Archive of SID

تعیین میزان pH مرز رشد و عدم رشد و مرز بقأ و مرگ استافیلوکوکوس ارئوس با استفاده از اسیدهای آلی و معدنی در حرارتهای مختلف نگهداری

دکتر ودود رضویلر[1] دکتر عبداله جمشیدی[2] دکتر بهار شمشادی[3]

هدف: مقایسه خاصیت ضدمیکروبی (pH مرز رشد و عدم رشد و مرز بقأ و مرگ) سه اسید آلی (استیک، لاکتیک، سیتریک) واسید معدنی (هیدروکلریک) در مقابل *استافیلوکوکوس آرئوس*.

طرح: مطالعه تجربی به شیوه تلقیحی و آنالیز چندفاکتوری.

روش: رفتار *استافیلوکوکوس آرئوس* از نظر رشد در pH های مختلف (۶ تا ۴ با اختلافهای ۰/۲ واحد) با استفاده از سه اسید آلی (استیک، لاکتیک، سیتریک) و یک اسیدمعدنی (هیدروکلریک) در محیط آبگوشت BHI (Brain Heart Infusion Broth)، در حرارتهای مختلف (۱۵، ۲۵، ۳۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۱۴ روز جهت تعیین مرزهای رشد و عدم رشد و نیز مرزهای بقاء و مرگ سلول باکتری مورد مطالعه آنالیز چند فاکتوری قرار گرفت. مرز رشد و عدم رشد براساس مشاهده کدورت در محیطهای کشت (BHI) به عنوان نشانه رشد و شفافیت آن به عنوان عدم رشد باکتری و مرز بقأ و مرگ سلول باکتری نیز براساس کشت سطحی از محیطهای شفاف (بدون رشد) در محیط Bairal Parker در پایان روز چهاردهم تعیین گردید.

نتایج: بالاترین pH حدمرز رشد و عدم رشد در مورد اسید استیک، به مقادیر ۵ و ۵/۲، ۵/۲ و ۵/۴، ۵/۶ و ۵/۸ به ترتیب در حرارتهای ۳۵، ۲۵و ۱۵ درجه سانتیگراد مشاهده گردید. پایینترین pH حدمرز رشد و عدم رشد در مورد اسید هیدروکلریک در حرارتهای ۳۵ و ۲۵ درجه سانتیگراد برابر با ۴>و ۴ و در حرارت ۱۵ درجه سانتیگراد برابر با ۴/۸ و ۵ تعیین گردید. در این مطالعه قدرت باکتری اسیدی اسید استیک بیش از سایر اسیدها بود و پس از آن بیشترین خاصیت ضدباکتری اسیدهای آزمایش شده را به ترتیب اسیدهای لاکتیک، سیتریک و هیدروکلریک نشان دادند طوری که pH مرز بقأ و مرگ سلول باکتری در استفاده از اسید استیک بین ۵ و ۵/۲ در حرارتهای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتیگراد تعیین گردیده و در حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد، مقدار pH جلوگیری کننده از رشد pH مرگ باکتری هر دو برابر با ۵ تعیین گردید. کاهش درجه حرارت نگهداری در تمامی اسیدهای مورداستفاده باعث افزایش pH مرز رشد و عدم رشد و نیز بقاء و مرگ سلول باکتری گردید.

نتیجه گیری: از یافته های حاصل از این بررسی می توان نتیجه گیری نمود که بالاترین خاصیت ضدمیکروبی استافیلوکوکوس ارئوس در اسید استیک و پایینترین آن در اسید هیدروکلریک رخ می دهد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۱)، دوره ۵۷، شماره ۲، ۴۱-۳۷.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس آرئوس، حرارت، pH، اسیدهای هیدروکلریک، سیتریک، لاکتیک و استیک، پاسخ رشد.

Study of the mininmum supporting and maximum inhibiting pH values of *Staphylococcus aureus* growth affected by the kind of acids and temperature of storage

Razavilar, V.,[1] Jamshidi, A.,[2] Shemshadi, B.[3]

[1]Department of Food Hygine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. [2]Department of Food Hygine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Mashhad, Mashhad – Iran. [3]Graduated from The Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

Objective: To compare the antimicrobial activity (The minimum supporting and maximum inhibiting pH values) of 3 organic (acetic, lactic, citric) and one morgonic (hydrochloric) acids aginst S. aureus growth.

