

میکروبیولوژی مواد غذایی 1

فصل اول

(از سالمونلا تا سر خانواده لیستریاسه)

سالمونلا Salmonella

- منشأ اصلي : انسان، حيوانات و بالاخره مواد غذائي حاصله از حيوانات بیمار مثل گوشت، تخم پرندگان، شیر و ... است .
- به استثنای سالمونلا پولوروم (S.pullorum) و سالمونلا گالیناروم (S.gallinarum) که غیر متحرکند ، سالمونلاها به وسیله تازک های فراواني که سطح آن ها را پوشانده است حرکت مي کنند .
- دمای ایتیمم رشد آنها 37°C می باشد - نسبت به حرارت حساس هستند و در دمای پاستوریزاسیون به آسانی از بین مي روند
- سالمونلا تیفی موریوم، متداول ترین سویه جدا شده در مواد غذایی در جهان می باشد .
- سالمونلا سنفتنبرگ W S.senftenberg 775 ، مقاوم ترین آن ها نسبت به حرارت است .
- بر خلاف استافیلوکوک ها، سالمونلا قادر به تحمل غلظت های زیاد نمک نیست. غلظت آب نمک بالاتر از 9 درصد روی این ارگانیزم اثر کشندگی دارد. حداقل aw جهت رشد حدود 0/93 مي باشد . اما سلول های این ارگانیزم به خوبی در مواد غذائي خشك زنده مي مانند .

در روش آنالیز آنتی ژنی کافمن و وایت، انواع سالمونلاها به کمک آنتی ژن های دیواره سلولی (O)، آنتی ژن های تازکی (H) و آنتی ژن های کپسولی (Vi یا K) تشخیص و طبقه بندی می شوند.

■ پادگن O یا آنتی ژن سوماتیک، مربوط به پیکر باکتری است نسبت به گرما و بعضی مواد شیمیایی مانند الکل و استون مقاوم می باشد

• پادگن تازک، یا پادگن H: سالمونلاهای متحرک علاوه بر پادگن O دارای پادگن تازک، یا پادگن H می باشند. این آنتی ژن نسبت به حرارت، الکل و استون حساس است.

• پادگن Vi: نسبت به حرارت حساس است و در مقابل الکل و استون مقاوم است.

تعدادی از محققین در حین آزمون های سرولوژیکی متوجه شدند که نمونه هایی از سالمونلا تیفی که تازه از بدن بیمار جدا گردیده بودند با آنتی سرم O آگلوتینه نمی شوند. مشخص شد که این قبیل سویه ها، پادگن مخصوصی دارند به نام پادگن Vi که مخفف Virulence می باشد. هر گاه کشت های میکربی حاوی آن به مدت 10-20 دقیقه جوشانده شوند، این پادگن بی اثر می شود و می توان میکرب را توسط سرم ضد O مربوطه آگلوتینه کرد.

- در بین باکتری های میله ای گرم منفی عامل التهابات روده ای حاصل از مواد غذایی، مهم ترین ارگانیسم سالمونلا است . عفونت هائی که به وسیله سالمونلا به وجود می آیند را سالمونلوز Salmonellose گویند.
- بیماری هائی که بوسیله سالمونلا، خصوصاً در زمینه مواد غذایی بوجود می آیند در واقع عفونت غذایی هستند و میکرب باید ابتدا در مواد غذایی تکثیر نماید و سپس وارد بدن انسان گردد تا بتواند ایجاد عفونت غذایی کند
- دز عفونت زایی سالمونلا بالا است . باید حداقل تعداد 10^6 عدد از آن ها توسط يك فرد بلعیده شود . تا فرد دچار عفونت سالمونلایی شود.

