

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



گروه علوم و صنایع غذایی (گرایش کنترل کیفی و بهداشتی)

# کنترل بیولوژیکی پاتوژن های مواد غذایی

استاد راهنما:  
دکتر پرریان پزشکی

ارائه دهندگان:  
فاطمه سلیمانی، پریسا اسدیپور، مهری محمدزاده

۱۴۰۴/۳/۲۱ - اتاق کنفرانس



Food industry Quality And Health Control Group

# Biological Control Of Foodborne Pathogens

Supervisor:

**Dr.Pezeshki**

Presented by:

**Mehri Mohammadzadeh ,Fatemeh soleimani ,Parisa asadpor**

2025/06/11

## پاتوژن های مواد غذایی و ضرورت کنترل آنها

پاتوژن های غذایی (Foodborne Pathogens) به مجموعه ای از میکروارگانیسم ها گفته می شود که از طریق مصرف مواد غذایی آلوده به انسان منتقل شده و باعث بروز بیماری هایی مانند مسمومیت غذایی، عفونت های گوارشی، تب، اسهال، تهوع، نارسایی کلیه و یا حتی مرگ می شوند. آلودگی به پاتوژن ها می تواند در هر مرحله از تولید غذا، رخ دهد (farm to fork) به همین دلیل، موضوع ایمنی غذا (Food Safety) فقط یک چالش علمی و صنعتی نیست، بلکه مسئله ای حیاتی برای سلامت عمومی در سطح جهانی است. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی سالانه از هر ۱۰ نفر یک نفر به دلیل مصرف غذای آلوده بیمار می شود. از این رو، کنترل مؤثر پاتوژن های غذایی، هم برای حفظ سلامت مصرف کنندگان و هم برای اعتبار و عملکرد صنایع غذایی ضروری است.

نمونه ای از پاتوژن های غذایی شامل:

● باکتری هایی مانند: E-coli, Salmonella

● ویروس هایی مانند: Norovirus

● انگل ها

● قارچ های سمی

## روش های مقابله کنترل پاتوژن های مواد غذایی

در کنترل پاتوژن های غذایی دو روش اصلی وجود دارد، روش شیمیایی و روش طبیعی (بیولوژیکی) در روش شیمیایی از مواد ضد عفونی کننده و نگه دارنده هایی مانند نیتрат ها کلر و بنزوات سدیم برای مهار یا نابودی پاتوژن ها استفاده میشود .  
در مقابل روش طبیعی با بهره گیری از میکروارگانیسم های مفید مانند پروبیوتیکها و باکتریوفاژها یا استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی مانند نایسین، پاتوژن های غذایی را به شیوه ای زیستی و غیر شیمیایی کنترل می کند که هر دو این روش ها مزایا و معایبی دارند .

| روش کنترل         | مزایا                                                                             | معایب                                                                                                        |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| شیمیایی           | اثرگذاری سریع و قوی - قیمت مناسب و در دسترس - کاربرد گسترده در صنایع غذایی        | باقی ماندن ترکیبات شیمیایی در غذا- احتمال مقاومت میکروبی- تاثیر منفی بر طعم یا ارزش تغذیه ای غذا             |
| طبیعی (بیولوژیکی) | ایمن و بدون عوارض جانبی برای انسان- سازگار با محیط زیست- عدم ایجاد مقاومت میکروبی | ممکن است اثرگذاری کندتری داشته باشد- نیاز به شرایط نگهداری خاص در برخی موارد- هزینه بیشتر در برخی تکنولوژیها |

## دلایل انتخاب روش طبیعی (بیولوژیکی)

- روش شیمیایی سریع و موثر است، اما باقی ماندن مواد مضر در غذا و ایجاد مقاومت میکروبی نگرانی های جدی ایجاد کرده است.
  - روش طبیعی با استفاده از میکروارگانیسم های مفید و ترکیبات زیستی، ایمنی بالاتر و پایداری محیطی به همراه دارد.
- به همین دلایل کنترل بیولوژیکی به عنوان روش ترجیحی و پایدار در مقابله با پاتوژن های غذایی شناخته می شود.