Design: Experimental study, multiple factorial analysis using inoculation technic.

Procedure: The effects of pH (6 to 4 with 0.2 unit intervals) adjusted by three organic (acetic, lactic, citric) and one inorganic (Hydrochloric) acids, 3 levels of temperature (15, 25, 35°C) stared up to 14 days were evaluated on the growth of *S. aureus* with inoculum level of 105/ml in Brain heart infusion broth (BHI) the pH border of growth and no growth was determined based on the turbidity of BHI after 14 days, and the pH border of survival and death of organism was determined using a subculture from no growth condition of BHI samples on Baird Parker agar plates at the end of 14 days meubation.

Results: The highest pH values of growth and no growth were observed in the case of acetic acid (5.2 and 5, 5.4 and 5.2, 5.8 and 5.6 at 35, 25 and 15°C, respectively), where as, the lowest pH values belonged to hydrochloric acid (with <4 and 4 at 35 and 25°C, and 5 and 5.2 at 15°C). The bacteriostatic and bacteriocidic effects of acids were in the order of acetic> lactic> citric> hydrochloric. These effects decreased with increasing the temperature of storage in all of he acids used in this study. ***J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 57, 2: 37-41, 2002.***

Key words: S. aureus, Temperature, pH, Hydrochloric, Citric, Lactic and Acetic acids, Growth response.

اطمینان از سلامت غذا از نظر میکروبی و نیز اطمینان از مدت زمان نگهداری آن بستگی به کاهش آلودگی و نیز جلوگیری و یا محدود نمودن رشد و یا از بین بردن جمعیت میکروبی دارد (۱۰). در دهه اخیر علی رغم اعمال قوانین مربوط به سلامت غذا و نیز معرفی و کاربرد سیستم HACCP (Hazard Analysis and Critcal Control Point) موارد وقوع بیماریهای منتقله از طریق غذا در جهان صنعتی افزایش یافته است و به نظر می رسد این افزایش ناشی از تغییر در روشهای کشاورزی، تکنیکهای پروسس غذا، تجارت بین المللی غذا و تغییر در رفتار اجتماعی از جمله تغییر در عادات غذایی می باشد (۱۰).

گونه استافیلوکوکوس ارئوس که عامل ایجاد اغلب بیماریها استافیلوکوکی می باشد، یک باکتری کوکسی شکل، گرم مثبت و کاتالاز مثبت است که هم دارای متابولیسم اکسیداتیو و هم متابولیسم تخمیری می باشد (۱۸، ۱۴، ۵).

رشد استافیلوکوکس ارئوس در دامنه ای از pH بین ۹/۸ تا ۴ اتفاق می افتد و اپتیمم رشد، در pH برابر ۶ تا ۷ می باشد، و این در حالی است که رشد و تولید انتروتوکسین در pH های مختلف شدیداً تحت تأثیر سایر عوامل مانند نوع محیط، غلظت نمک، مقدار تلقیح و بخصوص اتمسفر رشد قرار می گیرد.

نتایج بررسیهای مختلف نشان می دهد که در شرایط هوازی رشد و تولید انتروتوکسین در pH=۴ نیز صورت می گیرد، در حالی که در شرایط

۱) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران.
۲) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران.
۳) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

www.SID.ir

Archive of SID

بیهوازی این محدوده به ۴/۶ در مورد رشد و ۵/۳ در مورد تولید انتروتوکسین تغییر می یابد (۱۸، ۱۰). در تعمیم این نتایج به شرایط کلی باید دقت نمود و تاثیر عوامل مختلف دیگر را نیز در نظرگرفت، به عنوان مثال تفاوت حساسیت نسبت به pH در بین سویه های مختلف وجود دارد، به طوری که نتایج یکی از بررسیها نشان می دهد که سویه های کواگولاز منفی نسبت به pH و حرارت حساستر از سویه های کوالاگوز مثبت می باشند (۱۳).

یکی از عوامل بسیارمهم در فرموله کردن سیستم نگهدارنده، انتخاب ماده اسیدی کننده می باشد. بسیاری از اسیدهای آلی به عنوان افزودنی به غذا (Food additives) مورد استفاده قرار می گیرند.

