واحد علوم تحقیقات تهران

درس : میکروبیولوژی مواد غذایی

استاد : دکتر انوشه شریفان

زمستان 1389

عوامل موثر بر رشد سلول های میکروبی

الف : عوامل داخلی «خصوصیات و ویژگی های ماده غذایی»

A-pH «نشان دهنده اسیدی و قلیایی بودن ماده غذایی»

اکثر M.O برای فعالیت محدوده خنثی pH را انتخاب می کنند . به طور کلی از جهت حساسیت نسبت به تغییرات pH ، اول باکتریها بعد مخمر ها و بعد کپک ها هستند .«تغییرات pH منظور اسیدی شدن محیط است .» در بین باکتریها ، باکتریهای پاتوژن حساسیت بیشتری نسبت به تغییرات pH دارند .

در برخی از موارد مشاهده می شود حضور برخی ترکیبات شیمیایی می تواند بر مقاومت M.O موثر باشد ، به عنوان مثال باکتری استرپتوکوکوس فکالیس در حضور غلظت 0.2 مولار NaCl می تواند بر مقاومت M.O موثر باشد و موجب می شود دامنه وسیعتری از pH را تحمل کند .اگر چه اکثر باکتریها نسبت به تغییرات pH حساسند اما برخی از آنها که سوخت و ساز دارند و اسید تولید می کنند می توانند pHهای پایین را تحمل کنند . به عنوان مثال می توان به لاکتیک اسید باکتریا که یک خانواده باکتریایی است و نیز باکتریهای خانواده استوباکتریاسه اشاره کرد .

pH مواد غذایی :

حضور برخی ترکیبات مانند عوامل پروتئینی در مواد غذایی سبب می شود تغییرات ناگهانی pH صورت نگیرد ، در واقع ترکیبات پروتئینی مانند عوامل تامپون یا بافر عمل می کنند . pH میوه ها و سبزیجات با یکدیگر متفاوت است . میوه جات pH اسیدی در حالی که سبزیجات pH بالاتری دارند ، بنابراین سبزیجات به راحتی مورد حمله باکتریها قرار می گیرند ، در حالی که کپک ها و مخمر ها از میوه جات استفاده می کنند.

pH گوشت :

pH گوشت قرمز بسیار نزدیک به محدوده خنثی است . پس از ذبح دام به دلیل نرسیدن اکسیژن به بافت ها به دلیل قطع جریان خون واکنش ها بی هوازی در جهت تولید ATP انجام می شود . ضمن انجام این واکنش ها «گلیکولیز بی هوازی » قند گلیکوژن ذخیره شده در عضلات به اسید لاکتیک تبدیل می شود و موجب کاهش pH گوشت می شود . هر قدر میزان قند گلیکوژن در عضلات بیشتر باشد pH گوشت بیشتر کاهش می یابد و ماندگاری آن طولانی تر می شود . از عواملی که موجب افزایش میزان قند گلیکوژن می شود می توان به نژاد دام ، سن دام ، میزان استرس و خستگی دام اشاره کرد ، گوشت دامهای خسته زودتر فاسد می شود .pH گوشت ماهی نسبت به بقیه اقلام گوشت بیشتر است ، دلیل آن را می توان به پایین بودن ذخیره گلیکوژن ضمن درگیری سید و صیاد و نیز آزاد شدن عوامل آمینی ضمن نگهداری گوشت ماهی مرتبط دانست .

pH تخم مرغ :

pH سفیده تخم مرغ 7-7.6 است که در اثر نگداری به دلیل تصاعد گاز Co_2 pH آن افزایش یافته و به حدود 9 می رسد ، pH زرده تخم مرغ 6-6.3 است.

اثر تغییرات pH بر رشد سلول های میکروبی

تغییرات pH از سه جهت می تواند بر رشد M.O موثر باشد :

1- اثر بر ترکیب محیط کشت :

قابل استفاده بودن ترکیبات محیط کشت در بسیاری از موارد وابسته به تعادل یونی موجود در محیط است در این مورد می توان به برخی یونهای فلزی اشاره کرد به عنوان مثال یون منیزیم در pH اسیدی به شکل یک ترکیب کمپلکس و پیچیده تغییر شکل داده و از دسترس M.O خارج می شود . یونهای آهن ، کلسیم و روی نیز در pH های قلیایی دچار تغییرات می شوند ، از آنجایی که این یونهای فلزی اغلب به عنوان کوفاکتور آنزیمها مورد استفاده قرار می گیرند ، فقدان آنها می تواند متابولیسم M.O ها را تحت تأثیر قرار دهد .

2- اثر بر قابلیت نفوذ پذیری انتخابی غشای سلول :

در pH های اسیدی تراکم یون H^+ در محیط کشت و در اطراف سلول های میکروبی ، نقل و انتقال کاتیون های ضروری را مختل می کند ، این اتفاق در pH قلیایی در مورد انتقال آنیونهای ضروری مشاهده می شود .

3- اثر بر فعالیت های آنزیمی :

کلیه آنزیمها دارای ساختار پروتئینی می باشند و مانند سایر ترکیبات پروتئینی برای فعالیت به دامنه مشخصی از pH نیازمندند . افزایش یا کاهش pH از این دامنه می تواند سبب ایجاد اختلال در فعالیت های آنزیمی گردد . مقاومت آنزیم های مختلف در برابر تغییرات pH با یکدیگرمتفاوت است ، معمولاً هیدرولازهای خارج سلولی نسبت به آنزیم های سیتوپلاسمیک مقاومت بیشتری نسبت به تغییر pH دارند .

بر خی از M.O های مقاوم به دلیل تولید متابولیت های ویژه می توانند تغییرات pH را بهت تحمل کنند به عنوان مثال می توان به تولید آنزیم آمینو اسید دکربوکسیلاز توسط برخی سلولهای میکروبی اشاره کرد این آنزیم با حذف عامل کربوکسیل از اسید های آمینه آن را به ترکیبی قلیایی تبدیل نموده و سبب افزایش pH در اطراف سلول میکروبی می گردد و در مقابل آنزیم آمینو اسید دآمیناز که توسط برخی سلولهای میکروبی تولید و ترشح می شود .با حذف عامل آمینی می تواند pH را در اطراف سلول میکروبی کمی کاهش دهد ، بر خی از

M.O ها قادر به احیا کردن اسید های موجود در محیط و تولید الکل می باشند و برخی با انجام فرایند اکسیداسیون ترکیبات الکلی موجود در محیط را به اسید تبدیل می کنند .

B- فعالیت آبی aw :

حضور آب برای انجام فعالیت های میکروبی ضروری است به این دلیل که :

1- آب حلال اجزای مغذی است ، بسیاری از ترکیبات غذایی لازم است به صورت محلول به درون سلول انتقال یابند همچنین حضور آب جهت انجام فعالیت های آنزیمی و نیز انجام برخی از واکنش های بیوشیمیایی ضروری است به طور کلی آب یکی از عوامل شرکت کننده در واکنش های شیمیایی و بیوشیمیایی است در این مورد می توان به هیدرولیز اشاره کرد .

$$aw = n2/(n1 + n2)$$

n2 = مولکول های حلال / n1 = مولکول های جسم حل شده

احتیاجات آبی M.O های مختلف با یکدیگر متفاوت است از نظر نیازهای آبی اول باکتریها G^- بعد باکترهای G^+ و بعد قارچها هستند .

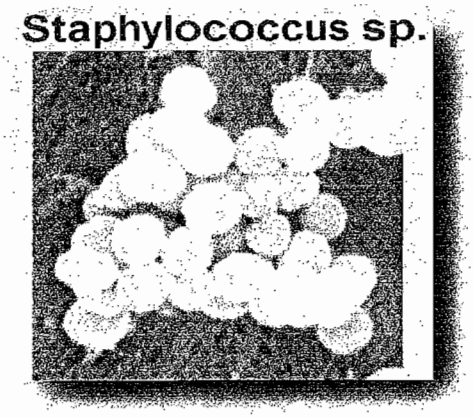
با روشهای مختلف می توان میزان a_w یا آب آزاد را در مواد غذایی کاهش داد به عنوان مثال می توان به استفاده از ترکیبات آب دوست یا هیدروفیل اشاره کرد مانند انواع قند ها ترکیباتی مانند پکتین ، آگار و سایر صمغ ها ، الکل ها و پروتئین ها که قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با مولکول های آب هستند ، همچنین از آنجاییکه مولکولهای آب آزاد با اجزای جامد موجود در ماده غذایی درگیری و اتصال ندارند به راحتی ضمن تبخیر از ماده غذایی جدا می شوند ، همچنین ضمن انجماد به راحتی به کریستال یخ تبدیل شده و از ماده غذایی خارج میگردد .

رشد M.O ها در هر درجه حرارتی با کاهش a_w کاهش می یابد . اما میکروب ها اغلب در درجه حرارت بهینه رشد خود دامنه وسیع تری از تغییرات a_w را تحمل می کنند .

یکی از دلایل نیاز M.O ها به آب در محیط های کشت فعالیت های آنزیمی سلولها می باشد . در محیط هایی که میزان آب آزاد بسیار ناچیز است تحرک مولکولها به کندی صورت گرفته و دسترسی آنزیم به سوبسترا امکان پذیر نمی باشد حضور برخی از ترکیبات شیمیایی نظیر NaCl علاوه بر کاهش a_w در محیط کشت

ممکن است سبب خروج آب از درون سلولهای میکروبی گردد که در این صورت فعالیت های آنزیمی متوقف شده و حیات سلول تحت تأثیر قرار می گیرد .

برخی از M.O ها که نسبت به شرایط کم آبی مقاوم می باشند در مواجهه شدن با این شرایط اقدام به تولید برخی متابولیت های آب دوست می کنند ، به عنوان مثال می توان به تولید اسید آمینه پرولین توسط باکتری استافیلوکوکوس اشاره کرد . تولید این ترکیبات می تواند از خروج یا کاهش آب درون سلول و یا اطراف سلول میکروبی جلوگیری کند .



C- پتانسیل اکسیداسیون و احیا Eh :

توانایی مواد در گرفتن ویا از دست دادن الکترون می تواند سبب ایجاد اختلاف پتانسیل الکتریکی به دلیل نقل و انتقال الکترون در مواد غذایی گردد . اختلاف پتانسیل ایجاد شده در مواد غذایی قابل اندازه گیری است و بر حسب میلی ولت بیان می شود .

در صورت کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیا در مواد غذایی زمینه برای فعالیت M.O های بی هوازی مناسب تر می شود و در مقابل زمانی که ترکیبات احیا کننده در ماده غذایی موجود نباشد زمینه برای فعالیت میکروبهای هوازی مناسب تر است در این شرایط پتانسیل اکسیداسیون و احیا افزایش می یابد .

از عوامل احیا کننده در مواد غذایی می توان به اسید آسکوربیک ، توکوفرول و سایر ترکیبات آنتی اکسیدان ، همچنین برخی قند های احیا کننده اشاره کرد . ترکیبات سولفیدریل یا گوگردی در گوشت می تواند در گروه ترکیبات احیا کننده قرار گیرد ، افزایش میزان میزان ترکیبات فوق ممکن است زمینه را برای فعالیت M.O های بی هوازی فراهم کند .

از عواملی که می تواند رشد و فعالیت M.O های هوازی را تسریع کند می تواند به اکسیژن موجود در روزنه گیاهان اشاره کرد .

علت اینکه برخی از M.O به اکسیژن نیازمنده بوده در حالی که برخی دیگر در حضور اکسیژن غیر فعال می گردند «بی هوازی مطلق» را می توان چنین توجیه کرد : M.O های هوازی در مسیر متابولیکی خود به اکسیژن به عنوان گیرنده نهایی اکترون نیازمندند در حالی که در M.O های بی هوازی یک ترکیب آلی به جای اکسیژن می تواند دریافت کننده نهایی اکترون باشد . در عین حال ممکن است در حضور اکسیژن برخی ترکیبات ضد میکروبی تولید گردد از جمله این ترکیبات می توان به آب اکسیژنه اشاره کرد . M.O های هوازی دارای آنزیم های لازم جهت شکسته شدن این ترکیبات هستند به عنوان مثال کاتالاز و پراکسیداز در اکثر سلولهای هوازی تولید می شوند .

چنانچه جمعیت M.O های هوازی در ماده غذایی زیاد باشد به تدریج ذخیره اکسیژن در ماده غذایی به پایان رسیده و پتانسیل اکسیداسیون و احیا محیط کاهش می یابد ، در مواردی مشاهده می شود که علی رقم کاهش پتانسیل اکسیداسین و احیا رشد M.O های هوازی چندان دستخوش تغییر نشده است . علت این امر آن است که اکثر M.O های هوازی قادر به استفاده از ظرفیت اکسیژن دهی و الکترون گیری ترکیبات موجود در ماده غذایی می باشند .

D- ترکیبات مغذی :

M.O ها جهت رشد و نمو به ترکیبات غذایی نیازمندند به همین دلیل مواد آلی و معدنی مختلف را از محیط جذب می کنند . زیستگاههای سلول های میکروبی متفاوت است به عبارت دیگر می تواند M.O ها را در آب ، خاک ، بدن انسان ، جانداران «حیوانات» ، گیاهان ، مواد غذایی ، ترکیبات آلی در حال تجزیه و... مشاهده کرد . علت این تفاوت متغیر بودن نیازهای غذایی میکروبها توانایی بیوسنتز توسط برخی از سلولهای میکروبی می باشد . بطور کلی رشد و نمو عبارتست از افزایش منظم اجزا و ترکیبات سلولهای زنده ، چنانچه سلول زنده یک جاندار پر سلولی باشد این افزایش منجر به افزایش ابعاد و چنانچه تک سلولی باشد منجر به افزایش افراد یا تعداد سلولها می گردد ، در مورد M.O های تک سلولی مانند باکتری ها و مخمر ها رشد مترادف تکثیر است .

به طور کلی مواد غذایی مورد نیاز سلولهای میکروبی به سه دسته تقسیم می شوند :

1. مواد غذایی انرژی زا که انرژی لازم جهت انجام فعالیت های حیاتی را تأمین می کنند .
2. مواد غذایی ساختمانی که عناصر لازم جهت ساخته شدن اجزا و اندامک های درون سلول را تامین می کنند .
3. مواد غذایی ویژه یا هورمون ها یا عوامل رشد .

E- عوامل رشد «هورمونها»

ترکیباتی هستند که M.O ها به آن نیازمند بوده اما قادر نیست با دریافت عناصر ساده و سازنده آنها از محیط این ترکیبات را بسازد ، بلکه لازم است ترکیبات فوق به صورت آماده و پیش ساخته در محیط کشت در اختیار سلولهای میکروبی قرار گیرد ، در این مورد می توان به برخی از اسید های آمینه و ویتامین ها اشاره کرد .

چنانچه غلظت یک عنصر در سلول بیش از 10^{-4} Mol/l برسد به این عنصر عنصر پر مقدار یا Macronutrient گفته می شود .

چنانچه غلظت عنصری کمتر از 10^{-4} Mol/l باشد اصطلاحاً عنصر کم مقدار یا Micronutrient گفته می شود . از عناصر پر مقدار مورد نیاز سلولهای میکروبی می توان به 6 عنصر O , N , H , C , P , S اشاره کرد و در بین فلزات به K و Mg اشاره کرد .

کربن C :

فراوان ترین عنصر موجود در طبیعت بوده در ساختمان تمام ترکیبات آلی شرکت می کند بیشترین عنصر مورد نیاز سلولهای میکروبی در محیط کشت می باشد .

اکسیژن و هیدروژن O & H :

اکسیژن و هیدروژن در ساختمان آب و برخی ترکیبات آلی شرکت می کند

نیتروژن N :

نیتروژن از عناصر شرکت کننده در ساختمان اسید های آمینه و آنزیم ها و اسید نوکلئیک می باشد .

فسفر P :

فسفر از عناصر سازنده فسفولیپید ها در غشای سلول و از عناصر سازنده اسید نوکلئیک می باشد

گوگرد S :

گوگرد از عناصر شرکت کننده در ساختمان برخی اسید های آمینه و آنزیم ها می باشد .

M.O ها بطور کلی از دو منبع بزرگ انرژی استفاده می کنند ، اول منبع نور و انرژی خورشید «مانند برخی جلبک ها» دوم انرژی حاصل از ترکیبات شیمیایی در این صورت به M.O شیمی گرا یا Chemo Troph گفته می شود . چنانچه منبع کربن یک ترکیب آلی باشد به M.O Chemo Organotroph گفته می شود .

و چنانچه یک منبع معدنی باشد Chmeo Litotroph گفته می شود . در مواد غذایی بیشتر عمدتاً M.O های Chemo Organotroph دیده می شوند .

نیازهای غذایی M.O مختلف متفاوت است از نظر احتیاجات غذایی اول باکتری های G^+ بعد باکتری های G^- بعد مخمر ها و بعد کپکها . به عبارت دیگر قارچها و باکتری های G^- قادر به سنتز برخی ترکیبات غذایی مورد نیاز خود می باشند در این مورد می توان به ویتامین های بکمپلکس اشاره کرد .

به طور کلی M.O ها ترکیبات ساده تر را با سهولت بیشتری مورد استفاده قرار می دهند به عنوان مثال قند های ساده نسبت به پلی ساکارید ها به مراتب راحت تر مورد استفاده قرار می گیرند ، در مورد پروتئین ها در اکثر موارد اسید های آمینه نسبت به پروتئین ها و پپتید ها با سرعت بیشتری مورد استفاده قرار می گیرند ، اما موارد استثنایی نیز مشاهده می شود .به عنوان مثال باکتری استرپتوکوکوس فکالیس به اسید آمینه آرژنین نیازمند است . دو محیط کشت جهت رشد این M.O تهیه شده است که ترکیبات کاملاً مشابهی داشتند در محیط کشت اول اسید آمینه آرژنین و در محیط دوم پپتید های حاوی این اسید آمینه قرار داده شده است . بر خلاف تصور باکتری در محیط دوم راحت تر رشد کرده است علت این امر این است که در پوشش های سلولی باکتری فوق آنزیم آرژنین دهیدروژناز وجود دارد بنابراین قبل از آنکه اسید آمینه آرژنین به درون سلول منتقل گردد تحت تأثیر این آنزیم تغییر شکل می یابد . این در حالی است که آنزیم فوق بر پپتید حاوی این اسید آمینه بی اثر می باشد .«جایگاه فعال آنزیم Active Site شکل ویژه ای داشته و تنها بر سوبسترا و یا مواد اولیه ویژه ای موثر است » .

عوامل داخلی موثر بر رشد سلول های میکروبی :

ترکیبات ضد میکروبی Anti Microbial :

مقاومت برخی از مواد غذایی در برابر M.O ها به دلیل ترکیبات ضد میکروبی است که در آنها وجود دارد این ترکیبات در 3 مورد قابل بررسی است .

1. ترکیبات ضد میکروبی که به طور طبیعی در مواد غذایی وجود دارند مثل اسید میوه جات ، ترکیبات قندی در عسل ، لیزوزیم در سفیده تخم مرغ و ترکیبات ضد میکروبی در ادویه جات اشاره کرد .
2. ترکیبات ضد میکروبی که ضمن فرآوری یا نگهداری مواد غذایی تولید می شوند مثل : تولید اسید لاکتیک ضمن فرآوری ماست .
3. ترکیباتی که به طور عمدی به منظور جلوگیری از رشد سلولهای میکروبی به عنوان افزودنی مورد استفاده قرار می گیرند که از آن جمله می توان به اسید پروپیونیک ، اسید بنزوئیک و غیره اشاره کرد .

ساختمان بیولوژیک :

پوشش طبیعی برخی مواد غذایی می تواند به طور طبیعی از نفوذ M.O ها به داخل ماده غذایی جلوگیری کرده و به این ترتیب مانع فساد محصول غذایی گردد . به عنوان مثال می توان به پوشش سخت دانه های روغنی ، پوسته میوه جات و حتی پوسته نازک تخم مرغ اشاره کرد . پوست نازک و ظریفی که در سطح خارجی گوشت در نتیجه خشک شدن سطحی ایجاد می گردد می تواند مانع نفوذ M.O ها گردد .

سینرژیسم و آنتوگونیسم Synergism & Antagonism :

M.O ها ضمن رشد و نمو خود ویژگی های فیزیکی و شیمیایی ماده غذایی را تغییر می دهند . در نتیجه این تغییرات ممکن است زمینه برای فعالیت برخی M.O ها مناسب شده و از فعالیت برخی دیگر جلوگیری شود چنانچه رشد و فعالیت یک میکرو ارگانیسم سبب تقویت رشد M.O دیگر گردد به این رابطه سینرژیسم گفته می شود به عنوان مثال باکتریهای خانواده اسید لاکتیک با تولید اسید می توانند زمینه را برای فعالیت سایر باکتریهای این خانواده و نیز M.O مقاوم به تغییرات pH مناسب کند در مقابل با تولید اسید از رشد و فعالیت بسیاری از باکتریهای پاتوژن و عوامل حساس به تغییرات pH جلوگیری می شود که به این رابطه اصطلاحاً آنتوگونیسم گفته می شود .