## ● روش های طبیعی ●

| روش کنترل بیولوژیکی            | مکانیسم عملکرد                                                                                 | مثال / توضیحات                                                                     |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| باکتری های مفید (پروبیوتیک ها) | فعالیت ανταگونیستی (رقابت برای فضا و مواد غذایی، تولید اسید، باکتریوسین و آنزیم های ضد میکروبی | Lactobacillus spp;<br>Bacillus subtilis;<br>Bifidobacterium                        |
| باکتریوفاژها                   | حمله اختصاصی به باکتری های بیماری زا و نابودی آن ها                                            | برضد E.coli, Salmonella                                                            |
| ترکیبات ضد میکروبی طبیعی       | افزودن ترکیباتی مانند باکتریوسین، پراکسید هیدروژن، اسیدهای آلی، لیپوپپتید                      | اسید لاکتیک مانند , nisin<br>pediocin ، بیوسورفاکتانت                              |
| فرایند تخمیر                   | کاهش pH ، افزایش اسیدیته، تولید ترکیبات ضد میکروبی                                             | کاربرد در ماست، پنیر، نان، ترشی،<br>باکتری هایی مثل Bacillus subtilis              |
| مهندسی میکروبی و ژنتیکی        | ساخت سویه های اصلاح شده برای کنترل اختصاصی تر پاتوژن                                           | در مرحله تحقیقاتی، به کار گیری CRISPR، اصلاح ژن های تولید کننده ترکیبات ضد میکروبی |

## تعریف بیوسورفاکتانت

یکی از روش های طبیعی مقابله با پاتوژن ها استفاده از بیوسورفاکتانت ها است.

بیوسورفاکتانت ها ترکیبات سطح فعال طبیعی هستند که توسط میکروارگانیسم هایی مانند باکتری ها، مخمرها و قارچ ها تولید می شوند. بیوسورفاکتانت ها از یک زنجیره قطبی (قند یا پپتید) و یک زنجیره ی ناقطبی (زنجیره چربی) تشکیل می شوند (آمفی پاتیک). این خصوصیت به آنها اجازه ی برهم کنش با غشای سلولی را می دهد.



## بیوسورفاکتانت

| شرح عملکرد                                                                                 | نقش اصلی                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| بیوسورفاکتانت ها با اتصال به غشاء، باعث نشت محتویات سلولی و مرگ میکروارگانیسم می شوند..    | تخریب غشای سلولی پاتوژن ها          |
| از چسبندگی باکتری ها به سطح جلوگیری می کنند و ساختار بیوفیلم رو از بین می برند.            | ممانعت از تشکیل بیوفیلم             |
| با کاهش کشش سطحی، ورود ترکیبات ضد میکروبی به سلول پاتوژن را تسهیل می کنند.                 | افزایش نفوذپذیری مواد ضد میکروبی    |
| برخی بیوسورفاکتانت ها مستقیماً مسیرهای حیاتی سلول رو مختل کرده و مانع تقسیم سلولی می شوند. | مهار رشد و تکثیر پاتوژن ها          |
| همراه با سایر ترکیبات طبیعی یا شیمیایی، تاثیر ضد میکروبی بیشتری نشان می دهند.              | افزایش اثرهم افزایی با نگهدارنده ها |

باکتری های متعددی که بیوسورفاکتانت تولید می کنند از جمله :