اسیدهای آلی که فعالیت ضدمیکربی دارند عبارت اند از: استیک (Acetic)، لاکتیک(Lactic)، پروپیونیک(Propionic)، سوربیک (Sorbic) و بنزوئیک (Benzoic). ولی اسیدهای سیتریک(Citric)، کاپریلیک(Caprylic)، مالیک (Malic)، فوماریک (Fumaric) و سایر اسیدهای آلی فعالیت ضدمیکروبی اندکی داشته به عنوان طعم دهنده مورد استفاده قرار می گیرند. فعالیت اسیدهای آلی به میزان زیادی بستگی به pH محیط دارد، و فرم تجزیه نشده (Undissociated form) آن به صورت اولیه مسئول فعالیت ضدمیکروبی اسید آلی می باشد (۱۲، ۵).

بنابراین در انتخاب اسید آلی جهت فعالیت ضدمیکروبی آن در غذا باید به pH تولید شده توسط اسید و PK_a آن توجه نمود. استفاده از اسیدهای آلی در غذا به طور کلی محدود به غذاهایی می شود که pH آن پایینتر از ۵/۵ باشد، چون PK_a اغلب اسیدهای آلی در دامنه pH از ۳ تا ۵ می باشد (۵). خصوصیت آزادسازی یون ئیدروژن (H^+) در محیط، که در مورد اسیدهای آلی و اسیدهای معدنی مشترک می باشد، موجب اختلال در عمل غشای سلولی از طریق تغییر ساختمانی آنزیمها و نیز تغییر در نفوذپذیری غشای سلولی می گردد (۱۲).

امروزه مشخص نمودن شرایطی که رشد باکتری در آن غیرممکن است از اهمیت ویژه ای در صنایع غذایی برخوردار است. مدلهای تهیه شده در این زمینه میزان اثر مجموع موانع رشد را اندازه گیری نموده و آن مدلی که در آن میزان رشد باکتری برابر صفر باشد، در تامین سلامت مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد (۹).

در این مطالعه با استفاده از سه اسید آلی (استیک، لاکتیک، سیتریک) و یک اسید معدنی (هیدروکلریک)، pH مرز رشد و عدم رشد و نیز مرز بقأ و مرگ سلول باکتری استافیلوکوکوس تعیین گردید.

مواد و روش کار

الف - باکتری مورد آزمایش: استافیلوکوکوس ارئوس کواگولاز مثبت سویه ۹۶-۱۸ تهیه شده از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی(RTCC) پس از انجام آزمایشات تأییدی، در محیط BHI آگار شیب دار کشت داده شد. سپس باکتری را از محیط BHI آگار برداشت نموده و دو کشت متوالی ۲۴ ساعته از آن در محیط مایعBHIدر درجه حرارت $37^{\circ}C$ صورت گرفت و با انجام کشت و شمارش به روش کشت سطحی (Plate count) در محیط بردپارکر آگار تعداد تقریبی آن در هر میلی لیتر پس از سه بار تکرار برابر $1/2\times10^{9}$/ml برآورد گردید.

جهت تهیه کشت برای مطالعات تلقیحی در یک لوله کووت حاوی ۵ میلی لیتر آبگوشت BHI استریل، مقدار ۵۰/µl از سوسپانسیون شمارش شده باکتری اضافه گردید، که با تعیین تعداد باکتری در واحد حجم به روش شمارش پلیت(Plate count)تعداد تقریبی آن در حدود$1/1\times10^{7}$/ml تعیین گردید. با قرار دادن این لوله در دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب (Absorbance)آن نیز در حدود ۰/۱ مشخص گردید و عدد به دست آمده جهت تعیین میزان تلقیح باکتری در محاسبات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

ب- تهیه محیط کشت و آزمایش باکتری: به عنوان سوبسترای پایه جهت رشد باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* از محیط مایعBHI استفاده گردید، که پس از آماده نمودن به حجم نیم لیتر طبق دستورالعمل سازنده آن (دیفکو) در داخل یک ارلن، pH آنرا با هر یک از اسیدهای نرمال مورد آزمایش (اسید استیک، اسید لاکتیک، اسید سیتریک، اسیدهیدروکلریک) در حد بالاترینpH مورد نظر (pH =۶) تنظیم نموده و از آن به میزان ۹/۹ میلی لیتر به لوله آزمایش در پیچدار منتقل گردید. با افزودن اسید مورد آزمایش به سوبسترای باقیمانده، مقدار pH محیط به میزان ۰/۲ واحد تقلیل داده شد، سپس مقدار ۹/۹ میلی لیتر از آن به لوله درپیچدار منتقل گردید، عمل کاهشpH به مقادیر ۰/۲ واحد تا رسیدن به پایینترین حدpH موردنظر (pH=۴) ادامه داده که در مجموع تعداد ۱۱ لوله حاوی محیط مایع BHI با pH به فواصل ۰/۲ تهیه گردید، تمامی لوله ها در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید.