محلول ها و محیط های مورد استفاده در جداسازی سالمونلا از مواد آلوده

- محلول های رقیق مواد رنگی که معمولا باکتریواستاتیک می باشند بر روی سالمونلاها و بعضی از میکروب های گروه انتروباکتریاسه اثری ندارند . هم چنین املاح صفراوی که مانع رشد برخی از میکروب ها هستند فعالیت این باکتری ها را تقویت می کنند . انواع این قبیل محیط های کشت مانند : مک کانکی آگار - سالمونلا شینگلا آگار - محیط سبز درخشان - محیط دزاکسی کلات سیترات - محیط بیسموت سولفیت و محیط ائوزین متیلن بلو را می توان نام برد .
- بعضی از محیط های کشت حاوی لاکتوز و معرف هستند و به این صورت پرگنه میکروب هایی که لاکتوز را تخمیر می کنند به رنگ ویژه ای در می آید که به خوبی از پرگنه سالمونلا که لاکتوز منفی می باشد، قابل تشخیص می باشند .

مراحل جداسازی سالمونلا

6

➤ پیش غنی سازی و غنی سازی

➤ کشت روی محیط های انتخابی - افتراقی

➤ آزمون های تاییدی از پرگنه های مشکوک به روی محیط کشت اوره و سه قندی TSI : Triple suger

iron agar که حاوی قندهای لاکتوز ساکاروز و گلوکز می باشد منتقل می گردد . در صورتی که در

محیط کشت اوره تغییری حاصل نگردید و در محیط کشت سه قندی لاکتوز و ساکاروز مورد استفاده

قرار نگرفت نتیجتا این پرگنه ها مشکوک به سالمونلا هستند .

➤ انجام آزمون های سرولوژی

- شیگلا عامل اسهال خونی باکتریایی Bacillary dysentery می باشد.
- منشأ اصلی آن در روده حیوانات خون گرم و فاضلاب ها می باشد . خصوصاً در دستگاه گوارش انسان و میمون یافت می شود . بنابراین یکی از منابع مهم انتقال, انسان بیمار یا حامل میکرب است .
- گلوکز را بدون تولید گاز تخمیر و اسید تولید می کنند. ولی بر لاکتوز اثری ندارند (به استثناء برخی نژادهای شیگلا سونی) و این خصوصیتی است که این ارگانیزم ها با اغلب سالمونلاها در آن مشترک هستند .
- چهار گونه شیگلا در ارتباط با مواد غذایی مهم و به عنوان پاتوژن انسانی " عامل اسهال خونی باکتریایی (بیماری دیسانتری) یا شیگلوز " شناخته می شوند : شیگلا دیسانتریه، فلکس نری، سونی و بوی دئی . Shi .boydii – Shi.flexneri – Shi.sonnei – Shi dysenteriae

➤ منشأ اصلی باکتری های یرسینیا، حیوانات اهلی و وحشی و مواد غذایی حیوانی هستند .

گونه هایی از جنس یرسینیا که پاتوژن انسان می باشند عبارتند از :

➤ 1- یرسینیا پستیس *Y.pestis* (عامل طاعون انسانی و موش و جوندگان می باشد .)

➤ 2- یرسینیا سودوتوبرکلوزیس *Y.Pseudotuberculosis* (باعث تورم غدد لنفاوی می شود .)

➤ 3- یرسینیا انتروکولیتیکا *Y.enterocolitica* (عامل مسمومیت غذایی می باشد .)

1. از نقطه نظر بهداشت مواد غذایی یرسینیا انتروکولیتیکا Y.enterocolitica حائز اهمیت می باشد . که از عوامل التهاب روده 9

در انسان است.

2. یرسینیا انتروکولیتیکا در دامنه وسیع حرارتی از 2- تا 45 درجه سانتی گراد با اپتیمم حدود 29 °C رشد می نماید . در برابر

حرارت مقاومت چندانی ندارد، اما در شرایط انجماد مقاومت زیادی از خود نشان می دهد . یرسینیا انتروکولیتیکا تنها

باکتری پاتوژن و سرما دوست می باشد که موجب ورم روده و یا انتروکولیت می شود .

3. دارای برخی خصوصیات فنوتیپی وابسته به حرارت است. به عنوان مثال این ارگانیسم در 37 °C متحرک نیست اما در دمای

زیر 30 °C به وسیله فلاژل های پری تریش متحرک است. (به استثناء یرسینیا پستیس که همیشه متحرک است .)