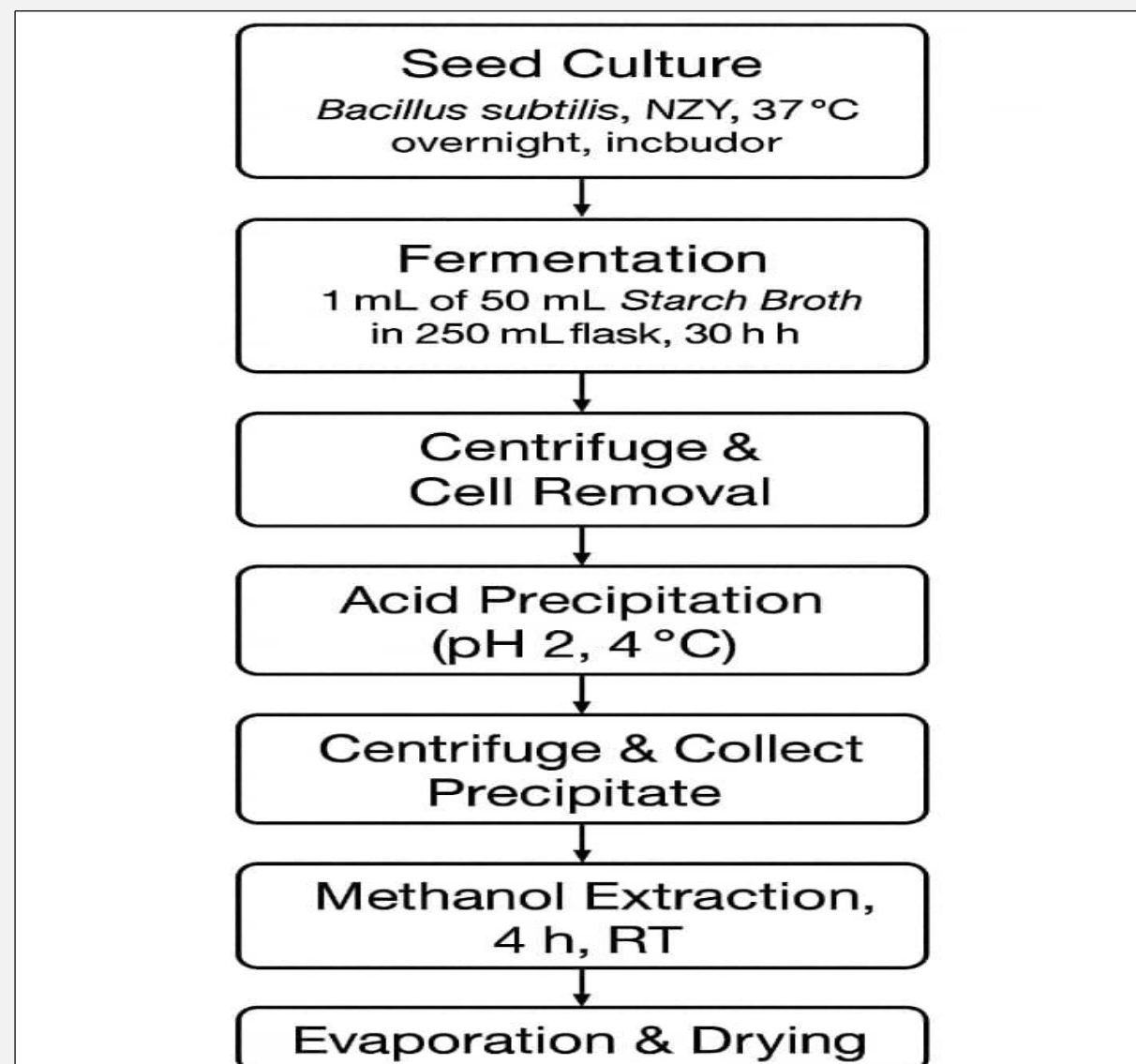
Lactobacillus spp ●

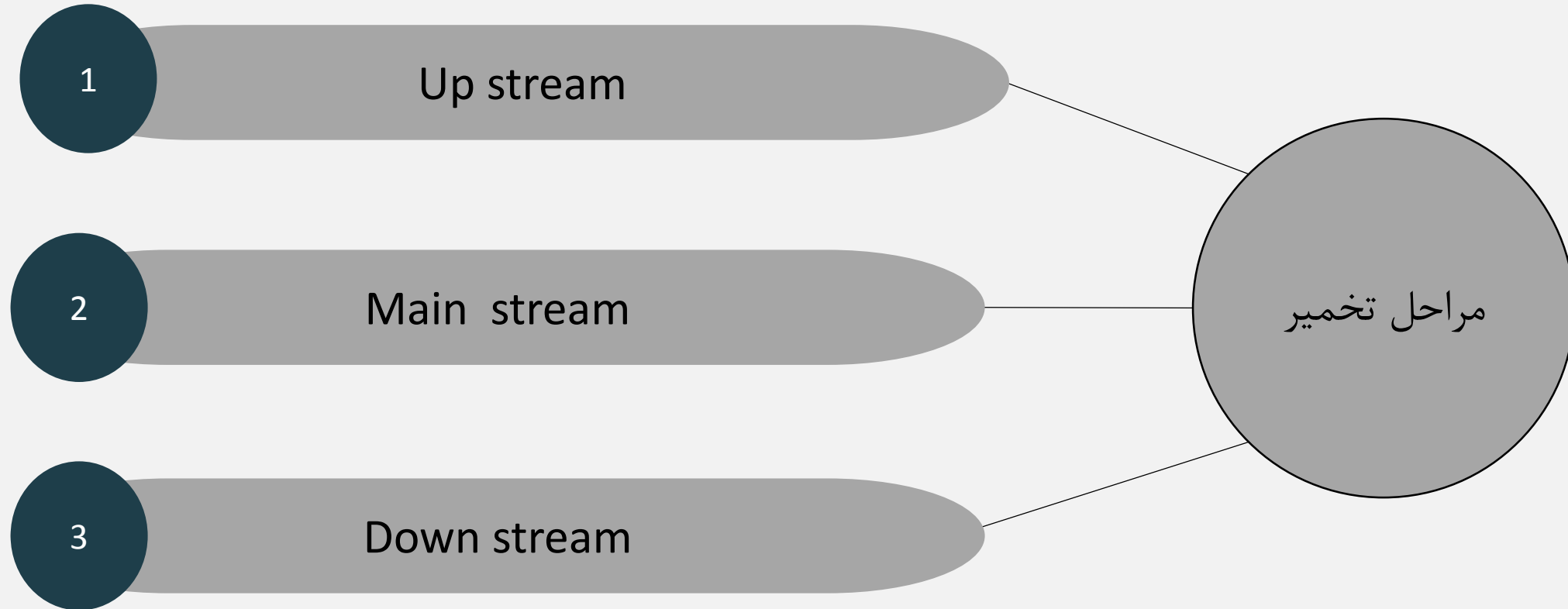


Serratia marcescens ●



Bacillus subtilis ●





Down stream

Main stream

Up stream

شناسایی سویه ها: انتخاب ۷ سویه ی *Bacillus subtilis* از منابع طبیعی بر اساس ویژگی های مورفولوژیک،  
بیوشیمیایی و ژنتیکی  
کشت اولیه: باکتری B-subtilis در محیط NZY در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور شیکردار به مدت  
یک شب انکوبه گردید.



انکوباتور شیار دار



محیط NZY



مدت زمان ساعت ۱۲



دما : درجه سانتی گراد ۳۷

| Test-cultures               | Zone of test-cultures growth inhibition (mm) by biosurfactants from <i>B. subtilis</i> |               |            |            |            |            |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------|------------|------------|------------|
|                             | BSB3 (30°C)*                                                                           | BSB3 (37°C)** | 16k (30°C) | 16k (37°C) | 105 (30°C) | 105 (37°C) |
| <i>S. aureus</i> 10292      | 12                                                                                     | 10            | 17         | 15         | 0          | 0          |
| MRSA 13                     | 10                                                                                     | 9             | 13         | 11         | 0          | 0          |
| <i>S. aureus</i> 10378      | 15                                                                                     | 12            | 20         | 19         | 0          | 0          |
| MRSA 34                     | 11                                                                                     | 8             | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>S. aureus</i> ATCC 12600 | 16                                                                                     | 12            | 20         | 20         | 0          | 0          |
| MRSA 26                     | 15                                                                                     | 10            | 13         | 13         | 0          | 0          |