عوامل خارجی موثر بر رشد سلول های میکروبی :

1. درجه حرارت
2. رطوبت نسبی
3. غلظت و نوع گازهای موجود در اتمسفر

درجه حرارت :

از نظر نیازهای حرارتی M.O ها به سه دسته تقسیم می شوند :

سرمادوست یا سایکروفیل Psychrophil : درجه حرارت بهینه آنها 15 تا 20 C^o حداقل صفر و حداکثر 25 C^o مانند : کپک ها

مزوفیل : درجه حرارت بهینه آنها 30 C^o، حداقل 15 و حداکثر 40 C^o مانند : پاتوژن های غذایی

ترموفیل : درجه حرارت بهینه آنها 55 C^o ، حداقل 37 و حداکثر 65 C^o می باشد . این M.O ها قادرند درجه حرارت پاستوریزاسیون اکثر مواد غذایی را تحمل کنند .

اصطلاح Autostrilization در مورد M.O های ترموفیل به کار برده می شود به این دلیل که این M.O ها ضریب رشد و تکثیر بالایی داشته و در مدت زمان نسبتاً کوتاهی مراحل مختلف رشد را طی کرده تا در نهایت وارد فاز مرگ گردد از آنجا که تعداد این سلول ها پس از مدتی کاهش می یابد اگر تنها M.O موجود در ماده غذایی این باکتریها باشند می توان گفت ماده غذایی تا اندازه ای به طور خود به خود استریل شده است .

دلیل تفاوت بین M.O های گرما دوست و سرما دوست تفاوت در ساختار آنها است . به عنوان مثال چربی های موجود در غشای سلول از نظر تعداد پیوند های غیر اشباع و طول زنجیره با یکدیگر متفاوتند مثلاً در سرما دوست ها اسید های چرب حالت غیر اشباع دارند . به همین دلیل نقطه ذوب و انجماد متفاوتی دارند همچنین کلیه اندامک های درون سلول و میکروبهای گرما دوست و سرمادوست از نظر مقاومت حرارتی متفاوتند به عنوان مثال ریبوزوم ها ، تاژک ها ، آنزیم ها و اسید های نوکلئیک در سلول های گر مادوست مقاومت حرارتی بالایی دارند .

دلیل مقاومت و تفاوت آنزیم های موجود در ساختار سلول های گرمادوست حضور پروتئین های محافظت کننده ، وجود یون کلسیم زیاد و وجود برخی اسید های آمینه هیدروفوب مانند فنیل آلانین ، متیونین و پرولین می باشد .

جهت تعیین ضابطه استرلیزاسیون یا پاستوریزاسیون مواد غذایی پارامترهایی مانند D-Value مورد ارزیابی قرار می گیرد . برای محاسبه D-Value در مورد یکM.O مشخص مانند باسیلوس استئاروترموفیلوس ، ابتدا باکتری فوق را در یک محیط کشت مناسب کشت داده پس از گرمخانه گذاری در زمان و درجه حرارت مناسب و تشکیل کلنی ها در سطح کشت ، مقداری آب مقطر استریل به سطح محیط کشت اضافه کرده و به کمک یک میله شیشه ای کلنی ها را به داخل آب مقطر وارد می کنیم ، سوسپانسیون میکروبی که به دست می آید در لوله های آزمایش استریل توزیع می شود پس از شمارش سلول های میکروبی و تعیین تعداد دقیق آنها در هر لوله انتهای لوله ها در مجاورت شعله مسدود و سپس به حمام آب گرم منتقل می کنیم . در فواصل زمانی مشخص تعداد سلولهای زنده شمارش شده و با رسم منحنی TDT میزان D-Value محاسبه می شود که عبارتست از : مدت زمان لازم بر حسب دقیقه که تعداد سلول های زنده «اسپور زنده» 90٪ کاهش می یابد یا به 0.1 تعداد اولیه خود می رسند.

باید توجه داشت که محاسبات فوق در محیط های کشت آزمایشگاهی بدست آمده است و ممکن است با اعداد موجود جهت استرلیزاسیون و پاستوریزه کردن مواد غذایی کمی متفاوت باشد ، دلیل این مسئله محافظت ترکیبات شیمیایی موجود در ماده غذایی از M.O ها در برابر حرارت می باشد . به عنوان مثال کربوهیدرات ها و پروتئین ها می توانند در مجاورت حرارت به ژل تبدیل شوند و M.O ها را محبوس کنند ، همچنین چربی ها مانع رسیدن اثر حرارت مرطوب به سلولهای میکروبی می گردند با توجه به اینکه اثر کشندگی حرارت مرطوب

بیشتر از حرارت خشک است وجود مقدار قابل توجه چربی در ماده غذایی می تواند سبب افزایش مقاومت حرارتی M.O گردد به همین دلیل مواد غذایی دارای قند و چربی زیاد به شرایط متفاوتی برای فرایند حرارتی نیاز دارند به عنوان مثال پاستوریزاسیون بستنی با شیر متفاوت است .

رطوبت نسبی :

چنانچه یک ماده غذایی بدون پوشش وبسته بندی مناسب در شرایط محیط قرار بگیرد تمایل دارد که از نظر رطوبتی با محیط اطراف به تعادل برسد چنانچه میزان a_w در ماده غذایی کم باشد از محیط آب جذب می کند ، در مقابل بخشی از آب مواد غذایی مرطوب تبخیر می گردد . یکی از محیط هایی که دارای رطوبت نسبی بالایی می باشد محیط یخچال می باشد . فساد ایجاد شده در اکثر مواد غذایی که در محیط هایی با رطوبت نسبی بالا نگهداری می شوند فساد سطحی است .

نوع و غلظت گاز های موجود در اتمسفر :

جهت جلوگیری از رشد M.O های هوازی می توان با ایجاد شرایط خلاء غلظت اکسیژن موجود در محیط را کاهش داد و یا می توان گازهای دیگر نظیر Co_2 را جایگزین اکسیژن نمود .

در گذشته از گاز ازن نیز برای نگهداری مواد غذایی استفاده می شد . اما با توجه به اثر نا مطلوب این گاز در افزایش اکسیداسیون چربی ها استفاده از آن محدود شده است . چنانچه میزان گاز Co_2 در انبار به بیش از 10٪ افزایش یابد به این انبار ها اصطلاحاً انبارهای اتمسفر کنترل شده گفته می شود .

افزایش گاز Co_2 علاوه بر اینکه با کاهش غلظت اکسیژن بر فعالیت میکروب های هوازی اثر دارد با مکانیسم های مختلف ممکن است بر رشد سایر M.O ها نیز موثر باشد . مثلاً اسیدی کردن محیط کشت و ماده غذایی ، اثر بر واکنش های دکربوکسیلاسیون آنزیمی مثل سودوموناس ، افزایش غلظت گاز Co_2 سبب تغییر ساختار چربی های موجود در غشای سلولی می شود و نفوذ پذیری غشاء به این ترتیب تغییر می کند .

باید توجه داشت که میزان حلالیت گاز Co_2 وابسته به دما بوده با افزایش درجه حرارت میزان این گاز کاهش می یابد ، به طور کلی باکتری های G^- نسبت به باکتریهای G^+ در برابر این گاز حساس ترند به عنوان مثال باکتری سودوموناس یکی از حساس ترین میکروب ها در برابر این گاز است . در یک آزمایش اثر این گاز بر باکتری های کلی فرم مورد بررسی قرار گرفت با وجود اینکه این باکتری ها G^- می باشند در نتیجه افزایش غلظت گاز Co_2 به 20٪ تعداد آنها از 3.28 به 3.21 رسید که بسیار ناچیز است .

مراحل مختلف رشد سلول های میکروبی :

1- مرحله تأخیری Lag phase :

در این مرحله M.O با محیط جدید سازش می یابد ، یعنی آنزیم های لازم جهت انجام تغییرات لازم در محیط کشت در این مرحله تولید می شود . در این مرحله سرعت تکثیر صفر است .علاوه بر کلیه عوامل داخلی و خارجی موثر بر رشد سلولهای میکروبی پارامتر های دیگری نیز در مدت زمان این مرحله موثرند به عنوان مثال می توان به موارد زیر اشاره کرد :

1. سن M.O، سلولهای جوانتر سریعتر از این مرحله عبور می کنند .
2. حجم M.O اضافه شده به ترکیب محیط کشت یا ماده غذایی ، هر چه تعداد سلولهای میکروبی وارد شده به محیط کشت بیشتر باشد M.O سریعتر با محیط جدید سازش می یابد .
3. ترکیب محیط کشت قبلی که M.O در آن به سر می برده است هر چه این ترکیب به محیط کشت جدید شبیه تر باشد زمان این مرحله کوتاه تر است .

در مورد M.O های پاتوژن و عوامل فساد طولانی شدن فاز تأخیری و در مورد M.O های مطلوب کوتاه شدن این مرحله حائز اهمیت است .

2- مرحله شتاب مثبت Phase of Positive accelera time :

مرحله ای است که تکثیر سلولی آغاز شده اما سرعت تکثیر متغییر است در ابتدا سرعت تکثیر کند و سپس افزایش می یابد .

3- مرحله لگاریتمی Hagarithic Phase :

سرعت تکثیر سلولی در حداکثر مقدار خود قرار دارد و ثابت است یکی از عوامل مهم در مدت زمان این مرحله درجه حرارت است .

4- مرحله شتاب منفی Phase of Negative accelera time :

با افزایش سلول ها در پایان فاز لگاریتمی تعادل ترکیبات موجود در محیط کشت بهم می خورد به طوری که ترکیبات مغزی به پایان رسیده و متابولیت های میکروبی تجمع می یابد این امر موجب کاهش تدریجی سرعت تکثیر می شود .

5- مرحله توقف رشد در حداکثر Maximal Statianary Phase :

مرحله ای است که سرعت تکثیر سلولی با سرعت مرگ سلولها برابر است بنابر این به طور کلی افزایشی در تعداد سلولها مشاهده نمی شود .

6- مرحله مرگ Death Phase :

در این مرحله با اتمام ترکیبات مغذی موجود در محیط کشت و با افزایش غلظت متابولیت ها شرایط برای ادامه حیات سلولها نامناسب شده و به تدریج تعداد سلولهای میکروبی کاهش می یابد .

روشهای شمارش سلولهای میکروبی :

الف) روش مستقیم :

1- مشاهده میکروب : به این منظور حجم مشخصی از محیطی را که لازم است مورد کنترل قرار بگیرد «مثلاً 0.1 میلی لیتر» بر روی سطح لام های ویژه ای که مدرج می باشند قرار می دهند و تعداد سلولهای موجود با این روش شمارش می شود ، این روش بویژه جهت شمارش سلولهای مخمر ها که اندازه درشت تری دارند توصیه می شود . اما معمولاً جهت تعیین تعداد تک تک سلولهای M.O های ریشه ای شکل مانند کپکها مناسب نیست چرا که دیواره عرضی بین سلولها ممکن است در مراحلی از رشد از بین می رود ، یکی از معایب این روش این است که تفاوتی بین سلول زنده و مرده قائل نیست اخیراً با استفاده از برخی از روش های رنگ آمیزی حیاتی می توان سلولهای زنده را از مرده تشخیص داد .

2- روش کشت : متداول ترین روش جهت کنترل کیفیت میکروبی مواد غذایی می باشد . در این روش پس از نمونه برداری از مواد غذایی از رقت های مناسب از نمونه تهیه شده سپس کلیه لوازم و تجهیزات استریل شده محیط کشت اختصاصی میکروب مورد نظر پس از تهیه و استریل نمودن در ظروف مناسب توزیع شده سپس نمونه رقیق شده را به محیط اضافه می کنیم ، پس از گرمخانه گذاری در درجه حرارت و زمان لازم تعداد کلنی های رشد یافته در سطح محیط کشت شمارش می شود و چنانچه عملیات رقیق سازی صورت گرفته باشد در رقت مورد نظر ضرب می شود . از معایب این روش این است که بسیار وقت گیر بوده و به حداقل 24 الی 48 ساعت زمان جهت گرمخانه گذاری نیاز دارد از طرف دیگر در انتهای آزمون هر کلنی را به عنوان یک M.O در ماده غذایی اولیه در نظر می گیریم در صورتی که ممکن است هر کلنی مجموعه ای از سلول های زنده به هم چسبیده باشد .

3- روش کدورت سنجی : در این روش میزان جذب نور توسط سلول های میکروبی در یک طول موج مشخص که معمولاً بین 600 - 700 nm می باشد مورد ارزیابی قرار می گیرد . هر چه تعداد سلول ها بیشتر باشد میزان جذب نور توسط آنها بیشتر است با مراجعه به جداول و منحنی های استاندارد مشخص می شود

میزان نور جذب شده مربوط به چه تعداد از سلول ها می باشد . این روش برای مواردی قابل اجرا است که M.O ها تنها ذرات معلق موجود محیط باشد . چرا که هر ذره ی معلق دیگر نور را جذب می کند . و می تواند نتایج آزمایش را مخدوش کند .

4- استفاده از نیروی گریز از مرکز : در این روش پس از خاتمه فرایند کشت سلول های میکروبی مجموعه M.O به همراه باقی مانده محیط کشت همچنین متابولیتهایی که احتمالاً توسط M.O تولید شده است در دستگاه سانتریفیوژ قرار می گیرد در اثر نیروی گریز از مرکز ترکیبات مختلف بر پایه اختلاف دانسیته در لامه ی جداگانه ای قرار می گیرند ، لامه مربوطه به سلول های میکروبی را جدا کرده شستشو می دهیم تا بقایای محیط کشت از لامهای سلول ها خارج گردد . « در برخی مواقع خشک می کنند سپس وزن کرده و روند رشد میکروبی را بر اساس وزن میکروب بیان می کنند .»

5- استفاده از کنتور های الکترونی :کنتور های ذره شمار به این منظور مورد استفاده قرار می گیرند این دستگاه ها معمولاً از استوانه ای تشکیل شده اند ، بر روی استوانه منفذی با قطر مشخص تعبیه شده است ، دو الکترود یکی در داخل و دیگری در خارج استوانه تعبیه شده ، این مجموعه در نوعی الکترولیت غوطه ور می باشد . مایع حاوی سلول های میکروبی را در قسمت خارج این استوانه وارد می کنند . در قسمت بالای این دستگاه امکان ایجاد شرایط خلاء وجود دارد . برقراری شرایط خلاء سلولهای میکروبی از طریق منفذ تعبیه شده بر روی بدنه استوانه بدرون آن انتقال می یابد با انتقال هر ذره میکروبی بین دو الکترود اختلاف پتانسیل الکتریکی بوجود می آید که قابل اندازه گیری است . به این ترتیب می توان تعداد سلول های میکروبی موجود را تخمین زد . باید توجهداشت این روش نیز در مواردی به کار برده می شود که M.O ها تنها ذره معلق موجود در محیط باشد همچنین جهت شمارش سلول های کپک ها قابل استفاده نیست چرا که سلول های رشته ای شکل کپک ها سبب گرفتگی منفذ می گردد .

ب) روش غیر مستقیم

نتیجه افزایش تعداد سلول های میکروبی به اتمام رسیدن برخی از ترکیبات موجود در محیط کشت و در مقابل تجمع متابولیت های میکروبی می باشد .با اندازه گیری این تغییرات می توان علاوه بر تعداد سلول ها به مرحله رشد آنها نیز پی برد به عنوان مثال مقدار مشخصی از یک ترکیب نظیر گلوکز در ابتدای فرآیند کشت در نظر گرفته می شود . سپس در زمانهای مشخص با اندازه گیری مقدار گلوکز باقی مانده تعداد سلول های میکروبی تخمین زده می شود همچنین متابولیت های میکروبی نیز می توانند مشخص کننده جمعیت میکروب باشند در این مورد علاوه بر اندازه گیری غلظت متابولیت «که نشان دهنده تعداد سلول ها است» با در نظر گرفتن نوع متابولیت تولید شده و این که این متابولیت اولیه یا ثانویه می باشد . می توان مرحله رشد M.O را نیز مشخص کرد . متابولیت های اولیه ترکیباتی هستند که توسط M.O تولید می شوند و برای خود M.O تولید کننده

ضروری می باشند . به عنوان مثال می توان به برخی از اسید های آمینه و ویتامین ها اشاره کرد این ترکیبات معمولاً در مراحل ابتدایی رشد سلولهای میکروبی ایجاد می گردد متابولیت های ثانویه ترکیباتی هستند که توسط میکروبها تولید می شوند اما برای خود M.O تولید کننده ضروری نمی باشند و افزایش غلظت آنها می تواند منجر به مرگ M.O گردد در این مورد می توان به برخی آنتی بیوتیک ها و توکسین ها اشاره کرد ، متابولیت های ثانویه اغلب در مراحل انتهایی رشد M.O ها ایجاد می گردد .

علاوه بر ترکیبات شیمیایی موجود در محیط کشت میکروبی تغییر ویژگی های رئولوژیکی محیط کشت می تواند روند رشد سلولهای میکروبی را نشان دهد به عنوان مثال می توان به تغییر رنگ در ویسکوزیته و چسبندگی محیط اشاره کرد ، انرژی حرارتی و گرمایی تولید شده در محیط کشت نیز در مواردی بیان کننده روند رشد سلولهای میکروبی است در مواردی نیز بجای اندازه گیری تعداد سلول های میکروبی یکی از اجزاء درون سلول نظیر پروتئین سلولی ، DNA مورد اندازه گیری قرار می گیرد .

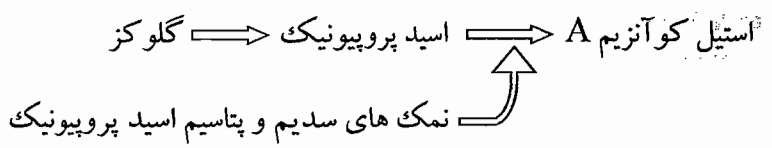
ترکیبات ضد میکروب :

اسید بنزوئیک : نخستین ترکیبی است که در مواد غذایی Gras وارد شد . این ترکیب بیشتر به صورت نمک سدیم جهت نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد ، در برخی از انواع موا غذایی نشیر سیر ، آلو ، دارچین ، کره ، توت فرنگی و عسل مشاهده می شود .

pH موثر بر فعالیت اسید بنزوییک حدود 2.5 تا 4 است که نسبت به سایر اسید های بازدارنده pH پایین تری است . از این جهت این ترکیب تنها در نگهداری برخی مواد غذایی مانند نوشابه های گازدار وعصاره میوه جات استفاده می شود . بررسی ها نشان داده است که اسید بنزوییک بر M.O های تک سلولی یعنی باکتری ها و مخمر ها دارای اثر ضد میکروبی می باشد . ترکیب فوق به صورت تفکیک نشده از پوشش های سلولی M.O عبور کرده و پس از انتقال به درون سلول یونیزه شده بنابراین می تواند از نقل و انتقال انتخابی مواد جلوگیری کند .

پارابن ها : از آنجا که اسید بنزوییک ونمکهای آن تنها قابلیت کارد در pH اسیدی را دارند استفاده از آنهادر نگهداری مواد غذایی محدود شده است . به همین دلیل استر های آلکیل پاراهیدروکسی بنزوییک اسید ها یا پارابن ها استفاده می شود . pH موثر برای ترکیبات پارابن 3 تا 8 می باشد . این ترکیبات بیشتر بر روی مخمر ها وکپکها موثرند . به ترتیب مقاومت باکتری های G- > باکتری های G+ > مخمر ها > کپک ها

با افزایش طول زنجیره آلکیل فعالیت ضد میکروبی پارابن افزایش می یابد اما معمولاً امکان استفاده از زنجیره های طویل برای کاربرد های غذایی موثر نمی باشد . بچرا که در این صورت میزان حلالیت ترکیب فوق به میزان قابل ملاحظه ای کم می شود . ترکیبات پارابن علاوه بر اینکه بر نفوذ پذیری غشای سلول موثرند می توانند در متابولیسم سلول نیز وارد شوند در مرحله تبدیل اسید پروپیونیک به استیل کوآنزیم A دخالت می کنند .



اسید پروپیونیک : معمولاً نمک هایسدیم و پتاسیماین اسید جهت جلوگیری از رشد کپک ها در موارد محدودی برخی از باکتری ها مورد استفاده قرار می گیرند ، بنابراین ترکیبات فوق مربوط به مواد غذایی است که مورد حمله کپک ها واقع می شود مثل فرآورده هایی آردی مانند نان و انواع شیرینی جات اشاره کرد . pH موثر بر این ترکیبات در حدود 5 است اما در 6 pH نیز دارای اثر ضد میکروبی است . میزان اسید پروپیونیک در نوعی پنیر که پنیر سویسی نامیده می شود به دلیل حضور باکتری پروپیونی باکتریوم ممکن است به یک درصد برسد . اما معمولاً مقدار مجاز مصرف آن در محصولات غذایی حدود 0.3 درصد است . پروپیونات ها معمولاً به صورت گردی سفید رنگ در مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند و در این حالت دارای حلالیت مناسبی هستند ، برخی از M.O مانند کپک ها قادر به متابولیزه کردن این اسید سه کربنه نمی باشند . بنابراین این ترکیب فوق پس از ورود به درون سلول به عنوان ترکیبی سمی و زائد محسوب می شود .