ج - تلقیح محیط کشت: به هر یک از لوله های حاوی ۹/۹ میلی لیتر محیط مایع BHI که pH آنها با اسیدهای موردنظر تنظیم شده بود، به میزان ۰/۱ میلی لیتر از کووت حاوی10^{7}/ml باکتری استافیلوکوکوس ارئوس اضافه گردید. به طوری که در خاتمه هر یک از لوله ها حاوی10^{5}/mlباکتری در هر میلی لیتر محیط کشت بود. لوله های تلقیح شده را در درجه حرارت موردنظر درهر مرحله ($15^{\circ}C$ - $25^{\circ}C$ - $35^{\circ}C$) به مدت ۱۴ روز قرار داده و همه روزه از نظر رشد (کدورت، قابل رؤیت) مورد مشاهده قرار گرفت و نتایج در تاریخ موردنظر ثبت گردید. در روز چهاردهم از لوله هایی که فاقد رشد بودند (لوله های شفاف) پس از مخلوط نمودن کامل به میزان ۰/۱ میلی لیتر برداشت نموده و در پلیت حاوی بردپارکر آگار کشت سطحی داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در $37^{\circ}C$ گرمخانه گذاری و سپس شمارش گردید.

نتایج

نتایج حاصل از آزمایشات بررسی رفتار باکتری استافیلوکوکوس ارئوس از نظر تعیین مرزهای رشد و عدم رشد که در محیطهای طراحی شده در برات BHI (مقادیر pH ۴ تا ۶ با فواصل ۰/۲) با اسیدهای آلی (اسید استیک، اسید سیتریک، اسید لاکتیک) و اسید معدنی (اسید هیدروکلریک) در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- نتایج مطالعه تعیین مقادیر مرز رشد و عدم رشد استافیلوکوکوس ارئوس با استفاده از اسیدهای آلی (استیک، لاکتیک، سیتریک) و اسید معدنی (هیدروکلریک) در حرارتهای مختلف نگهداری.

اسید هیدروکلریک			اسید استیک			اسید لاکتیک			اسید سیتریک			*T
d	NG	G	d	NG	G	d	NG	G	*d	NG*	G*	
۴	<۴	۴	۳	۵	۵/۲	۹	۴/۴	۴/۶	۱۳	۴/۲	۴/۴	۳۵
۷	<۴	۴	۳	۵/۲	۵/۴	۱۰	۴/۶	۴/۸	۷	۴/۶	۴/۸	۲۵
۵	۴/۸	۵	۷	۵/۶	۵/۸	۷	۵/۴	۵/۶	۹	۵/۲	۵/۴	۱۵

T) درجه حرارت برحسب سانتیگراد، d) روزی که با افزایش مدت زمان نگهداری پس از آن تغییری در نتایج به دست آمده مشاهده نگردید (آخرین حد رشد باکتری)، G) پایینترین حد pH که در آن رشد باکتری مشاهده گردید، NG) بالاترین حد pH که در آن رشد باکتری مشاهده نگردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج به دست آمده نشان می دهد اثر ممانعت کنندگی از رشد باکتری به وسیله اسیدهای آلی و اسید معدنی مورد آزمایش به ترتیب عبارت است از اسید هیدروکلریک، اسید سیتریک، اسید لاکتیک و اسید استیک (اسید استیک با بالاترین اثر و اسید هیدروکلریک با کمترین اثر ممانعت کنندگی). نمودار ۱ نیز نشان دهنده اثر اسیدهای مختلف مورد بررسی با pHهای از ۴ تا ۶ با اختلاف ۰/۲ واحد بر رشد استافیلوکوکوس ارئوس در درجه حرارتهای (۱۵°C-۲۵°C-۳۵°C) می باشد. همچنین در این نمودار نشان داده شده است که با کاهش درجه حرارت نگهداری، رشد باکتری در pH های مختلف که با اسیدهای آلی و معدنی تنظیم گردیده بود نیز کاهش می یابد.

