

Gambierdiscus toxicus

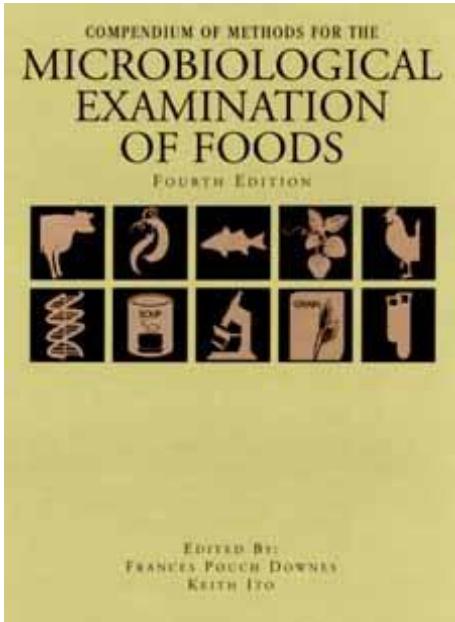


متابولیت‌های میکروبی شاخص



Histamine-Associated (Scombroid) Poisoning

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



□ تکنیکهای مرسوم در میکروب شناسی مواد غذایی
○ آزمون‌های مبتنی بر کشت (Culture Dependent Methods)

○ آزمون‌های مستقل از کشت (Culture Independent Methods)

○ ترکیب آزمون‌های وابسته و مستقل از کشت

جایگاه و خصوصیات آزمون‌های وابسته و مستقل از کشت در میکروب‌شناسی مواد غذایی

سرعت

حساسیت تشخیص

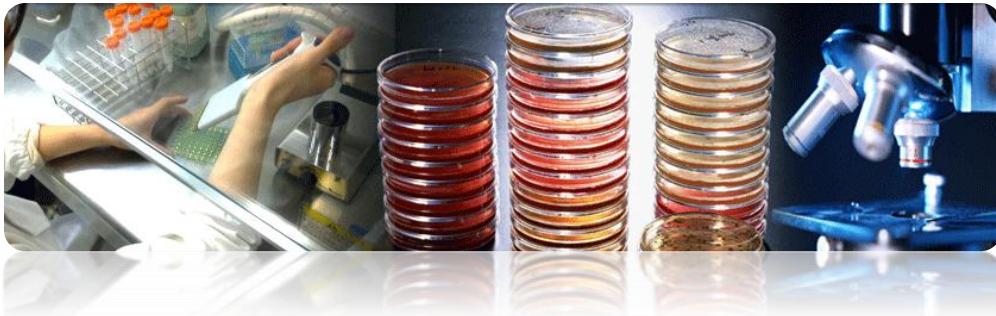
اختصاصیت تشخیص

کمیّت سنجی

هزینه

تکرار پذیری

آزمونهای وابسته به کشت



شمارش صفحه ای استاندارد



شمارش مستقیم میکروسکوپی

بیشترین تعداد احتمالی

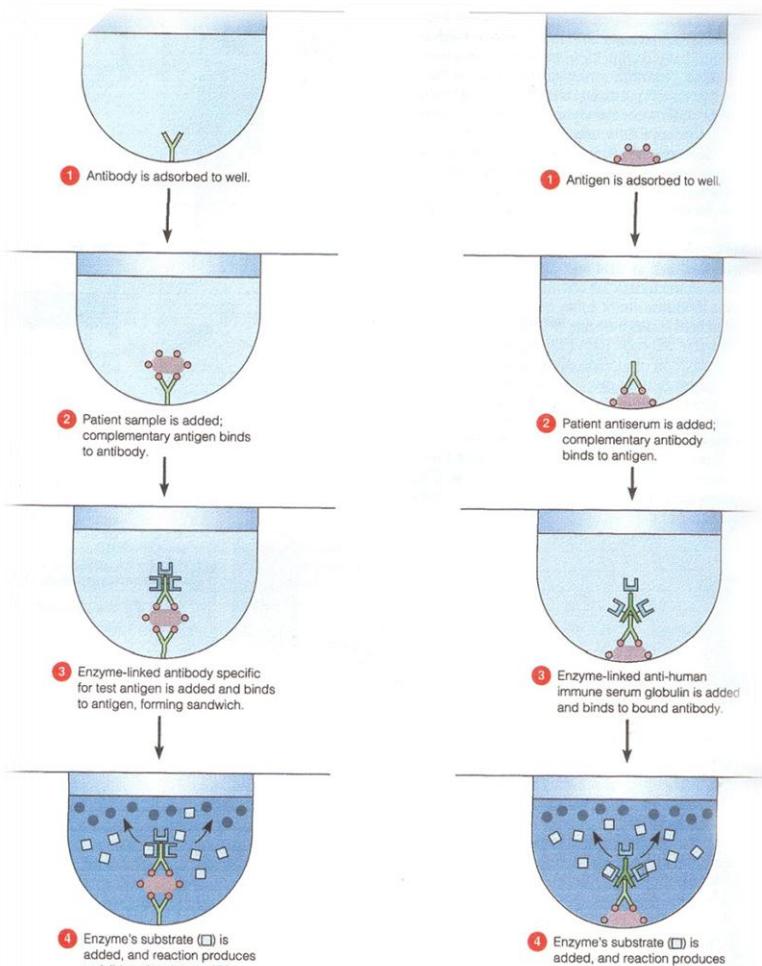
احیاء رنگها

امپدانس، فلوسیتومتری، کالریمتري



رادیومتری، انرژی سنجی، آنزیمهای سلولی و سموم میکروبی

آزمونهای مستقل از کشت

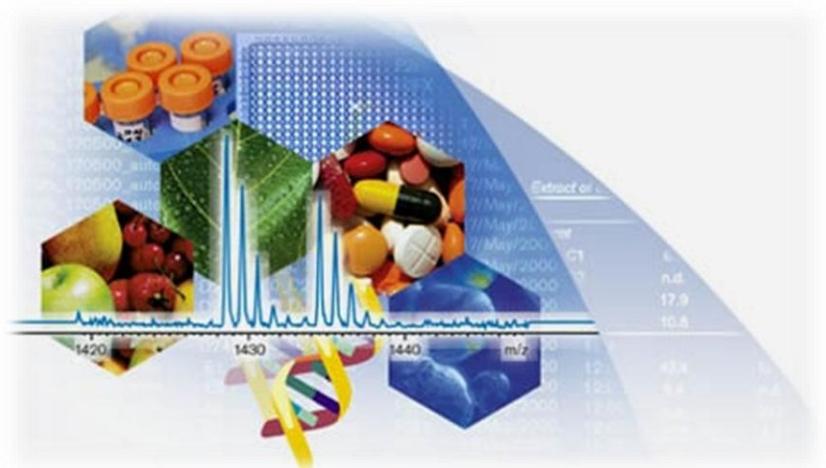


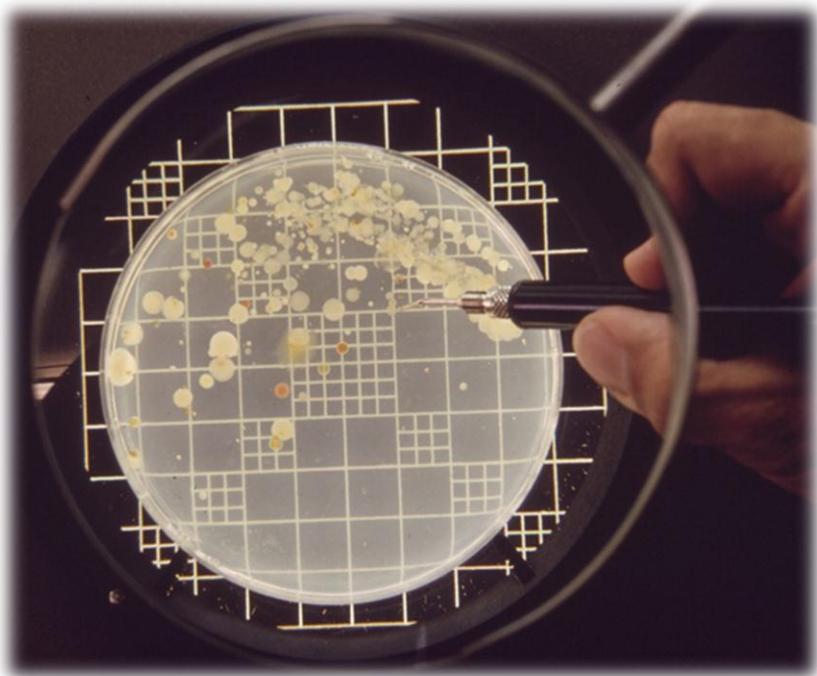
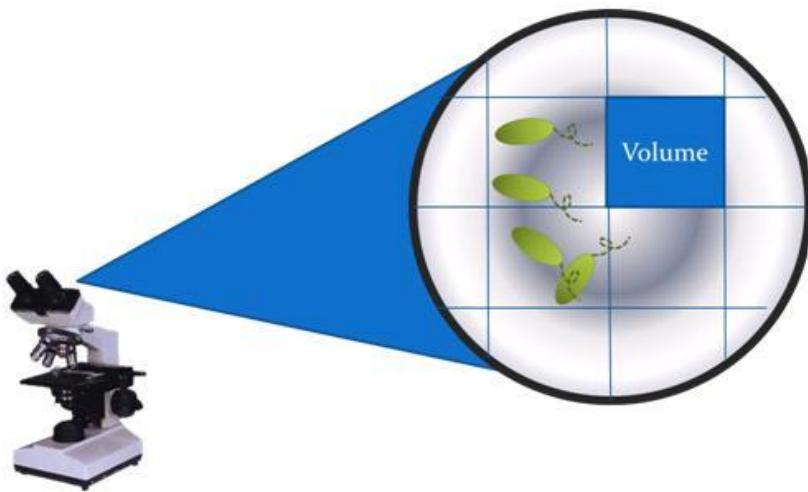
(b) A positive indirect ELISA by indirect sandwich

A positive direct ELISA to detect antigens

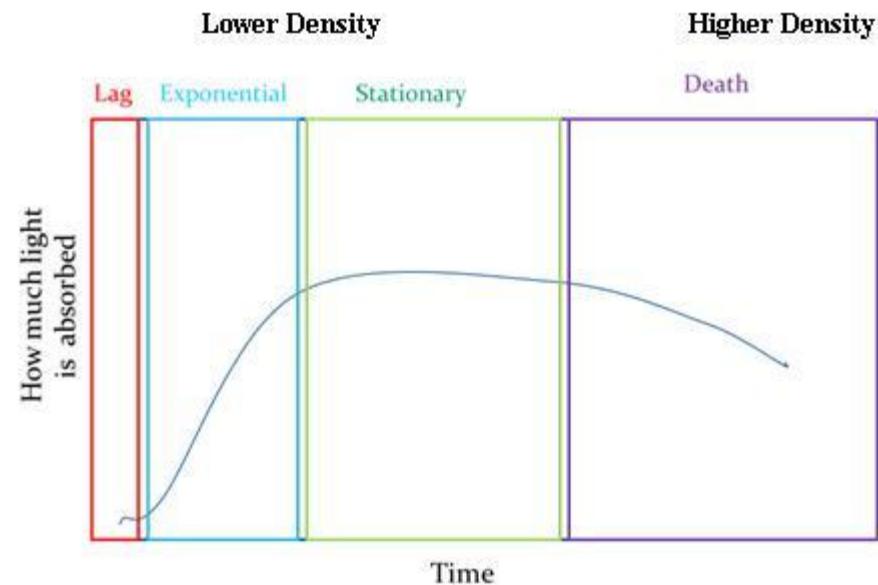
○ مولکولی (PCR)

○ سرولژیکی (ELISA)



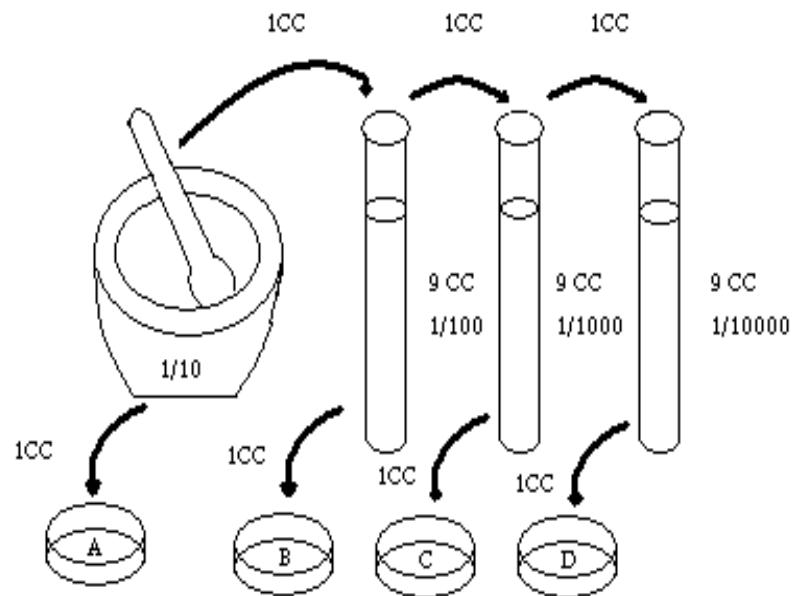
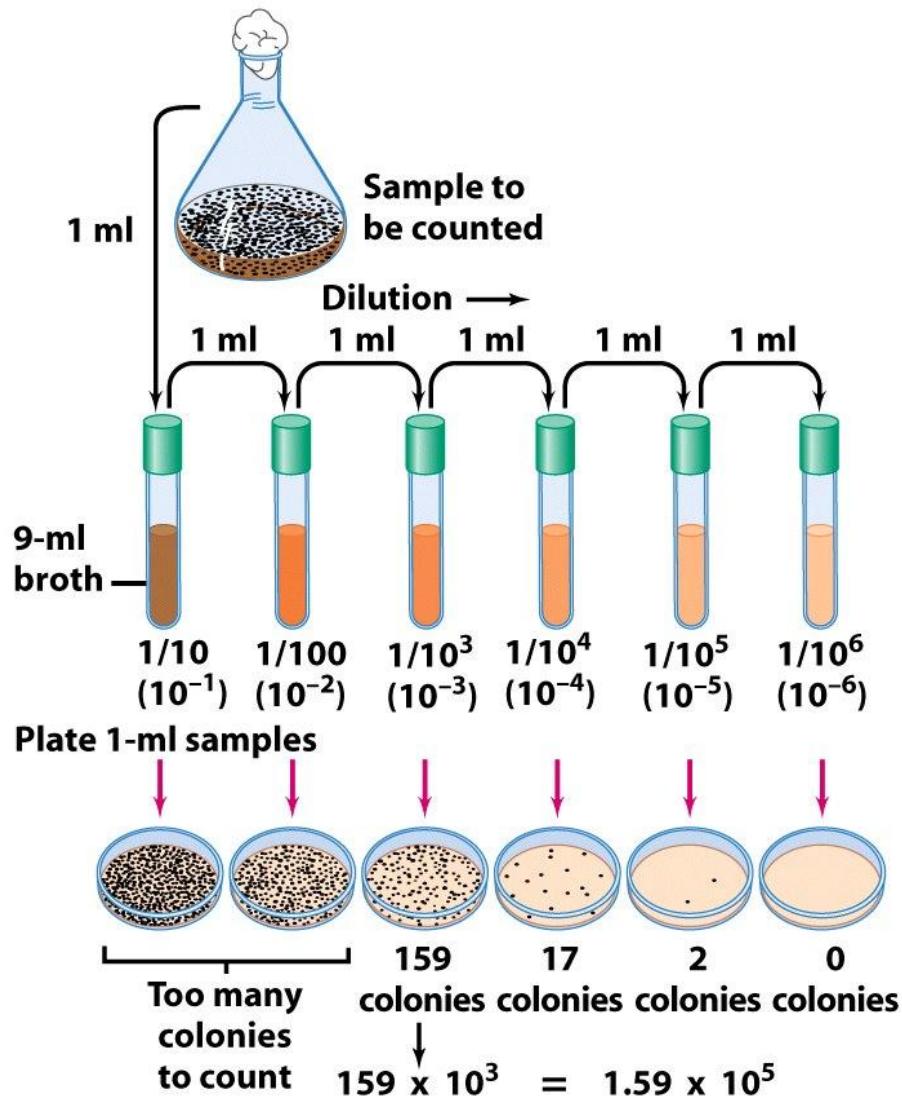