1. بعضی از نژادهای Y.enterocolitica که به نژادهای محیطی Environmental strains یا noninvasive معروف اند، برای

انسان بیماری زا نیستند در حالی که نژادهای تهاجمی یا ویرولانت Invasive یا Virulent strain در انسان التهابات معده

ای - روده ای ایجاد می کنند.

- 1 - 10 - راسته لاکتوباسیلالس
- لاکتوباسیلاسه
- انتروکوکاسه
- استرپتوکوکاسه
- لوکونوستوکاسه

گروه لاکتیک اسید باکتری ها

1. تمامی گونه های این گروه گرم مثبت هستند.
2. با وجود این که این ارگانیسم ها از نظر مورفولوژی بسیار متفاوتند (به شکل میله ای کوتاه و بلند و به فرم کوکسی که معمولاً دنبال هم به صورت زنجیر دیده می شوند) ، ولی از نظر خصوصیات فیزیولوژی خیلی به هم شباهت دارند.
3. به ندرت به طور سطحی، بلکه بیشتر درون محیط های غنی از کربوهیدرات ها رشد و تکثیر می کنند. برای کسب انرژی مطلقاً به کربوهیدرات ها نیازمندند و در نتیجه تخمیر مواد قندی اسید لاکتیک به عنوان محصول اصلی تولید می گردد . فاقد همین Haemin (Cytochrom, Catalase) هستند ولی با وجود این قادرند در حضور اکسیژن رشد و تکثیر نمایند. این گروه باکتری ها بی هوازی تا میکروآئروفیل هستند. باکتری که فاقد کاتالاز باشد و در شرایط هوازی هم رشد و تکثیر نماید به احتمال زیاد از گروه اسید لاکتیک باکتری ها می باشد. (به استثنای استوباکتر پراکسیدانس و شیگلا دیسانتری).

4. به ندرت ایجاد پیگمان می نمایند

5. از نظر احتیاجات غذایی، بسیار پرتوقع هستند. قادر نیستند بر روی محیط های کشت ساده که از املاح مختلف، گلوکز و نمک های آمونیم تشکیل شده اند رشد و تکثیر نمایند. اکثراً برای نشو و نما احتیاج به محیط های کشت غنی شده با ویتامین های ب کمپلکس، اسیدهای آمینه و یا بعضی پپتیدها دارند .

6. با توجه به میزان اسید لاکتیکی که این باکتری ها تولید می کنند، می بایستی که در ترکیبات محیط کشت آن ها به اندازه کافی از مواد تامپونی استفاده نمود. برای این منظور معمولاً کربنات کلسیم به محیط کشت اضافه می کنند. بر روی پلیت های کلسیم کربنات آگار اطراف پرگنه ها هاله شفاف و روشنی ایجاد می شود (در اثر تولید اسید، کربنات کلسیم حل می شود).

7. بر حسب نحوه تجزیه گلوکز، که آیا اسید لاکتیک در حد 90 درصد تولید می کند یا این که 50 درصد اسید لاکتیک و 50 درصد فرآورده های تخمیری دیگری همراه با CO_2 ایجاد می شود به دو گروه، هموفرمنتاتیو و هتروفرمنتاتیو تقسیم می شوند .

8. گروه اسید لاکتیک باکتری ها به علت تولید اسید و آروما در صنایع غذایی حائز اهمیت فراوان می باشند .

منشاء طبيعي و اصلي اين باكتري ها عبارتند از :

➤ در شير فرآورده هاي لبني و مراکز تهيه و توليد و تبديل شير، بر روي ظروف و تجهيزات شيردوشي و غيره. مهم ترين باكتري هاي اين دسته، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس لاکتیس مي باشد .

Strep .lactis - L . bulgaricus

➤ بر روي نباتات زنده و يا در حال تجزيه مانند لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکونوستوک مزنتروئیدس .

Leu . mesenterioides - L . Plantarum

➤ در روده و مخاط هاي انسان و حيوانات مانند بیفیدوباکتریوم، استرپتوکوکوس فکاليس .