| MRSA 2                      | 12                                                                                     | 10            | 14         | 14         | 0          | 0          |
| <i>S. intermedius</i> 10203 | 16                                                                                     | 9             | 25         | 25         | 0          | 0          |
| MRSA 5                      | 12                                                                                     | 9             | 15         | 14         | 0          | 0          |
| <i>S. aureus</i> 10497      | 13                                                                                     | 11            | 17         | 17         | 0          | 0          |
| <i>S. aureus</i> ATCC 27690 | 13                                                                                     | 11            | 15         | 15         | 0          | 0          |
| MRSA 1                      | 10                                                                                     | 7             | 15         | 14         | 0          | 0          |
| <i>S. aureus</i> 10686      | 15                                                                                     | 12            | 18         | 18         | 0          | 0          |
| MRSA 45                     | 13                                                                                     | 10            | 18         | 16         | 0          | 0          |

\**Bacillus* strain was incubated at 30°C; \*\**Bacillus* strain was incubated at 37°C.

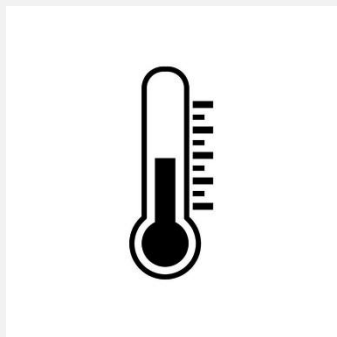
**Table 4:** Activity of biosurfactants against *Staphylococcus* test-cultures.

Down stream

Main stream

Up stream

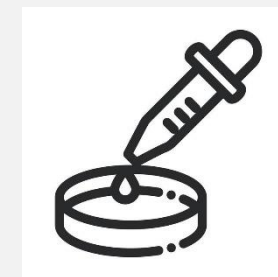
کشت برای فرایند تخمیر: ۱ میلی لیتر از کشت اولیه را در ۵۰ میلی لیتر محیط تخمیر (starch Broth) در فلاسک ۲۵۰ میلی لیتر اضافه شد  
در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ساعت انکوبه گردید



● دمای بهینه : ۳۰ درجه سانتی گراد



مدت زمان: ۳۰ ساعت



● محیط کشت : محیط نشاسته (Starch Broth)  
این محیط کشت حاوی نشاسته ، پپتون و NaCl است.