- ❖ روش‌های کشت، میکروسکوپی و نمونه‌گیری
- روش‌های فیزیکی
- روش‌های شیمیایی
- روش‌های ایمونولوژیکی



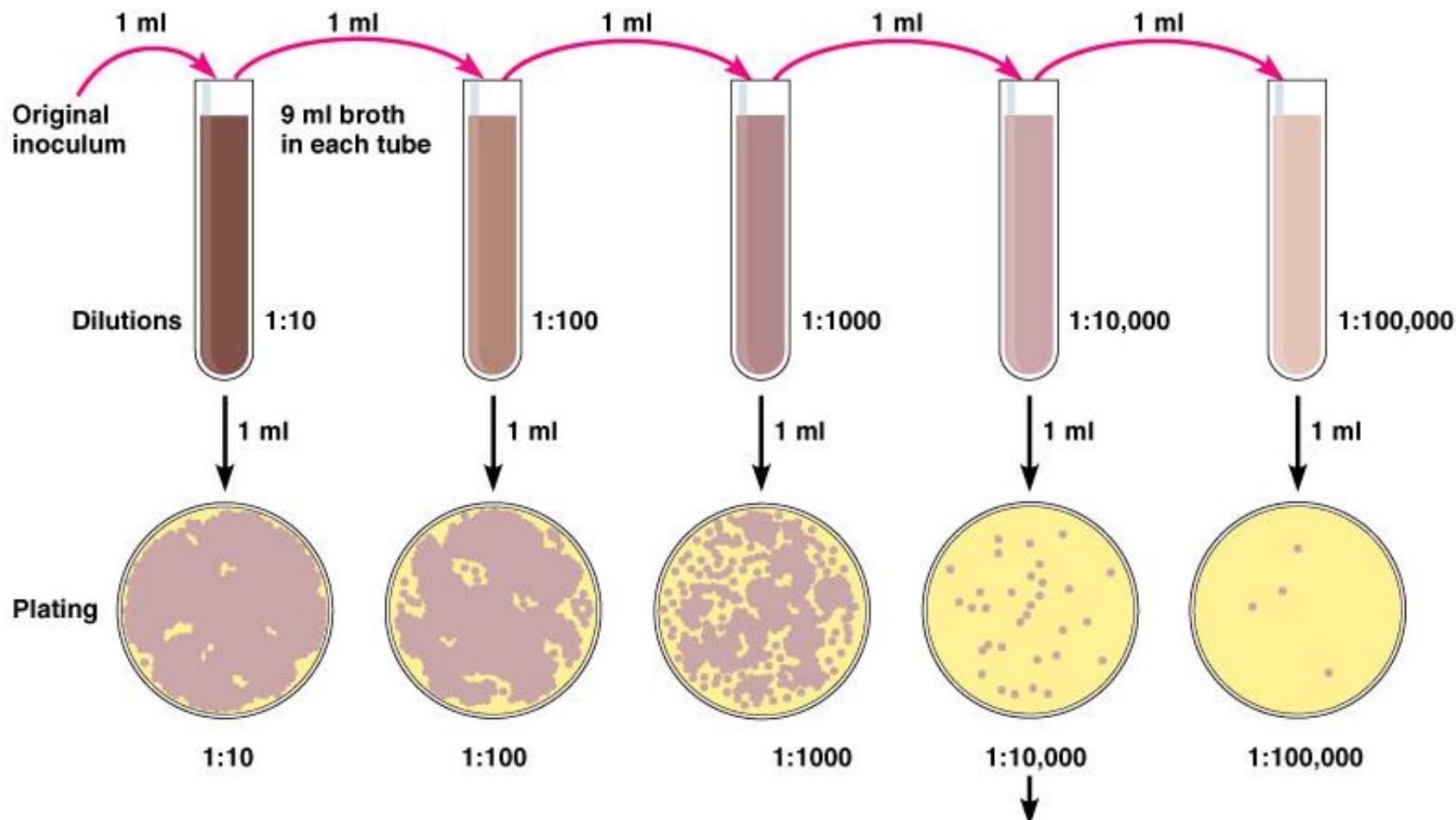
□ نحوه انجام آزمون مرسوم شمارش صفحه‌ای استاندارد (SPC)
باکتریهای زنده

کشت سطحی: سایکروفیل، مطلقاً هوازی
کشت مخلوط: بی هوازی اختیاری



یکنواخت کردن نمونه های جامد:

استوماچر با کمترین آسیب به بافت و خروج ترکیبات احیاء کننده



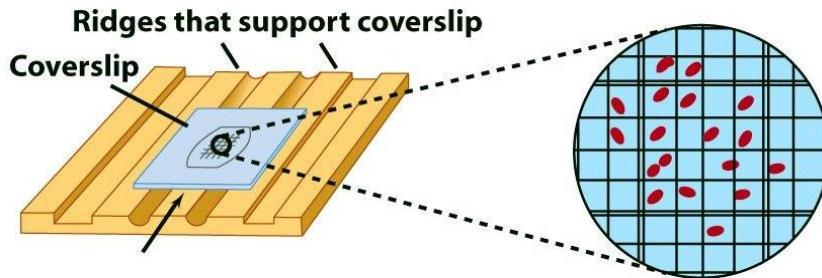
Calculation: Number of colonies on plate \times reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml

(For example, if 32 colonies are on a plate of 1/10,000 dilution, then the count is $32 \times 10,000 = 320,000/\text{ml}$ in sample.)

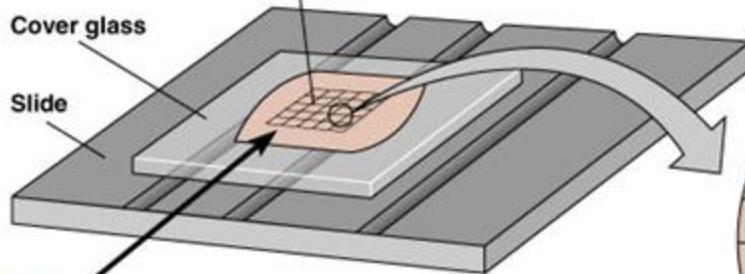
□ شمارش مستقیم میکروسکوپی (DMC)
باکتریهای زنده و غیر زنده

لبنیات

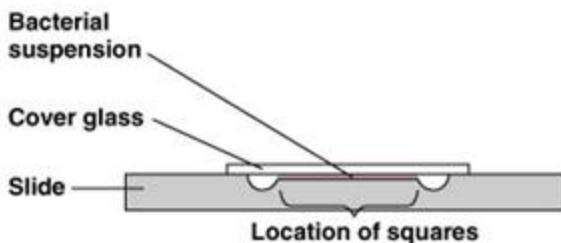
محصولات خشک و منجمد شده



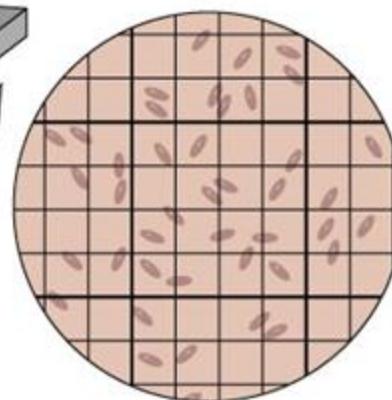
Grid with 25 large squares



- 1 Bacterial suspension is added here and fills the shallow volume over the squares by capillary action.



- 2 Cross section of a cell counter. The depth under the cover glass is known, and the area of the squares is known, so the volume of the bacterial suspension over the squares can be calculated (depth \times area).



- 3 Microscopic count: All cells in several large squares are counted, and the numbers are averaged. The large square shown here has 14 bacterial cells.

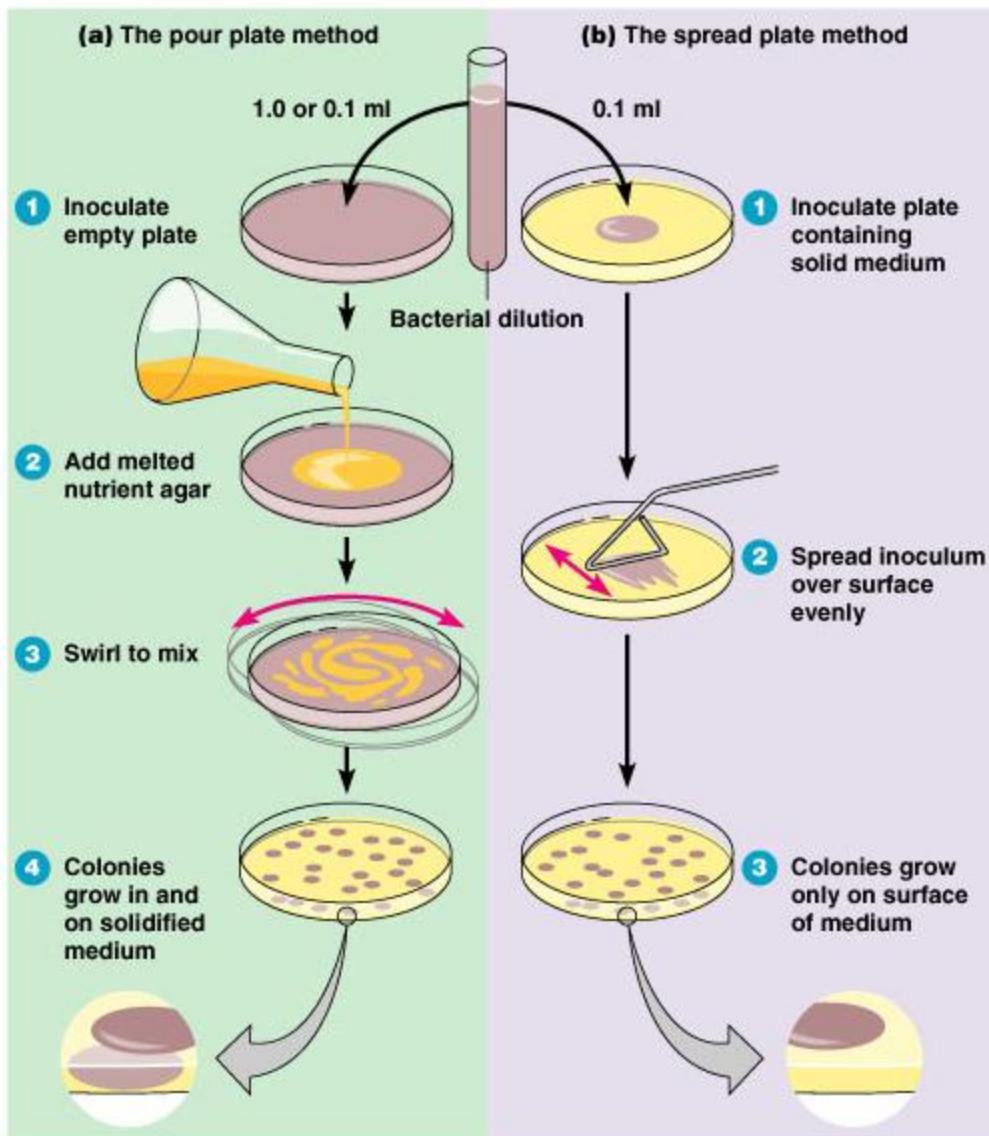
- 4 The volume of fluid over the large square is $1/1,250,000$ of a milliliter. If it contains 14 cells, as shown here, then there are 14 times 1,250,000 (17,500,000) cells in a milliliter.

یکنواخت کردن نمونه

رقت سازی

غنى سازی

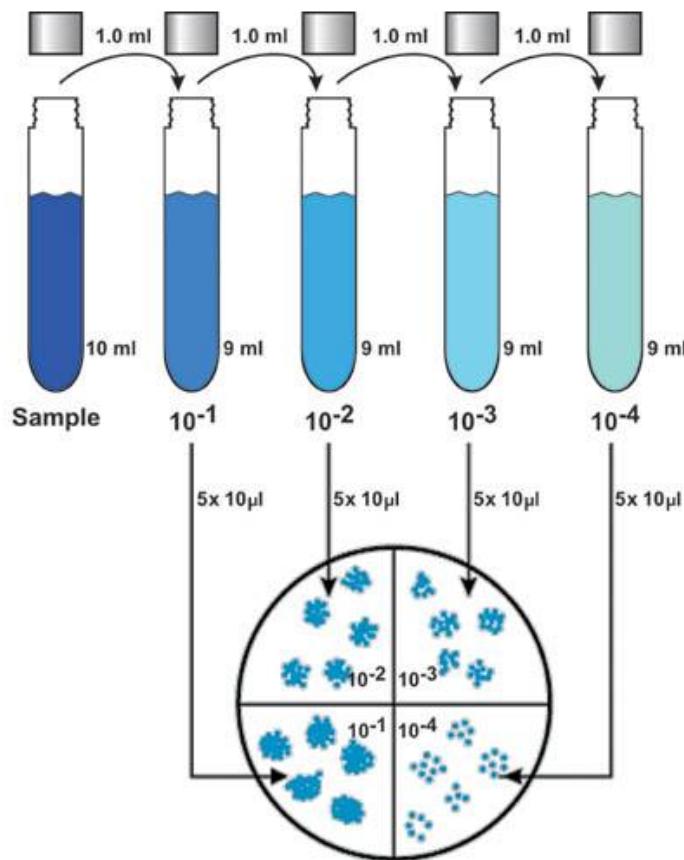
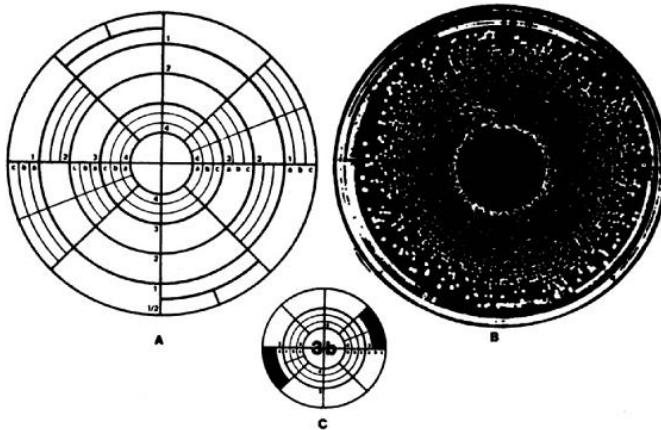
فیلترهای غشایی
(ارگانیسم اندک در حجم زیاد نمونه)