اسید سوربیک :

اسید سوربیک و نمک های آن دارای کاربرد وسیعی در نگهداری مواد غذایی می باشند . این ترکیبات در 6.5 pH به خوبی فعال بوده و با کاهش pH اثر ضد میکروبی آن افزایش می یابد این ترکیب در بسیاری از مواد غذایی نظیر انواع پنیر مارگارین ، رب گوجه فرنگی ، عصاره میوه جات ، نوشابه های گاز دار ، مایونز و فرآورده های آردی قابل استفاده است . اسید سوربیک را می توان مستقیماً به مواد غذایی اضافه نمود و یابسته بندی مواد غذایی را به آن آغشته نمود . این ترکیب اغلب بر مخمر ها و کپک ها در مواردی برکربوکسیل های کاتالاز مثبت هوازی موثر است . مکانیسم ضد میکروبی این ترکیب در مورد کپک ها عبارتست از اثر بر سیستم های آنزیمی دهیدروژناز ، اختلال در نقل و انتقال

انتخابی مواد از غشاء ، اثر منفی جذب اسید آمینه فنیل آلانین و نیز انتقال اسید های آمینه در جهت عکس . اسید سوربیک مانند سایر اسید های چرب در بدن انسان متابولیزه می شود ، این عمل می تواند توسط سلول های میکروبی _____ بنابراین در مواد غذایی که دارای جمعیت میکروبی زیاد می باشند اسید سوربیک و نمک های آن استفاده چندانی ندارند و معمولاً اسید سوربیک و نمک های آن مانند اسید بنزوئیک استفاده می شود . استفاده از آن در فرآورده های گوشتی می تواند میزان مصرف نیترات و نیتریت را کاهش دهد .

اسید استیک :

اسید استیک معمولاً در غالب محصول سرکه به عنوان چاشنی یا محرک مورد استفاده قرار می گیرند ، میزان این اسید در سرکه در حدود 4 تا 5 ٪ می باشد . نمک های این اسید مانند نمک سدیم ، کلسیم و پتاسیم آن نیز به عنوان ترکیب ضد میکروب قابلیت استفاده دارند .این اسید در کشتارگاه ها پس از پوست گیری عموماً همراه اسید لاکتیک به غلظت 1 تا 3 ٪ بر روی لاشه اسپری می شود . ترکیب فوق فاقد اثر بازدارندگی بر سلول های مخمر است ، بنابراین امکان استفاده از آن در انواع نان های تخمیر شده وجود دارد ، و با کاهش pH فعالیت آن افزایش می یابد .

اسید های چرب :

اسید های چرب با زنجیره کربنی متوسط ، کوتاه و طویل به صورت اشباع یا غیر اشباع نیز دارای فعالیت ضد میکروبی می باشند زمانی که اسید های چرب با گلیسرول پیوند یافته و در ساختمان نری گلیسرید ها مورد استفاده قرار می گیرند ، نیز دارای اثر ضد میکروبی هستند و در این صورت فعالیت ضد میکروبی را به دلیل وجود اسید چرب آن ذکر می کنند . اسید های چرب بیشتر بر باکتری های +G و مخمر ها موثرند . زمانی که تعداد اتم های کربن زنجیره اسید چرب بین 10 تا 12 عدد باشد این ترکیب بیشتر بر مخمر ها و چنانچه این تعداد به 12 تا 16 عدد برسد اسید چرب بیشتر بر باکتری ها موثر است . اسید های چرب می توانند سبب تخریب ساختار پوشش های سلولی شده به طوری که در غشای سلول نوعی منفذ ایجاد می کنند بنابراین در نقل و انتقال مواد اثر منفی دارند .

ترکیبات گوگردی :

ترکیبات گوگردی به طور کلی بر کلیه M.O ها اعم از باکتری ها و مخمر ها وکپک ها موثرند . فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات با کاهش pH افزایش می یابد . در pH های اسیدی ترکیب غالب

اسید سولفورو می باشد . این ترکیب دارای فعالیت ضد میکروبی بر باکتری ها و کپک ها است . این مسئله امکان کاربرد ترکیب فوق را در انواع نانهای تخمیر شده که از سلول مخمر برای فرآوری آن استفاده می شود امکان پذیر می سازد .

اگر چه گاز So_2 دارای خاصیت ضد میکروبی می باشد اما استفاده از آن در فرآوری ترکیبات مواد غذایی بسیار محدود است باید توجه داشت چنانچه نمکهای سولفید در شرایط مناسب نگهداری نشوند ضمن نگهداری در مکانهای مرطوب که دارای رطوبت بالایی می باشند بویژه در حضور ترکیبات اسیدی گاز So_2 از آنها متصاعد می شود . «علاوه بر خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات دارای کاربردهای دیگری نیز در فرآوری مواد غذایی می باشند ، مثلاً می توان به خاصیت آنتی اکسیدانی آنها اشاره کرد همچنین این ترکیبات می توانند به صورت قابل برگشت پیوند های دی سولفید در ساختار پروتئین ها را شکسته وسبب بهبود ویژگی های خمیر می گردد .

در بدن انسان سولفیت پس از تبدیل شدن به سولفات از طریق ادرار دفع می شود اما باید توجه داشت مصرف بیش از اندازه ترکیبات گوگردی سبب بد طعمی در مواد غذایی می شود . همچنین برخی از رنگدانه ها مانند آنتوسیانین ها در برابر این ترکیب بسیار حساس و نا پایدارند می باشند . چنانچه سولفیت در مواد غذایی به عنوان ترکیبی ضد میکروب مورد استفاده قرار گیرد مقدار مجاز مصرف آن با توجه به اثر این ترکیب بر سایر ویژگی های کیفی ماده غذایی تعیین می شود . علاوه بر آن باید توجه داشت به طور کلی سولفیت در مواد غذایی نیز ترکیبی ناپایدار بوده که می تواند به سولفات تبدیل شده و یا با سایر ترکیبات شیمیایی مختلف در مواد غذایی نظیر گروههای کربونیل قند ها یا پیوند های دی سولفیدی در قند ها وارد واکنش شود .

فعالیت ضد میکروبی ترکیبات گوگردی عموماً به دلیل اثر آنها بر پیوند های دی سولفیدی در ساختار آنزیم های میکروبی است ضمن آنکه گاز So_2 می توان با کاهش حجم اکسیژن موجود در محیط از رشد M.O های هوازی جلوگیری کند .

آنتی بیوتیک ها :

آنتی بیوتیک ها متابولیت های ثانویه ای هستند که در مراحل انتهایی رشد سلول میکروبی تولید می شوند و معمولاً بر طیف وسیعی از M.O ها دارای اثر بازدارندگی هستند . آنتی بیوتیکهای مورد استفاده در صنعت معمولاً در کپک ها و یا باکتری های جنس استرپتومایسس تولید می شوند .

بر خی از آنتی بیوتیک ها عبارتند از :

1- کلروتتراسایکلین Chlortetracycline

2- اکسی تتراسایکلین Oxytetracycline

3- ناتامایسین Natamaycin

4- نایسین Nisin

مشتقات تتراسایکلین در برخی از کشورها جهت طولانی کردن مدت زمان نگهداری گوشت مورد استفاده قرار می گیرد که در این صورت معمولاً لاشه مرغ را در محلول آنتی بیوتیک غوطه ور می کنند . آنتی بیوتیک Natamaycin که به آن پیمایسین نیز گفته می شود توسط باکتری استرپتومایسس ناتالانسیس تولید شده این ترکیب بر استرولهای موجود در غشای سلول های یوکاریوت موثر است بنابراین بر باکتری ها فاقد تأثیر می باشد . از ترکیب فوق به عنوان نگهدارنده در تهاه پنیر هایی استفاده می شود که از باکتری به عنوان استارتر استفاده شده است «جهت جلوگیری از رشد کپک ها» .

اکسید اتیلن وپروپیلن :

این دو ترکیب جهت استریل کردن مواد غذایی با رطوبت پایین مانند میوه جات و سبزیجات خشک شده ، انواع ادویه جات و پوشش های بسته بندی استفاده می شود . در حضور رطوبت در نتیجه واکنش با آب ترکیبات گلیکول تشکیل می شود که فاقد اثر ضد میکروبی می باشد . جهت انجام فرایند استرلیزاسیون دو گاز ذکر شده معمولاً همراه با یکگاز بی اثر به محفظه حاوی مواد غذایی وارد می شود و پس از تماس کامل با ماده غذایی با ایجاد شرایط خلاء گاز موجود در محیط تخلیه می گردد .

ساختمان سلول های میکروبی :

الف) باکتریها :

باکتریها به گروه بزرگ پروکاریوت ها تعلق دارند . تفاوت سلول های یوکاریوت و پروکاریوت در فقدان مشخص غشاء هسته در سلول های پروکاریوت می باشد .سایر بخش های هسته به جز غشاء در

این گروه از میکروبها مشابه است به عنوان مثال می توان به پروتئین های هستون اشاره کرد که در هر گروه از سلولها با ساختمان و وظیفه مشابه وجود دارند .

پوشش سلولی : به مجموعه لایه هایی گفته می شود که سلول M.O را از خارج احاطه کرده است و شامل موارد زیر است : غشاء سلولی یا غشاء سیتوپلاسمی این غشاء از فسفو لیپید و پروتئین تشکیل شده است بخش هایی از غشاء سیتوپلاسمی ممکن است به درون سلول چین خوردگیهایی ایجاد کند که به این بخش اصطلاحاً مزوزوم گفته می شود . مهمترین وظیفه مزوزوم تشکیل دیواره جدا کننده بین دو سلول در حال تکثیر می باشد . از مهمترین وظایف غشاء سیتو پلاسمی می توان به نقل و انتقال انتخابی مواد اشاره کرد . همچنین به برخی از ترکیبات مانند تعدادی از آنزیم های هیدرولیز کننده در غشاء سیتوپلاسمی ساخته شده سپس به محل مصرف خود منتقل می گردد .

دیواره سلولی :

باکتری های G^+

تفاوت در واکنش M.O ها به رنگ آمیزی گرم به دلیل تفاوت در ساختار دیواره سلولی آنها است معمولاً ساختار دیواره سلولی در باکتریهای G^- کمی پیچیده تر است . به طور کلی ترکیبات تشکیل دهنده دیواره سلولی در باکتری های G^+ عبارتند از :

1- پپتیدو گلیکان 2- اسید تایپوئیک «تیکوئیک» 3- پلی ساکارید

پپتیدو گلیکان از تناوب N استیل گلوکز آمین و N استیل مورامیک اسید تشکیل شده است . همچنین تعدادی زنجیره تراپپتیدی به بخش مورامیک اسید متصل شده است . مهمترین تفاوت در دیواره سلولی باکتری های G^+ مختلف بر تعداد و نوع زنجیره های جانبی متصل به بخش مورامیک اسید می باشد .

اسید تایپوئیک : در دیواره مربوط به باکتری های G^+ این بخش در حدود 50٪ وزن ماده خشک سلول را تشکیل می دهد . این ترکیب پلی مری محلول در آب می باشد . که از چندین نوع الکل مانند ریبتول و گلیسرول تشکیل شده است .

باکتری های G^-

ترکیبات تشکیل دهنده دیواره سلولی در باکتری های G^- عبارتند از :

1- لیپو پروتئین 2- غشاء خارجی 3- لیپو پلی ساکارید

لیپو پروئین ها در اکثر باکتریهای -G دارای ساختمان کم و بیش مشابهی هستند و اغلب از حدود 57 اسید آمینه تشکیل شده اند .

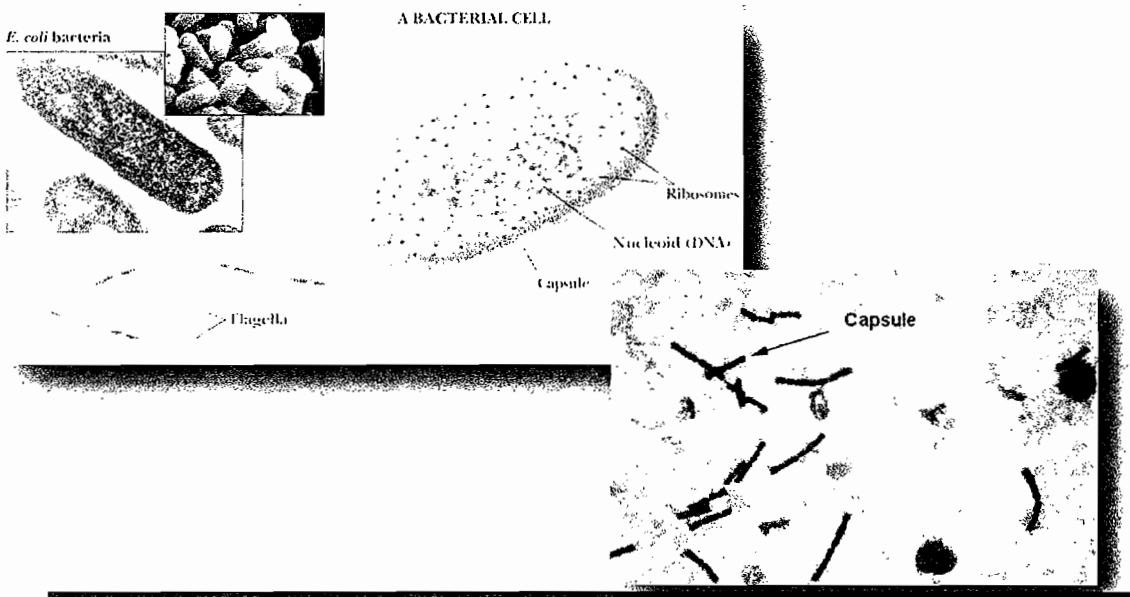
غشاء خارجی از فسفولیپید تشکیل شده است و معمولاً به صورت دو لایه به نظر می رسد . لایه خارجی غیر متقارن است چرا که بخش هایی از لایه لیپو پلی سکارید به داخل آن نفوذ کرده است .

لیپو پلی ساکارید از طریق پیوند های هیدروفوب «آب گریز» به بخش غشاء خارجی متصل شده است ، محل سنتز این لایه غشاء سیتو پلاسمی می باشد و پس از سنتز به محل استقرار خود در دیواره سلولی منتقل می گردد .

کپسول :

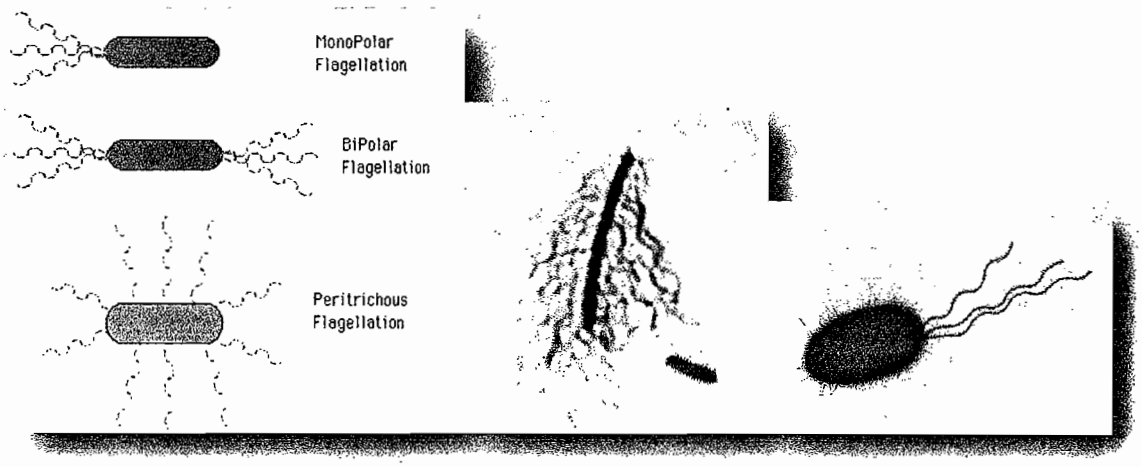
در خارج دیواره سلولی اکثر باکتریهای در حال رشد ماده لزج و چسبنده از جنس پلی ساکارید با نام کپسول تولید می شود که عامل طنابی شدن سلولهای باکتری نیز می باشد . مهمترین وظیفه کپسول محافظت از سلول باکتری است همچنین در چسبیدن سلول باکتری به محیط اطراف دخالت دارد .

✓ کپسول با اسپور متفاوت است .



تاژک :

اندام حرکتی باکتریها می باشد و از نوعی پروتئین خاص تشکیل شده است زائده ای باریک و طویل می باشد که نسبت قطر به طول آن بسیار ناچیز است تعداد و نحوه استقرار تاژک ها می تواند به شناسایی باکتری کمک کند . به عنوان مثال چنانچه یک تاژک در یک قطب سلول موجود با شد به این نحوه استقرار مونوتریش و چنانچه یک دسته تاژک در یک انتهای سلول باشد لوفوتریش و چنانچه تاژک ها در تمام سطح سلول پراکنده باشند از اصطلاح پری تریش استفاده می شود .



پیلی :

زائده ای سفت کوتاه و ضخیماز جنس پروتئین ویژه ای به نام پیلین است که در سطح خارجی برخی از باکتریها بویژه باکتریهای G^- مشاهده می شود .این زائده سبب اتصال سلول باکتری به محیط جدید یا سلول های میزبان میگردد . در مورد برخی از M.O های پاتوژن کد ژنتیکی مربوط به خاصیت بیماریزایی باکتری ر روی پیلی قرار گرفته است ، بنابراین با از دست دادن پیلی M.O قدرت بیماریزایی خود را از دست می دهد .

فاکتور های مختلفی جهت شناسایی و طبقه بندی باکتری ها در میکروبیولوژی مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد . از مهمتری آنها می توان به واکنش نسبت به رنگ آمیزی گرم ، نیاز به اکسیژن ، توانایی تولید اسپور و شکل ظاهری M.O اشاره کرد .

باکتریهای خانواده اسید لاکتیک Lacto bacteriaceae & Lactic acid bacteria :

به باکتری های این خانواده لاکتوباکتریاسه هم گفته می شود . باکتریهای این جنس G^+ ، از جهت نیاز به اکسیژن میکروآئروفیل می باشند به جز یک گونه «لاکتوباسیلوس اینولینوس» بقیه گونه ها فاقد قدرت تولید اسپور می باشند از نظر شکل ظاهری هتروژن «غیر یک نواخت» هستند و معمولاً غیر متحرک هستند . این M.Oها علاوه بر تولید اسید قادر به تولید آب اکسیژنه نیز می باشند اما فاقد آنزیم کاتالاز هستند .

فعالیت های تخمیری که توسط این خانواده انجام می شود ممکن است به دو شکل صورت گیرد ، برخی از این باکتری ها هوموفرمنتاتیو هستند یعنی فعالیت تخمیری آنها به گونه ای است که در نهایت یکنوع محصول تولید می شود . در مورد باکتری های این خانواده این محصولات اسید لاکتیک می باشند . گروه دوم که اصطلاحاً هتروفرمنتاتیو نامیده می شوند علاوه بر اسید لاکتیک ترکیبات دیگری نظیر اکسیژن ، اتانول ، ترکیبات مولد عطر و طعم و غیره را نیز تولید می کند .

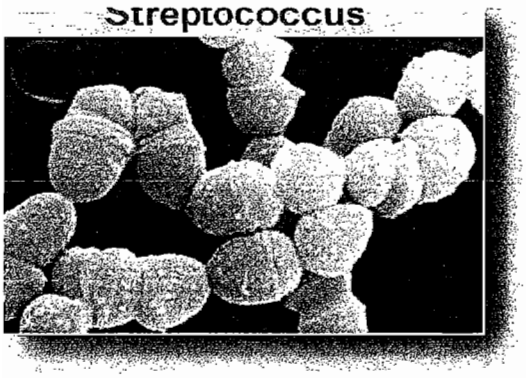
کاربرد باکتیهای اسید لاکتیک در صنایع مختلف :

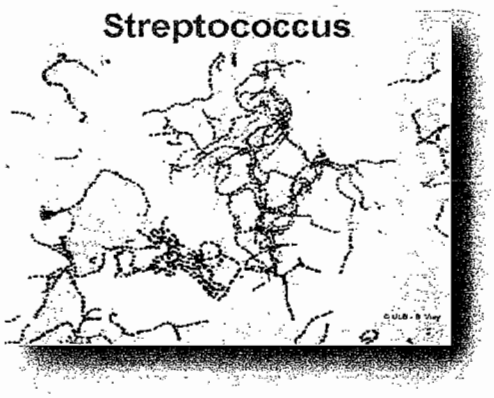
1. نگهداری مواد غذایی مانند نگهداری خوراک دام در سیلو ها
2. تهیه سبزیجات تخمیر شده
3. تولید محصولات لبنی مختلف
4. صنایع شیمیایی «تولید اسید لاکتیک صنعتی»

جنس های باکتری اسید لاکتیک :

1- استرپتوکوکوس Streptococcus

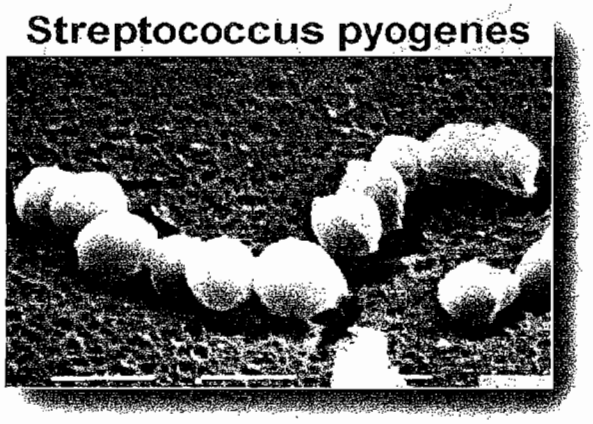
این جنس شامل باکتری های کروی شکل می باشد که ممکن است به صورت منفرد ، دوتایی و یا زنجیره های کوتاه یا بلند مشاهده گردد . این باکتری ها هموفرمنتاتیو می باشند . تقسیم بندی های مختلفی در مورد گونه های جنس استرپتوکوکوس انجام شده است . مطابق یکی از متداول ترین این گروه بندی ها تحمل درجه حرارت 10 و 45 C^o و نیز غلظت 6.5 ٪ نمک طعام به عنوان معیار در نظر گرفته شده است .