مدت زمان کشت ۳۲ ساعت بود ولی ماکسیموم رشد و فعالیت آنتاگونیستی در ساعت ۳۰ام مشاهده شد

Down stream

Main stream

Up stream

مرحله ی Downstream شامل استخراج تغلیظ و آماده سازی بیوسورفکتانت برای استفاده نهایی است.

ابتدا محیط کشت باکتریایی سانتریفیوژ می شود تا سلول ها جدا شوند و سوپرناتانت به دست آید . سپس این مایع با HCl تا  $PH=2$  اسیدی می کنیم و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری می کنیم تا بیوسورفاکتانت رسوب کند . رسوب به دست آمده دوباره سانتریفیوژ می شود و در متانول حل می گردد . محلول متانولی به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق نگه داشته می شد و سپس تحت خلأ و در مجاورت سیلیکاژل تبخیر شد تا بیوسورفاکتانت به صورت جامد تغلیظ شود.



## Down stream



- سانتریفیوژ برای حذف سلولها:  $g \times 10;000$  به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد



- اسیدی سازی سوپرناتانت: با Hcl تا pH:2 و نگهداری ۱۲ ساعته در دمای ۴ درجه سانتی گراد برای روسوب گیری.



- استخراج با متانول: حل رسوب در ۵ میلی لیتر متانول، استخراج ۴ ساعته در دمای اتاق

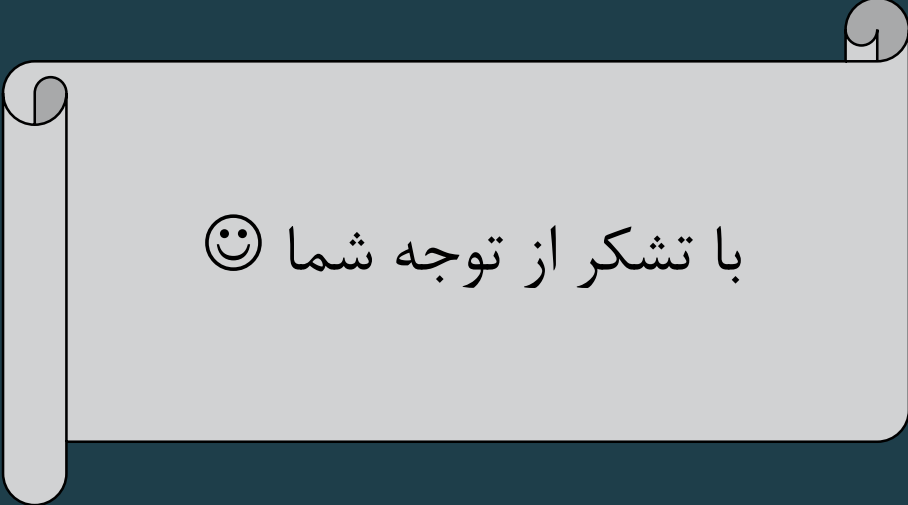


- تغلیط محصول: تبخیر متانول تحت خلا در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل

در زمینه ی نگهداری مواد غذایی می توان از بیوسورفکتانت های تولید شده توسط *Bacillus subtilis* به صورت مستقیم مایع یا جامد استفاده کرد یا با افزودن خود باکتریهای پروبیوتیک تولید کننده ی بیوسورفکتانت به ماده ی غذایی از اثر محافظتی آن ها بهره مند شد. این دو رویکرد امکان افزایش ایمنی و ماندگاری مواد غذایی را بدون استفاده از نگهدارنده های شیمیایی فراهم می کنند.

- Banat, I. M., et al. (2010). *Microbial biosurfactants: production, applications and future potential. Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(2), 427–444.
- Nitschke, M., & Costa, S. G. V. A. O. (2007). *Biosurfactants in food industry. Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 252–259.
- Jadari, Z., Tabatabaei Yazdi, F., & Mortazavi, S. A. (2016). Application of bacteriophages in biocontrol of foodborne pathogens. The 1st International and 24th National Congress on Food Science and Technology of Iran, Ferdowsi University of Mashhad.
- Moore, T., Globa, L., Barbaree, J., Vodyanoy, V., & Sorokulova, I. (2013). Antagonistic activity of Bacillus bacteria against food-borne pathogens. *\*Journal of Probiotics & Health\**, 1(3), Article 1000110.

<https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000110>



با تشکر از توجه شما 😊