کشت دهنده مارپیچی
توزیع محوری نمونه مایع در سطح محیط کشت

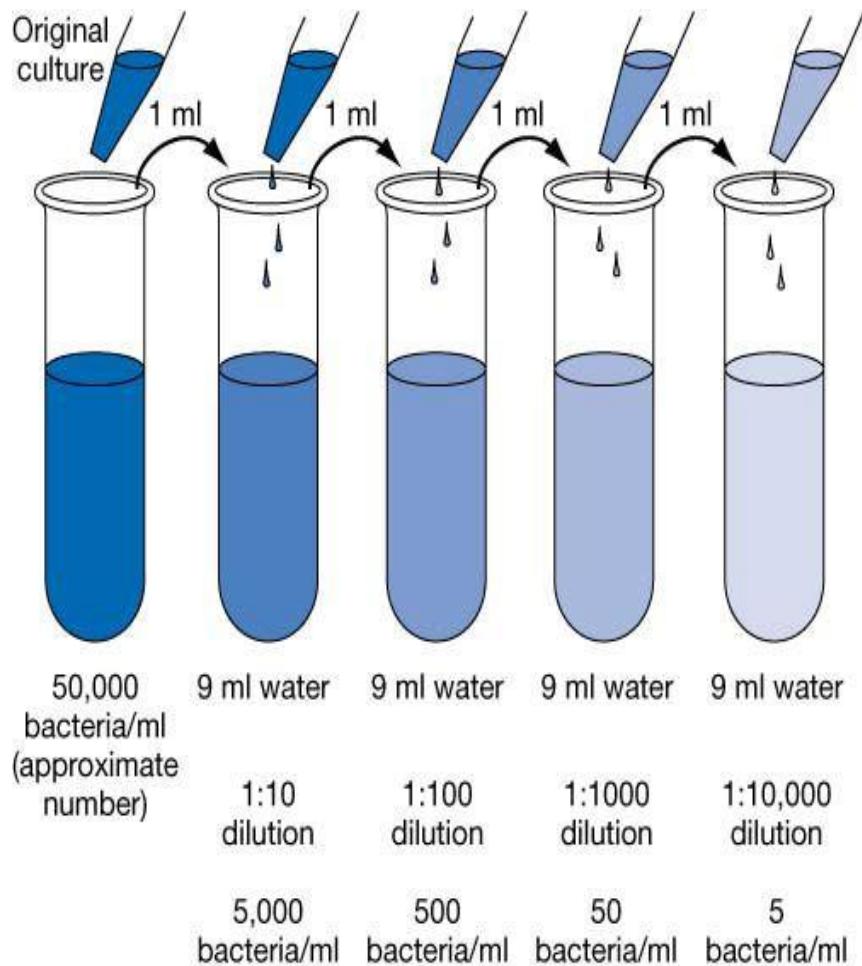
تراکم بیشتر پرگنه در مرکز پلیت

شیر



□ روش تهیه رقت از یک ماده غذایی مایع

رقت‌های متوالی ده (SD)

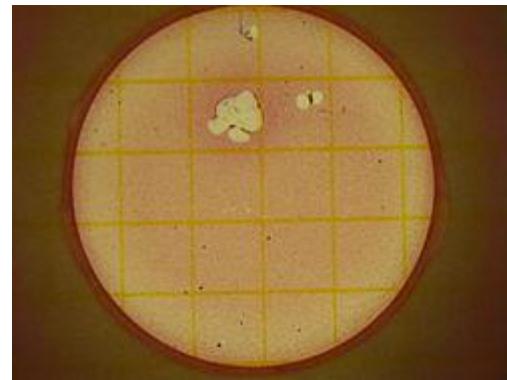
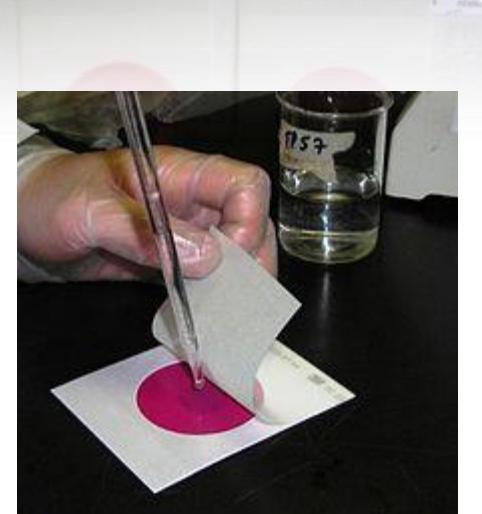


پتري فيلم

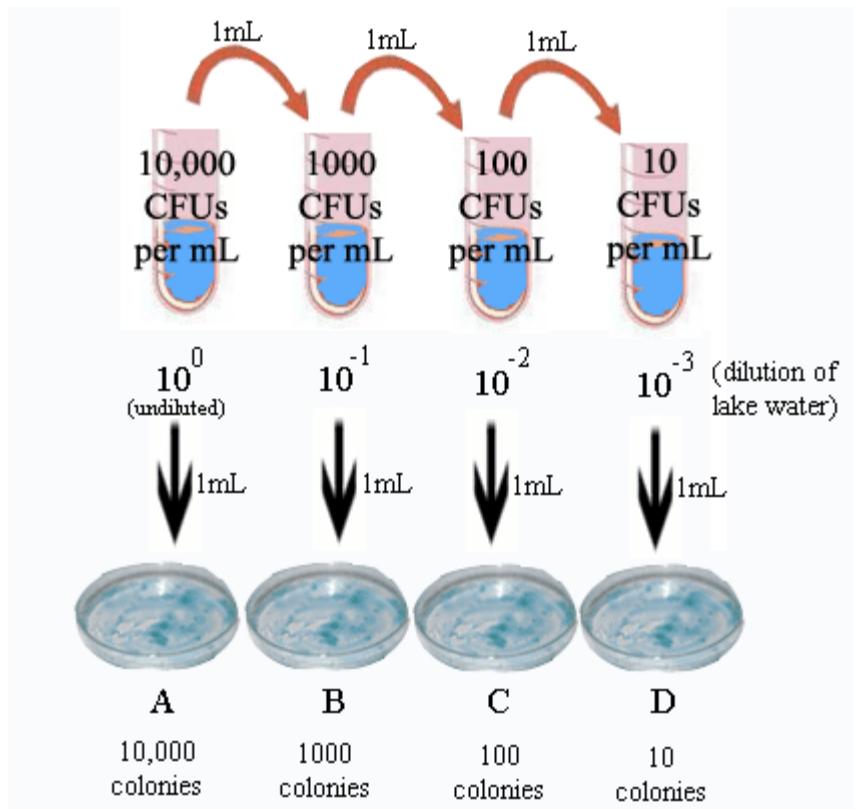
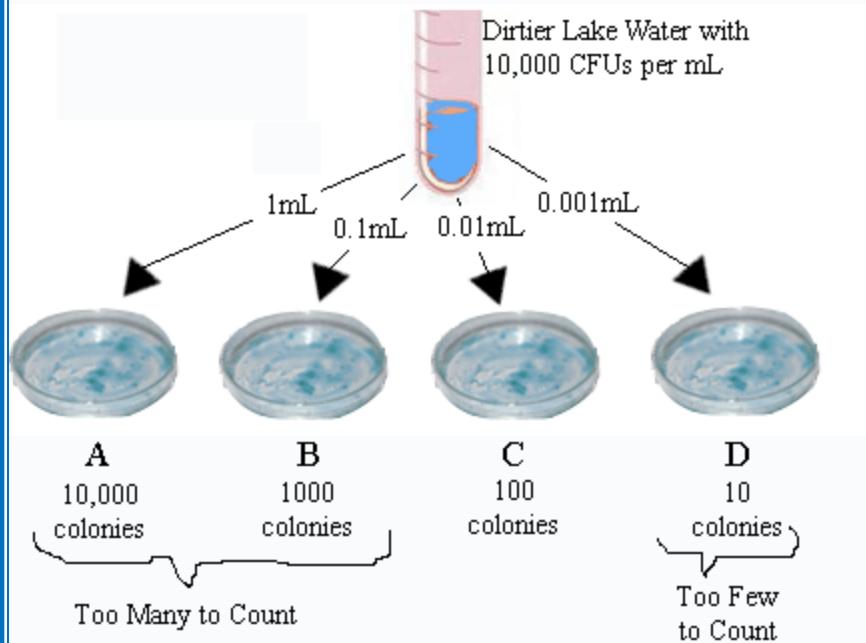


a cold-water-soluble gelling agent, nutrients,
and indicators for activity and enumeration

false positive
false negative



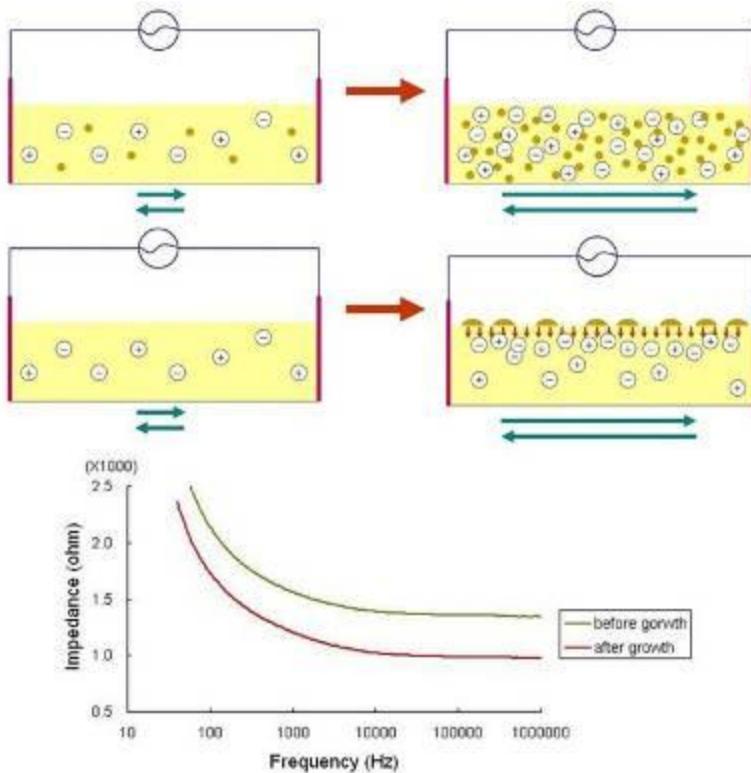
□ بیشترین تعداد احتمالی (MPN)
تعیین آماری باکتریهای زنده



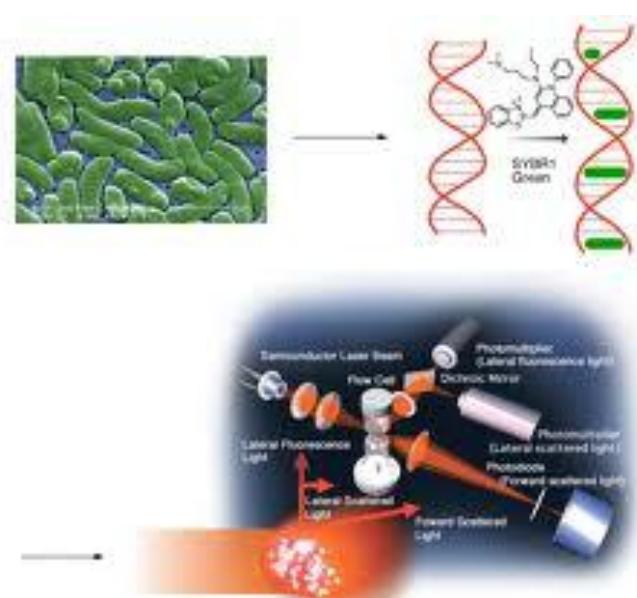
Most Probable Number of Coliforms per 100 mL of Sample

NUMBER OF POSITIVE TUBES																							
10 mL	1 mL	0.1 mL	MPN																				
0	0	0		1	0	0	2.0	2	0	0	4.5	3	0	0	7.8	4	0	0	13	5	0	0	23
0	0	1	1.8	1	0	1	4.0	2	0	1	6.8	3	0	1	11	4	0	1	17	5	0	1	31
0	0	2	3.6	1	0	2	6.0	2	0	2	9.1	3	0	2	13	4	0	2	21	5	0	2	43
0	0	3	5.4	1	0	3	8.0	2	0	3	12	3	0	3	16	4	0	3	25	5	0	3	58
0	0	4	7.2	1	0	4	10	2	0	4	14	3	0	4	20	4	0	4	30	5	0	4	76
0	0	5	9.0	1	0	5	12	2	0	5	16	3	0	5	23	4	0	5	36	5	0	5	95
0	1	0	1.8	1	1	0	4.0	2	1	0	6.8	3	1	0	11	4	1	0	17	5	1	0	33
0	1	1	3.6	1	1	1	6.1	2	1	1	9.2	3	1	1	14	4	1	1	21	5	1	1	46
0	1	2	5.5	1	1	2	8.1	2	1	2	12	3	1	2	17	4	1	2	26	5	1	2	64
0	1	3	7.3	1	1	3	10	2	1	3	14	3	1	3	20	4	1	3	31	5	1	3	84
0	1	4	9.1	1	1	4	12	2	1	4	17	3	1	4	23	4	1	4	36	5	1	4	110
0	1	5	11	1	1	5	14	2	1	5	19	3	1	5	27	4	1	5	42	5	1	5	130
0	2	0	3.7	1	2	0	6.1	2	2	0	9.3	3	2	0	14	4	2	0	22	5	2	0	49
0	2	1	5.5	1	2	1	8.2	2	2	1	12	3	2	1	17	4	2	1	26	5	2	1	70
0	2	2	7.4	1	2	2	10	2	2	2	14	3	2	2	20	4	2	2	32	5	2	2	95
0	2	3	9.2	1	2	3	12	2	2	3	17	3	2	3	24	4	2	3	38	5	2	3	120
0	2	4	11	1	2	4	15	2	2	4	19	3	2	4	27	4	2	4	44	5	2	4	150
0	2	5	13	1	2	5	17	2	2	5	22	3	2	5	31	4	2	5	50	5	2	5	180

□ امپدانس
 مقاومت ظاهري مدار الكتروي
 عموماً كاهش
 محيط اختصاصي (رشد آرام و يكتنواخت)



