مطالعه و مدل‌سازی مرحله رشد تاخیری سالمونلا تیفی موریم متاثر از عوامل رشد انتخابی

دکتر افشین آخوندزاده[1] دکتر ودود رضویلر[1]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، دوره ۵۵ ، شماره ۲ ، ۸۳ - ۷۹ ، (۱۳۷۹)

در یک مطالعه چند فاکتوری، اثرات مقادیر مختلف pH (۵ تا ۷/۴)، غلظتهای مختلف نمک طعام (۰/۵ تا ۳ درصد)، سوربات پتاسیم (صفر تا ۰/۳ درصد) و حرارت نگهداری (۱۵ تا ۳۵ درجه سانتیگراد) بر روی زمان رشد تأخیری (Lag time) سالمونلاتیفی‌موریم (Salmonella typhimurium) در محیط مدل‌برات (Brain Heart Infusion) مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. مدت زمان رشد تأخیری سالمونلاتیفی موریم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مقادیر عوامل رسوبات پتاسیم، pH و درجه حرارت نگهداری قرار گرفت ($P < ۰/۰۰۲$) ولی غلظتهای نمک طعام به‌کار گرفته شده در این مطالعه تأثیر معنی‌داری بر روی آن نداشت ($P = ۰/۵$) با استفاده از معادله رگرسیون خطی و ترانسفورماسیونهای مناسب ارتباط زمان رشد تأخیری (به‌عنوان یک متغیر وابسته) با مقادیر pH ، سوربات پتاسیم، حرارت نگهداری و نمک طعام (به‌عنوان متغیرهای مستقل) به‌صورت مدل پیشگو (Predictive model) تهیه گردید. با استفاده از این مدل طول زمان رشد تأخیری در محدوده دامنه مقادیر متغیرهای به‌کار گرفته شده در این مطالعه با مقدار $R^2 = ۰/۸۲$ قابل محاسبه و پیشگویی خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا تیفی موریم، فاکتورهای رشد، رشد تأخیری، مُدل‌سازی .

با وجود گزارشهای روزافزون بیماریهای ناشی از مصرف موادغذایی آلوده به اجرام بیماریزای غذایی سراسر دنیا متأسفانه هیچ‌گونه راه شناخته شده‌ای جهت جلوگیری آلودگی اتفاقی فرآورده‌های غذایی با انواع مختلف میکروبها از قبیل سالمونلا، کلستریدیوم بوتولینم (C. botulinum)، کمپیلوباکتر (Campylobacter) و ... ارایه نشده است(۱۹، ۱۰، ۷). تولیدکنندگان موادغذایی باید همیشه به فکر این گونه آلودگیها در موادغذایی تولید شده بوده و راههای کنترل آنها را درنظر داشته باشند(۹). در سالهای اخیر ارایه مدلهای ریاضی جهت پیشگویی رشد و بقای باکتریها گسترش زیادی پیدا کرده است (۱۵ و ۱۳، ۵، ۴). این چنین مدلها یک زمینه علمی پیشنیاز جهت کامپیوتری کردن بهداشت فرآوری تولید موادغذایی مورد توجه صنایع غذایی می‌باشد که سبب صرفه‌جویی در انجام آزمایشات میکروبیولوژیکی گران قیمت می‌شود(۴). مدلهای ریاضی که رشد اجرام بیماریزای غذایی در محیطهای آزمایشگاهی متاثر از فاکتورهای درون اثر (PH ، آب فعال و نگهدارنده‌ها) و برون اثر (حرارت و رطوبت) را پیشگویی می‌نماید. تخمین بسیار مناسب و قابل قبولی از رفتار باکتری در موادغذایی را در اختیار ما قرار می‌دهند(۱۸، ۱۵).