مرز بقأ و مرگ سلول باکتری در pH های مختلف در استفاده از سه اسید آلی و یک اسید معدنی در جدول ۲ آمده است که در مورد اسید سیتریک در درجه حرارتهای ۲۵،۳۵و ۱۵ درجه سانتیگراد به ترتیب ۴-۴/۲، ۴/۲-۴/۴ و ۴/۶-۴/۸ بود.

این مرزها در حرارتهای ۳۵، ۲۵، ۱۵ درجه سانتیگراد برای اسید لاکتیک به ترتیب ۴/۲-۴/۴، ۴/۲-۴/۴ و ۴/۴-۴/۶ بود و در مورد اسید استیک مرز بقاء و مرگ سلول باکتری درpH بین ۵-۵/۲ در حرارت ۱۵ و ۲۵ درجه سانتیگراد تعیین گردید. در حالی که در۳۵°C با استفاده از این اسید مقدار pHممانعت کننده از رشد و pH مرگ باکتری هر دو برابر با ۵ تعیین گردید. در استفاده از اسید معدنی (اسید هیدروکلریک) در۴= pH و در حرارتهای ۳۵ °C و ۲۵ °C تمامی لوله ها مثبت (کدر) شده بود (مرز رشد) و باتوجه به این که در این pH(۴) لوله شفاف (مبین عدم رشد) جهت کشت سطحی و شمارش کلنی ها موجود نبود لذاpH مرز عدم رشد عملاً در این اسید به طور دقیق مشخص نگردید (pH<۴). در حالی که pH مرز رشد و عدم رشد برای همین اسید در ۱۵°C برابر با ۴/۸ و ۵ تعیین گردید.

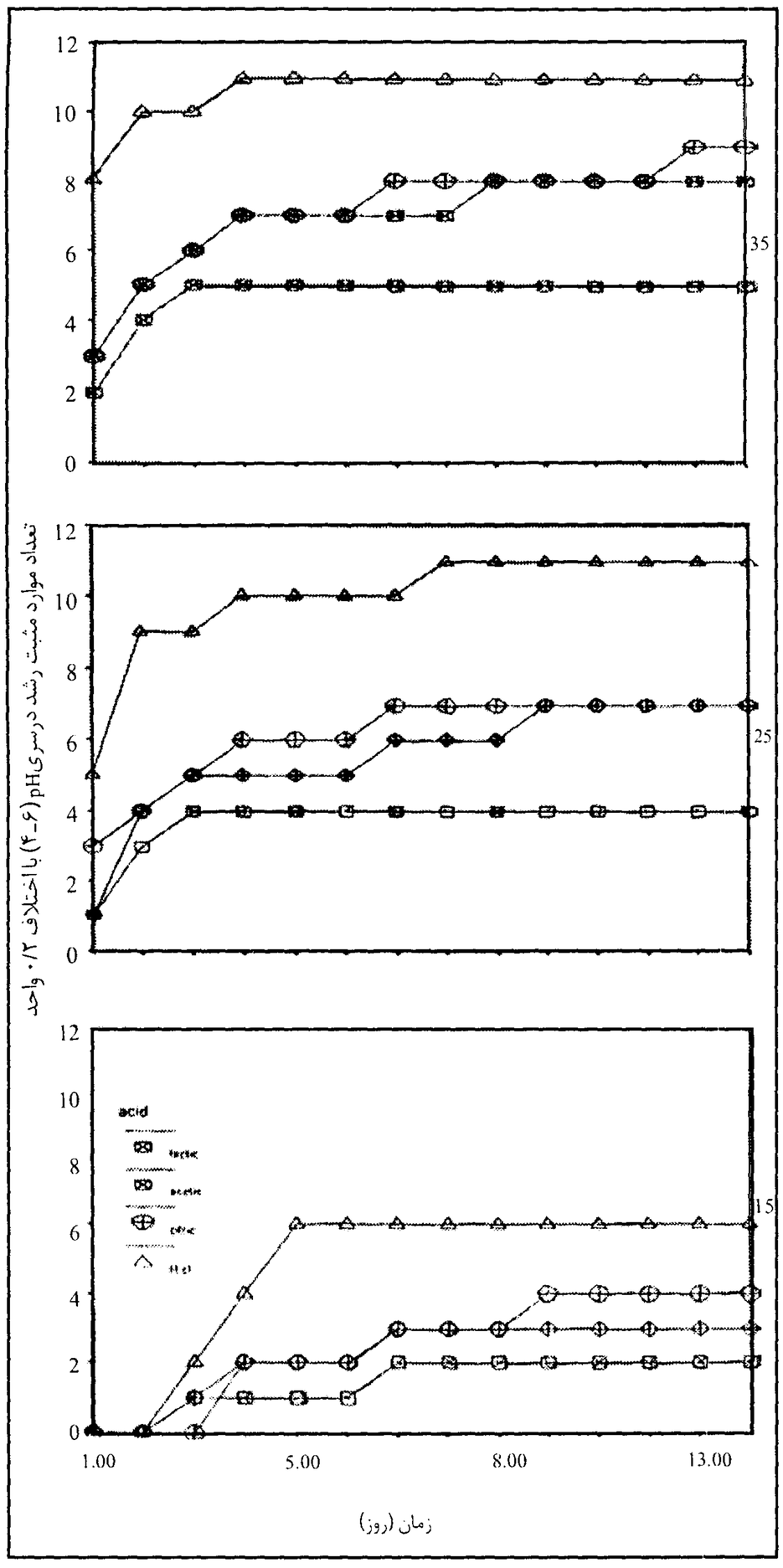
جدول ۲- تأثیر مقادیرpH (از ۴ تا ۶ بااختلاف ۰/۲ واحد) تنظیم شده با اسیدهای مختلف در مرز بقأ و مرگ استافیلوکوکوس آرئوس نگهداری شده در حرارتهای ۱۵،۲۵،۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ روز.