Principle of impedance changes in the solid and liquid media



□ میکرو کالریمتری
تغییرات آنتالپی

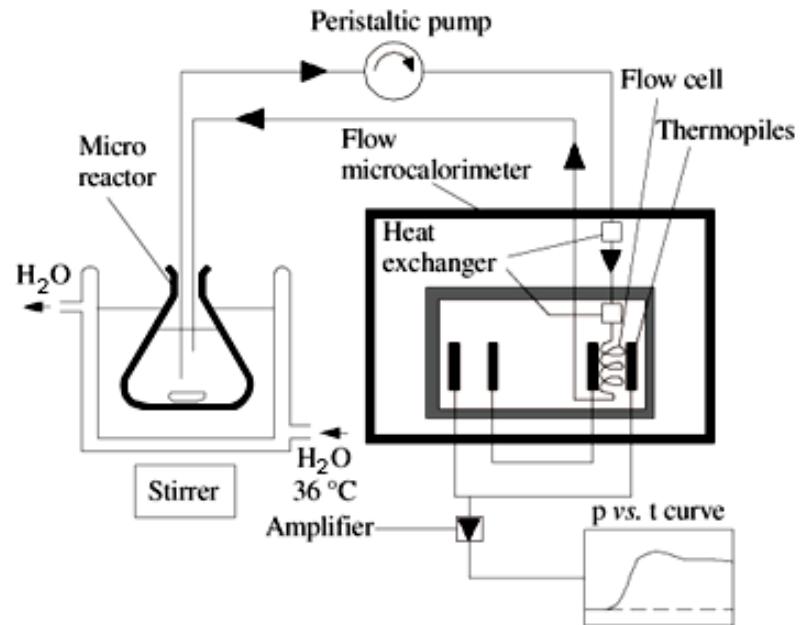
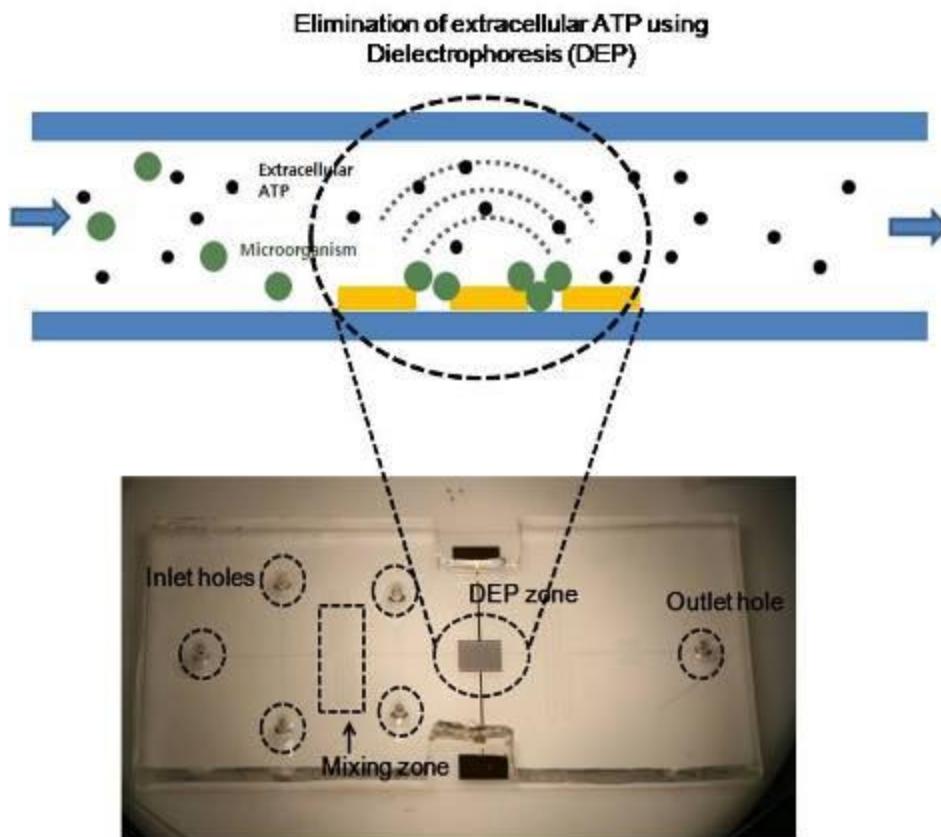
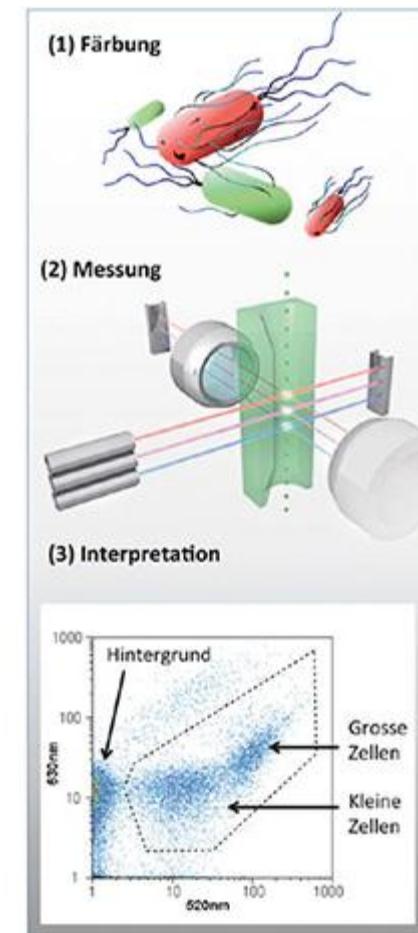
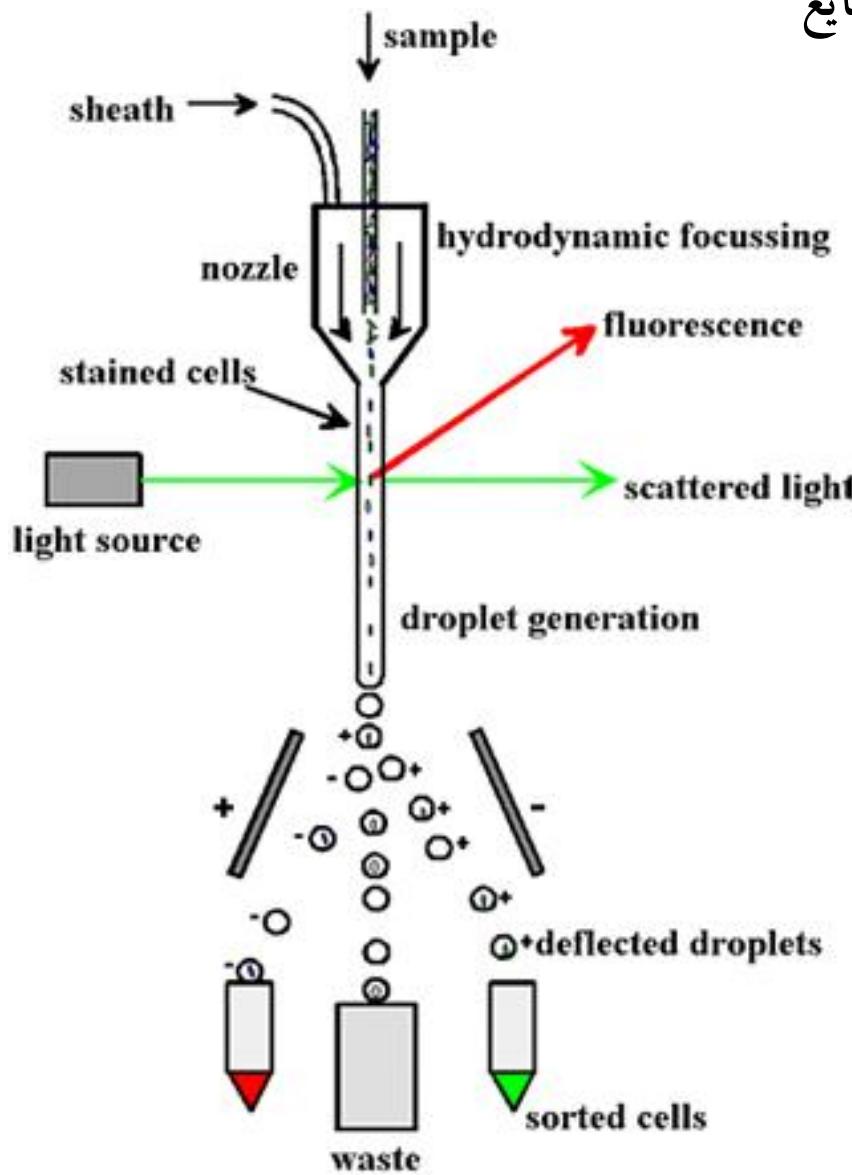


Figure 1. Diagram of the isothermal differential microcalorimeter.

□ فلوسيتومتر

مطالعه خواص سلولها و اجزاء آنها در سوپانسیون مایع
فلورسانس، جذب و پراکنش نور
اسید نوکلئیک و پروتئین



□ احیای رنگ‌ها

رابطه عکس بین زمان احیاء رنگ با میزان آلودگی



ترمیم در محیط کشت غیر اختصاصی

□ بررسی میکروبی سطوح

تست سوآب آلزیناتی (سطح ناهموار با آلودگی زیاد)

تزریق آگار

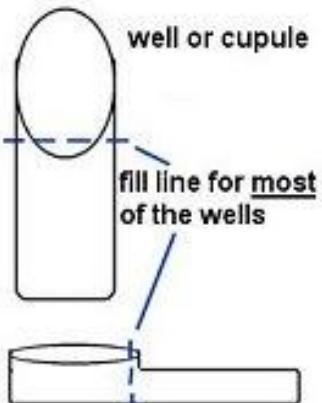
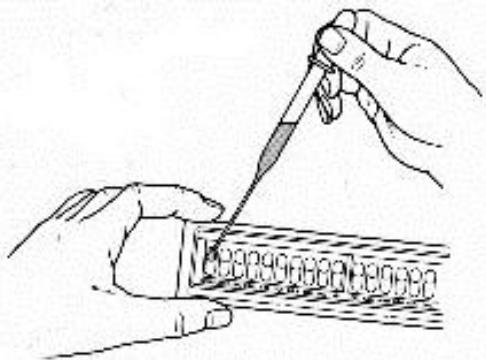
کشت سطحی (سطح صاف و بدون منفذ)

امواج مافوق صوت

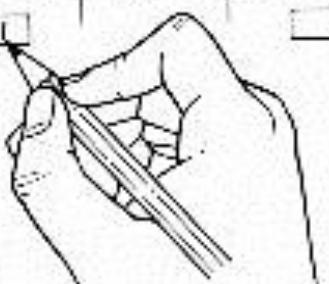
هوای صافیهای اندرسون)

□ کیت API
تخمیر قندها

analytical profile index



PMG	ADM	LUG	DNC	CIT	S ₂ A	DPE	TGA	IMP	VF	GEL	CBH	MNH
+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
5												

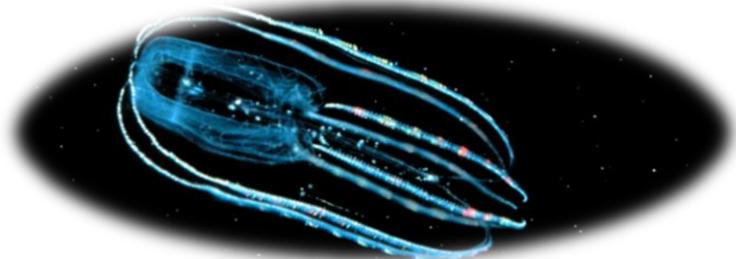




□ اندازه‌گیری آدنوزین تری‌فسفات
لوسیفراز، تخریب ATP غیر میکروبی
بیولومینانس

□ رادیومتری کربن نشاندار در محیط کشت و تولید متابولیت نشاندار (نسبت عکس زمان تعیین با تعداد سلولها)

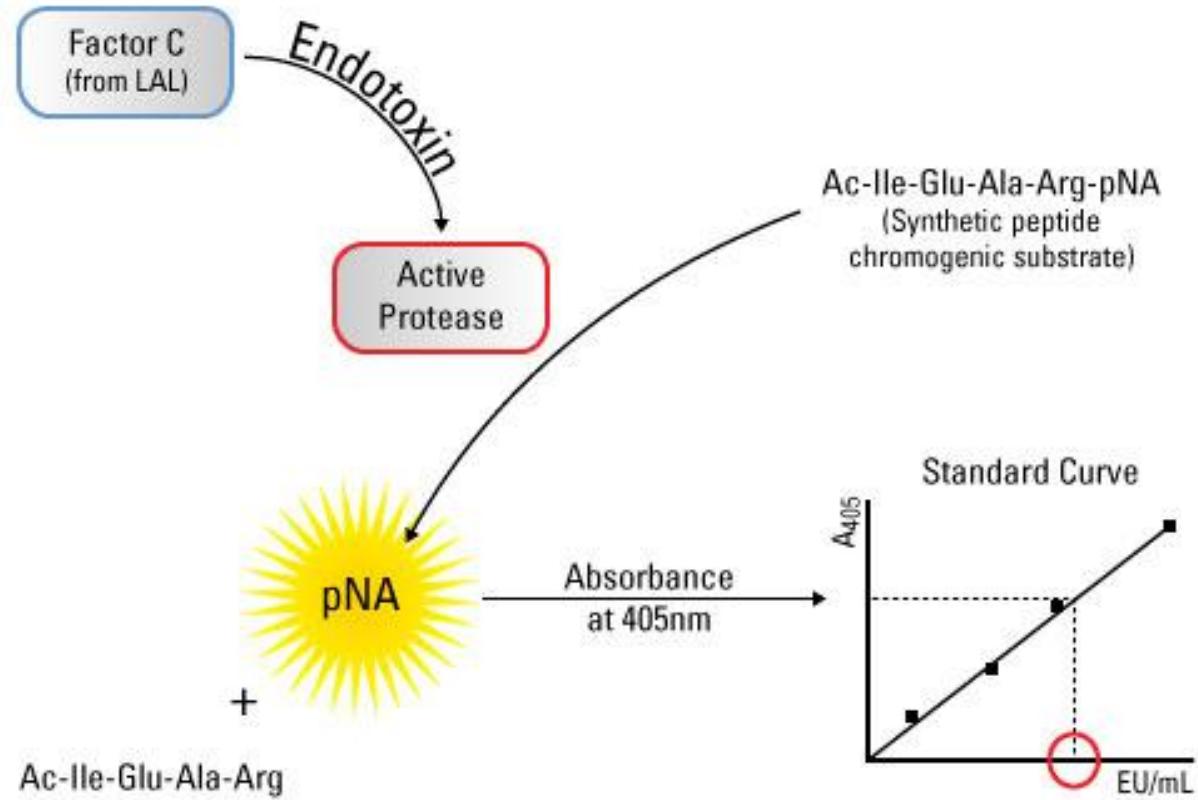
□ نوکلئاز مقاوم به حرارت سریعتر، بیشتر، کشت رقیق در مقایسه با انتروتوکسین



□ آزمون LAL

اندوتوكسین گرم منفی (مرده و زنده)

لیمولوس آمبوسيت ليسيت



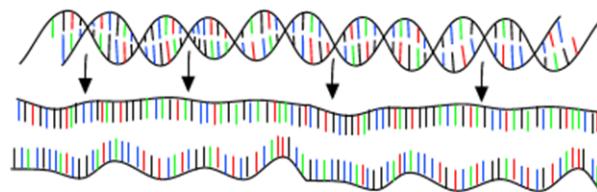
واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

تامین نیازهای تکثیر DNA



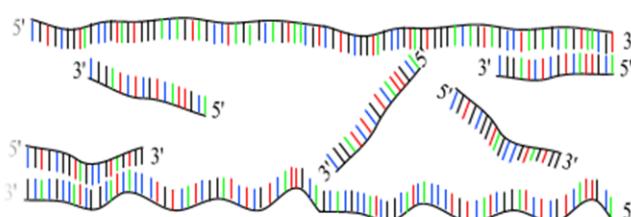
PCR : Polymerase Chain Reaction

30 - 40 cycles of 3 steps :



Step 1 : denaturation

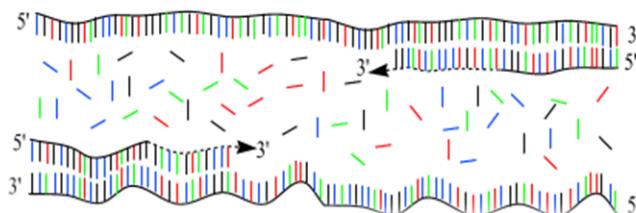
1 minut 94 °C



Step 2 : annealing

45 seconds 54 °C

forward and reverse
primers !!!