مدلهای پیشگوی متعددی از رفتار رشد گونه‌های مختلف سالمونلا در محیطهای آزمایشگاهی متأثر از درجه حرارت، pH و آب فعال ارایه شده است(۱۵، ۸، ۳). این مطالعه جهت ارایه مدلی برای اثرات درجات حرارت نگهداری (T) (۱۵ تا ۳۵ درجه سانتیگراد) مقادیر مختلف pH (۵ تا ۷/۴)، نمک‌طعام (NaCl) (۰/۵ تا ۳ درصد) و سوربات پتاسیم (KS) (صفر تا ۰/۳ درصد) بر روی زمان رشد تأخیری (Lag time, Lag) سالمونلا تیفی موریم در محیط کشت مدل برات (Brain Heart Infusion, BHI) انجام پذیرفته است. با انجام آزمون رگرسیون خطی، مدلی پیشگو جهت پیشگویی مدت زمان رشد تأخیری سالمونلا تیفی موریم مورد مطالعه (به‌عنوان یک متغیر وابسته) متأثر از درجات مختلف فاکتورهای pH ، نمک طعام و سوربات پتاسیم (به‌عنوان متغیرهای مستقل) در محدوده مورد مطالعه، ارایه داده شد.

مواد و روش کار

طرح آزمایش : برای ارزیابی اثرات pH ، نمک‌طعام، سوربات پتاسیم و درجه حرارت بر روی مدت زمان رشد تأخیری (Lag) سالمونلاتیفی موریم، از یک طرح بررسی اثرات ترکیبی چند فاکتوری، مشتمل بر چهار سطح pH (۷/۴، ۶/۵، ۵/۷۵ و ۵)، سه غلظت نمک (۳، ۱/۵، ۰/۵ درصد)، سه سطح سوربات پتاسیم (۰/۳ ، ۰/۵ و صفر درصد)، سه درجه حرارت نگهداری (۳۵، ۲۵، ۱۵ درجه سانتی‌گراد) در یک محیط کشت مدل برات (BHI) استفاده شده در ضمن برای بررسیهای رشدی بعدی از جمله محاسبه لگاریتم درصد احتمال (Probability, LP %) شروع رشد یک سلول سالمونلاتیفی موریم در برات (Brain Hear Infusion Broth, BHI) مشاهدات وضعیت رشدی در طی ۱۸ مرتبه به‌مدت ۴۳ روز تکرار گردید.

باکتری مورد مطالعه : کشت لیوفیلیزه، سالمونلاتیفی موریم شماره ۱۳۸ فاز تایپ ۲، گرفته شده از گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی تهران جهت این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت لیوفیلیزه در محیط برات BHI در ۳۷ درجه به‌مدت ۴۸ ساعت، حداقل دو مرتبه به‌طور متوالی کشت داده شده سپس از کشت دوم بر روی آگار BHI که به‌صورت شیب‌دار در لوله بوده برده و به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه نگهداری شد. از این کشت به‌عنوان کشت مورد استفاده در تحقیق استفاده گردید. این کشت در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد و ماهیانه تجدید کشت گردید.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی : تهیه میزان تلقیح سالمونلا، با انتقال باکتری از لوله‌های کشت شیب‌دار BHI (ماهیانه تجدید کشت می‌شد) به محیط برات BHI انجام گرفت. بعد از ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه، مجدداً کشت دومی از این کشت آبگوشت ۲۴ ساعت اولی بر روی برات BHI به‌مدت ۱۸ ساعت ۳۵ درجه داده شد. سپس لوله‌های استریل Cuvett تهیه گردید و به آنها ۵ میلی‌لیتر از محیط برات BHI استریل اضافه گردید سپس ابتدا برای بار اول مقدار مختلفی از کشت آبگوشت ۱۸ ساعته دومی بر روی لوله های Cuvett مختلف، حاوی ۵ میلی‌لیتر برات BHI برده ، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company, USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوریشان خوانده شد. سپس از این لوله‌های Cuvett جهت شمارش تعداد باکتریها استفاده شد، تا در نهایت ، لوله Cuvett که دارای ۲×۱۰^۷ باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد، مشخص گردد. بدین ترتیب در دفعات بعدی انجام آزمایش، در هر بار با مشخص شدن جذب نوری موردنظر، به‌طور تقریبی مقدار ۲×۱۰^۷ باکتری در هر میلی‌لیتر مشخص گردد (که بعداً با کشت بر روی آگار شمارش نیز تأیید می‌شد) سپس همان‌گونه که بعداً بیان می‌شود از این لوله Cuvett حاوی ۲×۱۰^۷ باکتری در هرمیلی‌لیتر سریالهای رقت ۱۰ تایی از $۱۰^۵$ باکتری در هر میلی‌لیتر تا $۱۰^{-۲}$ در هر میلی‌لیتر با استفاده از برات BHI با ترکیب فاکتورهای موردنظر آزمایش (که در قسمت بعدی توضیح داده خواهد شد)، تهیه گردید. از لوله حاوی بالاترین