Str.faecalis - Bifidobacterium

➤ - لاکتوباسیلوس *Lactobacillus*

- اسید لاکتیک باکتری های میله ای شکل در این جنس طبقه بندی می شوند .
- لاکتوباسیلوس ها گرم مثبت، فاقد همین Haemin (کاتالاز منفی و سیتوکروم منفی) و میکروآئروفیل هستند. رشد این جنس عموماً به وسیله 5 درصد CO₂ افزایش می یابد. متابولیسم آن فرمنتاتیو (تخمیری) و ساکارولیتیک بوده و حداقل نصف کربن محصول نهایی به صورت لاکتات می باشد .
- کلاً به دو دسته هتروفرمنتاتیو و هموفرمنتاتیو تقسیم می شوند . تقریباً کلیه باکتری های جنس لاکتوباسیلوس، لاکتوز را تخمیر و تولید اسید لاکتیک می نمایند.
- به عنوان مهم ترین ارگانیسم های تولید کننده اسید لاکتیک معروفند. بعضی از گونه های جنس لاکتوباسیلوس تولید آروما هم می کنند .

خصوصیاتی که موجب اهمیت لاکتوباسیلوس ها در صنایع غذایی می گردند :

1- توانایی تخمیر قندها و ایجاد مقدار قابل توجهی اسید لاکتیک، این امکان را بوجود می آورد که از آن ها در صنایع لبنی و فرآورده های

تخمیری گیاهی و یا این که برای تهیه اسید لاکتیک خالص استفاده شود . اما در صنایعی نظیر الکل سازی و یا آب میوه جات و ¹⁴یا شیر پاستوریزه شده غیر مطلوب هستند .

2- تولید گاز و یا دیگر ترکیبات فرار بوسیله گروه هتروفرمنتاتیو که موجب کاهش کیفیت مواد غذایی می شوند

3- عدم توانایی در سنتز ویتامین های مورد نیاز خود که باعث می شود در مواد غذایی که از این نظر دارای کیفیتی پایین هستند، به خوبی رشد و تکثیر نکنند .

4- وجود گونه های ترمودوریک Thermoduric موجب می گردد که بعضی از لاکتوباسیلوس ها درجه حرارت پاستوریزاسیون و یا فرآیند های مشابه را تحمل نمایند.

5 - گونه هایی وجود دارند که حتی در حرارت یخچال هم بر روی گوشت رشد می نمایند. مثال لاکتوباسیلوس ویریدسنس Lac.viridescens که بر روی سوسیس ها ایجاد پیگمان سبز رنگی می کند و یا لاکتوباسیلوس سالیماندوس Lac.salimandus که بر روی سوسیس ها رشد و تکثیر نموده ولی تولید پیگمان نمی کند .

1- 10- 2- خانواده انتروکوکاسه - انتروکوکوس

15

- مهم ترین گونه های این گروه انتروکوکوس فکاليس و انتروکوکوس دورانس و انتروکوکوس فاسیوم می باشند که دارای خصوصیات زیر هستند : *E. faecium* *E. Faecalis* - *E. durans*
- قادر به تحمل دامنه گسترده حرارتی $10-45^{\circ}\text{C}$ (هر دو طرف را می توانند)
- تحمل نمک طعام (غلظت 6/5 %)
- و تحمل درجه pH (تا 9/6) می باشند
- در ضمن در شرایط 40 درصد نمک های صفراوی نیز رشد می کنند. گونه های این جنس عمدتاً از محیط به ویژه از مدفوع جدا شده اند .

1 - 10 - 3 - خانواده استرپتوکوکاسه - استرپتوکوکوس

- ارگانیسم های کروی شکل که ممکن است به صورت دوتایی و یا زنجیره های کوتاه و بلند دنبال هم قرار گیرند. گرم مثبت، کاتالاز منفی و در طبیعت به صورت میکروآئروفیل (بی هوازی اختیاری) زندگی می کنند. برای رشد به محیط های مغذی غنی و گاهی 5 درصد CO₂ نیاز دارند. هموفرمنتاتیو بوده و ایجاد اسید ولی گاز نمی کنند.
- سلول های قرمز خون را تخریب کرده و رنگ مایل به سبز (آلفا همولیز یا همولیز نافص) و یا کاملاً شفاف (بتا همولیز یا همولیز کامل) در اطراف پرگنه ها ایجاد می شود.
- گروه بندی استرپتوکوک های مختلف طبق نظریه لانسفیلد Lancefield بر اساس تعیین گروه های آنتی ژن های اختصاصی دیواره سلولی می باشد. اکثر گونه های این جنس دارای یک ترکیب هیدروکربنه ویژه ای هستند که از نظر سرولوژی فعال می باشد. لانسفیلد با استفاده از واکنش رسوب دادن، استرپتوکوک ها را به گروه های مختلف سرولژیک تقسیم بندی نمود (مثلاً استرپتوکوک های گروه D- لانسفیلد). دسته ای دیگر از استرپتوکوک ها یافت می شوند که نمی توان آن را بر اساس مشخصات سرولوژی گروه بندی نمود.