Step 3 : extension

2 minutes 72 °C
only dNTP's

الگو

واکنشگرها

پرایمر

آنزیم

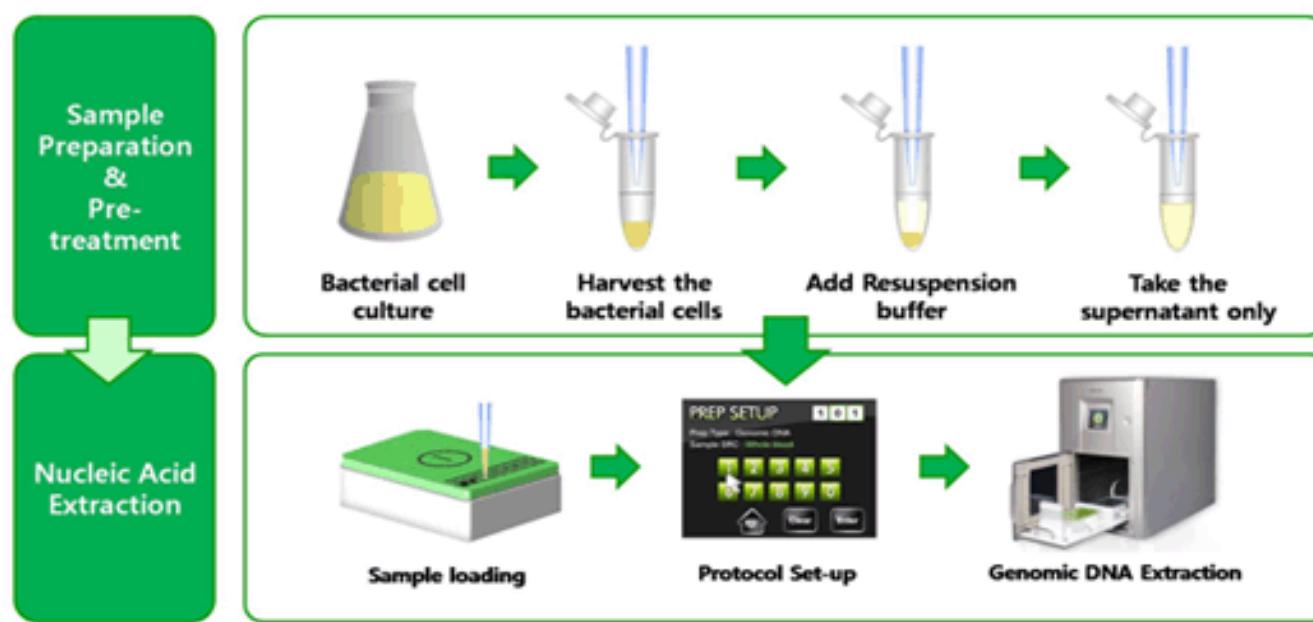
واکنشگرهاي تكثير

Component	Volume/reaction	Final concentration
Master mix		
10x CoralLoad PCR Buffer* or 10x PCR Buffer*	10 μ l	1x
25 mM MgCl ₂	Variable, see Table 2	See Table 2
dNTP mix (10 mM each)	2 μ l	200 μ M of each dNTP
Primer A	Variable	0.1–0.5 μ M
Primer B	Variable	0.1–0.5 μ M
Taq DNA Polymerase	0.5 μ l	2.5 units/reaction
Distilled water	Variable	–
Template DNA		
Template DNA, added at step 4	Variable	\leq 1 μ g/reaction
Total volume	100 μl	–

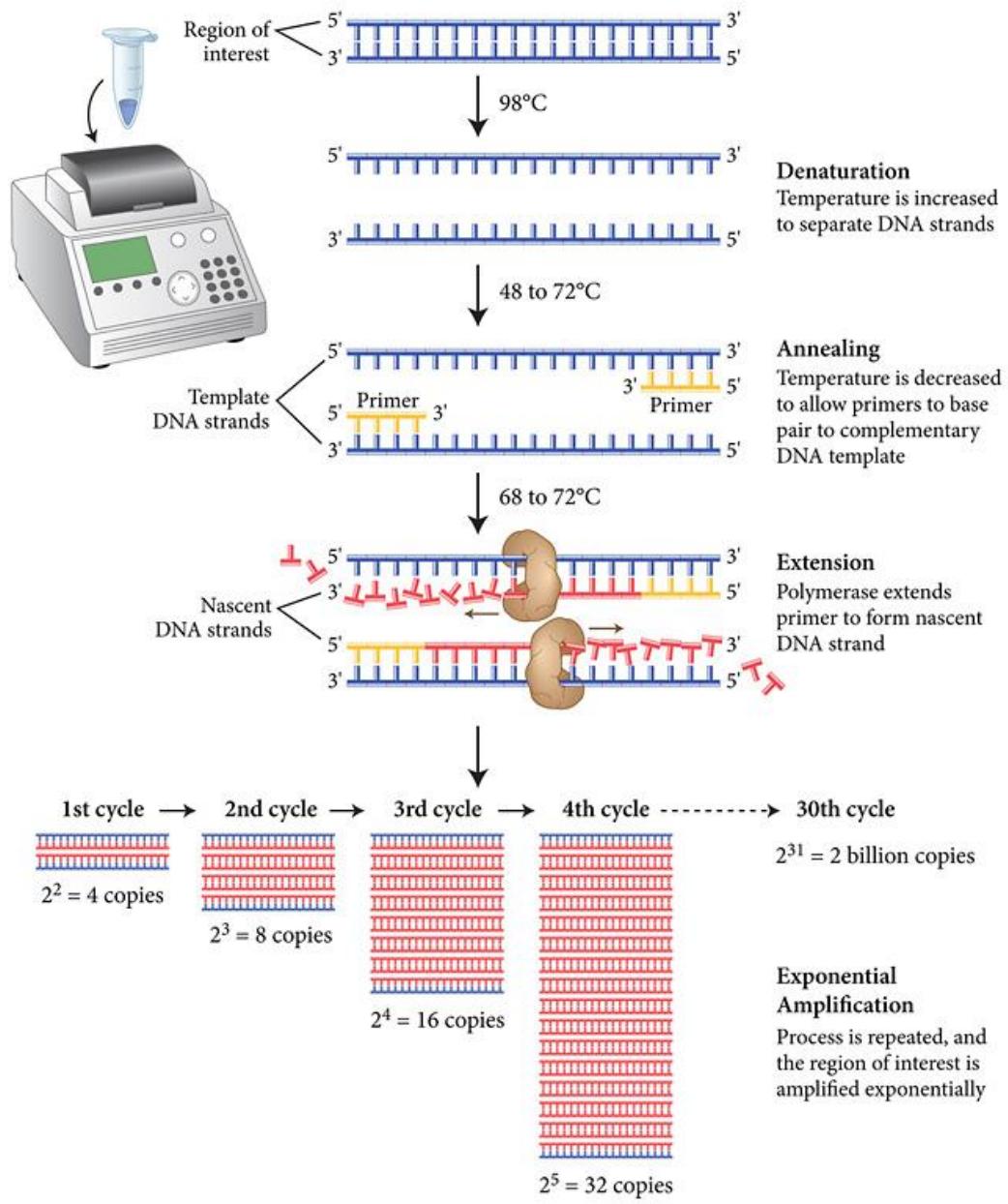
مباني طراحی پرایمر، خصوصیات پرایمر مناسب

داده پردازی زیستی

استخراج DNA

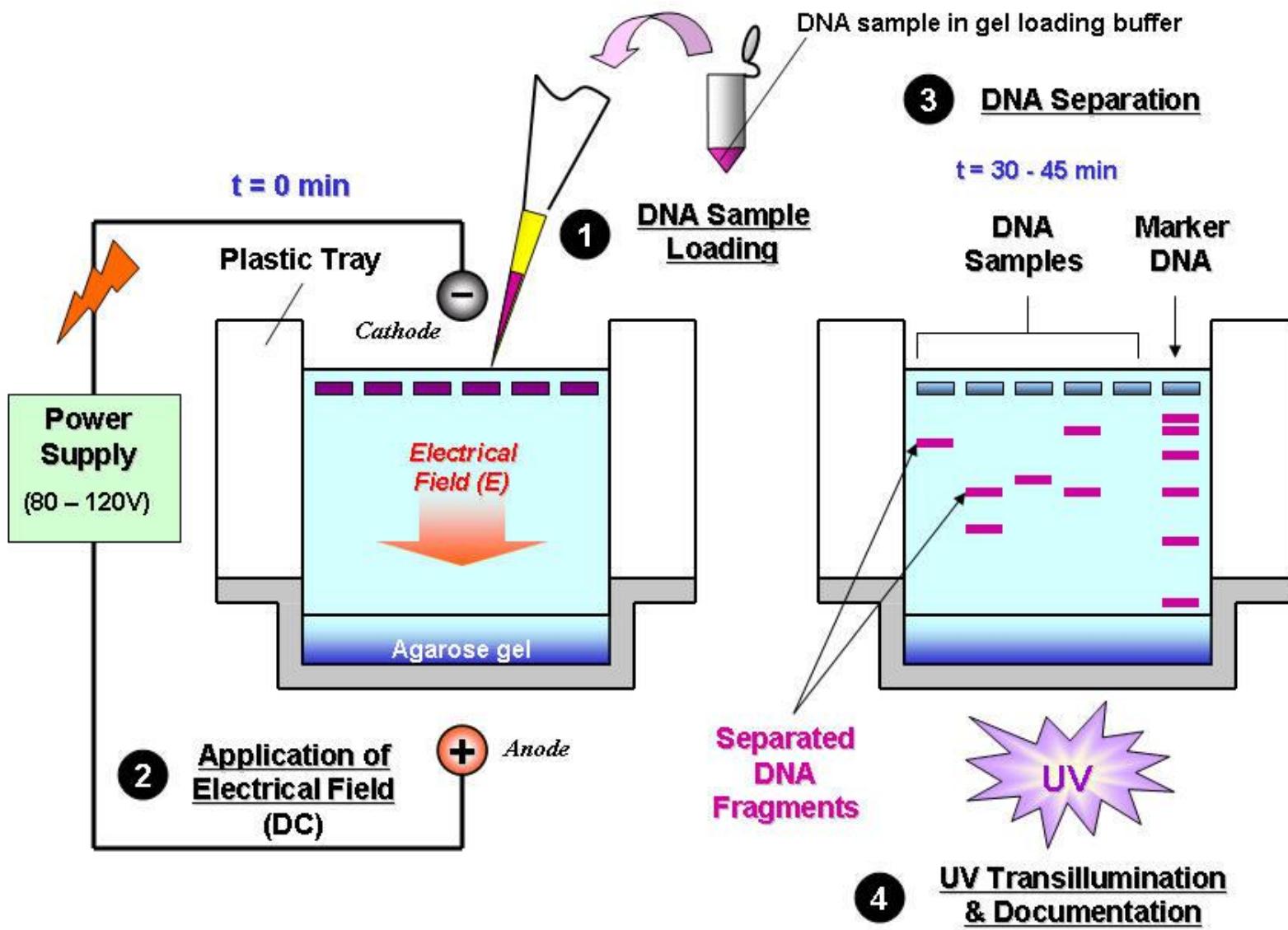


چرخه‌های دمایی تکثیر



Additional comments		
Initial denaturation:	3 min	94°C
3-step cycling		
Denaturation:	0.5–1 min	94°C
Annealing:	0.5–1 min	50–68°C
Extension:	1 min	72°C
		Approximately 5°C below T_m of primers (see Appendix B, page 33).
Number of cycles:	25–35	For PCR products longer than 1 kb, use an extension time of approximately 1 min/kb DNA. See Appendix C, page 36.
Final extension:	10 min	72°C

ژل الکتروفورز مخصوصات PCR



□ معرفی برخی از مهمترین کپکهای مرتبط با مواد غذایی

عنوان کپک	ویژگی شاخص
<i>Synchytrium endobioticum</i>	پارازیت سیب زمینی
<i>Phytophthora infestans</i>	سفیدک دروغین سیب زمینی
<i>Plasmopora viticola</i>	سفیدک دروغین انگور
<i>Rhizopus nigricans (stolonifer)</i>	قارچ سیاه نان ، پوسیدگی نرم ، تولید اسید فوماریک
<i>Rhizopus oryzae</i>	تولید الكل
<i>Choanefora curcubitarum</i>	حمله به گل و میوه کدو
<i>Absidia corymbifera</i>	حمله به سیستم عصبی انسان
<i>Mucor racemous</i>	تولید الكل اتیلیک
<i>Mucor mucedo</i>	وجود آهک سیلیسی در سطح خارجی اسپورانژیوم
<i>Mucor plumbeus</i>	وجود مسیلیوم رنگی و اشکال مختلف کلوملا
<i>Thamnidium elegans</i>	قابلیت رشد بر روی گوشهای یخ زده
<i>Byssochlamys fulva</i>	قابلیت تحمل دماهای بالا در فرآوری کمپوت میوه و قابلیت پکتولیتیک و
<i>Byssochlamys nivea</i>	تولید پاتولین