۱) گروه آموزشی بهداشت و کنترل موادغذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

تلقیح یعنی 10^5 باکتری در هر میلی‌لیتر جهت بررسی مدت زمان Lag و از مجموعه رقتهای 10^5 تا 10^{-2} باکتری در هر میلی‌لیتر جهت بررسیهای رشدی بعدی از قبیل LP % استفاده شد.

تهیه سوبسترای برات BHI و تنظیم مقادیر مختلف فاکتورهای موردنظر در آن : ابتدا جهت تهیه برات پایه ، ۳/۷ گرم از پودر محیط کشت BHI را در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک ارلن با حرارت ملایم حل نموده سپس بعد از سرد شدن، نمک طعام و سوربات پتاسیم در مقادیر موردنظر جهت مطالعه اضافه گردید و سپس مقادیر pH ۷/۴ تا ۵ برای هر مجموعه ترکیب (۹۰ ml) موردنظر با استفاده از اسید کلریدریک یک نرمال تنظیم گردید و حجم نهایی با استفاده از آب مقطر به ۱۰۰ ml رسید. سپس از محتویات ارلن با مجموعه ترکیبی موردنظر در لوله‌های در پیچ‌دار، هر یک به میزان ۹ میلی‌لیتر ریخته و سپس لوله‌های در پیچ‌دار در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتیگراد به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند سپس جهت صحت میزان سطح pH هر یک از لوله‌ها بعد از اتوکلاو، در لوله شاهد اتوکلاو شده میزان pH اندازه‌گیری شد و در صورت تغییر pH بعد از اتوکلاو، با استفاده از اسید کلریدریک یک نرمال استریل سطح pH هر یک از لوله‌های در پیچ‌دار مورد استفاده در آزمون را در حد موردنظر برای مطالعه، تنظیم گردید.

تلقیح سوبسترای برات و گرمخانه‌گذاری : همان‌گونه که گفته شد سریالهای رقت ۱۰ تایی از هر یک از لوله‌های Cuvett حاوی برات باکتریایی، با جذب نوری ۰/۳ (طول موج ۶۰۰ نانومتر) که مشخص‌کننده 10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر محیط کشت داخل آن لوله‌های Cuvett می‌باشد. با استفاده از ۸ لوله در پیچ‌دار حاوی برات BHI استریل ، با مجموعه ترکیبی موردنظر از هر یک از فاکتورهای pH - NaCl - KS مورد مطالعه تهیه گردید. بدین ترتیب سریالهای رقت ۱۰ تایی از 10^5 تا 10^{-2} باکتری در هر میلی‌لیتر به‌دست آمده سپس محتویات (۹ میلی‌لیتری) هر یک از لوله‌های در پیچ‌دار به‌طور استریل در قسمتهای ۳ میلی‌لیتری در داخل ۳ لوله سرپوش‌دار (16×100^{mm} Becton Dickinson) استریل ریخته و بدین ترتیب مجموعه $8 \times 3 = 24$ لوله برای هر یک از مجموعه ترکیب (pH - NaCl - KS - T) موردنظر به‌دست آمد هر مجموعه ۲۴ تایی لوله‌ها در هر یک از حرارتهای موردنظر در مطالعه یعنی ۳۵، ۲۵، ۱۵ درجه سانتیگراد به‌مدت ۴۳ روز نگهداری شد. در طی این مدت ۱۸ دفعه تمام لوله‌ها جهت مشاهده کدورت رشدی قابل رویت مورد بررسی قرار گرفتند.