گروه اول گروه پیوژنز Pyogenic Streptococci **«معروف به گروه چرک و جراحت» :**

مثل استرپتوکوکوس آگلاکتیه و یا استرپتوکوکوس پیوژنز . باکتری هایی که در این گروه قرار گرفته اند قادر به تحمل درجه حرارت کمتر از $10\ C^o$ و بالاتر از $45\ C^o$ نمی باشند . همچنین غلظت 6.5 ٪ نمک طعام مانع رشد و فعالیت های این سلولها می شود ، باکتری های این گروه ممکن است در حیوانات «استرپتوکوکوس آگلاکتیه» و یا در انسان «آسترپتوکوکوس پیوژنز» ایجاد بیماری می کند .



گروه دوم گروه Viridance **:**

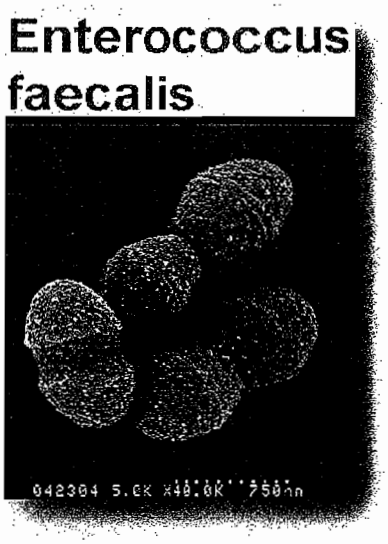
باکتریهایی که در این گروه قرار گرفته اند به دلیل تحمل درجه حرارت بالا $65\ C^o$ به مدت 30 دقیقه و حساسیت نسبت به نمک طعام ممتاز می باشند . رشد و فعالیت این M.O ها در دمای $10\ C^o$ متوقف می گردد ، برخی از گونه های این گروه دارای کاربرد صنعتی می باشند به عنوان مثال باکتری S.thermofilus در تهیه ماست به عنوان باکتری آغازگر مورد استفاده قرار می گیرد . گونه بعدی S.bovis که همانند گروه اول صنعتی نیست اما از طریق مدفوع گاو وارد شیر شده و فرایند پاستوریزاسیون را تحمل می کند .

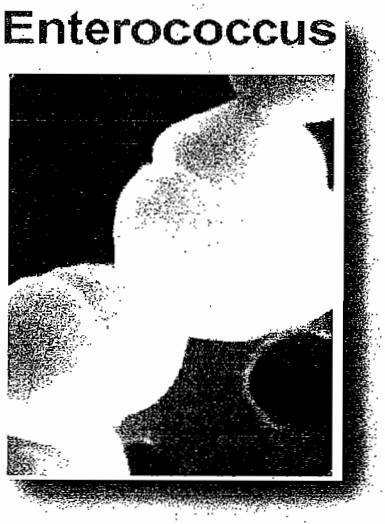
گروه سوم گروه Lactis «استرپتوکوکوس های مفید» :

گونه هایی که در این گروه قرار دارند قادر به تولید ترکیبات مختلف مولد عطر و طعم می باشند همچنین برخی از گونه ها مانند باکتری S.Lactis برای تولید نوعی ترکیب ضد میکروبی به نام نایسین مورد استفاده قرار می گیرد . باکتری های این گروه در دمای $10\ C^{o}$ رشد می کنند اما درجه حرارت $45\ C^{o}$ رشد آنها را متوقف می سازد این باکتری ها غلظت بیش از 4 ٪ نمک را تحمل نمی کنند .

گروه چهارم گروه Enterococ «روده ای» :

باکتری هایی که در این گروه قرار گرفته اند از نظر مقاومت حرارتی دامنه ی وسیعی را تحمل می کنند ، همچنین قادر به تحمل غلظت 6.5 ٪ یا بالاتر نمک طعام می باشند ، pH قلیایی توسط باکتری های این گروه به خوبی تحمل شده ، از جمله باکتری هایی که در این گروه قرار گرفته است می توان به باکتری S.fecalis اشاره کرد که شاخص آلودگی غذا به مدفوع است .



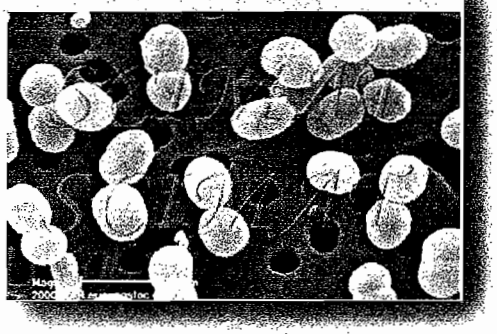


جنس لویکونستوک Leuconostocaceae :

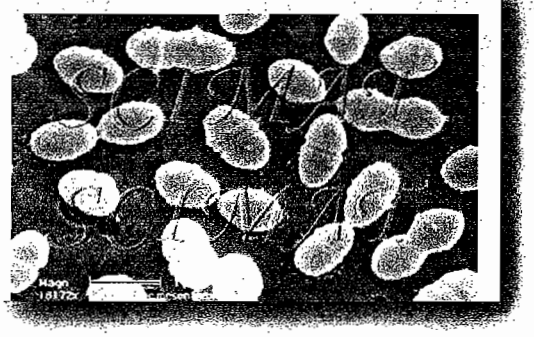
این باکتری ها G^{+} می باشند ، کروی شکل اند اما در داخل Slime به صورت زنجیره های کوتاه یا بلند مشاهده می شوند . از نظر قدرت و نحوه فرایند های تخمیری به صورت هتروفرمنتاتیو می باشند . این باکتری ها قادر به تحمل فشار های اسمزی بالا می باشد به همین دلیل در خلوط های غلیظ قندی که دارای حدود 60 ٪ ساکارز می باشند به خوبی فعالیت می کند . باکتری های این گروه را می توان در

مخلوط های بستنی و شربت های غلیظ قندی مشاهده کرد . برخی از گونه ها مانند گونه L.dextranicum قادر به تولید نوعی صمغ مصنوعی به نامدکستران می باشد اگر چه این ترکیب در دارو سازی دارای کار برد های فراوانی است اما سبب گرفتگی منافذ در صنایعی می شود که به نوعی با فیلتراسیون سرو کار دارند به عنوان مثال ممکن است در صنعت قند مشکلاتی ایجاد کند و برخی گونه ها با تولید ترکیبات مولد عطر و طعم در تولید محصولات غذایی مختلف مورد استفاده قرار می گیرند در این مورد میتوان به L.citrovorum اشاره کرد .این باکتری قدرت فرمنتیشن «تخمیر» بالایی دارد . معمولاً قبل از سایر باکتری های اسید لاکتیک در محیط غالب شده ضمن فعالیت و تولید اسید زمینه را برای فعالیت M.O های عامل تخمیر مانند L.plantarum مناسب میکند . این باکتری ها ضمن تولید گاز ممکن است سبب فساد برخی از محصولات گردند به عنوان مثال می توان به تورم و بادکردگی ایجاد شده در پنیر و فرآورده های نانوایی اشاره کرد ، باکتری های فوق غیر بیماری زا بوده و از نظر نیازهای حرارتی ترموفیل هستند و دارای منشاء گیاهی هستند .

Leuconostoc citreum



Leuconostoc mesenteroides

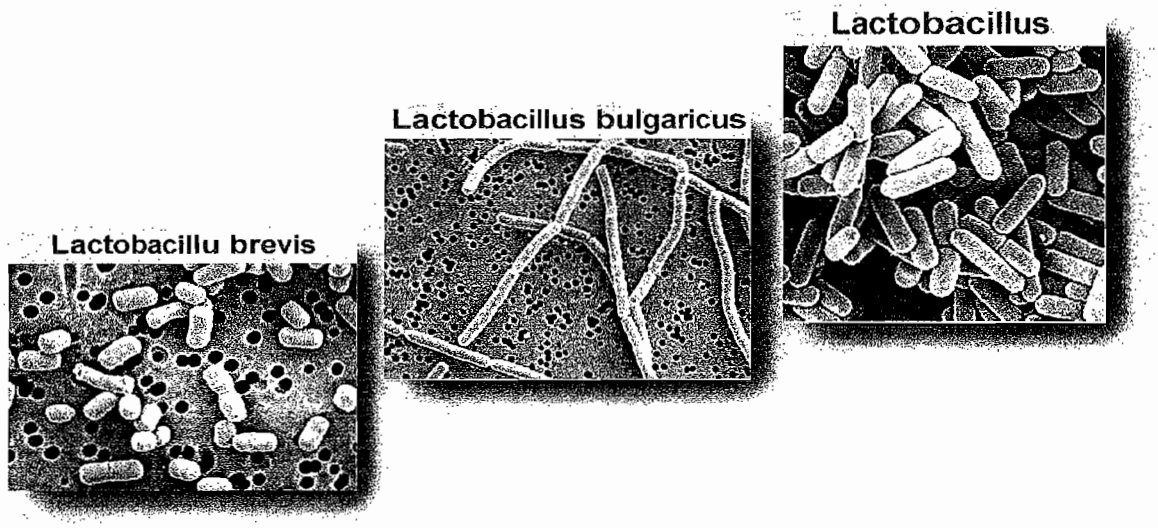


جنس پدیوکوکوس Pedeococcaceae :

این باکتری ها هوموفرمنتاتیو ، کروی شکل ومعمولاً به صورت به هم چسبیده می باشند . این باکتری ها قادر به تحمل غلظت 10 ٪ نمک طعام می باشند همچنین قادرند دامنه حرارتی نسبتاً وسیعی را تحمل کنند . « C^{o} 45 – 7 » اما معمولاً رشد آنها در دماهای پایین سرعت بیشتری دارد ، به دلیل قدرت تولید اسید و تحمل نمک در برخی صنایع مانند تولید سبزیجات تخمیر شده مفید هستند اما در برخی دیگر مانند آب جو سازی سبب بد طعمی در محصول می گردد . از گونه های مهم این جنس می توان به P.acidilactici و P.cerevisiae اشاره کرد .

جنس لاکتوباسیلوس Lactobacillaceae :

باکتریهایی که در این جنس قرار گرفته اند میله ای شکل اند ، ممکن است به صورت تک تک و یا زنجیره ای مشاهده شوند . این باکتری ها از نظر نحوه انجام عمل فرمنتیشن متفاوتند برخی هوموفرمنتاتیو و بعضی گونه ها هتروفرمنتاتیو می باشند همچنین گونه های این جنس نیاز های حرارتی متفاوتی دارند اگرچه بسیاری از گونه ها مانند باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بسیار مفید بوده واستارتر اصلی در تولید برخی محصولات می باشند گونه های دیگر مانند L.brevis که هتروفرمنتاتیو می باشند با تولید گاز سبب تخریب بافت محصولات تخمیر شده می شوند . L.viridance سبب تغییر رنگ محصولات گوشتی نگهداری شده در یخچال می گردد .

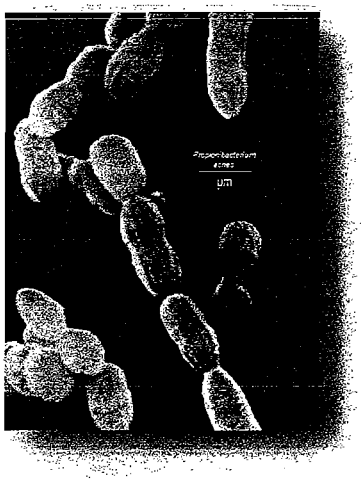


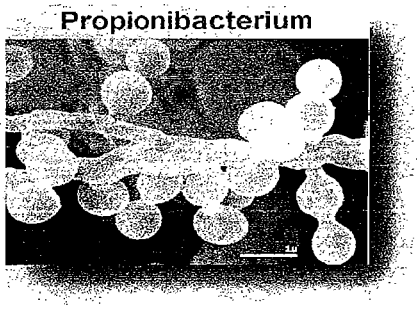
خانواده پروپیونی باکتریاسه Propioni bacteriaceae :

جنس پروپیونی باکتریوم Propioni bacterium :

باکتری های این جنس G^+ ، میکروآئروفیل ، غیر متحرک و از نظر شکل ظاهری متفاوت می باشند ممکن است به صورت کوکسی شکل ، گرزی شکل و غیره مشاهده شوند . این باکتری ها قادر به تولید اسپور نبوده و با مصرف قند ها اسید های مختلف مانند اسید پروپیونیک توسط آنها تولید می شود .

گونه های این جنس به طور کلی گسترش وسیعی در طبیعت ندارند اما معمولاً در پنیر هایی که آنزیم رنین برای تهیه آنها استفاده می شود مشاهده می گردد ، چرا که همراه با این آنزیم از معده نوزاد نشخوار کنندگان استخراج می شود . مثل کورینه باکتریوم شرمانی .



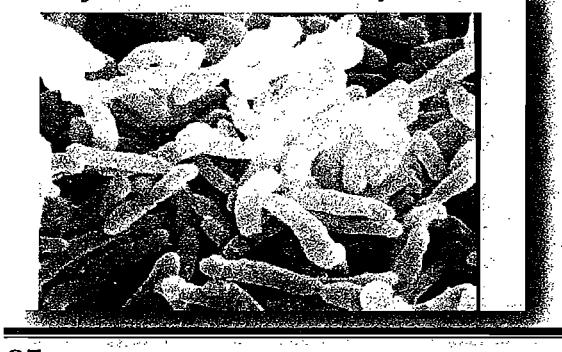


خانواده کورینه باکتریاسه Corynebacteriaceae :

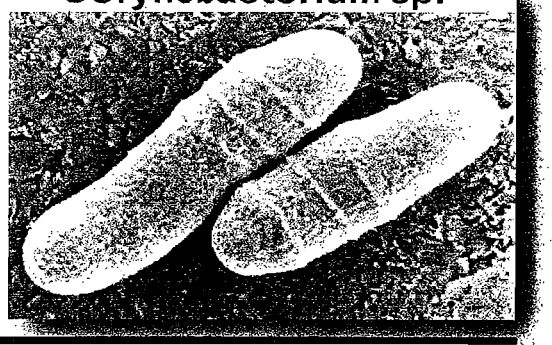
جنس کورینه باکتریوم Corynebacterium :

این باکتریها G^+، از نظر شکل ظاهری متغیر ، غیر متحرک ، فاقد قدرت تولید اسپور واکثراً هوازی می باشند ، گونه کورینه باکتریوم دیفتریا C.diphteriae به طور استثنا میکروآئروفیل است و معمولاً نواحی گلو را مورد حمله قرار می دهد ، اگزوتوکسین تولید می کند که همراه با گردش خون به اندام های بدن از جمله کلیه ، قلب و اعصاب منتقل می شود و در نتیجه عوارضی مانند فلج شدن اندام ها در فرد بیمار مشاهده می گردد . باکتریهایی که در این جنس قرار دارند علاوه بر ایجاد بیماری در انسان ممکن است در دام نیز ایجاد بیماری کنند همچنین برخی نواحی سبب فساد مواد غذایی مانند ترش شدن خامه می گردد گونه های پاتوژن گیاهی نیز در این جنس دیده می شود . برخی از این گونه ها مانند گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم C.glutamicum به جهت تولید اسید آمینه لیزین و گلوتامیک دارای استفاده های صنعتی فراوانی می باشند .

Corynebacterium diphteriae



Corynebacterium sp.



جنس میکروباکتریوم Microbacterium :

این باکتریها G^+ ، از لحاظ شکل ظاهری میله ای شکل با اندازه کوچک ، هوازی و غیر اسپور زا می باشند ، اکثر گونه ها قادر بع تولید اسید لاکتیک هستند اگر چه مقدار اسید تولید شده توسط آنها اغلب از باکتری های خانواده اسید لاکتیک کمتر است . این باکتری ها مقاومت حرارتی بالایی داشته دمای 80 تا 85 C^o را به مدت 10 دقیقه تحمل می کنند . اگرچه دمای بهینه برای رشد آنها در حدود 30 C^o می باشد . همچنین اهمیت باکتری ها فوق به جهت توانایی تولید ویتامین های بکمپلکس توسط آنهاست ، از جمله گونه های مهم این جنس می توان به میکروباکتریوم لاکتیکوم M.lacticum و میکرو باکتریوم M.flawum فلاووم اشاره کرد که در شیر پاستوریزه به دلیل مقاومت حرارتی بالا مشاهده می شود .

جنس آرتروباکتریاسه Artrobacteriaceae :

این باکتریها G^+ ، با افزایش سن باکتری G متغیر به نظر می رسند ، از نظر شکل ظاهری نیز متفاوتند و در کشت های جوان میله ای شکل بوده و با افزایش سن M.O به شکل کوکسی تبدیل می شوند . این باکتری ها اغلب در خاک موجود بوده و به ویژه در خاک هایی که رطوبت پایینی دارند ، در این صورت این باکتریها اغلب به صورت کوکسی شکل مشاهده میگردند و همراه با باسیلوس ها هستند . برخی از گونه ها قادر به تحمل درجه حرارت های پایین بوده همچنین برخی به دلیل دارا بودن خاصیت پروتئولیتیک شدید در مراحل رسیدن پنیر موثر می باشند .

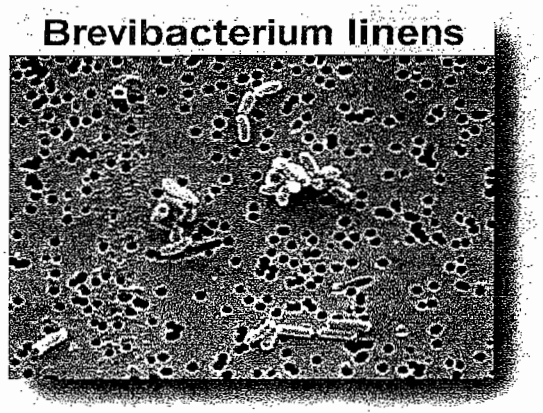
خانواده بروی باکتریاسه Brevibacteriaceae :

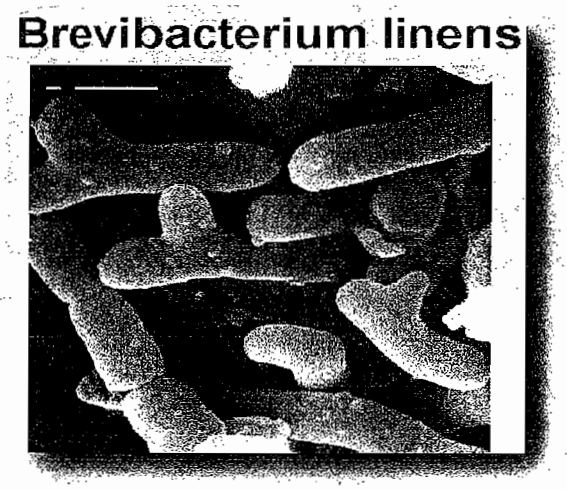
جنس روی باکتریوم Brevibacterium :

این باکتریها G^+ ، میله ای ، کوتاه و اغلب به صورت منفرد ، هوازی اختیاری ، فاقد قدرت تولید اسپور و غیر متحرک اند ، اغلب گونه های مختلف این جنس در پنیر سازی کاربرد دارند و به دلیل دارا بودن خاصیت پروتئولیتیک در مراحل رسیدن پنیر موثرند .

برخی از گونه ها قادر به تولید رنگدانه های ویژه ای می باشند که سبب ایجاد رنگ نهایی در برخی از انواع پنیر می گردد . به عنوان مثال می توان به پنیر لیمبورگر و بریک اشاره کرد که توسط این باکتری ها تولید می شود .

گونه های مفید دیگر این جنس مثل بروی باکتریوم دیواریکاتوم B.divaricatum که همراه با باکتری کورینه باکتریوم گلوتامیکوم C.glutamicum جهت تولید اسید گلوتامیک مورد استفاده قرار می گیرد .