□ معرفی برخی از مهمترین مخمرهای مرتبط با مواد غذایی

عنوان مخمر	ویژگی شاخص
<i>Cryptococcus neoformans</i>	بیماری‌زای انسانی
<i>Endomyces lactis</i>	کپک شیر
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	قدرت تخمیر بالا ، تولید الكل ، مقاومت به اسید استیک
<i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	تخمیر گلوكز و مالتوز ، تولید الكل
<i>Endomycopsis fibuligera</i>	اکسیداسیون قندها ، تولید آمیلاز
<i>Sacchromyces cerevisiae</i>	مخمر نانوایی ، تولید الكل ، گلیسرول ، پروتئین تک یاخته و اینورتاز ، قدرت تخمیر بالا
<i>Sacchromyces fragilis, lactis</i>	تخمیر لاکتوز ، فساد فراورده های لبنی
<i>Sacchromyces rouxii, mellis</i>	خاصیت اسموفیلی ، فساد شکلات ، عسل و مربا
<i>Saccharomyces ludwigii</i>	تولید آججوي مالت ، تولید نوعی آنتی بیوتیک
<i>Pichia farinosa</i>	عامل فساد در صنایع آججوسازی و تخمری

عنوان مخمر	ویژگی شاخص
<i>Cryptococcus neoformans</i>	بیماریزای انسانی
<i>Torulopsis sphaerica</i>	فساد محصولات لبنی ، آبمیوه و آبجو
<i>Candida utilis</i>	تولید پروتئین تک یاخته
<i>Candida lipolytica</i>	فساد مايونز و محصولات گوشتی ، قابلیت لیپولیتیک
<i>Candida tropicalis</i>	قدرت تخمیر شدید ، مقاومت به ضد عفونی کننده ها
<i>Candida valida</i>	تجزیه اسید لاکتیک ، فساد محصولات تخمیری لاکتیکی
<i>Candida albicans</i>	بیماریزای انسانی ، ایجاد برفک
<i>Trichosporon</i>	سفیدک نان ، تولید آنزیم آمیلاز ، سرمادوست

□ معرفی برخی از مهمترین قارچهای مرتبط با مواد غذایی

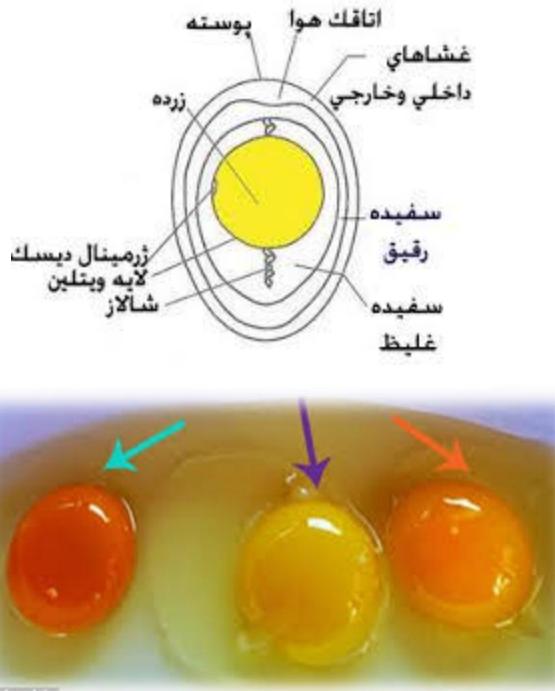
عنوان قارچ	ویژگی شاخص
<i>Claviceps purpura</i>	تولید ترکیبات آلکالوئیدی کشنده در چاودار
<i>Agaricus campestris bisporus</i>	قارچ خوراکی
<i>Oospora lactis</i>	قارچ شیر
<i>Geotrichum candidum</i>	کپک ماشین آلات
<i>Verticillium tenerum</i>	پارازیت غلات ، ایجاد بیماری در موجودات خونگرم
<i>Sporotrichum thuementii, carnis</i>	رشد بر روی گوشت‌های منجمد
<i>Botrytis cinera</i>	کپک دودی ، فساد سیاه انگور
<i>Fusarium giberella</i>	تولید الكل ، تولید جیبرلین
<i>Neurospora, Monilia sitophila</i>	کپک قرمز نان
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	فساد غذاهای پروتئینی مثل گوشت ، شباهت به پنیسیلیوم

عنوان قارچ	ویژگی شاخص
<i>Aspergillus glaucus</i>	خاصیت اسموفیلی
<i>Aspergillus niger</i>	کپک سیاه ، تولید اسید سیتریک و گلوکونیک ، تولید آنزیمهای آمیلاز ، پروتئاز ، پکتیناز و لیپاز
<i>Aspergillus oryzae</i>	خاصیت پروتئولیتیک ، روغن کشی از سویا
<i>Aspergillus fumigatus</i>	پاتوژن حیوانی ، عفونت ریه
<i>Penicillium italicum, digitatum</i>	پاتوژن مرکبات ، فسادهای سبز و آبی
<i>Penicillium chrysogenum</i>	تولید پنیسیلین
<i>Penicillium notatum</i>	تولید پنیر آبی دانمارکی
<i>Penicillium roquefortii, comemberti</i>	تولید پنیر
<i>Aurobasidium pulullans</i>	تغییر رنگ و فساد مواد غذایی
<i>Aurobasidium</i>	مالت سازی و تولید ترکیبات آромاتی
<i>Cladesporium</i>	فساد تخم مرغ با قابلیت عبور از پوسته آن
<i>Alternaria</i>	پاتوژن گیاهی ، فساد نرم

○ فساد گروه های عمدۀ غذایی

○ تخم پرنده‌گان

- عوامل محافظت کننده از فساد تخم مرغ پوشش خارجی، آنزیم لیزوژیم سفیده، آویدین و کونالبومین، اووفلاکوپروتئین سفیده، بالا بودن pH سفیده زرده تخم مرغ، محیط مناسب تری برای فساد میکروبی است به جز pH و مواد مغذی، ترکیبات نگهدارنده سفیده و همچنین انتقال آب از سفیده به زرده در طی نگهداری



- رایج ترین فسادهای باکتریایی تخم مرغ فساد سبز: سدوموناس فلوئورسنس
- فساد بی رنگ: سدوموناس و اسیتوباکتر
- فساد سیاه: پروتئوس و آئروموناس
- فساد قرمز آجری: پروتئوس ولگاریس
- فساد قرمز: سراتیا
- فساد صورتی: سدوموناس
- فساد کپکی: سدوموناس گراوئولنس

○ فساد قارچی:

مخمر توروولا و کپکهای پنیسیلیوم و کلادوسپوریوم عمدتاً در کیسه هوایی تخم مرغ رشد میسلیوم قارچ با مشاهده در مقابل نور



رطوبت زیاد، فساد میکروبی تخم مرغ را تشدید می کند

بوی تعفن به واسطه تجزیه اسیدهای آمینه و پروتئینها به ترکیباتی نظیر H₂S

○ غلات و فراورده های نانوایی

رطوبت پایین و اثر ضد میکروبی ترکیبات سفید کننده

محدود شدن فلور میکروبی به برخی از کپکها و باکتریهای اسپورساز با فعالیت آمیلازی

باکتریهای اسید لاکتیک در فراورده های خمیری تازه مثل خمیر پیتزا



کپکهای رایزوپوس استولونیفر و نوروسپورا سیتوفیلا در نان

فساد باکتریایی روپینس در نان: باسیلوس سوبتیلیس

در کیک و محصولات مشابه به دلیل محدود شدن رطوبت: فساد اصلی قارچی است

○ فراورده های لبنی

شیرهای پاستوریزه: باکتریهای مقاوم به حرارت خصوصا استرپتوکوکوسها، کاهش pH و انعقاد شیر

فعالیت باکتریهای اسید لاکتیک: کاهش pH به حدود چهار و شروع فعالیت تخمیری
فعالیت قارچها: عمدتاً افزایش pH به حدود خنثی و فعالیت باکتریهای پروتئولیتیک نظیر سدوموناس و آب انداختن دلمه شیر

فساد روپینس در شیر و لزجی دلمه پنیر عمدتاً در دمای پایین نگهداری: آلکالیژنر ویسکولاکتیس
تولید مواد لزج، ایجاد چسبندگی و افزایش ویسکوزیته شیر



- دو فساد عمدۀ باکتریایی در کره
فساد سطحی یا گندیدگی: سدوموناس پوتریفاسینس
دمای یخچال، بوی بد ناشی از ایزو والریک اسید

تندی کره: سدوموناس فراجی و سدوموناس فلورسنس



- سایر فسادهای باکتریایی کره
طعم مالتی: استرپتوکوکوس لاکتیس واریته مالتیجنس
بوی اسکانک مانند: سدوموناس مفتیکا
لکه های سیاه: سدوموناس نیگرینیکانس

- فسادهای قارچی کره
جئوتیریکوم کاندیدوم (اووسپورا لاکتیس)، فساد سیاه تورو لا

پنیرهای رسیده به خاطر پتانسیل اکسیداسیون پایین، محیط مناسبی برای میکرووارگانیسمهای بی هوازی
باد کردگی توسط باسیلوس پلیمگزرا و کلستریدیوم پاستوریانوم، بوتیریکوم و اسپوروژنر، باد کردگی و
متلاشی شدن بافت پنیر



○ فراورده های قنادی

تورولا و مخمرهای اسموفیل مثل زیگوساکارومایسین

باکتری لویکونوستوک مزنتروئیدس و تولید دکستران در صنعت قند



شکلاتهای کرم دار: کلستریدیوم اسپوروژنر

○ ادویه جات

باکتریهای اسپورساز
فو میگاسیون و تشعشع

○ مغزهای آجیلی قارچها و مایکوتوكسینها



○ فراورده های تخمیری - ساورکرات

نرم شدن: فعالیت زودهنگام باکتریایی
لزج شدن: لاکتوباسیلوس کوکومریس و لاکتوباسیلوس پلانtarom
صورتی شدن: تورولا گلوتینیس

- خیار شور

سیاه شدن: باسیلوس نیگریفیکانس
بادکردگی: انتروباکتر و لاکتوباسیلوس و لاکتوکوس
نرم شدن: فعالیت انواع پکتولیتیک

- زیتون



فساد زاپاترا: پروپیونی باکتریوم
نرم شدن: ردوتورولا گلوتینیس با آنزیم پلی گالاکتوروناز
پوسته پوسته شدن: سلولومونا فلاویجنا



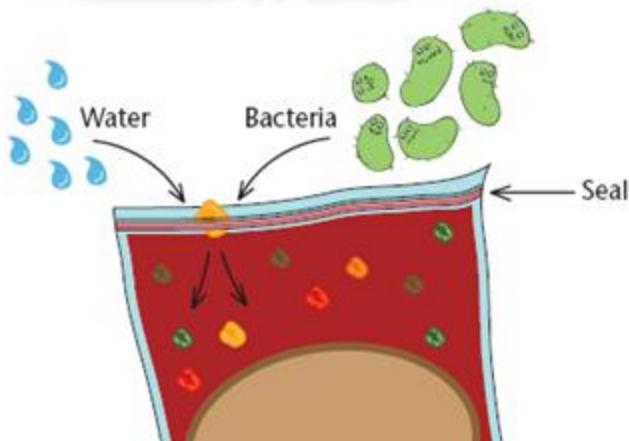
○ مایونز و سسهای سالاد
مخمر زیگوساکارومایسنس بیل
لاکتوباسیلوس برویس: متداولترین باکتری عامل فساد با تولید گاز



○ محصولات کنسروی
ترشیدگی مسطح: باسیلوس کواگولانس
باسیلوس استئاروتروموفیلوس

فساد سولفیدی: کلستریدیوم نیگریفیکانس

فساد مولد گاز: کلستریدیوم ترموساکارولیتیکوم



فساد نشتی یا تراوشی

خصوصیات برخی از مهمترین میکرووارگانیسمهای مطرح در فساد محصولات کنسروی

Spoilage organism	Type of spoilage	Process temperature °C	D _θ (minutes)	Z value °C	m	Type of product needing protection against spoilage by this organism
<i>C. botulinum</i> types A and B	Putrid swell	121	0.1–0.3	8.0–11.0	12	Low acid food pH 4.5
<i>C. sporogenes</i>	Putrid swell	121	0.8–1.5	9.0–11.0	5	Meats
<i>B. stearothermophilus</i>	Flat sour	121	4.0–5.0	9.5–10.0	5	Vegetables and milk
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	Hard swell	121	3.0–4.0	7.0–10.5	5	Vegetables
<i>B. subtilis</i>	Hard swell	121	0.4	6.5	6	Milk products
<i>B. coagulans</i>	Acidic	121	0.01–0.07	10.0	5	Foods of pH 4.2–4.5, e.g., tomatoes
<i>C. pasteurianum</i>	Butyric	100	0.1–0.5	8.0	5	Foods of pH 4.2–4.5, e.g., pears
<i>C. nigrificans</i>	Sulphur stinkers	--	2.0–3.0			Sugars and starch

○ فساد میوه ها و سبزیجات

-سبزیها

میزان آب بالای سبزیها، فساد باکتریایی را تشدید می کند
پتانسیل نسبتا بالای سبزیجات نیز باعث می شود که انواع عمدہ هوازی و بی هوازی اختیاری باشند

فساد نرم باکتریایی: اروینیا کاروتورا و سدوموناس مارجینالیس
تأثیر ثانویه برخی باسیلوس و کلستریدیوم پس از تاثیر انواع دارای قابلیت پکتولیتیک (قوام قارچی)

تولید ترکیبات فرار با طعم نامطلوب نظیر آمونیاک
اسیدی شدن محیط و فعالیت دکربوسیلازی برای تعدیل pH

اروینیا با قابلیت تامین انرژی از مقادیر اندک پروتئین در سبزیجات و تخمیر قندها و الکل های موجود
و رشد در دمای یخچال



فساد: اروینیا

بیماری: سدوموناس

زاناتاموناس کامپستریس: *citrus canker*

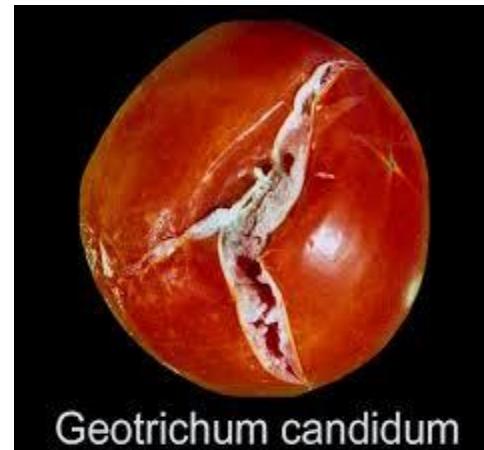
بوتریتیس سینرا: *gray mold rot*

کولتوتریشوم کوکودس: *crown rot* و آنتراکنوز (نقطه نقطه شدن) در آناناس و موز

جئوتريکوم کاندیدوم: *sour rot, watery soft rot*

رايزوپوس استولونيفر: *soft rot* نرم شدن و قوام قارچی

فيتوفورا اينفستنس: زنگ (فساد بازاری)



○ فساد میوه ها

pH و رطوبت باعث شده عامل اصلی فساد میوه ها قارچ ها باشند



گلابی استثناء است: اروینیا

مخمرها سرعت رشد بیشتر از کپکها
قابلیت استفاده از الكل ها و انواع کربوهیدراتها



○ فساد آبمیوه و کنسانتره میوه



مخمر و باکتری اسید لاکتیک

رطوبت کنسانتره، کپک

○ فساد گوشت و فراورده های گوشت

- گوشت تازه



فساد باکتریایی
عمدتا سطحی و همراه با تولید اسلایم (رشد توده باکتری
و ضعیف شدن ساختمان پروتئین)

تغییر رایحه و چسبندگی

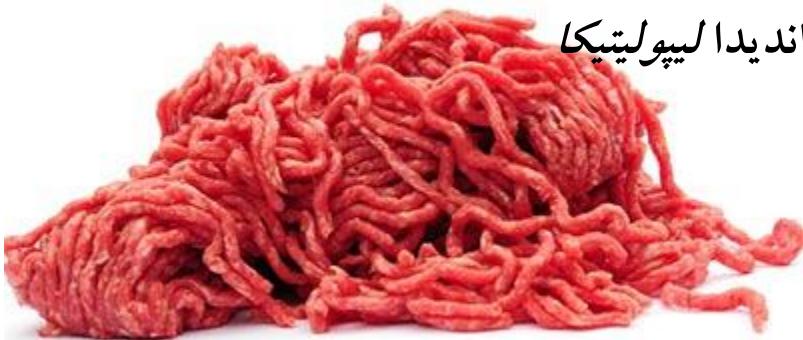


فساد قارچی
کلادوسپوریوم: لکه سیاه، پنیسیلیوم: لکه سبز،
اسپوروتریشوم و کریزوسپوریوم: لکه سفید

کپک زدگی گوشت در دمای کمتر از 5- درجه سانتیگراد
متوقف میشود

- گوشت چرخ شده

عمدتاً باکتریهای سایکروفیل گرم منفی و ندرتاً مخمر کاندیدا لیپولیتیکا



- لашه های برش خورده

کلستریدیوم و استرپتوکوکوس

رطوبت بالای یخچال، توسعه فساد باکتریایی مولد اسلامیم در گوشت (پتانسیل اکسیداسیون بالا و دما)

کاهش رطوبت سطحی یا استفاده از آنتی بیوتیکها: توسعه فساد قارچی

○ با فساد گوشت، ظرفیت آبگیری پروتئینهای گوشت افزایش می یابد.