نوع اسید	۱۵°C		۲۵°C		۳۵°C	
	کشت	pH	کشت	pH	کشت	pH
اسید سیتریک	مثبت	۴/۸	مثبت	۴/۴	مثبت	۴/۲
	منفی	۴/۶	منفی	۴/۲	منفی	۴
اسید لاکتیک	مثبت	۴/۶	مثبت	۴/۴	مثبت	۴/۴
	منفی	۴/۴	منفی	۴/۲	منفی	۴/۲
اسید استیک	مثبت	۵/۲	مثبت	۵/۲	منفی	۵
	منفی	۵	منفی	۵		
اسید هیدروکلریک	مثبت	۴	—	تمامی لوله ها کدر (مثبت) شده بود	—	تمامی لوله ها کدر (مثبت) شده بود

بحث

رشد باکتریهای پاتوژن در غذا همواره موجب افزایش خطر بیماریهای منتقله از طریق غذا می گردد. امروزه فراهم نمودن شرایطی که رشد باکتری دچار مشکل شده و یا دوره کمون رشد(lag phase) تا بی نهایت ادامه پیدا کند و به عبارت دیگر تعیین مرز رشد و عدم رشد، از اهمیت ویژه ای در صنایع غذایی برخوردار است. مدلهای تهیه شده در این زمینه میزان اثر مجموع موانع رشد را اندازه گیری نموده و آن شرایطی که طی آن میزان رشد باکتری برابر صفر می گردد را مشخص می نماید.

تعیین این نقطه از نظر فیزیولوژیک اهمیت دارد، چون در این نقطه روندهای بیوسنتر جهت حمایت از رشد باکتری کافی نیست، ولی



نمودار ۱ - اثر مقادیرpH (۶-۴) تنظیم شده با اسیدهای مختلف در رشد استافیلوکوکوس آرئوس نگهداری شده در حرارتهای ۲۵، ۱۵، ۳۵ درجه سانتیگراد تا مدت ۱۴ روز.

مکانیسمهای بقای باکتری حفظ می گردد (۹). قدرت ممانعت کنندگی از رشد همان طور که در جداول و نمودارها آمده است در مورد اسید استیک بیشتر از سایر اسیدها و پس از آن به ترتیب اسید لاکتیک و اسید سیتریک قرار دارد و قدرت ممانعت کنندگی اسید معدنی هیدروکلریدریک کمتر از سه اسید آلی مورد استفاده بود. این یافته با نتایج به دست آمده از سایر تحقیقات مطابقت دارد (۱۷، ۱۶، ۳، ۲). نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش درجه حرارت محیط pH، مرز رشد وعدم رشد و pH مرز بقاء و مرگ سلول باکتری کاهش می یابد. این یافته ها نیز با نتایج تحقیقات دیگر مطابقت دارد (۸، ۷، ۶)، بدین معنی که حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد در درجه حرارتهای بالاتر افزایش می یابد (۳).