تعیین زمان رشد تأخیری (Lag time) در مطالعه : مدت زمان رشد تأخیری برای بالاترین تلقیح در این مطالعه (10^5 / ml>) با استفاده از تعیین نزدیکترین زمان مشاهده کدورت قابل رویت در طی ۴۳ روز مورد مطالعه به‌دست آمد.

آنالیز آماری و انتخاب مدل پیشگو : اثرات مستقل و تداخلی مقادیر مختلف pH , T , NaCl , KS بر روی مدت زمان رشد تأخیری (Lag) با استفاده از آنالیز واریانس با کمک از نرم‌افزار SPSS / PC+ ارزیابی گردید. از برنامه رگرسیون چند مرحله‌ای ، جهت انتخاب مدل پیشگو، و پیشگویی (Lag) به‌عنوان یک متغیر وابسته متاثر از متغیرهای مستقل KS , NaCl و T در طی ۴۳ روز مورد مطالعه، همراه با ترانسفورماسیون‌های مربوطه، استفاده گردید. ضریب تعیین R^2 (Cofficient of determination) به‌دست آمده ، بیانگر میزان همخوانی مقادیر پیشگویی شده، متغیر وابسته موردنظر (Lag) با مقادیر به‌دست آمده در تحقیق، در محدود مورد مطالعه تغییرات متغیرهای مستقل می‌باشد.

نتایج

جدول ۱ نشان‌دهنده مدت زمان رشد تأخیری (Lag) سالمونلا تیفی موریم برحسب روز، در محیط BHI متاثر از مجموعه ترکیب pH NaCl و KS می‌باشد.

همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، $pH \geq 6/5$ همراه با مقدار غلظت سوربات پتاسیم کوچکتر و یا مساوی ۰/۳ درصد، مقدار غلظت نمک طعام کوچکتر و یا مساوی ۳ درصد و درجه حرارت نگهداری بزرگتر یا مساوی ۱۵ درجه سانتیگراد بر روی رشد ارگانیسم تأثیر نداشت. مدت زمان رشد تاخیری از ۰/۰۵ تا ۲/۶۹ روز بود. البته در ۳ درصد نمک‌طعام همراه با ۰/۳ درصد سوربات پتاسیم در سطح $pH = 6/5$ و حرارت ۱۵ درجه سانتیگراد رشد باکتری به‌طور قابل توجهی کاهش پیدا کرد و زمان Lag تا ۱۸ روز افزایش پیدا کرد. همچنین با کاهش pH به سطح مساوی یا کمتر از ۵/۷۵ همراه با مقادیر درنظر گرفته شده از فاکتورهای مورد بحث یعنی $KS \leq 3\%$, $NaCl \leq 3\%$ و درجه حرارت مساوی یا بزرگتر از ۱۵ درجه سانتیگراد از رشد باکتری به‌طور قابل توجهی کاسته شد و زمان Lag تا ۴۳ روز افزایش پیدا کرد. در سطح $pH = 5$ و درجه حرارت $T \geq 15$ همراه با $NaCl \leq 3\%$ و $KS = 3\%$ رشد ارگانیسم در طی ۴۳ روز مطالعه کاملاً متوقف شد ($Lag > 43$).

آنالیزهای آماری : از آنالیز واریانس (Analysis of Variance, ANOVA) جهت بررسی اثرات سطوح مختلف KS , NaCl, T , pH و تداخلهای (Interactions) دو فاکتوری و ۳ فاکتوری آنها بر روی Lag استفاده شد. جدول ۲ بیانگر این اثرات می‌باشد.

مدت زمان رشد تاخیر سالمونلا تیفی موریم به‌طور معنی‌داری($P < 0/02$ > ۰/۰۰۰۱) تحت تاثیر KS , T , pH و تداخلهای دو فاکتوری pH × KS , pH × T , KS × T , KS × NaCl و تداخلهای ۳ فاکتوری آنها یعنی KS × pH × NaCl و KS × pH × T , KS × NaCl × T قرار گرفت.