○ از بین فلور میکروبی مولد فساد در گوشت، سدوموناس سریعترین رشد را در یخچال دارد.

○ گوشت‌های تیره، سفت و خشک دارای pH بیشتر و فلور میکروبی متفاوتی هستند.

- فساد جگر

وجود کربوهیدرات: مستعد تخمیر و کاهش pH در مقایسه با سایر فسادهای گوشت باکتریهای اسید لاتکتیک، فلور غالب (تطابق و رقابت پذیری) در بافت داخلی و سدوموناس در سطح



- گوشت بسته بندی شده در خلاء لاکتوباسیلها و باسیلوس (بروکوتیریکس) ترموسفاکتا (فاز کمون طولانی تر و رشد کندر)

استفاده از نیتریت سبب جلوگیری از رشد باسیلوس ترموسفاکتا شده و باکتریهای اسید لاتکتیک فلور غالب را تشکیل خواهند داد.

فرایند حرارتی باعث غیر فعال شدن آنزیم کاتالاز و باقی ماندن پراکسید هیدروژن شده که با رنگیزه گوشت پخته، رنگ سبز ایجاد می کند.

افزودن گلوکز به سطح گوشت در تغییر جمعیت میکروبی موثر است (بوم شناسی میکروبی)



- سوسیس

تنوع فلور میکروبی به واسطه تنوع مواد اولیه و رطوبت



- گوشت نمک سود شده
فساد کپکی
استرپتوکوکوس فکالیس (پنیری شدن بافت و ترشیدگی)

- گوشت طیور
تشکیل اسلامیم
فساد احشایی

افزایش قدرت آبگیری پروتئینها بیشتر از قدرت آبگیری گوشت قرمز در اثر فساد
تفاوت pH عضله ران و ماهیچه سینه مرغ و تاثیر آن بر فساد میکروبی

- فساد صدف ماهی
تولید اسلامیم: سدو موناس، اسیتوباکتر، موراکسلا
تاثیر دمای نگهداری در فلور میکروبی غالب مولد فساد

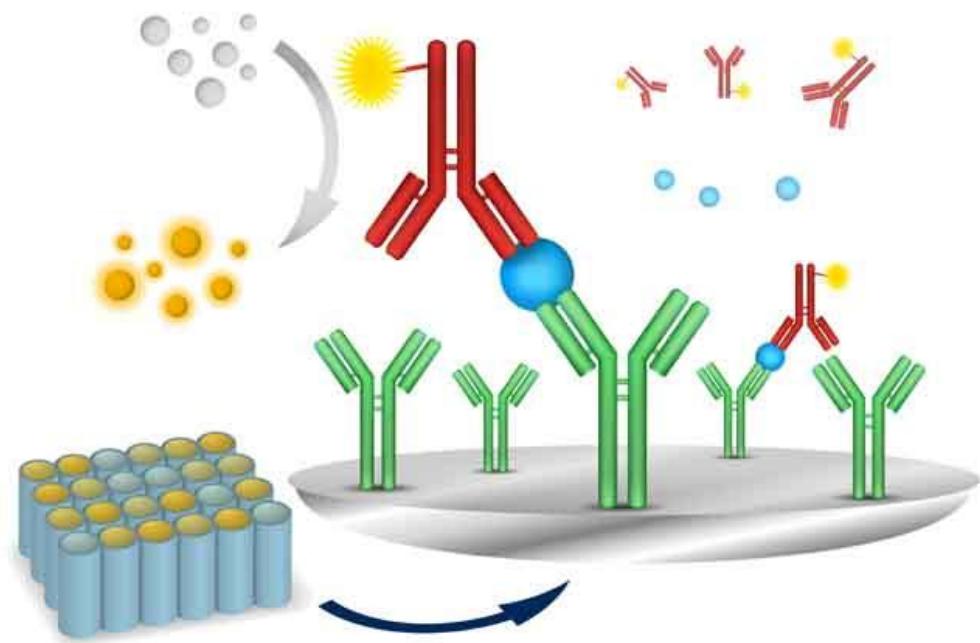
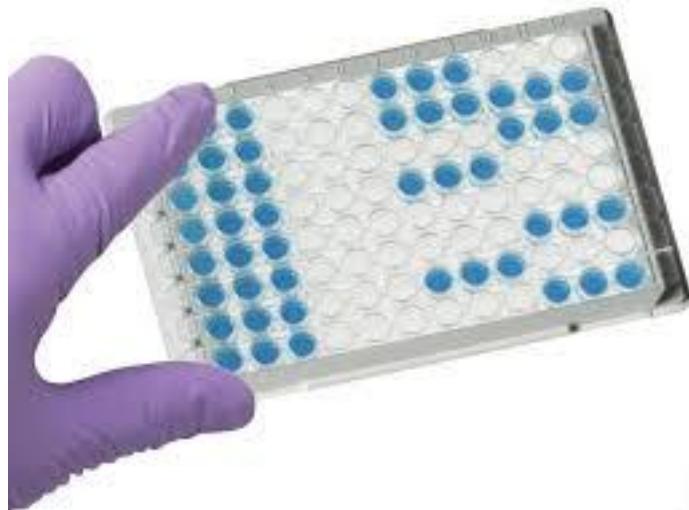


وجود کربوهیدرات: نوع فساد متفاوت

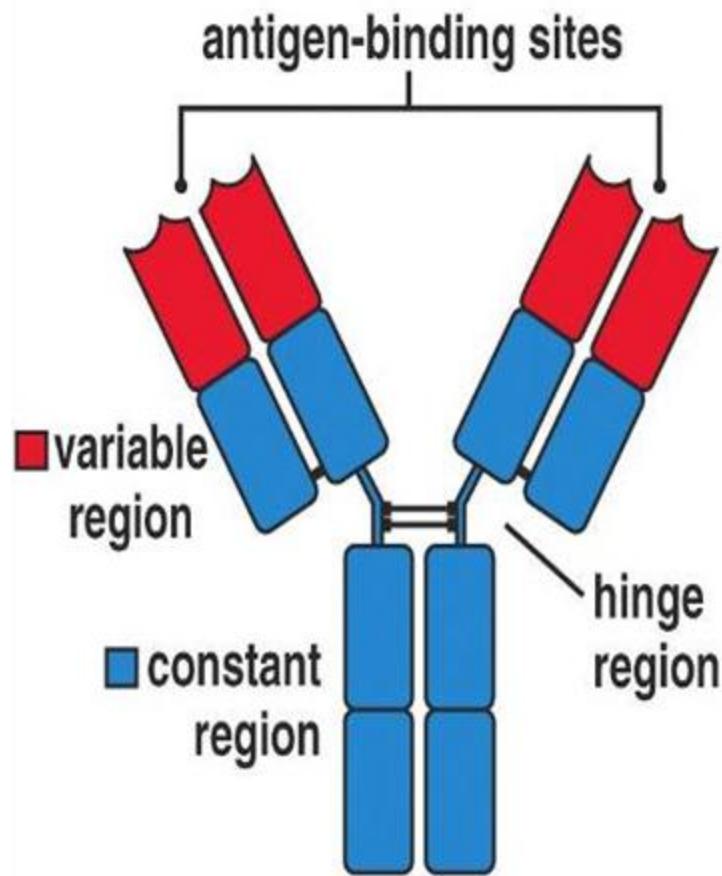
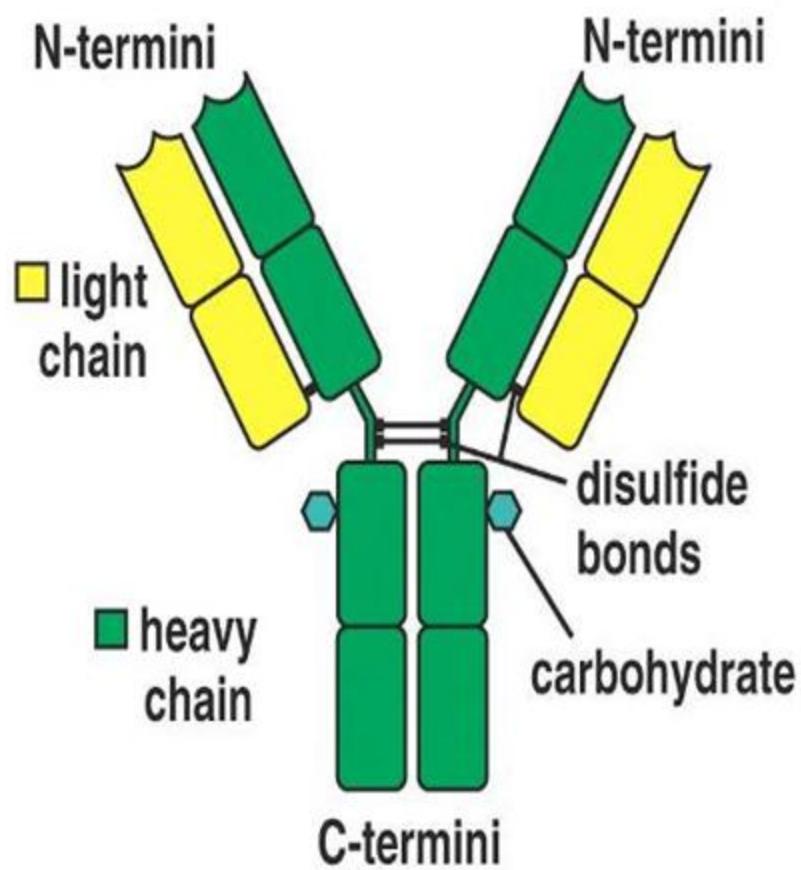
تعیین وضعیت میکروبی: اندازه گیری pH

□ الايزا (ELISA)

آنزیم متصل به آنتی ژن یا آنتی بادی

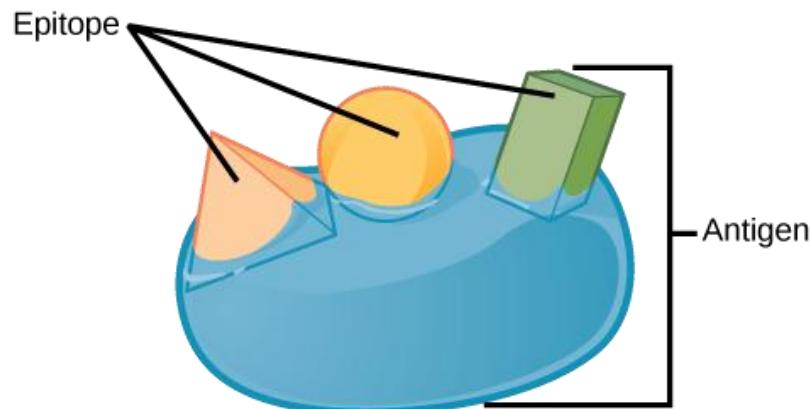
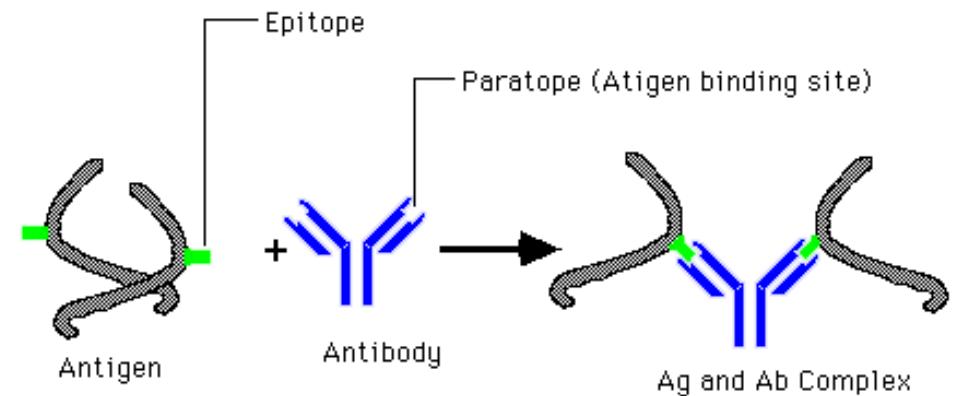


ساختار آنتی بادی



آنتی ژن

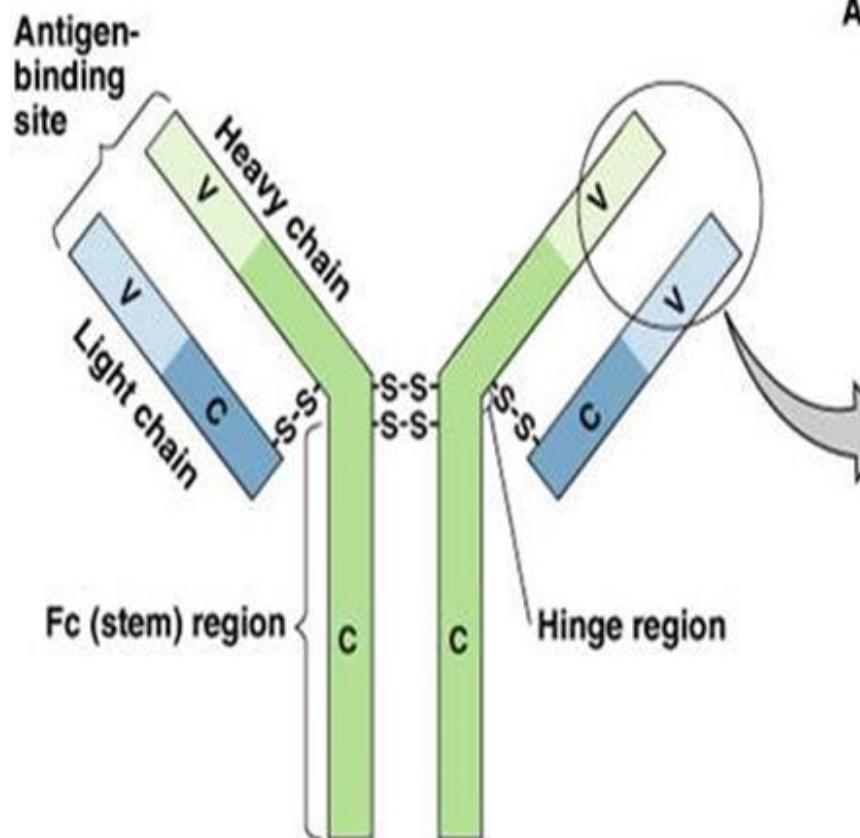
⦿ مولکولهایی که به صورت اختصاصی و از طریق شاخصهای آنتی ژنیک خود (Epitope) به شاخصهای آنتی بادی (Paratope) متصل می‌گردند.