اسید استیک و اسید لاکتیک به علت اثر ضدمیکروبی مناسب، به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. ولی اسید سیتریک به علت فعالیت ضدمیکروبی اندک بیشتر به عنوان طعم دهنده در غذاهای مختلف، مورد استفاده دارد (۵). طی بررسیهای مختلف در مورد تأثیر ماده

www.SID.ir

Archive of SID

اسیدی کننده بر رشد باکتریهای پاتوژن غذایی نشان داده شده است که در درجه حرارتهای مختلف و در انواع غذاها، بخصوص تاثیر آن بر رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس به ترتیب قدرت اثر ممانعت کننده عبارت اند از: اسید سولفوریک<اسید سیتریک<اسید لاکتیک<اسید پروپیونیک<اسید استیک (۱۷، ۱۶، ۳، ۲). نتایج فوق مشابه نتایج به دست آمده در این مطالعه می باشد. البته تفاوت نسبت به مقاومت در برابر انواع اسیدهای آلی در سویه های مختلف استافیلوکوکوس ارئوس گزارش گردیده است (۴). نتایج تحقیقات دیگر نشان می دهد که اثر ممانعت کنندگی گلوکز در محیط، بر رشد استافیلوکوکوس ارئوس نیز ناشی از تولید اسید لاکتیک و اسید استیک طی فرآیند تخمیر می باشد (۱۵، ۱۱).

اسیدهای معدنی از جمله اسید هیدروکلریک، یک اسید قوی بوده و در محیط به طور کامل تجزیه می شود، ولی اسیدهای آلی جزء اسیدهای ضعیف بوده و تجزیه شدن آنها در محیط بستگی به pH محیط دارد. به طور کلی اسیدهای آلی ضعیف درpH یکسان اثر مهارکنندگی بیشتر بر روی رشد میکروارگانیسمها نسبت به اسیدهای معدنی دارند که این خصوصیت به دلیل بالا بودن میزان PK_a و به عبارت دیگر مربوط به غلظت اسید تجزیه شده می باشد (۱۲، ۱).

مکانیسم عمل اسیدهای آلی و استرهای آن تاحدودی مشترک می باشد. فرم تجزیه نشده اسید به راحتی قادر به عبور از غشأ سلولی بوده و داخل سلول به دلیل بالاتر بودن pH تجزیه می گردد. در این بررسی اثر ممانعت کنندگی اسیداستیک بر رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس بیشتر از اسید لاکتیک، اسید سیتریک و اسید هیدروکلریک بود، که علت آن PK_a بالاتر و به عبارت دیگر غلظت بالاتر فرم تجزیه نشده اسید استیک می باشد. به طور کلی باکتریpH داخلی را به دلیل محافظت از ساختمان پروتئینها، آنزیمها و اسیدهای نوکلئیک و فسفر لیپیدها در حد خنثی نگه می دارد. چون یون های ئیدروژن (پروتونها) ناشی از جدا شدن اسیدهای آلی موجب اسیدی شدن سیتوپلاسم می گردند. می بایست به خارج سلول هدایت گردند (۷، ۵). که این امر مستلزم صرف انرژی به صورت ATP می باشد، که ادامه این روند منجر به تخلیه انرژی سلولی می گردد (۱۲، ۵). هرچه pHمحیط پایینتر باشد غلظت اسید تجزیه نشده در حد بالاتری می باشد و این امر موجب فشار بیشتر بر سلول میکروارگانیسم ها می گردد. تا جایی که رشد آنرا متوقف نموده و منجر به مرگ آن می گردد (۱۲، ۱).

همچنین این نظریه وجود دارد که زنجیرهای کوتاه اسیدهای آلی، با دگرگون ساختن غشای سیتوپلاسمی، از طریق واکنش با پروتئینهای غشأ، در متابولیسم انرژی اختلال ایجاد می نمایند، این اختلال منجر به کاهش ATP از طریق اختلال در سیستم انتقال الکترون و یا ممانعت از انتقال فعال مواد غذایی به داخل سلول می گردد (۵).