مدل‌سازی رفتار سالمونلا تیفی موریم (متغیر وابسته) متاثر از متغیرهای مستقل و ترانسفورماسیون‌های آنها صورت گرفت. با استفاده از برنامه رگرسیون چند مرحله‌ای (SPSS / PC) بهترین مدل با بالاترین مقدار $R^2 = 0/82$ به شرح ذیل به‌دست آمد :

$$\sqrt{1 / Lag} = -0.646 - 2.577 \sqrt{KS} + 2.797\, KS^2 - 0.273 \sqrt{NaCl} - 9.470 \times 10^{-3}\, NaCl^2 + 1.027 \sqrt{pH} + 2.368 \times 10^{-2}\, pH^2 - 0.406 \sqrt{T} + 2.031 \times 10^{-3}\, T^2 \quad . \quad R^2 = 0.82$$

بحث

توانایی رشد سالمونلا تیفی موریم در غذا و محیطهای آزمایشگاهی تحت یکسری از شرایط طراحی شده توسط محققین مختلف مورد ارزیابی و بررسی قرار گرفته است(۱۹، ۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۴، ۱۲، ۱۱، ۸، ۶، ۵). در این مطالعه یکی از ارزشهای رشدی یعنی زمان رشد تاخیری(۱۵، ۱۲، ۸، ۶، ۵) که در بهداشت و صنایع غذایی برای ارزیابی بهداشتی و قابلیت نگهداری غذا دارای اهمیت فوق‌العاده می‌باشد جهت بررسی کمی اثر سوربات پتاسیم ، pH، نمک‌طعام و درجه حرارت نگهداری بر روی سالمونلا تیفی موریم مورد مطالعه قرار گرفت.

آنالیزهای آماری نمایانگر، اثر معنی‌دار KS , pH , T و برخی از تداخلهای دو فاکتوری و سه فاکتوری آنها بر روی زمان رشد تاخیری بود با افزایش مقادیر KS زمان رشد تاخیری افزایش پیدا کرد که این اثر همراه با کاهش مقدار pH و درجه حرارت نگهداری تشدید گردید این مشاهدات مطابق با گزارش Park and Marth بود(۱۶). این محققین که چگونگی رشد سالمونلا تیفی موریم را در یک مدل کشت آبگوشت مغذی (Nutrient broth)، شیر بدون چربی (Skim milk) و شیرهای تغلیظ شده (Evapurated milk) در pH ، ۵، ۵/۵ و مقادیر سوربات ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ ppm در درجات حرارت نگهداری ۷ تا ۳۷ مورد بررسی قرار دادند، نتایج مشابهی با این تحقیق به‌دست آوردند(۱۶).

جدول ۱ - مدت زمان رشد تأخیری (Lag) سالمونلا تیفی موریم برحسب روز در میزان تلقیح 10^5 باکتری در هر میلی‌لیتر در مدل برات BHI متأثر از فاکتورهای T ، KS ، NaCl ، pH.