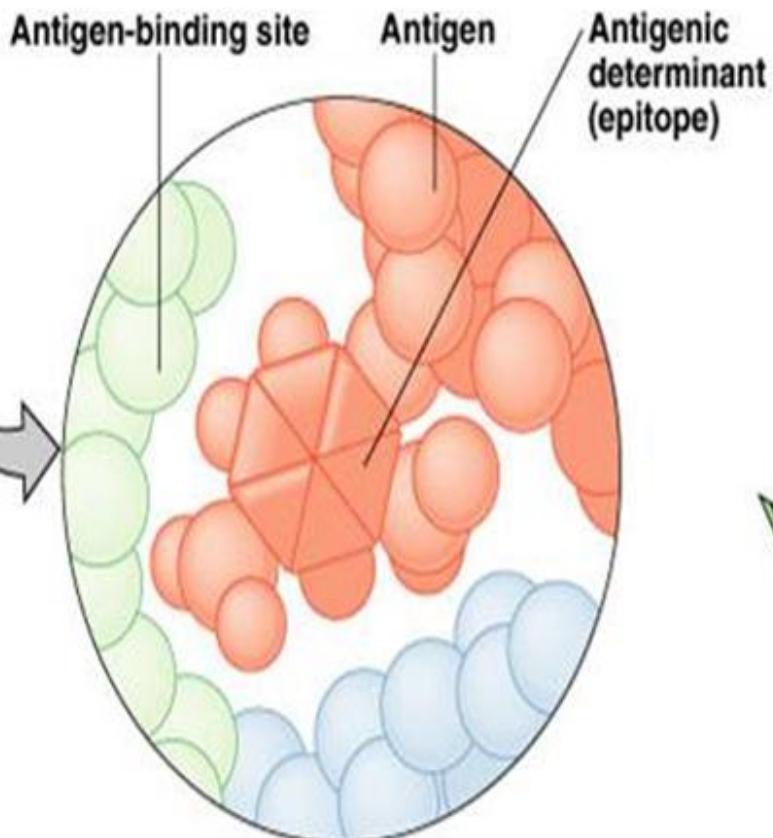
⦿ قدرت تحریک سیستم ایمنی توسط آنتی ژن:

- بیگانگی آنتی ژن برای میزبان
- اندازه آنتی ژن
- ساختار فضایی و پیوند شیمیایی مناسب

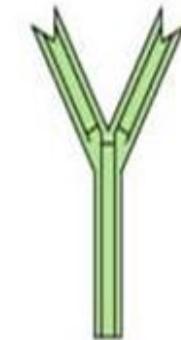
اتصال آنتی ژن و آنتی بادی



(a) Antibody molecule



(b) Enlarged antigen-binding site bound to an antigenic determinant



(c) Antibody symbol

مراحل مختلف اجرای الیزا برای اندازه گیری ترکیب مورد ردیابی (آنٹی ژن):

۱- کوتینگ (Coating):

عمل تثیت آنتی بادی یا آنتی ژن بر روی سطح جامد پلیت ۹۶ خانه ای از جنس پلی استیرن یا پلی وینیل کلراید



۲- شستشو (Washing):

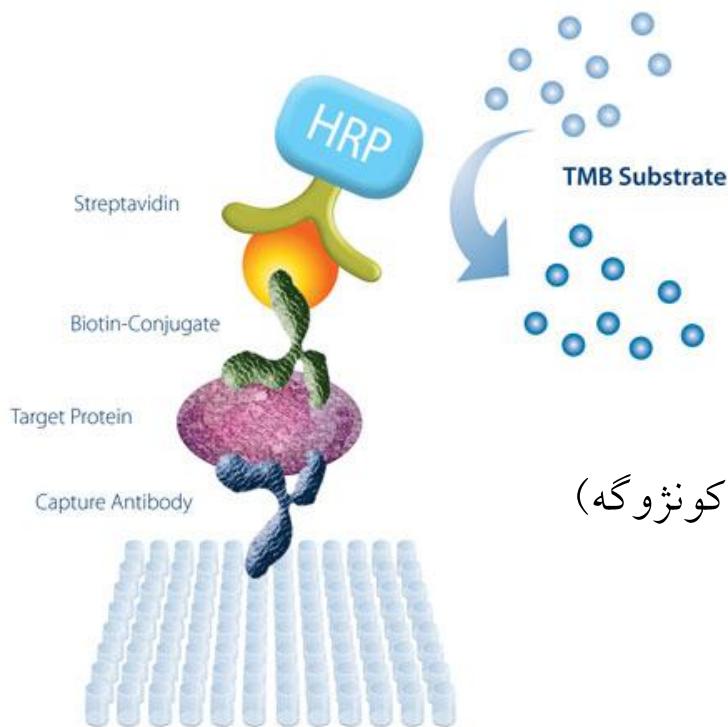
سه بار شستشو توسط محلول بافر فسفات سیلین $1/10$ مولار با $pH=7/4$ با هدف حذف واکنشگرهای آزاد



۳- بلاکینگ (Blocking):

با خالی ماندن برخی نواحی فاز جامد پس از کوتینگ، مکان مناسب برای اتصالات غیر اختصاصی در طول سنجش و تولید سیگنال کاذب و تداخل در سنجش فراهم می شود
(پر شدن فضای خالی با ترکیبات بلاک کننده)

۴- شستشو



۵- اضافه کردن نمونه

۶- انکوباسیون و انجام واکنش

۷- اضافه کردن آنتی ژن یا آنتی بادی نشان دار شده با آنزیم (کونژوگه)

۸- شستشو

۹- اضافه کردن نمایانگر (سوبسترای رنگزای آنزیم) که رایج ترین آن ترا متیل بنزیدین است



۱۰- اندازه گیری میزان جذب نوری با الایزا ریدر

COATING

Polystyrene plate is treated with a solution of either antigen or antibody.



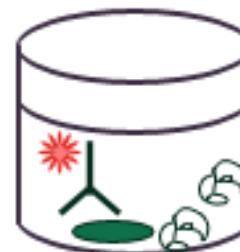
BLOCKING

An unrelated protein-based solution is used to cover all unbound sites on the plates



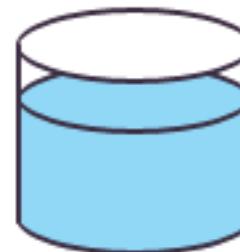
DETECTION

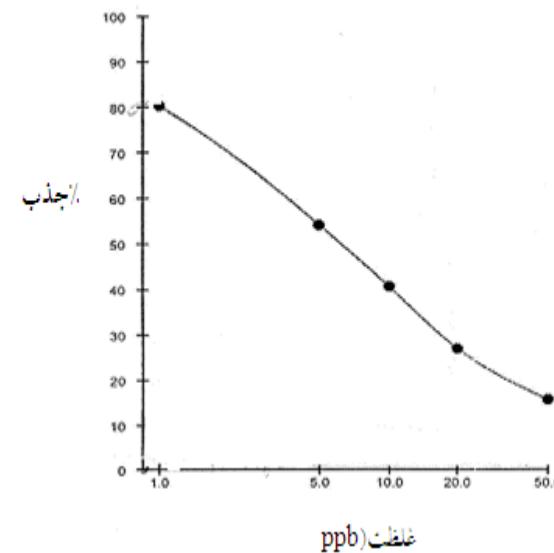
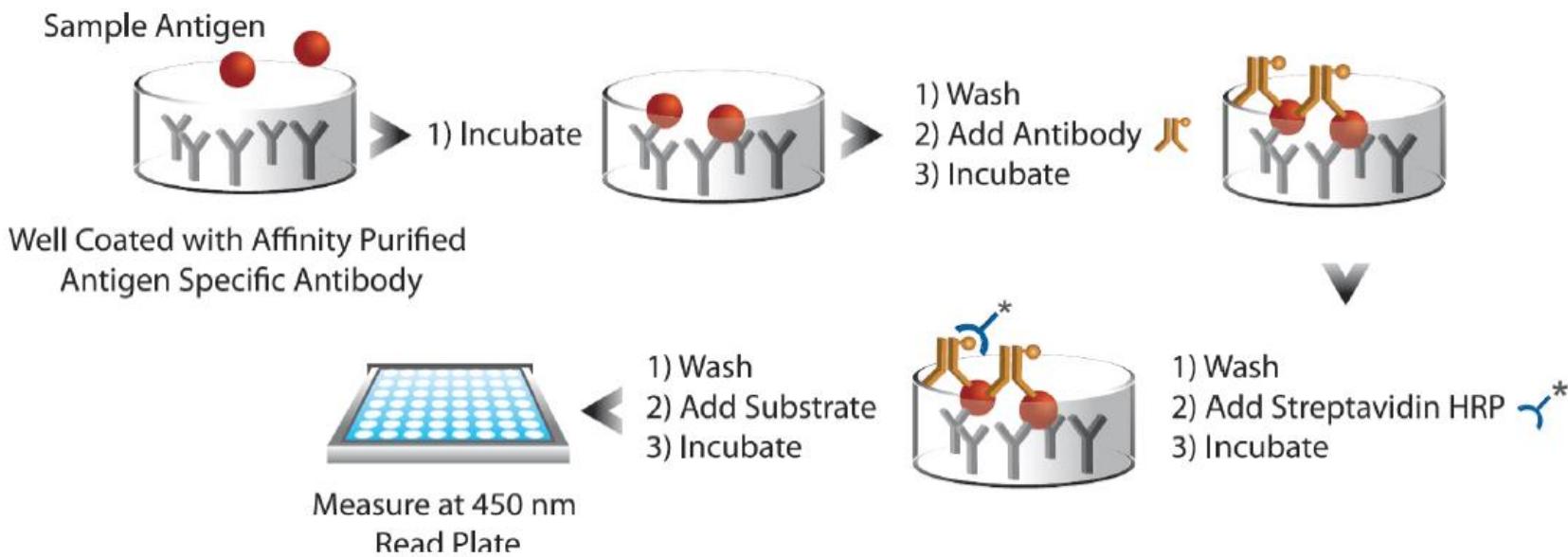
Enzyme-conjugated antibody or antigen binds specifically to the target antigen or antibody



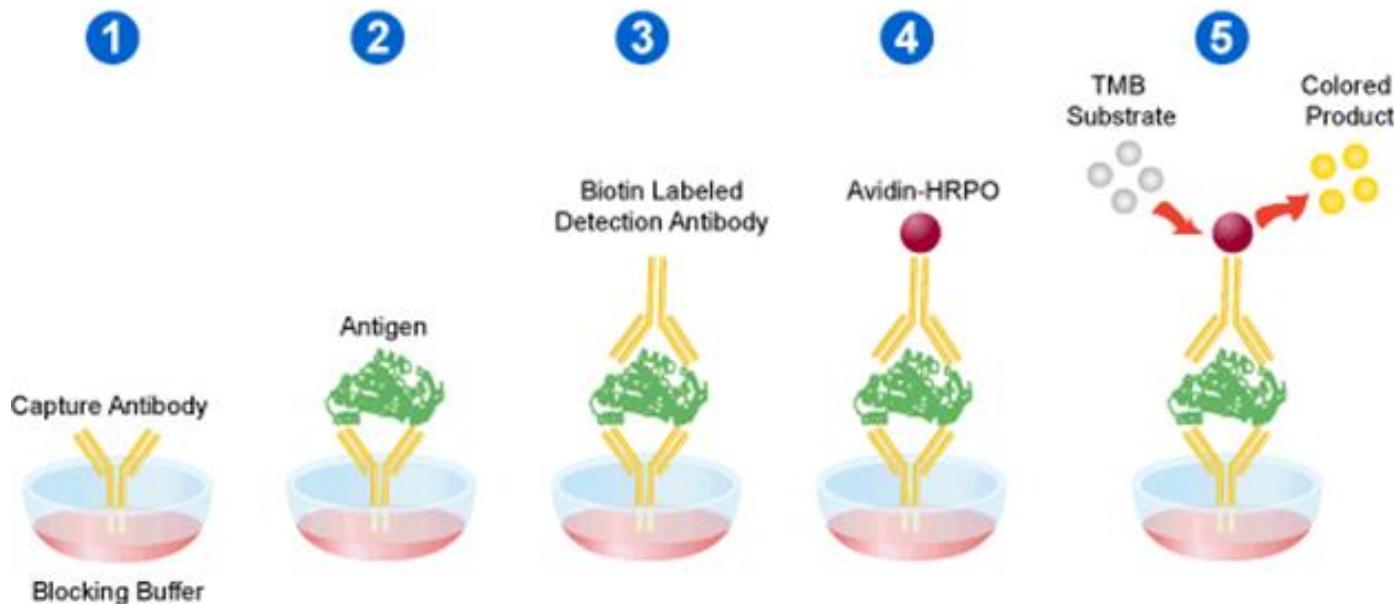
READ RESULTS

Substrate is added and the signal produced by the enzyme-substrate reaction is measured





Sandwich ELISA



- 1** a.) Plate is coated with a suitable capture antibody. b.) Blocking buffer is added to block remaining protein-binding sites on plate.
- 2** Sample is added to plate and any antigen present is bound by the capture antibody.
- 3** A suitable biotin labeled detection antibody is added to the plate and also binds to any antigen present in well.
- 4** UltraAvidin™-HRPO (*Leinco Prod. No. A106*) is added and binds the biotin labeled detection antibody.
- 5** TMB substrate (*Leinco Prod. No. T118*) is added and converted by HRPO to a detectable form.