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان می دهد که هرچه درجه حرارت نگهداری پایینتر بوده و نیز از اسید آلی با PK_a بالاتر به عنوان محافظت کننده استفاده گردد اثر ممانعت کنندگی از رشد بیشتر بوده و درنتیجه مدت زمان نگهداری یک محصول غذایی طولانیتر می گردد. ولی در عمل باتوجه به ملاحظات ذائقه ای و خصوصیات ارگانولپتیک و نیز خصوصیات تغذیه ای محصول غذایی جهت فراهم نمودن سطح مطلوبی از ماندگاری یک ماده غذایی، باید ترکیبی از شرایط ممانعت کننده مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایتهای مالی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی و همکاری سرکار خانم نسرین طیار و سرکار خانم صفورا نوروزی کارشناسان آزمایشگاه کنترل بهداشتی مواد غذایی، تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Adams, M.R., and Moss, M.O. (1997): Food microbiology. The royal society of chemistry. Royal society of chemustry. Uk.
2. Admas, M. R., Little, C. L. and Easter, M. C. (1991): Modeling the effect of pH, acidulant and temperature on the growth rate of Yersinia enterocolitical. Journal. Appl. Bacteriol. 71: 66-71.
3. Brock Lehurst, T. F. and Lund, B. M. (1990): The influence of pH, temperature and organic acids on the initiation of growth of Yersinia enterocolitical. Journal. Appl. Bacteriol. 69: 390-397.
4. Domenech, A., Hernandez, F. J., Orden, J. A., Goyache, J., Lopez, B., Suarez, G. and Gomez-Lucia, E. (1992): Effect of six organic acids on staphylococcal growth and enterotoxin production. Zlebensm Unters Forch. 194: 124-128.
5. Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montville, T. J. (1999): Food Microbiology. Fundamentals and frontiers. ASM press. Washingtion, D. C.
6. Giannuzzi, L., Contreras, E., Zavitzky, N. (1999): Modeling the aerobic growth and decline of Staphylococcus aureus as affected by pH and potassium sorbate concentration Journal. Food prot. 62: 356-362.
7. Jay, J. M. (2000): Modern food microbiology. 6th ed. Chapman and Hall, New York.
8. Lee, R. M., Hartman, P. A., Olson, D. G., Williams, F. D. (1994): Metal ions reverse the inhibitory effects of selected food - grade phosphates in Staphylococcus aureus. Journal of Food Protection. 57: 284-288.
9. Mc Meekin, T. A., Brown, J., Krist, K., Miles, D., Neumyer, K., Nichols, D. S., Olley, J., Presser, K., Ratkowsky, D. A., Ross, T., Salter, M. and Sontranon, S. (1998): Quantitative microbiology: A basis for food safety. Suggested citation (pub med).
10. Michael, P. (1989): Doyle. Food borne Bacterial Pathogens. Marcel Deer, INC. New York.
11. Mychas, G. J., Tranter, H. S., Brehm, R. D., Broad, R. G. (1991): Staphylococcus aureus S-6: Factors affecting its growth, Bacteriol. 70: 344-345.
12. Naidu, A. S. (2000): Natural Food Antimicrobial Systems, CRC press LLC. Washington, DC.
13. Salamah, A. A. (1990): Effect of heat and pH stresses on the recovery of Staphylococcus aureus on medium - 110. Microbiologica. 13: 274-252.
14. Salyers, A. A. and Whitt, D. D. (1994): Bacterial pathogenesis. A molecular approach. ASM Press. Washington, D. C.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Smit, J. L. and Palumbo, S. A. (1978): Injury to Staphylococcus aureus during sausage fermentation. Appl. Environ Microbiol. 36: 857-860.

16. Smittle, R. B. (2000): Microbiological safety of mayonnaise,salad dressings, and sauces produced in the united states: a review. Journal. Food Prot. 63: 1144-1153.

17. Taniguchi, M., Nakazawa, H., Takeda, D., Kameko, T., Hoshino, K. and Tanaka, T. (1999): Production of mixture of antimicrobial organic acids from lactose by co culture of Bifidobacterium longum and propini bacterium freudenreichii. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 62: 1522-1527.

18. Varnam, A. H., and Evans, M. G. (1991): Foodborne pathogens. Wolf, London.

www.SID.ir