		pH				
		۷/۴	۶/۵	۵/۷۵	۵	
T°C	NaCl	KS	Lag	Lag	Lag	Lag
۳۵	۰/۵	۰	۰/۰۵	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۱۴
	۱/۵	۰	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۱۲	۰/۱۴
	۳	۰	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۷
	۰/۵	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۸۳	>۴۳
	۱/۵	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۲۴	۱	>۴۳
	۳	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۴۲	۲/۸۷	>۴۳
	۰/۵	۰/۳	۰/۱۷	۰/۳۳	۴/۱۶	>۴۳
	۱/۵	۰/۳	۰/۱۹	۰/۴۲	۹	>۴۳
	۳	۰/۳	۰/۲۷	۰/۵	۹	>۴۳
۲۵	۰/۵	۰	۰/۱۷	۰/۳۹	۰/۴۵	۰/۸۷
	۱/۵	۰	۰/۲۸	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۶۲
	۳	۰	۰/۳۴	۰/۴۵	۰/۴۶	۰/۶۷
	۰/۵	۰/۱۵	۰/۳۴	۰/۷۵	۱/۵	>۴۳
	۱/۵	۰/۱۵	۰/۳۳	۰/۸۳	۳/۹۲	>۴۳
	۳	۰/۱۵	۰/۸۳	۱/۰۸	>۴۳	>۴۳
	۰/۵	۰/۳	۰/۳۷	۰/۹۷	>۴۳	>۴۳
	۱/۵	۰/۳	۰/۸۷	۱/۰۸	>۴۳	>۴۳
	۳	۰/۳	۱/۴۵	>۴۳	>۴۳	>۴۳
۱۵	۰/۵	۰	۰/۴۶	۰/۸۷	۰/۸۳	۱/۴۶
	۱/۵	۰	۰/۸	۰/۹۱	۰/۹۶	۱/۸۷
	۳	۰	۱/۱۲	۱/۴۱	۱/۶۲	۱/۹۱
	۰/۵	۰/۱۵	۰/۹۵	۱/۰۱	۲/۹۱	>۴۳
	۱/۵	۰/۱۵	۰/۹۵	۱/۹۱	>۴۳	>۴۳
	۳	۰/۱۵	۲/۱۲	۲/۹۶	>۴۳	>۴۳
	۰/۵	۰/۳	۰/۹۷	۱/۹۵	>۴۳	>۴۳
	۱/۵	۰/۳	۲/۱۴	۲/۹۶	>۴۳	>۴۳
	۳	۰/۳	۳/۰۴	۱۸	>۴۳	>۴۳

جدول ۲ - آنالیز واریانس (P - values) زمان رشد تأخیری (Lag) سالمونلا تیفی موریم در برات BHI متأثر از مقادیر مختلف KS ، pH ، NaCl و T.

Source of value	p - values
Main effects	
pH	۰/۰۰۰
KS	۰/۰۰۰
NaCl	۰/۵۶۲
T	۰/۰۰۲
2- Way interactions	
pH × NaCl	۰/۲۳۲
pH × KS	۰/۰۰۱
pH × T	۰/۰۰۰
NaCl × KS	۰/۰۰۱
T × NaCl	۰/۴۰۹
T × KS	۰/۰۱۳
3 - Way interactions	
pH × KS × NaCl	۰/۰۰۰
pH × KS × T	۰/۰۱۵
pH × T × NaCl	۰/۱۰۷
T × NaCl × KS	۰/۰۰۱

جدول ۳ - مقایسه مدت زمان رشد تأخیری (Lag) سالمونلاتیفی موریم برحسب روز به‌صورت مطالعه شده در آزمایش و پیش‌بینی شده از مدل در محیط برات BHI با pH برابر با ۵/۷۵ و مقادیر مختلفی از فاکتورهای KS ، NaCl و T.

		pH ۵/۷۵		
T°C	NaCl	KS	Lag(مطالعه شده)	Lag(پیش‌بینی شده)
۳۵	۰/۵	۰	۰/۰۹	۰/۱۴
	۱/۵	۰	۰/۱۲	۰/۱۸
	۳	۰	۰/۱۷	۰/۲
	۰/۵	۰/۱۵	۰/۸۳	۰/۴۱
	۱/۵	۰/۱۵	۱	۰/۵۱
	۳	۰/۱۵	۲/۸۷	۰/۷
	۰/۵	۰/۳	۴/۱۶	۰/۵۶
	۱/۵	۰/۳	۹	۰/۷۳
	۳	۰/۳	۹	۱/۰۶
۲۵	۰/۵	۰	۰/۴۵	۰/۳۷
	۱/۵	۰	۰/۴۵	۰/۴۵
	۳	۰	۰/۴۶	۰/۹۸
	۰/۵	۰/۱۵	۱/۵	۲
	۱/۵	۰/۱۵	۳/۹۲	۳/۳۵
	۳	۰/۱۵	> ۴۳	۸/۴۷
	۰/۵	۰/۳	> ۴۳	۴/۲۹
	۱/۵	۰/۳	> ۴۳	۹/۶
	۳	۰/۳	> ۴۳	> ۴۳
۱۵	۰/۵	۰	۰/۸۳	۰/۶۲
	۱/۵	۰	۰/۹۶	۰/۷۹
	۳	۰	۱/۶۲	۱/۱۷
	۰/۵	۰/۱۵	۲/۹۱	۸/۳
	۱/۵	۰/۱۵	> ۴۳	> ۴۳
	۳	۰/۱۵	> ۴۳	> ۴۳
	۰/۵	۰/۳	> ۴۳	> ۴۳
	۱/۵	۰/۳	> ۴۳	> ۴۳
	۳	۰/۳	> ۴۳	> ۴۳

همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است در یک pH موردنظر، تاثیر سوربات پتاسیم بر روی رشد سالمونلاتیفی موریم با افزایش غلظت نمک‌طعام، افزایش پیدا کرد. این نتیجه با نتایج گزارش شده توسط Laocco و Martin (۱۹۸۱) مطابقت دارد(۱۱).

Gibson و همکاران (۱۹۸۸) رفتار سالمونلا (مخلوطی از گونه‌های S. Stanley , S. infants S. thompson) را در یک محیط آزمایشگاهی متأثر از مقادیر مختلف نمک‌طعام ، pH و درجه حرارت نگهداری مورد مطالعه قرار داده و از مدل پیشگوی Gompertz جهت تخمین رفتار باکتری با به‌کارگیری معیارهای اندازه‌گیری رشد (زمان دو برابر شدن و زمان رشد تأخیری) استفاده کردند و گزارش نمودند که این چنین مدلهایی یک رهیافت اقتصادی و موثری در درک و بنابراین کنترل پاسخ رشد میکروبی در مواد غذایی می‌باشد(۸). نتیجه‌گیریهای مشابه توسط محققین دیگر گزارش شده است(۱۳، ۱۰، ۳).

مقدار ضریب تعیین R^2 به‌دست آمده که در جدول ۳ نشان داده شده است. بیانگر میزان تطابق خوب مقادیر پیشگویی شده و مشاهدات تجربی می‌باشد که این مطلب در مقایسه مقادیر مشاهده شده و پیشگویی شده Lag در جدول ۳ مشهود است.

با استفاده از این مدل طول زمان رشد تأخیری در محدوده دامنه مقادیر متغیرهای به‌کار گرفته شده در این مطالعه با R^2 = ۰/۸۲ قابل محاسبه و پیشگویی خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران و دانشکده دامپزشکی در انجام این طرح قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

۱. رضویلر، و. آخوندزاده، ا. مدل‌سازی تأثیرات حرارت، pH، سوربات پتاسیم، نمک و زمان نگهداری در احتمال رشد سالمونلا تیفی موریم در سیستم برات. مجله دانشکده دامپزشکی تهران ، دوره ۵۳ شماره ۳ و ۴.

2. Altekuse, S. F., M. L., Cohen, and D. L. Swerdlow, Emerging Foodborne Disease. Emerging Infections Disease. 3 (3). Center for Disease Control and prevention, Atlanta, Georgia, USA, (1997).

3. Broughall, J. M., P. A. Anslow, and D. C. Kilsby, Hazard analysis applied to mirobiol growth in foods : Development of mathematical models describing the effect of water activity. J. Appl. Bacterial 55 : 101 - 110, (1983).

4. Davey, K. R. Modelling the combined effect of temperature and pH on the rate coefficient for bacterial growth. Int. J. Food Microbiol. 23 : 295 - 303, (1994).

5. Davey, K. R. and B. J. Daughtry, Validation of a model for predicting the combined effect of three enviromental factors on both exponential and lag phases of baterial growth : temperature , salt concenteration and pH. Food Research International 28 (3) : 233 - 237, (1995).

6. Dickson, J. S. G. R. Siragusa, and J. E. Wary, Predicting the growth of Salmonella typhimurium on beef by using the temperature function integration technique. Applied And Environmental Microbiology p. 3482 - 3487, (1992).

7. Gerigk, K. WHO surviellance programme for control of foodborne infection and intoxications, in Europe Proc. 3rd . World cogress of food borne infections and intoxications, Berline, (1992).