شرمن بر اساس خصوصیات فیزیولوژی، یعنی بر اساس نشو و نماي آنها در 10°C و 45°C که به نام اندیس یا ضابطه شرمن معروف است، استرپتوکوک ها را به 4 گروه طبقه بندی کرد :

گروه پیوژنس (Pyogenes) - ویریدانس (Viridans) - انتروکوکوس (Entrococcus)
و گروه لاکتیس (Lactis)

جنس لوکونوستوک *Leuconostoc*

- سلول های کروی بیضوی شکل می باشند، که معمولاً به صورت زنجیر دنبال هم قرار می گیرند. این ارگانیزم ها گرم مثبت و میکروآئروفیل و هتروفرمنتاتیو هستند .
- لوکونوستک مزنتروئیدس دارای خاصیت اسموفیلی بوده و در محیط هایی که غلظت ساکارز تا حدود 60 % می باشد رشد و تکثیر می کنند و مقدار قابل توجهی اسلایم تولید می کنند که جنس ماده لزج آن دکستران است
- یکی از منابع اصلی لوکونوستک ها، گیاهان هستند . برای مثال روی چغندر قند وجود دارد. در صنایع قند سازی لوکونوستک ها به علت ایجاد ماده لزج دکستران که باعث مسدود شدن لوله ها، شیرهای تخلیه و اختلال در عمل فیلترها می شود، بسیار نامطلوب هستند .
- لوکونوستوک دکسترانیکوم *Leu. dextranicum* و لوکونوستوک سیتروروم *Leu. citrovorum* در تولید دی استیل و دیگر ترکیبات ایجاد کننده آروما دخالت دارند . خصوصاً لوکونوستوک سیتروروم .

خصوصیاتی که موجب اهمیت جنس لوکونوستک از نظر مواد غذایی می گردند:

- 1- تولید دی استیل و دیگر ترکیباتی که ایجاد آروما می نمایند .
- 2- تحمل غلظت نمک طعام به میزانی که در تهیه ساورکرات و سایر فرآورده های تخمیری گیاهی مصرف می شود .
- 3- قدرت فرمنتاسیون این باکتری ها در فرآورده های گیاهی به مراتب بیشتر از سایر باکتری های گروه اسید لاکتیک باکتری ها و یا ارگانیزم های رقیب دیگر می باشد و از طرف دیگر به علت تولید اسید کافی محیط را برای میکرب های دیگر نامساعد می سازد .
- 4- خاصیت اسموفیلی به صورتی که غلظت های ساکارز را تا حدود 60% هم تحمل می کنند و بنابراین به این باکتری ها امکان می دهد که در انواع مختلف شربت های غلیظ، بستنی ها و یا مایه کیک ها رشد و تکثیر نمایند .

- 5 - تولید مقدار زیادی گاز CO₂ از مواد قندي که موجب باد کردگی نامطلوب در بعضي پنیرها، فرآورده هاي شیريني و شکلات و يا حتی نان ها مي گردد .
- 6- تولید میزان زیادی ماده لزج و چسبنده در محیط هاي قندي که به خصوص در صنايع قند سازي ایجاد اشکال و اختلال مي نماید .
- 7- از این باکتری ها براي تهیه دکستران استفاده مي کنند .