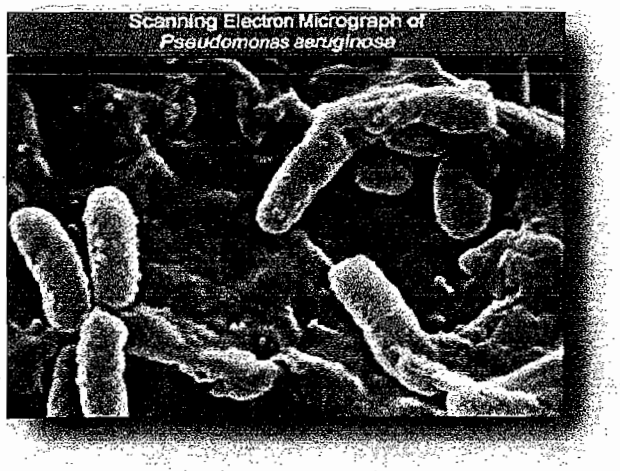




خانواده سودوموناسه Pseudomonadaceae **:**

جنس سودوموناس Pseudomonas **:**

این باکتری ها G^-، به شدت هوازی ، فاقد قدرت تولید اسپور متحرک می باشند . اندام حرکتی آنها به صورت قطبی است به همین دلیل از برخی از باکتری ها مشابه مانند باکتری آکروموباکتر Achromobacter که دارای اندام حرکتی سطحی است متمایز می باشد . باکتری های سودوموناس انتشار وسیعی در طبیعت دارند ، در آب ، خاک ، دستگاه گوارش انسان و حیوان و حتی در گیاهان قابل مشاهده اند . شکل ظاهری آنها میله ای شکل و قادر به تحمل درجه حرارت های پایین می باشند ، اگر چه گونه ها بیماریزا نیز در این جنس مشاهده می شود اما این گونه ها اغلب از طریق مواد غذایی انتقال نمی یابند .

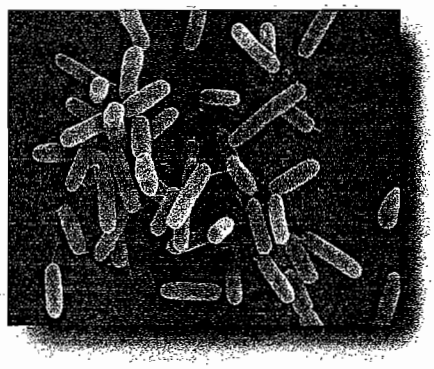


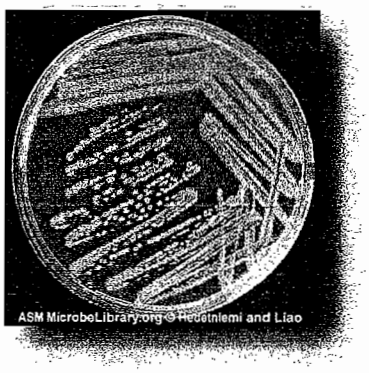
باکتری های جنس سودوموناس دارای تنوع آنزیمی بسیار بالایی می باشند . این مسئله سبب شده است گونه های این جنس در مواد غذایی مختلف رشد کرده وبعضاً عامل فساد آنها گردند ، گونه های این جنس دارای خاصیت پکتولیتیک ، پروتئولیتیک و لیپولیتیک می باشند . به دلیل دارا بودن آنزیم های پکتیناز ممکن است سبب تجزیه پکتین و نرم شدن بافت محصولات گیاهی گردد . فعالیت پروتئولیتیک این ترکیبات ممکن است سبب ایجاد بوی گندیدگی در مواد غذایی شده حتی برخی آنزیم های پروتئاز سبب تغییر طعم فرآورده های پروتئینی می گردد . در این مورد می توان به واحد های لبنی اشاره کرد ، به عنوان مثال ضمن انتقال شیر خام از دامداری به واحد های لبنی باکتری فوق به راحتی در درجه حرارت پایین تجزیه شده و برخی متابولیت ها مانند آنزیم پروتئاز را تولید می کند . ضمنانجام فرایند حرارتی به منظور پاستوریزاسیون یا استریل کردن شیر خام باکتری سودوموناس به سرعت غیر فعال می گردد ، اما آنزیم پروتئاز تولید شده توسط آن پایداری حرارتی داشته وحتی پس از پایان فرایند حرارتی با تجزیه بخشی از پروتئین های موجود در ماده غذایی می تواند سبب بروز بدطعمی گردد .

باکتری های این جنس در برابر بسیاری از فرایند های اعمال شده در مواد غذایی حساس می باشند به عنوان مثال این سلول ها به شدت هوازی بوده افزایش غلظت گاز Co_2 می تواند سبب کاهش فعالیت های آنها گردد گونه های این جنس برای فعالیت به میزان a_wبالا احتیاج دارند بنابراین تغلیظ وخشک کردن مواد غذایی می تواند سبب کاهش این سلول ها شود گونه های این جنس در برابر حرارت و اشعه نیز حساسند اما باید توجه داشت بسیاری از ترکیبات شیمیایی ضد میکروبی مانند بسیاری از آنتی بیوتیک ها بر باکتری های فوق بی تأثیرند .

برخی از گونه های این جنس با تولید رنگ دانه می توانند سبب تغییر رنگ محصولات پروتئینی گردند . به عنوان مثال باکتری سودوموناس آئروجنس S.aeraginusa نوعی رنگدانه به نام پیوسیانین تولید می

کند . باکتری سودوموناس نیگریفیکنس S.nigrificans رنگدانه سیاه رنگ تولید می کند ، رنگدانه های تولید شده محلول در آبند «قطبی اند» و معمولاً در سطح محیط کشت کلنی های درشت و خاکستری رنگ تولید می شود و تشکیل کلنی ها عموماً در قسمت مرکزی محیط کشت اتفاق می افتد .

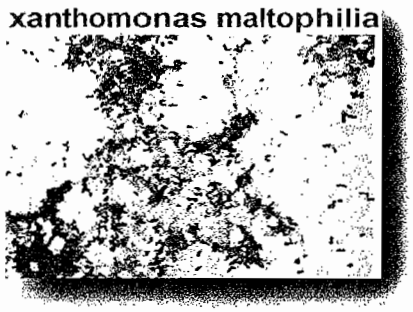


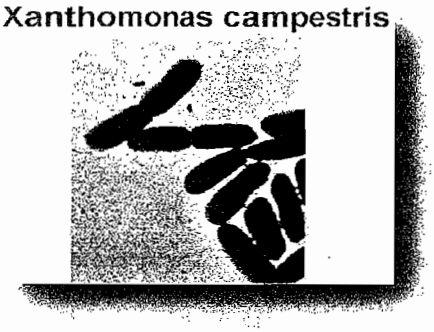


جنس ساتاموناس Xanthomonadaceae :

هوازی اختیاری ، G^+، میله ای شکل ، قدرت تحمل ----------

باکتری های این جنس قادر به تولید نوعی رنگدانه های زرد و نارنجی می باشند که به صورت محلول در آبند و با افزایش سن کلنی ها شدت رنگ افزایش می یابد . برخی از گونه هایی که در این جنس قرار گرفته اند دارای کاربرد های صنعتی می باشند مثلاً گونه ساتاموناس کومپستریس X.Compestris اشاره کرد که جهت تولید صمغ مورد استفاده قرار می گیرد . برخی از گونه ها برای تولید قند فروکتوز «با تغییر شکل سایر قند ها» استفاده می شود .

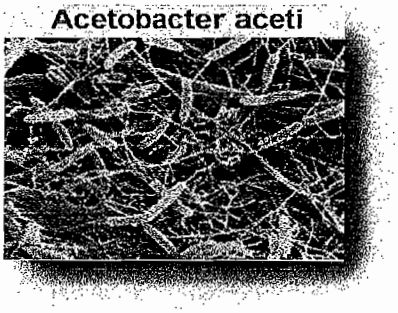




خانواده استوباکتریاسه Acetobacteraceae :

باکتری های این خانواده به شدت هوازی ، G- ، فاقد قدرت تولید اسپور و از نظر شکل ظاهری میله ای شکل ، اما ممکن است زمانی در فاز تولید سر که مورد استفاده قرار گیرند . متورم ورشته ای شکل به نظر برسند .

«Involutin from» در تقسیم بندی های قدیمی تر باکتری های فوق به عنوان یک جنس از خانواده لاکتوباسیلاسه طبقه بندی می شوند اما دارای تفاوت هایی با باکتری های سودوموناس می باشند از جمله اینکه این باکتری ها قدرت تحرک کمتری داشته قادر به تولید رنگدانه نیستند . شرایط اسیدی را به خوبی تحمل کرده اما بر خلاف باکتری های سودوموناس فاقد قدرت پروتئولیتیک می باشند . این باکتری ها ممکن است با افزایش سن کلنی به صورت گرم متغیر به نظر برسند ، همه گونه های موجود در این خانواده دارای فعالیت اکسیداتیو بوده و کاتالاز مثبت می باشند .



فرایند سرکه سازی :

فرایند سرکه سازی در دو مرحله صورت می گیرد :

در مرحله اول مخمر های الکلی موجود در میوه جات اولیه و یا سلول هایی که به صورت فعال در تعداد مشخص به عنوان استارتر اظافه شده اند ترکیب قند موجود در محیط را مصرف کرده و به اتانول و Co_2 تبدیل می کند این مرحله از فرایند در دمایی حدود $25\ C^o$ انجام می شود . به جز ابتدای فرایند که مقداری اکسیژن جهت تکثیر سلولها لازم است فرایند در مرحله اول در شرایط بی هوازی صورت می گیرد .

$$C_6H_{12}O_6 \Longrightarrow CH_3CH_2OH + Co_2$$

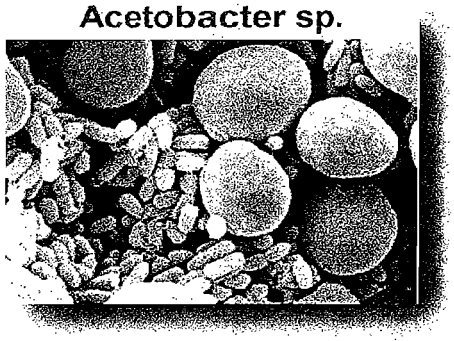
$$H_2O + Co_2 \Longleftarrow CH_3 - COOH$$

پس از صاف کردن مایع الکلی به منظور جدا سازی سلولهای مخمر پالپ میوه و ... مایع حاصل برای تولید اسید استیک مورد استفاده قرار می گیرد . مخازن مورد استفاده در این بخش عمدتاً استوانه ای و چوبی می باشند که توسط صفحه ای افقی به دو قسمت تقسیم شده اند . مایع الکلی حاصل از مرحله اول به صورت قطره قطره بر روی صفحه مشبک افزوده می شود . بر روی این صفحه مقداری تراشه چوب همراه با باکتری اسید استیک قرار گرفته است . اکسیژن به شدت از سمت پایین مخزن در اختیار باکتری

ها قرار می گیرد . در حضور اکسیژن اتانول به اسید استیک تبدیل و اسید حاصل پس از رقیق سازی پاستوریزه شده و بسته بندی می شود .

باکتریهای خانواده اسید استیک قدرت اکسایشی متفاوتی دارند برخی از آنها واکنش های اکسیداسیون را به طور کامل انجام داده ، در این سلول ها در نتیجه ادامه واکنش اکسیداسیون اسید استیک به آب و Co_2 تبدیل می شود . به عنوان مثال می توان به استوباکتر پاستوریانوم واستوباکترپراکسیدانس اشاره کرد . به این گروه از باکتری های اسید لاکتیک اصطلاحاً Overxidizer گفته می شود ، گروه دومکه باکتری های Subxidizer می باشند واکنش های اکسیداسیون را به طور ناقص انجام داده و تنها قادر به تغییر اتانول به اسید استیک هستند . مثلاً باکتری گلوکونواکسیدانس اشاره کرد .در صنعت در مواردی که فرآیند تخمیر قابل کنترل نباشد معمولاً از Subxidizer و در غیر اینصورت به دلیل فعالیت های اکسیداتیو شدید گروه Overxidizer این باکتریها مورد استفاده قرار می گیرند . اما با انجام قرایند حرارتی مانند پاستوریزاسیون از ادامه فعالیت این باکتریها جلوگیری می شود برخی گونه ها مانند A.aceti ، A.acidophilum ، Azylinum در بین این دو گروه قرار گرفتند به این دلیل که قادر به اتماموا‌کنش های اکسیداسیون می باشند اما این کار را به کندی انجام می دهند .

Acetobacter sp.



روشهای تشخیص باکتریهای Overxidizer و Subxidizer

به محیط کشت جامد دارای آگار کربنات کلسیم اضافه می کنیم ، پس از اضافه کردن سوسپانسیون باکتری مورد نظر و انجام مرحله گرمخانه گذاری از آنجا که هر دو گروه باکتری فوق قادر به به تولید اسید استیک می باشند با حل شدن کربنات کلسیم در اسید تولید شده سلول باکتری «کلنی های تشکیل شده» با هاله ای روشن احاطه می شود ، چنانچه باکتری مورد نظر متعلق به گروه اوراکسیدایزر باشد اسید تولید شده را به تدریج تجزیه کرده و هاله روشن اطراف باکتری به تدریج کدر می شود . از منابع طبیعی باکتری های استوباکتر می توان به میوه جات و غلات در حال تخمیر اشاره کرد عموماً باکتری های فوق همراه با مخمر ها مشاهده می گردند . برخی از گونه های خانواده اسید استیک ممکن است در سرکه

سازی ایجاد مزاحمت کنند . به عنوان مثال گونه A.xylinum با تولید ترکیبات صمغ مانند می تواند سبب گرفتگی منافذ فیلتر ها و ژنراتور ها گردد . همچنین گونه A.aceti در سطح سرکه های سنتی و نیز در قسمت های مختلف مخازن صنعتی پوسته ای تشکیل می دهد که عمدتاً ناشی از بهم چسبیدن سلولهای باکتری است ، این لایه اصطلاحاً گل سرکه نامیده می شود آسیب دیدن لایه مذکور سبب کدر شدن سرکه نهایی می گردد .

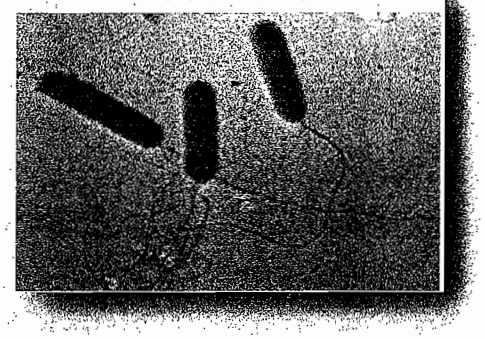
جنس فتوباکتریوم Photobacterium **:**

باکتری های این جنس میله ای و کوکسی شکل و G^+، متحرک ، فاقد اسپور و هوازی اختیاری می باشند . منشأ این باکتری ها عموماً آب دریاست به دلیل انعکاس نوری که در تاریکی ایجاد می کنند به این نام خوانده می شوند . باکتری های این جنس عموماً سبب آلوده شدن حیوانات دریایی شده و دارای خاصیت پروتئولیتیک شدید می باشند .

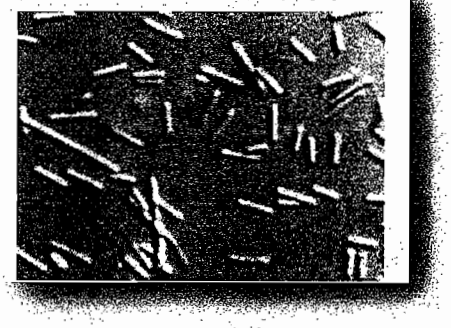
جنس هالوباکتریوم Halobacterium **:**

این باکتریها میله ای شکل و G^-فاقد اسپور و متحرک می باشند ، اندام های حرکتی آنها به صورت قطبی است این باکتریها نمک دوست بوده و برای فعالیت به حداقل 12٪ نمک طعام نیاز دارند ، غلظت بهینه نمک طعام جهت فعالتی باکتری های فوق 25٪ می باشد . این باکتری ها را می توان در دریاچه های آب شور و یا سواحل نمک مشاهده می شود . برخی از گونه ها مولد رنگ دانه می باشند و می توانند سبب فساد ماهی های نمک سود شده گردند .

Halobacterium



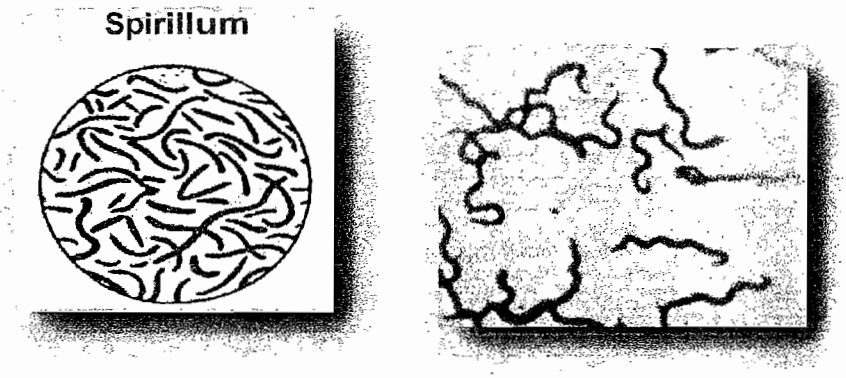
Halobacterium Halobium



خانواده اسپیرولاسه Spirolaceae **:**

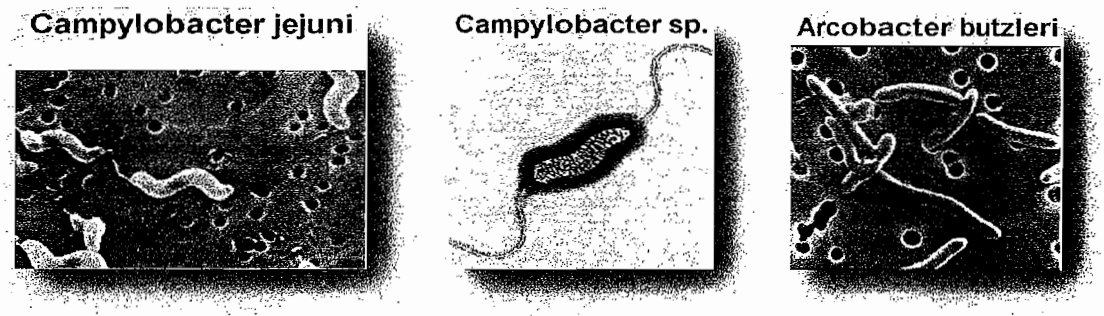
این باکتری ها G^-، مارپیچی شکل از نظر نیاز به اکسیژن میکروآئروفیل می باشند . غلظت 3 تا 6٪ اکسیژن برای فعالیت آنها بسیار مناسب است چنانچه 10٪ Co_2به بسته حاوی ماده غذایی اضافه شود محیط برای رشد این باکتری ها مناسب است . کاتالاز و اکسیداز مثبت هستند اما افزایش غلظت

اکسیژن تا 21٪ برای این باکتریها بازدارنده است . فاقد اسپور بوده و متحرک هستند و توسط اندام های حرکتی قطبی حرکت می کنند .



جنس کمپیلو باکتر Campylobacter :

برخی گونه های بیماریزا در این جنس مشاهده می شود . به عنوان مثال می توان به C.fetus اشاره کرد ، که عامل سقط جنین در گاو و گوسفند می باشد . گونه C.jejuni یکی از متداول ترین باکتری های مولد گاستروانتروویدیس «التهاب روده ای و معده ای» می باشد این باکتری به همراه آب یا غذای آلوده به بدن انسان انتقال می یابد چنانچه به روده بزرگ وارد شود پس از ایجاد زخمهای موضعی به سیستم لنفاوی منتقل می شود و از این طریق ممکن است در بخش های دیگر از بدن مشاهده گردد. این باکتریها اغلب از طریق گوشت پرندگان و شیر خام منتقل می شود . ممکن است دمای یخچال را به مدت چند روز تحمل کند اما درجه حرارت بهینه آن C^o 42 است . این گونه از نظر اندازه بسیار کوچک بوده بنابراین با استفاده از فیلتراسیون قابل جداسازی نمی باشد . باکتری های این جنس بویژه گونه C.jejuni نسبت به شرایط اسیدی ، افزایش غلظت اکسیژن ، کاهش a_w ، ترکیبات ضد عفونی کننده و درجه حرارت پاستوریزاسیون حساسند اما از آنجا که در تعداد کم می توانند سبب ایجاد علائم بیماری گردند در گروه پاتوژن های مهم غذایی قرار می گیرند . ، گونه C.jejuni عامل عفونت غذایی است اما دو نوع توکسین از این گونه شناسایی شده است . «یکی از آنها که به LT معروف است مشابه توکسین تولید شده توسط باکتری ویبریو و برخی گونه های اشرشیا می باشد . »



خانواده اینتروباکتریاسه Enterobacteriaceae :

در گذشته به باکتریهای این خانواده باکتریهای اسید فرمیک می گفتند . ، اگر چه اسید فرمیک تنها اسید تولید شده توسط این باکتریها نبوده و مجموعه ای از اسید های آلی توسط این باکتری تولید می گردد . اکثر جنس های این خانواده با مصرف ترکیبات قندی موجود در محیط اسید و گاز تولید می کنند . از آنجاییکه بیشتر این باکتری ها در روده بسر می برند به نام اینتروباکتریاسه نامیده می شوند . باکتریهای این خانواده G^- هوازی اختیاری اغلب متحرک فاقد قدرت تولید اسپور غالباً میله ای شکل می باشند .