8. Gibson, A. M. N. Bratchell, and T. A. Robert, predicting microbiol growth responses of Salmonella in laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. Int. J. Food Microbiol. 6 : 155 - 178, (1988).

9. Gibson, A. M. and T. A. Roberts, The effect of pH, sodium chloride, Sodium nitrite and storage temperature on the growth of C. perfringens and faecal streptococci in laboratory media. Int. J. Food. Microbiol. 3 : 195 - 210, (1986).

10. Golden, D. A. E. Jeffery Rhodehamel, and D. A. Kautter, Growth of Salmonella spp. in contaloup, Watermelon, and honeydew melon. J. Food Pro. 56 : 194 - 196 , (1993).

11. Laocco, K. A. and S. E. Martin, Effects of potassium sorbate alone and in combination with sodium chloride on the growth of Salmonella typhimurim 7136. Journal of Food Sciences. 46 : 568 - 570, (1981).

12. Little, C. L. S. Knochel, Growth and survival of Yersinia enterocolitica, Salmpnella and Bacillus cereus in Brie stored at 4, 8 and 20°C Int. J. Food. Microbiol 24 : 137 - 145, (1994).

13. MaClure, P. J. C. de Blackurn, M. B. Cole, P. S. Curtis, J. E. Jones, J. D. Legan, I. D. Ogden, M. N. Peck, T. A. Robert, J. P. Sutherland, and S. J. Walker, Modelling the growth, survival and death of microorganism in foods the UK Food Micromodel approach. Int. J. Food. Microbiol. 23 : 265 - 275, (1994).

14. McKay, A. L. and A. C. peters, The effect of sodium chloride concenteration and pH on the growth of Salmonella typhimurium colonies on solid medium. O Appl. Bateriol. 79 : 353 - 359, (1995).

15. Oscar, T. P. Response surface models for effects of temperature, pH, and previous growth pH on growth kinetics of Salmonella typhimurium in brain heart infusion broth. J. Food. prot. 62 (2) : 106 - 111, (1999).

16. Park, H. S., and Marth E. H. Inactivation of Salmonella typhimurium by sorbic acid. J. Milk Food Technol. 35 (9), (1972).

17. Radfort, S. A. and R. G. Board, The influence of sodium chloride and pH on the growth of Salmonella enteritidis PT4. Letters in Applied Microbiology. 20 : 11 - 13, (1995).

18. Razavilar, V., C. Genigorgis. Prediction of Listeria spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in a model broth. Int. J. of Food Microbiol. 40 : 149 - 157, (1998).

19. Thayer, D. W., W. S. Muller, R. L. Buchanan, and J. G. philips Effect of NaCl, pH, Temperature, and Atmosphere on growth of Salmonella typhimurium in Glocose - Mineral Salts Medium. Applied And Environmental Microbiology. p : 1311 - 1315, (1987).

20. Whiting, R. C., Microbial modeling in foods. Critical Review in Food Science and Nutrition. 35 (6) : 467 - 494, (1995).

Models for the effects of selected growth factors on the length of Lag phases of growth of Salmonella typhimurium

Akhondzadeh, A.[1] , **Razavilar, V.**[1]

[1]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.*

The effects of pH (5 to 7.4) , sodium chloride (NaCl, 0.5 to 3%), potassium sorbate (KS, 0.0 to 3%) and temperature (T, 15 to 35°C) on Lag time (Lag) of growth of Salmonella typhimurium in a model

broth (Brain Heart Infusion, BHI) were evaluated in a factorial design study. The lag time of growth of S. typhimurium was affected significantly ($P < 0.002$) by the values of KS, pH , T but not by NaCl concentration used in this study ($p = 0.5$). Regression equation was derived relating Lag to KS , NaCl, T and pH. From this model the values of predicted Lag time of S. typhimurium can be calculated from any combination of KS, NaCl, pH and T within the limits studied ($R^2 = 0.82$).

Key words : Salmonella typhimurium , Lag time, Growth factors, Modeling.