1 - 11 - راسته باسیلالس Bacillales

- خانواده باسیلاسه (جنس باسیلوس) Bacillaceae

- خانواده لیستریاسه (جنس های لیستریا و بروکوتریکس) Listeriaceae

- خانواده استافیلوکوکاسه (جنس استافیلوکوکوس) Staphylococcaceae

➤ هواري تا اختياري بي هواري، غالباً گرم مثبت، سلول ها به شكل ميله اي و اکثراً به صورت زنجير دنبال هم قرار دارند.

➤ بسياری از باسیلوس ها در سطح محيط کشت ايجاد پرگنه هايی که قطر آن ها از چند سانتی متر تجاوز کرده با سطحی زبر و خشن می کنند. در محيط های کشت مایع بعضی از باسیلوس ها در حين رشد و تکثير توليد پوسته ای در سطح محيط می نمایند .

➤ از تجزیه پروتئين ها معمولاً آمونياك توليد می کنند. و از مواد قندي ايجاد اسيد ولي به ندرت گاز مي کنند (به استثنای باسیلوس ماسرانس B.macerans و باسیلوس پلي میکسا B. polymexa که ايجاد بمباج Bombage مي نمایند . این دو باسیلوس همواره در فرآورده های سبزی ها و میوه ها موجب فساد می

- باسیلوس سرئوس B.cereus مشکوک به ایجاد مسمومیت غذائی است.
- باسیلوس آنتراسیس B.anthraxis عامل سیاه زخم (شاربن) می باشد و از نظر مواد غذائی فاقد اهمیت است.
- باسیلوس استئاروترموفیلوس B.stearothermophilus به دلیل تولید اسپوره‌های خیلی مقاوم به حرارت در صنعت کنسرو سازی مورد توجه می باشد.

B. circulans

- باسیلوس سیرکولانس

- نام سیرکولانس به علت شکل دایره مانند این ارگانیسم می باشد . بر خلاف همه باسیلوس ها گرم منفی است .
به صورت میکروآتروفیل زندگی می کند .

B. coagulans

- باسیلوس کوآگولانس

- این باکتری اسپورزا که در گذشته به نام باسیلوس ترمواسیددورانس B.thermoacidurans معروف بوده است، به طور وسیعی در طبیعت پراکنده است . در آب گوجه فرنگی، کنسروهای گوجه، شیرکندانسه، در زمین، خامه، در پنیر و در سیلوها یافت می شود
- نام کوآگولانس به علت خاصیت منعقد کنندگی این باسیلوس در شیر می باشد .
- باسیلوس کوآگولانس از باکتری های مولد ترشیدگی مسطح Flat sour می باشد . می تواند باعث فساد شیرهای کندانسه و یا آب گوجه فرنگی کنسرو شده شوند .
- از نظر احتیاجات حرارتی جزء ترموفیل ها محسوب می شود . هر چند که در شرایط مزوفیلی هم رشد و تکثیر می نماید . در واقع ترموفیل اختیاری و بی هوازی اختیاری است .

B. stearothermophilus**- باسیلوس استئاروترموفیلولوس**

نام این باسیلوس نمایانگر گرما و چربی دوستی این باکتری می باشد. در شرایط میکروآئروفیلیک تا بی هوازی زندگی می کند. اپتیمم دما 50 تا 65 درجه سانتی گراد است. یکی از مشخص ترین باکتری های گروه ترشیدگی مسطح یا فلت ساور flat sour است. این باسیلوس از تجزیه قندها ایجاد اسید ولی گاز نمی کند.

B.cereus**- باسیلوس سرئوس**

هوازی تا اختیاری بی هوازی می باشد. در فساد مواد غذایی نشاسته ای، کنسروهای ماهی و یا غذاهای گوشتی، و ... دخالت دارد. از قندها تولید اسید ولی گاز نمی کند. به دلیل خاصیت اسپورزایی، باسیلوس سرئوس حرارت های معمولی را که در حین فرایندهای تهیه و تبدیل مواد غذایی بکار برده می شود، تحمل می کند. باسیلوس سرئوس در اثر تولید یک اندوتوکسین Endotoxin در ایجاد مسمومیت های غذایی دخالت دارد. مسمومیت غذایی سرئوس اغلب در اثر مصرف غذاهای نشاسته ای حاصل می شود.