کلی فرم Coliform :

گروه کلی فرم ها به تعدادی از باکتریهای خانواده اینتروباکتریاسه گفته می شود که علاوه بر دارا بودن ویژگی های عمومی این خانواده قادر به استفاده از قند لاکتوز می باشد . این باکتریها ممکن است مدفوعی و غیر مدفوعی باشند گروه کلی فرم ها شامل جنس اشرشیا ، اینترو باکتر ، سیتروباکتر و کلبسیلا است .

جهت جدا سازی باکتریها گروه کلی فرم از سایر باکتریها از محیط کشت دارای قند لاکتوز استفاده می شود .

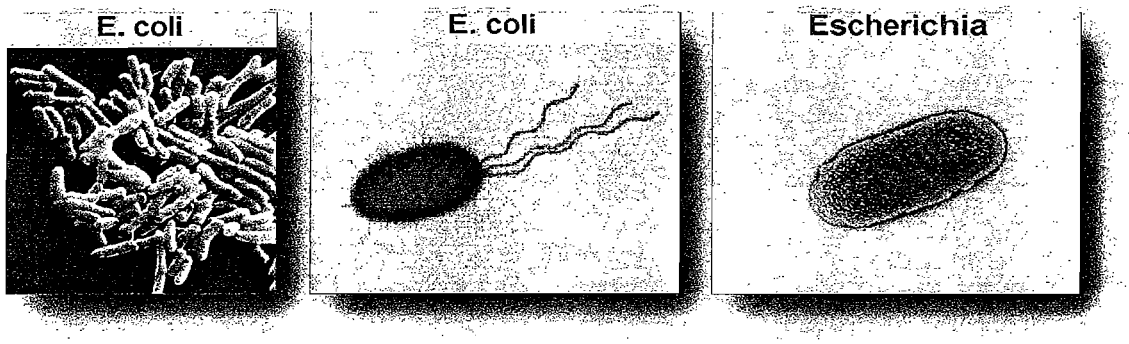
از آنجائیکه برخی دیگر از کلی فرم ها نظیر باکتریهای خانواده اسید لاکتیک نیز دارای آنزیم لاکتاز بوده و می تواند از قند لاکتوز استفاده کند جهت تشخیص این باکتریها از یکدیگر و نیز جهت تفکیک برخی از جنسهای گروه کلی فرم از محیط کشت EMB استفاده می شود .

در این محیط کشت باکتریهای اسید لاکتیک قادر به رشد نبوده ، باکتریهای جنس اشرشیا کلنی های آبی درخشنده و باکتریهای جنس اینتروباکتر کلنی های صورتی درخشنده تولید می کنند .

جنس اشرشیاکلی E.coli :

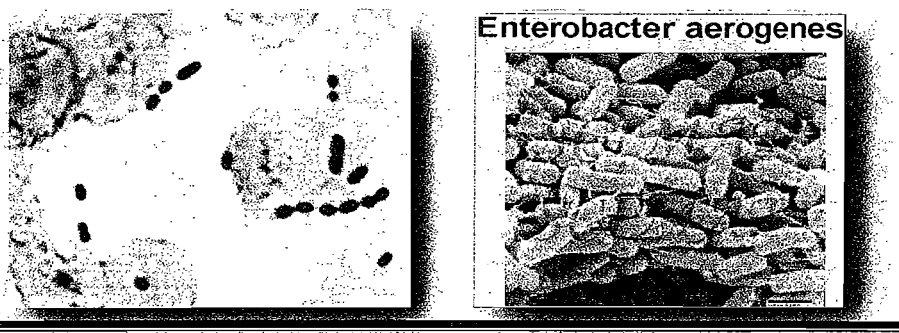
G^-، میله ای شکل ، هوازی اختیاری ، فاقد اسپور و اغلب متحرک می باشد . گونه های متحرک دارای اندام های حرکتی سطحی می باشند . باکتری های این جنس عموماً در جانداران خونگرم بویژه در انتهای روده بزرگ جانوران گوشت خوار مشاهده می شوند . برخی گونه های پاتوژن در این جنس مشاهده می شوند ، به عنوان مثال می توان به گونه E.Coli اشاره کرد . توکسین های مختلفی توسط این باکتری ها تولید می شود ، یکی از انواع این توکسین ها که سایکوتوکسین یا سایتوتوکسین نامیده

می شود بسیار شبیه توکسین تولید شده توسط دو جنس سالمونلا و شیگلا می باشد . به گونه های مولد این سم Invasive یا حمله کننده گفته می شود گونه هایی از جنس اشرشیا قادر به تولید اینتروتوکسین می باشند ، به طور کلی دو نوع اینترو توکسین توسط این باکتری ها تولید می شود . نوعی از آن که به حرارت مقاوم است در برابر آنزیمهای پروتئاز و شرایط اسیدی نیز مقاوم می باشد . باکتری E.coli شاخص آلودگی آب آشامیدنی است . این باکتری دارای منشاء مدفوعی است با مصرف ترکیبات قندی اسید و گاز تولید می کند . نسبت به خشکی و برخی ترکیبات ضد عفونی کننده مقاوم است اما در نتیجه فرآیند پاستوریزاسیون از بین می رود . اپتیمم درجه حرارت برای فعالیت آن $37\ C^{o}$ است اگرچه قادر به تحمل pH 9 تا 4.5 می باشد . اما بهترین pH برای فعالیت آن 7.5 تا 7 است .



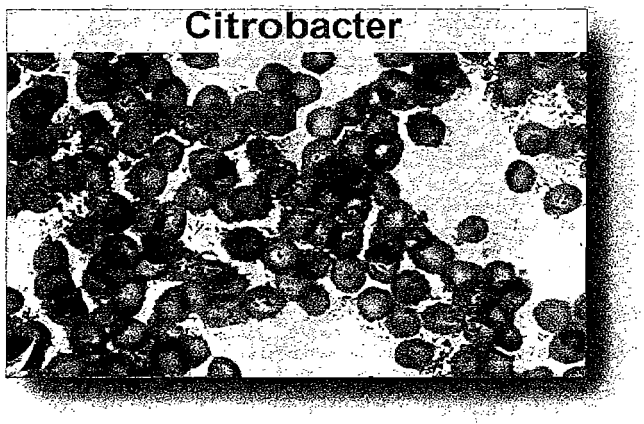
جنس اینترو باکتر Enterobacter :

باکتریهای این جنس توسط اندام های حرکتی سطحی حرکت می کنند . این باکتریها دارای گسترش وسیعی در طبیعت می باشند . در این جنس گونه هایی با منشاء مدفوعی و غیر مدفوعی مشاهده می شود و به دلیل تولید گاز زیاد توسط این باکتری ها در گذشته به آنها اینتروباکتر گفته می شود . میزان گاز Co_2 تولید شده توسط این باکتری ها بیش از هیدروژن است به جهت تولید کپسول و گلز می توانند سبب ایجاد فساد برخی مواد غذایی مانند خیار شور گردند برخی گونه های سایکروفیل نیز در این جنس مشاهده می شوند که عمدتاً در فرآورده های لبنی وجود دارند همچنین گونه هایی از جنس اینتروباکتر نیز سبب ایجاد فساد در فرآورده های گوشتی هستند .



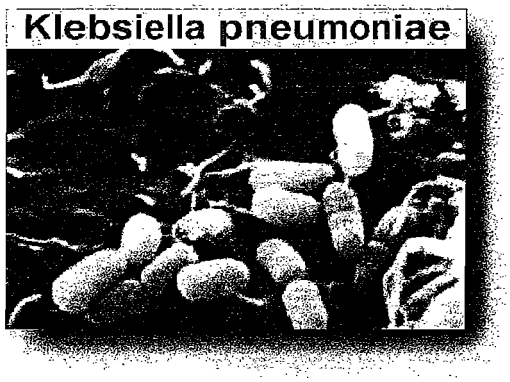
جنس سیتروباکتر Citrobacter :

باکتریهای این جنس نسبت به بقیه گونه های گروه کلی فرم قند لاکتوز را با سرعت کمتری مصرف می کنند .این باکتریها قادرند از قند لاکتوز به عنوان تنها منبع کربنی استفاده کنند برخی گونه های پاتوژن نیز در این جنس مشاهده می شود . به عنوان مثال می توان به گونه C.freundii اشاره کرد . این باکتریها معمولاً در مواد غذایی مانند گوشت و سبزیجات مشاهده نمی شوند آنها را می توان در منابعی مانند خاک و پساب ها مشاهد کرد . گونه های بیماریزا اغلب موجب ایجاد التهاب روده ای ومعده ای می گردد.



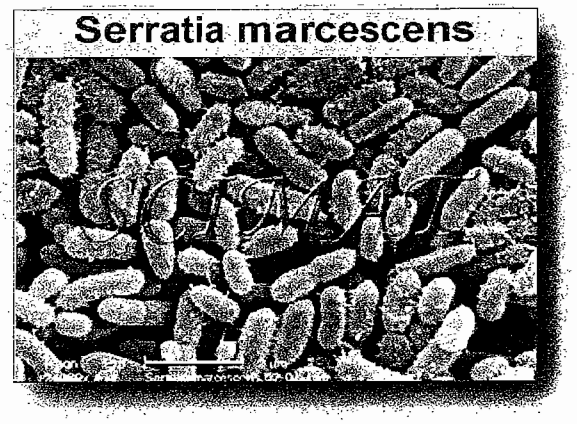
جنس کلبسیلا Klebsiella :

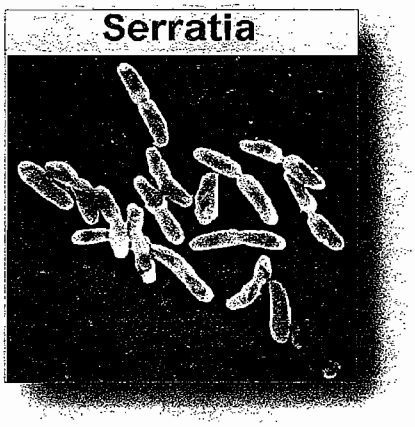
این باکتری ها میله ای ، G^-، هوازی اختیاری ، فاقد اسپور و غیر متحرک می باشند . این باکتریها شباهت زیادی به اینتروباکتر دارند ، مهمترین تفاوت این دو باکتری در ضخامت کپسول آنها می باشد که در مورد کلبسیلا بیشتر است . « M.O های دارای کپسول دارای آنتی ژن K می باشند .»از مهمترین گونه های بیماریزا در این جنس می توان به گونه K.penomoniae اشاره کرد که عامل ذات الریه در انسان است .



جنس سراتیا Serratia :

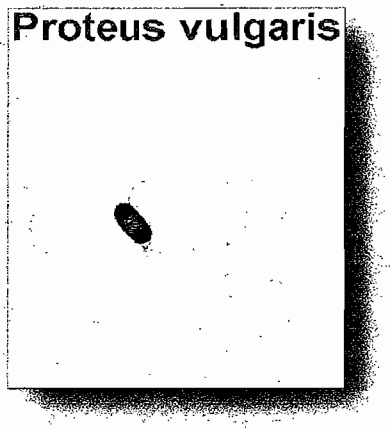
میله ای ، G^-، هوازی اختیاری ، فاقد اسپور و متحرک است «پریتریش» . از این باکتری در صنعت جهت تولید ترکیبات مختلف استفاده می شود . به عنوان مثال گونهای از این جنس قادر به تولید نوعی رنگدانه قرمز رنگ به نام پریدی ژیوزین Prodigiosin می باشد . این باکتری ها رنگدانه فوق را در شرایط هوازی تولید می کنند . در صورت کاهش غلظت اکسیژن همین گونه به جای رنگدانه ، آنزیم آسپارژیناز Asparaginase تولید خواهد کرد .

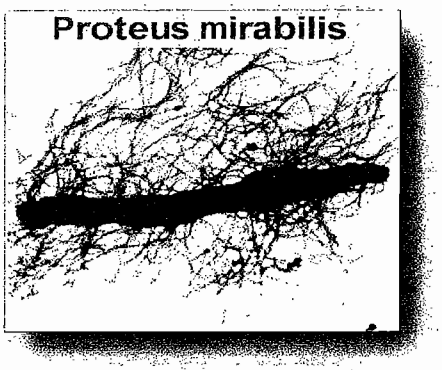




جنس پروتئوس Proteus :

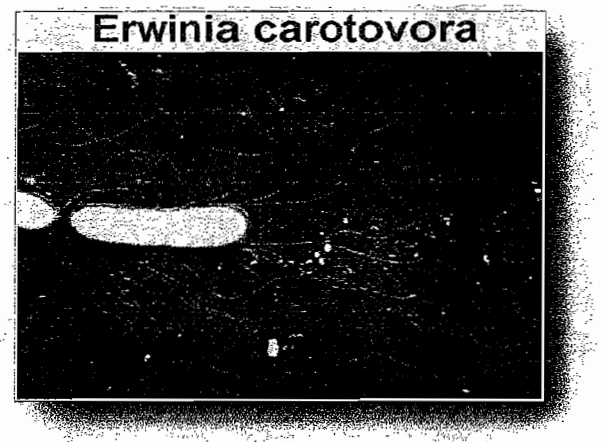
این باکتریها میله ای شکل می باشد اما ممکن است ضمن رشد و نمو دچار تغییر شکل گردد گونه های این جنس متحرکند و ممکن است باعث فساد مواد غذایی شوند برخی از گونه ها به ندرت بیماریزا می باشند . باکتریهای این جنس دارای رشد خزنده در مواد غذایی می باشند کلنی های این باکتری معمولاً به یکدیگر چسبیده و لایه نازکی را در سطح مواد غذایی ایجاد می کنند . این باکتریها قادر به تجزیه اوره هستند و گلوکز را با تولید اسید و گاز تجزیه می کنند .





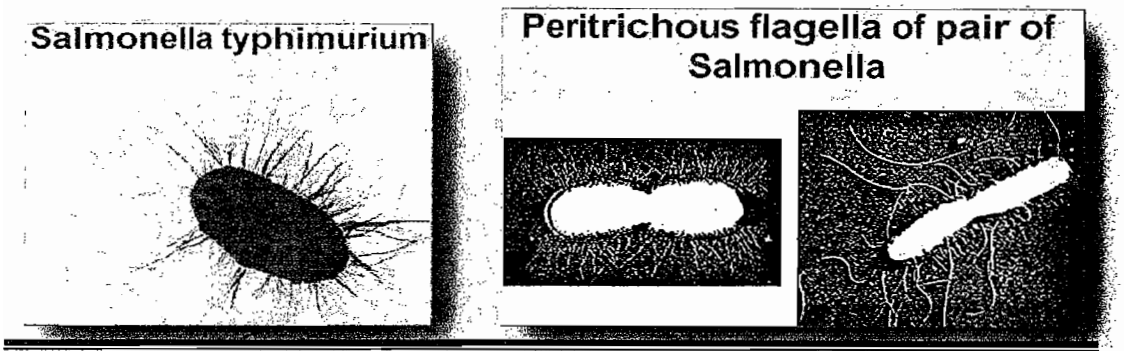
جنس اروینیا Ervinia :

این باکتریها اغلب به دلیل دارا بودن ویژگی پروتئولیتیک می توانند سبب نرم شدن بافت میوه جات و سبزیجات گردند این تغییر ممکن است ضمن نگهداری مواد غذایی در محیط یخچال نیز اتفاق بیافتد ، به طور کلی گونه های این جنس دارای ویژگی سایکروفیلی می باشند .



جنس سالمونلا Salmonella :

باکتریهایی که در این جنس قرار گرفته اند عموماً متحرکند به جزء دو گونه S.gallinarium و S.pullorum که به طور استثنائی غیر متحرکند . ، برخی گونه های پاتوژن در این جنس مشاهده می شوند ، مانند S.typhi و S.paratyphi که عامل حصبه و شبه حصبه هستند . غذای آلوده و آب آلوده و انسان آلوده . گونه های این جنس می توانند عامل عفونت و مسمومیت غذایی باشند . معمولاً باکتریهای این جنس از نظر تعداد در مواد غذایی محدود می باشند اما در تعداد کم می توانند اثرات بیماریزایی خود را نشان دهند . در مجاورت برخی از باکتریها مانند باکتریهای اسید لاکتیک تکثیر نشده اما می توانند به حیات خود ادامه دهند . باکتریهای جنس سالمونلا دارای شباهت زیادی به باکتریهای اشرشیا می باشند ، مهمترین تفاوت آنها در عدم توانایی استفاده از قند لاکتوز توسط باکتری های سالمونلا می باشد . باکتریهای جنس سالمونلا قادر به استفاده از سیترات به عنوان تنها منبع کربنی هستند ، بسیاری از گونه ها گاز H_2S تولید می کنند ، همچنین گلوکز را با تولید گاز هیدرولیز می کنند .



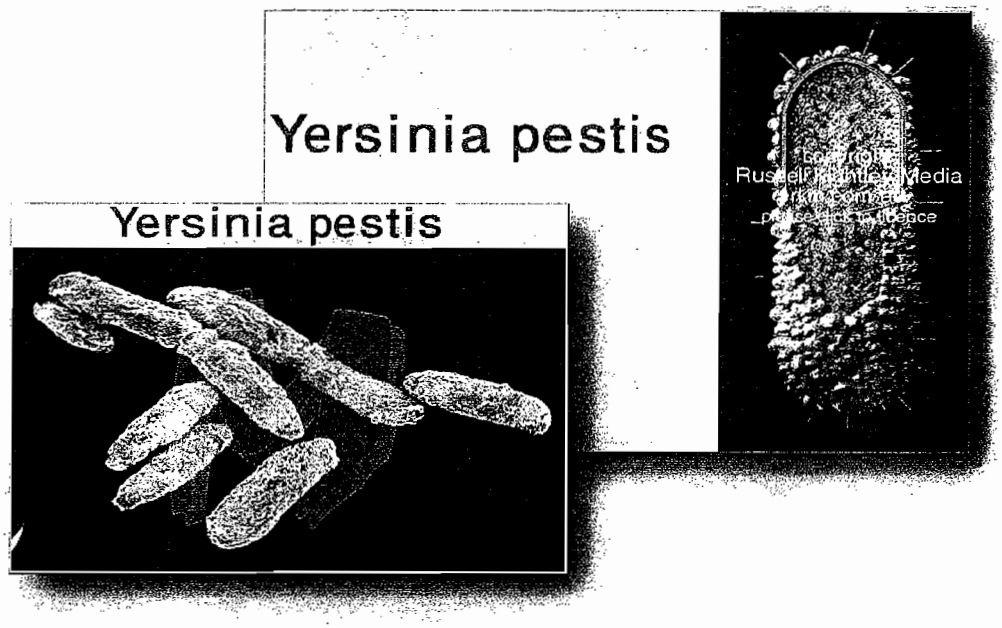
جنس شیگلا Shigella :

این باکتریها معمولاً هوازی و غیر متحرک است برخی گونه ها مولد اسهال خونی بوده که عمدتاً از طریق آب آلوده و انسان بیمار انتقال می یابد . گونه های این جنس قادر به تولید گاز ضمن تجزیه گلوکز هستند گاز H_2S تولید نمی کنند از قند لاکتوز استفاده نمی کنند ، به طور استثناء گونه SH.sonnei به کندی قند لاکتوز را تخمیر میکند . این جنس شباهت زیادی به باکتریهای جنس سالمونلا دارد گونه های بیماریزا معمولاً عامل عفونت غذایی هستند .

جنس یرسینیا Yersinia :

اگر چه باکتریهای این جنس در خانواده اینتروباکتریاسه طبقه بندی می شوند اما از نظر برخی ویژگی ها با باکتریهای این خانواده متفاوت می باشد . مثلاً اندازه این سلول ها بسیار کوچک بوده و اغلب به صورت کوکسی شکل می باشند . اگرچه ممکن است در درجه حرارت های مختلف به شکل های متفاوتی مشاهده گردد .گونه های این جنس قادر به رشد در دماهای کمتر از $4\ C^o$ هستند ، G^- ، هوازی و فاقد قدرت تولید اسپور هستند . قدرت تحرک این باکتریها وابسته به درجه حرارت محیط می باشد و به طور کلی در دمای کمتر از $30\ C^o$ متحرک ، در بالاتر از $37\ C^o$ غیر متحرک هستند و بین 30 تا $37\ C^o$ قدر ت تحرک وابسته به گونه و سایر عوامل موثر بر رشد باکتری است . به عنوان مثال چنانچه عوامل داخلی و خارجی موثر بر رشد M.O برای آن موثر باشد اغلب گونه ها به صورت متحرک ظاهر می شوند ، از گونه های بیماریزای این جنس گونه های Y.pestis «عامل طاعون» و Y.entercolitica «عامل عفونت غذایی» است . لازم به یا آوری است که این گونه دارای توانایی تهاجم به سلول های دستگاه گوارش انسان می باشد . اگر چه از برخی از انواع این باکتریها نوعی توکسین شناسایی شده است . اما می توان گفت توکسین فوق ارتباطی با علائم بیماری ندارد چرا که

برخی از گونه های فاقد قدرت تولید توکسین نیز قدرت بیماریزایی و ایجاد علائم مشاهده شده است . این باکتری قادر است درجه حرارت یخچال را به مدت بیش از 10 روز تحمل کند و در این شرایط تکثیر گردد .بنابراین استفاده از یخچال روش مناسبی برای نگهداری مواد غذایی آلوده به این باکتری نمی باشد و مناسب ترین روش استفاده از حرارت است . این باکتری در شیر خام یا برخی مواد غذایی که حرارت کافی ندیده اند به انسان منتقل می شود . مانند غذاهای چینی . دمای بالاتر از $50\ C^{o}$ ، غلظت 5٪ نمک طعام و نیز pH اسیدی این M.O را غیر فعال می کند . معمولاً حضور باکتریهای خانواده اسید لاکتیک از رشد این باکتری جلوگیری می کند برخی از گونه ها در فرایند انجماد مقاومت نشان می دهند اگر چه عمدتاً در این شرایط در فاز لگاریتمی رشد خود قرار ندارند ، توکسین تولید شده توسط برخی گونه ها نسبت به حرارت پروتئاز و لیپاز مقاوم است . باکتریهای این جنس معمولاً ضمن تجزیه قند گلوکز مقدار کمی گاز تولید می کنند اما قادر به استفاده از لاکتوز نمی باشند برخی از گونه ها در این جنس پاتوژن گیاهی هستند .

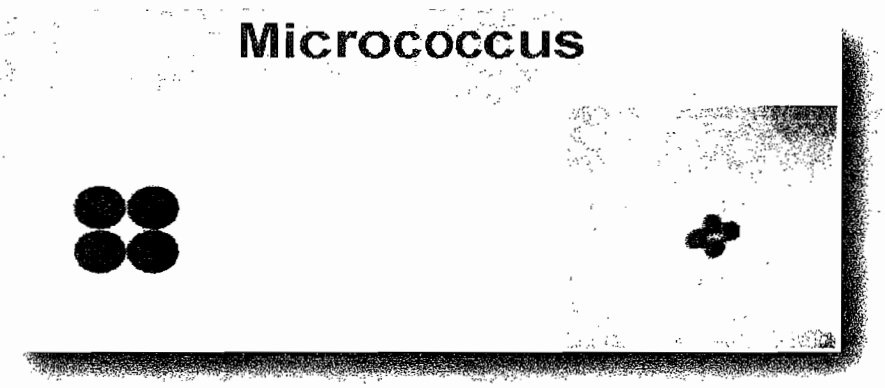


خانواده میکروکوکاسه Micrococcuseae **:**

باکتری های این خانواده G^{+} ، کروی شکل ، هوازی ، فاقد اسپور و معمولاً فاقد قدرت تحرک می باشند .

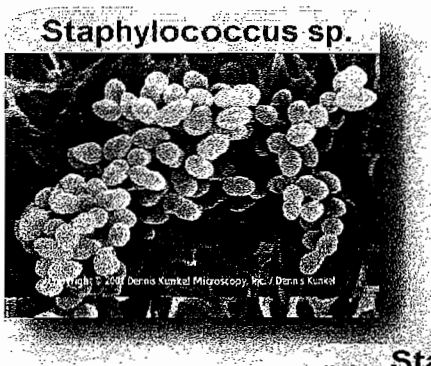
جنس میکروکوکوس Micrococcus :

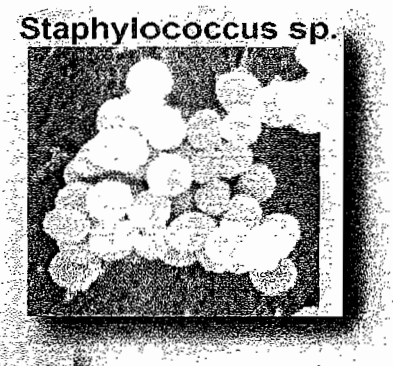
باکتریهای این جنس کروی هستند و ممکن است به صورت منفرد مشاهده شوند اما اکثراً به صورت به هم چسبیده و دارای چندین محور تقارن هستند ، برخی از گونه هایی که در این جنس مشاهده می شوند هالوفیل بوده و قادر به تحمل غلظت بالای نمک طعام می باشند . معمولاً درجه حرارت بهینه برای رشد آنها 25 تا 30 C^o است اما برخی قادرند دمای پاستوریزاسیون را تحمل کنند ، به عنوان مثال گونه میکروکوکوس واریانس در شیر پاستوریزه شده دیده می شود در مقابل گونه هایی نیز در این جنس مشاهده می شود که در 10 C^o قادر به رشد هستند . باکتریهای این جنس ممکن است ضمن رشد در مواد غذایی سبب تغییر رنگ آن گردد به عنوان مثال می توان به میکروکوکوس فلاووس اشاره کرد که مولد پیگمانهای زرد رنگ است . گونه های این جنس گستره بسیار وسیعی در طبیعت دارند ، معمولاً باکتریهای پاتوژن در این جنس مشاهده نمی شود اما بسیاری از عوامل فساد غذایی قابل مشاهده هستند .

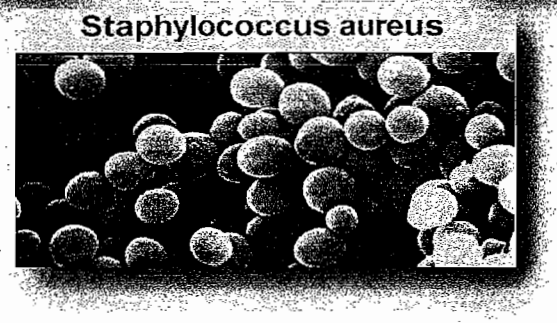


جنس استافیلوکوکوس Staphylococcus :

باکتریهای این جنس G^+ و کروی شکل می باشند و معمولاً سلولها به یکدیگر چسبیده و خوشه ای شکل هستند این باکتریها هوازی اختیاری و کاتالاز مثبت هستند و فاقد اسپور و غیر متحرکند . باکتریهای این جنس به دلیل دارا بودن آنزیم ها و توکسین های مختلف قادر به استفاده از مواد غذایی متفاوت می باشند این باکتریها نسبت به درجه حرارت پاستوریزاسیون غیر مقاومند «برخی توکسین مقاوم به حرارت تولید می کنند » . این باکتریها می توانند تا حدی کاهش a_wرا تحمل کنند . اکثر گونه ها قادر به استفاده از قند مانیتول می باشند همچنین بسیار از گونه ها قادر به تحمل غلظت بالای نمک طعام می باشند . بهترین pH برای فعالیت آنها محدوده خنثی است اما pH 4.5 تا 9 را به خوبی توسط آنها تحمل می شود .



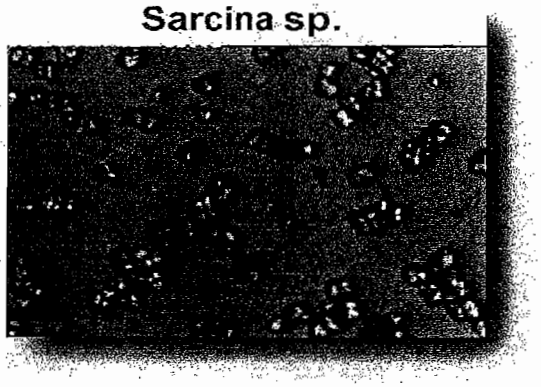




جنس سارسینا Sarcina:

باکتریهای این جنس G^+، هوازی «برخی گونه ها میکروآئروفیل و کاتالاز منفی می باشند که این گونه ها به ندرت مشاهده می شوند . » معمولاً سلول ها به هم چسبیده مشاهده می شوند ، درگونه سارسینا ونتریکولی ممکن است تا 64 سلول به هم چسبیده و قطر زیادی را ایجاد کنند .

این باکتریها فاقد تحرک و دارای اسپور می باشند . معمولاً باکتریهای این جنس تغییرات وسیعی از pH را تحمل می کنند ، pH 1 تا 9.8 توسط این باکتری ها تحمل می شود . در انواع آب ها ، مواد لبنی ، سسها و مواد گوشتی دیده می شوند .

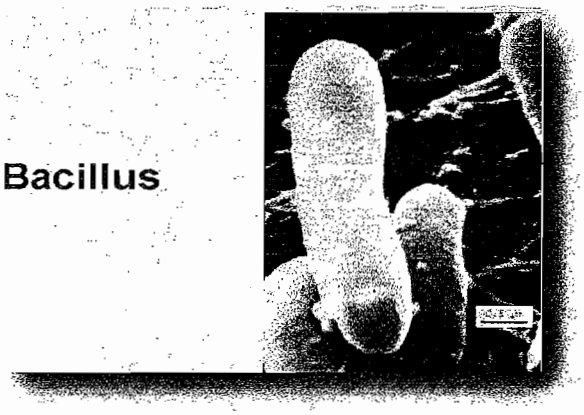


خانواده باسیلاسه Bacillaceae:

این خانواده شامل باکتریهای G^+ ، اسپور دار می باشد دو جنس مهم باسیلوس و کلستریدیوم در این خانواده مشاهده می شود .

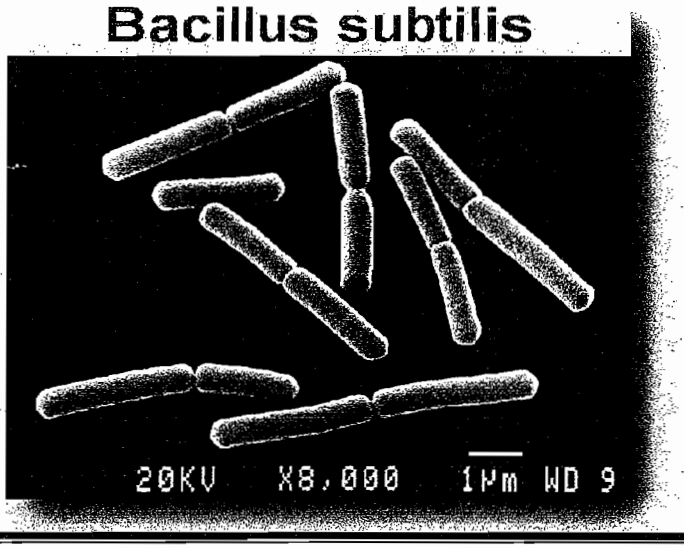
جنس باسیلوس Bacillus:

باکتریهای این جنس G^+، میله ای شکل ، هوازی یا هوازی اختیاری در مواردی متحرک می باشند ، گونه های متحرک تسط اندامهای حرکتی سطحی حرکت می کنند . این باکتریها قادر به تولید اسپور داخلی یا آندوسپور هستند . اسپور تشکیل شده در قسمت مرکز یا انتهای سلول ممکن است در سلول رویشی ایجاد بادکردگی کند . اکثر باکتریهای جنس باسیلوس و نیز کلستریدیوم ها قادر به استفاده از ترکیبات نشاسته ای می باشند و ممکن است در نتیجه مصرف ترکیبات قندی اسید و گاز تولید می کنند .



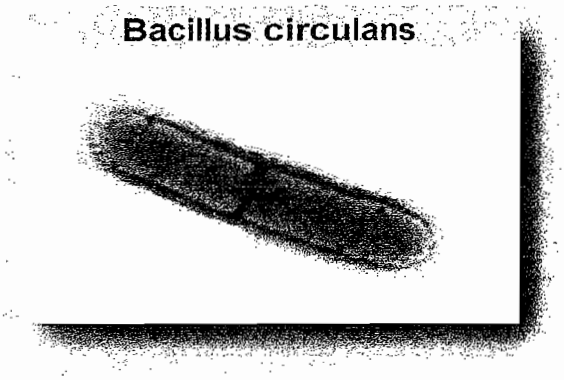
گونه باسیلوس سوبتیلیس B.Subtilis:

این باکتریها متحرک بوده و دارای طاهری باریک ، ظریف و میله ای شکل اند اکثراً دارای خاصیت پروتئولیتیک هستند و می توانند در انعقاد شیرین پنیر مورد استفاده قرار بگیرند . و برخی از گونه ها در قسمت مرکز نانهای حجیم فرایند حرارتی را تحمل کرده در نتیجه فعالیت آنزیمی سبب راپینس یا طنابی شدن در نان می گردد . قادر به تجزیه ساکارز ، گلوکز ، گزیلوز ، آرابینوز و مانیتول بدون تولید اسید و گاز هستند . این گونهها مزوفیل و غیر بیماریزا می باشند .



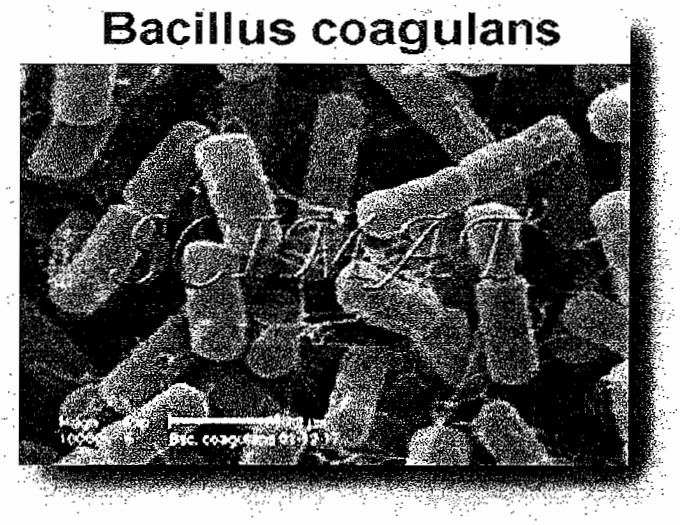
گونه باسیلوس سیرکولانس B.circulans **:**

شکل ظاهری این باکتری ها دایره ای شکل بوده ، اکثر گونه ها موجب ترد شدن شیر و هیدرولیز کازئین می گردد همچنین در برخی دیگر از مواد غذایی بویژه محصولات نشاسته ای قابل مشاهده است . از نظر نیاز های حرارتی مزوفیل است .



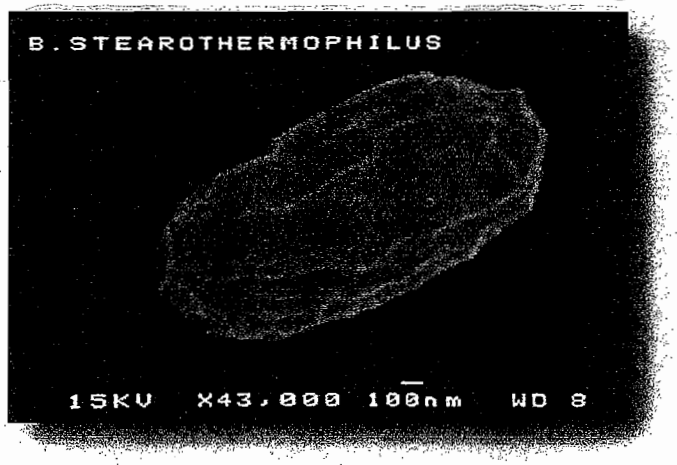
گونه باسیلوس کواگولانس B.coagolans **:**

این باکتری ممکن است در مراحلی از رشد در برابر رنگ آمیزی گرم واکنشی متفاوت نشان دهد «گرم متغیر» در برخی مواد غذایی تغلیظ شده قابل مشاهده است می تواند با مصرف نرکیبات موجود بدون تولید گاز ، اسید تولید کند .«عامل عفونت Flat sour» برخی از زیر گونه های این جنس قادر به تولید اسید لاکتیک می باشند این باکتری ها ترموفیل بوده ، pH مناسب جهت تولید اسید توسط آنها کمی بالاتر از pH اپتیمم برای رشد است که pH مناسب جهت تولید اسید توسط آنها کمی بالاتر از pH اپتیمم برای رشد است که pH مناسب آن 5.5 است اما در pH 4 رشد می کند .



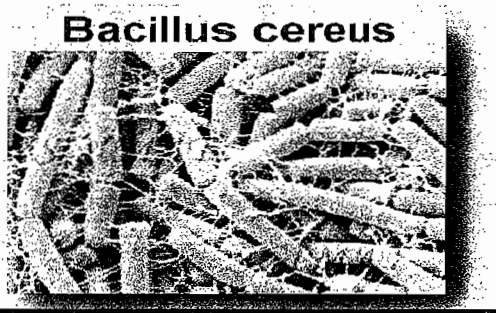
گونه باسیلوس استئاروترموفیلوس B.stearothermophilos :

باکتری های این گونه عامل Flat sour در مواد غذایی بوده و دارای خاصیت چربی دوستی و گرما دوستی می باشند بررسی ها نشان داده است مقاومت حرارتی اسپور های باکتری علاوه بر شرایط کشت و سن M.O به شکل و فرم ساختمانی سلول ها نیز بستگی دارد به طور کلی دو نوع اسپور توسط باکتری های این گونه تولید می شود هر دونوع اسپور دارای دیواره سلولی 3 لایه می باشند ، اسپور نوع اول که در سطح خارجی دیواره خود از لایه ای صاف و ضخیم تشکیل شده است و نسبت به اسپور نوع دومکه سطح خارجی خشن و ضخیم دارد مقاومت حرارتی بیشتری دارد .



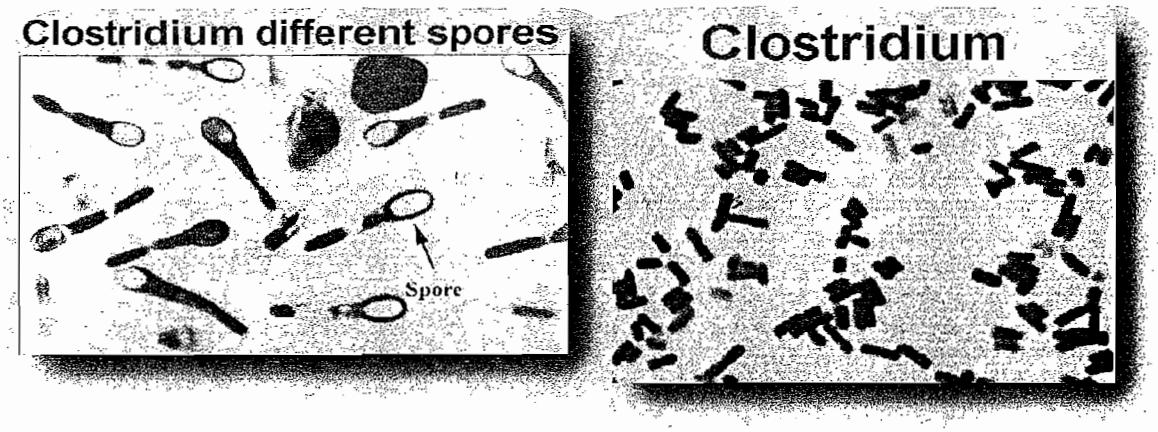
گونه باسیلوس سرئوس B.seruos :

باکتری های این گونه به طور گسترده ای در طبیعت انتشار دارند به دلیل فراوانی در دستگاه گوارش انسان ممکن است به عنوان بخشی از فلور طبیعی محسوب شود . برخی گونه های پاتوژن نیز در این گونه مشاهده می شوند معمولاً دو نوع اگزوتوکسین توسط این باکتری ها تولید می شوند ، توکسین نوع اول وزن مولکولی بالایی داشته اما مقاومت حرارتی آن پایین است . در 65 C^{o} به مدت 5 دقیقه غیر فعال می شوند این توکسین معمولاً مولد اسهال می باشد . توکسین نوع دوم وزن مولکولی کمتری داشته اما نسبت به حرارت بسیار مقاوم است . باکتری های این گونه عموماً از مواد غذایی نشاسته ای استفاده می کنند . علاوه بر آن در برخی دیگر از مواد غذایی نظیر شیر خامه وشیر خشک مشاهده می شود . باعث کلوخه شدن شیر خشک می شود . برخی از این باکتری ها می توانند در پنیر سازی استفاده شوند .



جنس کلستریدیوم Clostridium :

باکتری های این جنس بی هوازی بوده بر خلاف باکتری های جنس باسیلوس در زمان تشکیل اسپور داخلی در سلول رویشی تورم ایجاد می شود . همچنین این باکتری ها برخلاف باسیلوسها معمولاً به صورت تک تک مشاهده می شوند .



گونه کلستریدیوم بوتیریکوم C.butericom :

این باکتری اغلب در مواد غذایی نشاسته ای مشاهده می شود و منجر به فساد کنسرو سبزیجات شده با استفاده از ترکیبات قندی اسید و گاز تولید می کند ، متحرک ، مزوفیل و غیر بیماری زا است .

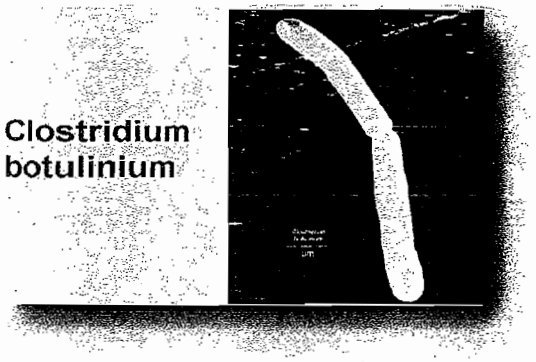
گونه کلستریدیوم نیگریکنس C. Nigerians :

بر خلاف سایر باکتری های جنس کلستریدیوماین باکتری ها در زمان تشکیل اسپور تورم چندانی ایجاد نمی کنند . در بسیاری از مواد غذایی کنسرو شده منجر به ایجاد رنگدانه سیاه رنگ می باشد . این باکتری ها در مواد غذایی با تجزیه اسید آمینه گوگرد دار تولید گاز H_2S می کنند که ترکیبی محلول در آب می باشد و در نتیجه بادکردگی جدار داخل قوطی در مجاورت فلز آهن به سولفید آهن تبدیل می شوند که سیاهرنگ است . باکتری فوق ترموفیل است .

گونه کلستریدیوم بوتولینوم C.butolinom :

این باکتری دارای تیپ ها یا زیر گونه های مختلفی است . ویژگی های تیپ های مختلف تا لندازه ای با یکدیگر متفاوت است به عنوان مثال اسپور تولید شده توسط انواع A ، B و C در برابر حرارت بسیار

مقاوم است . بررسی ها نشان داده است درجه حرارت تشکیل اسپور بر مقاومت حرارتی آن نقش دارد به عنوان مثال اسپور هایی که در $37\ C^o$ تشکیل می شوند . نسبت به اسپور هایی که در $40\ C^o$ تشکیل شده اند مقاومت حرارتی بالاتری دارند . وجود یون های کلسیم و آهن مقاومت حرارتی اسپور ها را افزایش می دهد .



انواع تیپ ها :

تیپ های A ، B و E معمولاً در انسان و حیوانات ایجاد بیماری می کنند . تیپ F تنها قادر به ایجاد بیماری در انسان است . تیپ A از طریق سبزیجات کنسرو شده گوشت و ماهی ، تیپ B از طریق کنسرو گوشت و علوفه ، تیپ E عموماً از طریق غذاهایی با منشأ دریایی و تیپ F از طریق مواد گوشتی کنسرو شده به انسان انتقال می یابد .

pH بهینه برای تولید توکسین 4.8 تا 5.5 می باشد . در pH کمتر از 4.8 توکسین تولید نمی شود . اما ممکن است برخی از انواع اسپور در این pH باقی مانده و نیز توکسین هایی که در pH های بالاتر تولید شده اند ثابت بمانند . معمولاً گونه های پروتئولیتیک کلستریدیوم بوتولینوم از نظر نیاز های حرارتی با سایر گونه ها متفاوت هستند . این باکتریها معمولاً درجه حرارت های کمتر از $10\ C^o$ رشد نمی کنند . توکسین تولید شده توسط این باکتری توکسین عصبی یا نوروتوکسین می باشد . این توکسین در شرایط اسیدی نسبت به شرایط قلیایی پایدارتر است ، همچنین نسبت به اشعه و بسیاری از آنتی بیوتیک ها نیز مقاومت نشان می دهد . آب اکسیژنه 10٪ این توکسین را غیر فعال می کند .

گونه کلستریدیوم پاستوریانوم C.pastorianom :

این باکتری ها در کنسرو های نیمه اسیدی و ترکیبات نشاسته ای مشاهده می شود . با مصرف کربوهیدرات ها در شرایط بی هوازی قادر به تولید اسید بوتیریک می باشند . اما نسبت به سایر M.O

تولید کننده این اسید غلظت های بالای گلوکز و ساکارز را تحمل می کنند ، متحرکند و از نظر نیاز های حرارتی مزوفیل اند .

گونه کلستریدیوم اسپوروژنز C.Sporogenez

این باکتری ها در مواد غذایی که دارای pH بیشتر از 4.5 می باشند سبب ایجاد فساد و بادکردگی می شود . معمولاً در pH 7 و یا کمی بالاتر اسپور تولید می کنند با تجزیه ترکیبات پروتئینی بوی نامطلوب در مواد غذایی ایجاد کرده ، مزوفیل و غیر بیماری زا می باشد .

قارچ ها :

به طور کلی قارچ ها به دو دسته کپک ها و مخمر ها تقسیم می شوند ، کپک ها اغلب پر سلولی بوده و مخمر ها تک سلولی هستند ، برخی از کپک ها ممکن است به صورت استثناء تک سلولی باشند و نیز ممکن است سلول های مخمر ضمن تکثیر و جوانه زدن پر سلولی باشند .

برخی از کپک ها در مراحلی از رشد خود تک سلولی بوده سپس ممکن است تکثیر شوند و به صورت پر سلولی ظاهر شوند . به این کپک ها اصطلاحاً Dimorphic یا دو شکلی گفته می شود .

سلولهای کپک ها از انتها به یکدیگر متصل شده و تشکیل رشته هایی به نام هیف یا ریسه را می دهند . با تکثیر سلولی ریسه ها شبکه ای به نام میسلیوم تشکیل می شود . در مورد برخی از کپک ها اندام رویشی تغییر شکل داده شبکه ی بسیار فشرده و متراکمی به نام Plectenchyma تشکیل می دهد . چنانچه ساختار رشته ای شکل ریسه ها از بین رفته باشد و تنها توده ای کرکی شکل مشاهده می شود ، که به آن Pseudoplectenchyma گفته می شود .

به طور کلی دو نوع ریسه یابی در کپک ها مشاهده می شود :

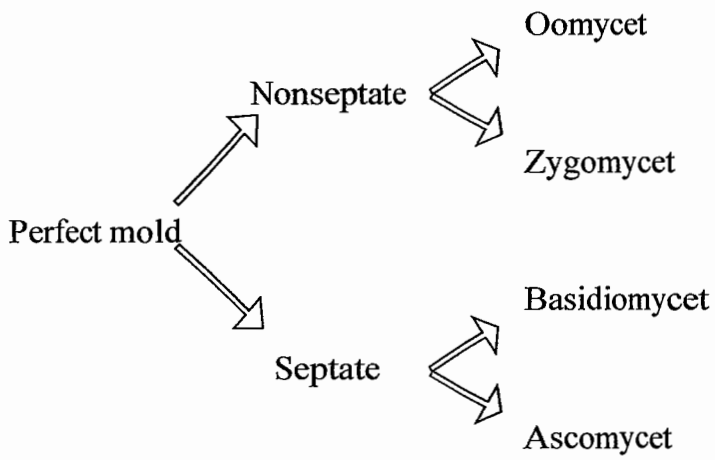
1- ریسه های هوایی یا Arial که معمولاً بیشتر در مواد غذایی قرار دارند . این ریسه ها حامل اندامهای بارزا در کپک می باشند .

2- ریسه های غوطه ور یا Submerged که به سطح ماده غذایی چسبیده و یا در آن فرورفته اند . این ریسه ها دارای آنزیم های لازم جهت تجزیه ترکیبات موجود در مواد غذایی می باشند .

چنانچه تکثیر سلولی و طویل شدن ریسه از طریق تقسیم یکی از سلولهای انتهایی ریسه انجام شود به این روش رشد اصطلاحاً Apical growth گفته می شود چنانچه یکی از سلول ها میانی تکثیر گردد و سبب توسعه شود به این روش Intercalary growth گفته می شود .

چنانچه دیواره عرضی بین سلول ها در ساختمان ریسه های کپک از بین رفته باشد به این کپک اصطلاحاً Nonseptate گفته می شود ، در مقابل این گروه کپک های Septate هستند که دارای دیواره عرضی هستند .

به طور کلی دو روش تولید مثل در مورد کپک ها شناسایی شده : 1- جنسی و 2- غیر جنسی ، غیر جنسی اهمیت بیشتری دارد . چرا که چندین بار در سال تکرار شده و در شرایط سخت محیط نیز صورت می گیرد . کپک هایی که تنها با روش جنسی تکثیر می یابند معمولاً به سختی مورد شناسایی قرار می گیرند .



در مورد برخی از کپک ها ممکن است توده ی فشرده ای از میسلیوم تغییر شکل داده به طوری که سلول های آن دارای دیواره ضخیم شده و این توده نسبت به حرارت و سایر شرایط نامناسب محیطی مقاوم تر از سایر بخش های میسلیوم می گردد .

وجود برخی از اندام های ویژه می تواند به شناسایی کپک کمک کند به عنوان مثال می توان به سلول پایه یا Foot cell در Aspergillus ، Rhizoid یا ریشک در Rhizopus و سلولهایی به شکل Y در Geotrichum اشاره کرد .

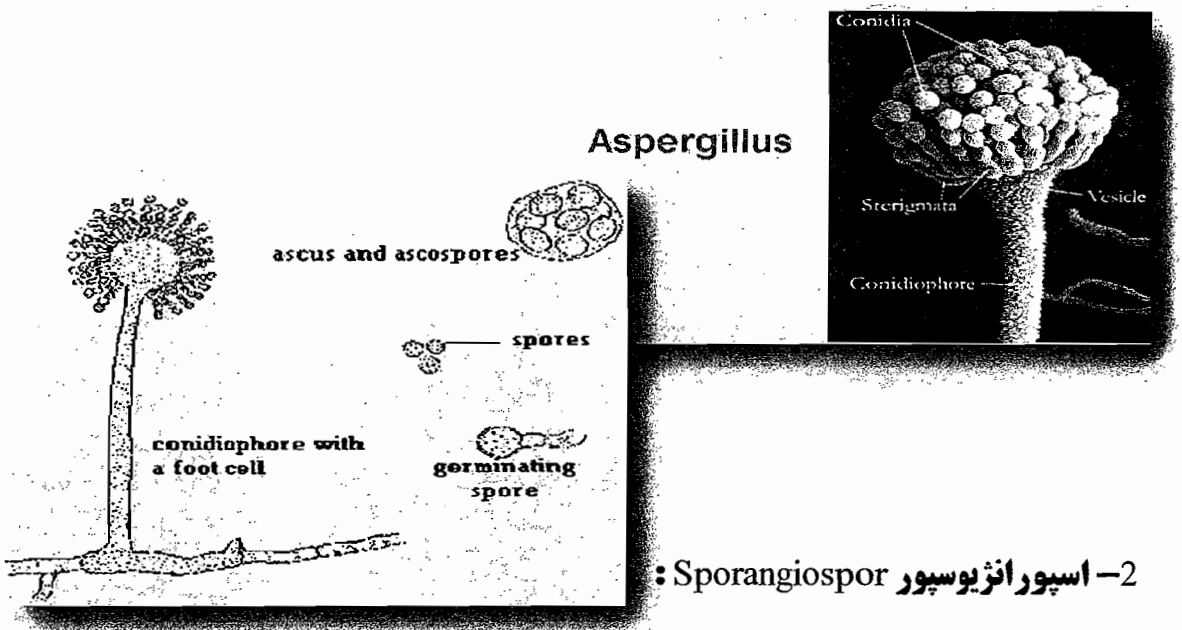
اسپور های غیر جنسی کپک ها :

اسپور های غیر جنسی کپک ها از نظر اندازه بسیار ریز ومعمولاً شفاف و مقاوم بوده «بویژه در برابر خشکی» به تعداد زیاد تولید می شود . چنانچه در شرایط مناسب قرار بگیرد تکثیر شده و مولد کپک جدید می گردد .

به طور کلی چهار نوع اسپور غیر جنسی در کپک های موجود در مواد غذایی مشاهده شده است .

1– کنیدیوم Conidium :

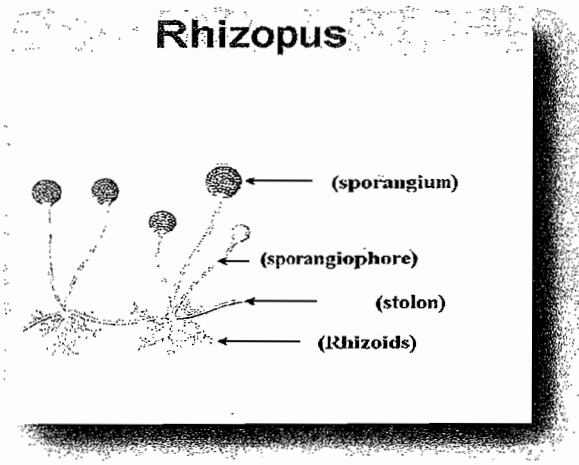
نوعی اسپور غیر جنسی است که بر خلاف سایر اسپور ها در داخل محفظه یا کیسه ای مشخص قرار ندارد ، این اسپور ها به صورت آزادانه اغلب منظم و به شکل دانه های تسبیح قابل مشاهده هستند اسپور های فوق در انتهای ریسه زاینده ای که اصطلاحاً Conidiophore نامیده می شود تشکیل می شوند . به اولین سلولی که در رأس Conidiophore قرار گرفته و با تکثیر آن سایر اسپور های غیر جنسی شکل می گیرد ، Strigma (phialide) گفته می شود . در کپک Aspergillus ، Foot cell مشاهده می شود . این کپک دارای دیواره عرضی است «Septet» و جزء کپک های ناقص می باشد .

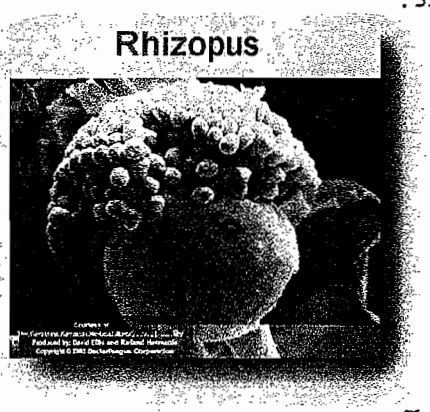


2– اسپورانژیوسپور Sporangiospor :

یک اسپور غیر جنسی است که داخل محفظه ای به نام Sporangium تشکیل می شود . این مجموعه در انتهای ریسه زاینده ی Sporangiophore قرار گرفته است .

بخشی از Sporangiophore که به داخل Sporangium نفوذ کرده است Clumela نامیده می شود . در کپک Rhizopus ، Rhizoid یا ریشک از محلی که گره یا Node نامیده می شود منشعب می شود . دو ریسه مجاور ممکن است از طریق بخشی که Stolon نامیده می شود به هم متصل می شود . Rhizopus کپکی است فاقد دیواره عرضی ، گونه R.nigricans به نام کپک نان معروف است . اکثر گونه های این جنس دارای رشد سریعی بوده و سبب فساد نان و میوه جات می گردد .





3– آرتروسپور Arthrospore :

آرتروسپور از قطعه قطعه شدن سلول های تشکیل دهنده ریسه کپک تشکیل می شود .

4– کلامیدوسپور Chlamidospore :

کلامیدوسپور بخشی از میسلیوم کپک می باشد که با تجمع مواد غذایی درون سلول و تشکیل دیواره ضخیم در اطراف آن می تواند شرایط سخت محیطی را تحمل کند .

اسپور های جنسی :

اسپور های جنسی کپک ها بسیار متنوع می باشد و روش تشکیل آنها بسیار متفاوت می باشد به عنوان مثال :

Oospore

از تلفیق گامت نر با گامت ماده بوجود می آید . کپک های مولد این نوع اسپور اکثراً آبزی بوده و در مواد غذایی مشاهده نمی گردد .

Zygospore

اسپور جنسی می باشد که از تلفیق دو سلول انتهای دو ریشه تشکیل می شود .ریسه های مذکور ممکن است متعلق به یکمیسلیوم و یا میسلیوم های متفاوت باشند .

Ascospore

از تلفیق دو سلول اولیه که اغلب متعلق به میسلیومهای متفاوت می باشد تشکیل می شود . این سلول ها در داخل محفظه ای که اصطلاحاً Asc نامیده می شود تشکیل می شود . معمولاً تعداد آسکوسپور ها در داخل هر کیسه 8 عدد می باشد . ممکن است تعدادی از کیسه ها توسط پوشش خارجی احاطه گردد به این مجموعه Ascocarp گفته می شود .

Basidospore

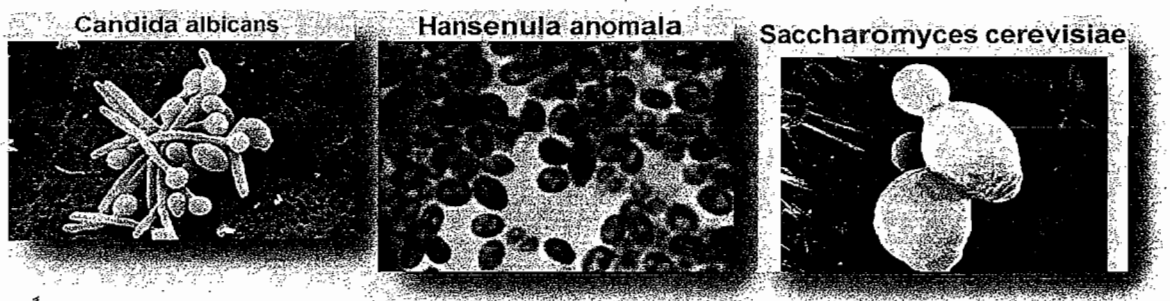
کپک ها با تشکیل میسلیوم در مواد غذایی ظاهر محصولات را کرک مانند و پنبه ای می کنند و عامل فساد تلقی می شوند اگرچه از برخی از آنها برای تولید مواد غذایی استفاده می شود به عنوان مثال می توان به Bluc cheesse ، پنیر های کاممبرت و لوکفورت وبسیاری از مواد غذایی تخمیری اشاره کرد . کپک ها از نظر نیاز های حرارتی مزوفیل هستند ، بسیاری از آنها درجه حرارت پایین را تحمل می کنند تا کنون هیچ کپک ترموفیل در مواد غذایی گزارش نشده است .

مقادیر پایین a_w و دامنه وسیعی از pH توسط کپک ها قابل تحمل می باشد این سلول ها معمولاً در محیط هایی که اکثر M.O ها قادر به رشد نیستند مشاهده می گردند . برخی قادر به تولید توکسین اند ، این توکسین ها اصطلاحاً مایکوتوکسین نامیده می شوند . علاوه بر مشخصات گفته شده شکل کلنی کپک ها نیز می تواند به شناسایی آنها کمک کند . اندازه کلنی برخی از کپک ها نا محدود بوده به محیط کشت و شکل ظرف بستگی دارد . مشخصات پشت کلنی کپک ها نیز می تواند به شناسایی کپک ها کمک کند .

مخمر ها :

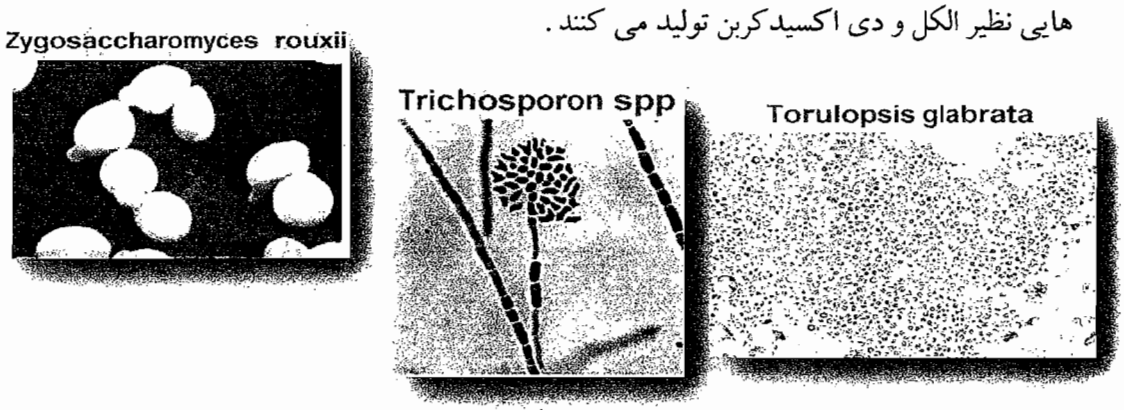
ارائه تعریفی دقیق از سلول های مخمر معمولاً مشکل می باشد . می توان سلول های مخمر را به عنوان قارچ های تک سلولی معرفی نمود . متداول ترین روش تولید مثل مخمر ها جوانه زدن است . جوانه زدن پدیده ای است که بخشی از پروتوپلاسم سلول سبب تورم دیواره می گردد ، این بخش رشد نموده و به سلول جدید تبدیل می شود سلول بوجود آمده ممکن است یه سلول اولیه چسبیده باقی بماند و یا از آن

جدا شود . تعداد محدودی از مخمر ها نظیر باکتری ها با روش تکثیر دو تایی قسیم می شوند . همچنین سلول برخی از مخمر ها با تشکیل دیواره ضخیم در اطراف خود مبدل به نوعی اسپور می شود .



مخمر های موجود در مواد غذایی را می توان به دو دسته تقسیم نمود ، مخمر های سطحی که اصطلاحاً Film Yeast نامیده می شود ، این دسته در حضور اکسیژن قادر به اکسیداسیون مواد غذایی هستند چنانچه در مواد غذایی اسیدی رشد کنند ضمن اکسیداسیون این ترکیبات زمینه برای فعالیت باکتری ها مناسب می کنند .

دسته دوم مخمر های عمقی که در داخل مواد غذایی ودر قسمت هایی که پتانسیل اکسیداسیون و احیاء ناچیز است مشاهده می شود . این دسته از سلول ها با مصرف مواد غذایی بویژه منابع کربنی متابولیت هایی نظیر الکل و دی اکسیدکربن تولید می کنند .



برخی از مخمر ها بویژه جنس Saccharromyces دارای کاربرد های صنعتی فراوان می باشند . از گونه های این جنس در صنعت نانوایی ، الکل سازی ، تولید آنزیم ، تخمیر قند لاکتوز و غیره استفاده می شود . این مخمر با روش غیر جنسی جوانه زدن و نیز با تشکیل آسکوسپور تکثیر می یابد .