

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

ΣΥΝΟΠΤΙΚΕΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

ΓΕΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

2022-A

Συμπληρωματικό Υλικό Διδασκαλίας

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

- Το κύτταρο, η βασική μονάδα της ζωής, είναι ένα σύνθετο βιολογικό σύστημα και για την διατήρησή του χρειάζεται συνεχώς ενέργεια, ύλη καθώς και ομοιοστατικούς μηχανισμούς διατήρησης των ισορροπιών του συστήματος.
- Μεταβολισμός (*metabolism*) είναι το σύνολο των βιοχημικών αντιδράσεων και μηχανισμών και διακρίνεται σε αναβολισμό (*anabolism*) και καταβολισμό (*catabolism*). Κατά τον αναβολισμό, από χημικές μονάδες μικρού μοριακού βάρους συνθέτονται ενώσεις μεγαλύτερου μοριακού βάρους με παράλληλη καταβολή ενέργειας. Καταβολισμός είναι η αντίστροφη διαδικασία όπου σύνθετες μοριακές ενώσεις διασπώνται με παράλληλη απελευθέρωση ενέργειας.
- Στις περισσότερες βιοχημικές αντιδράσεις έχουμε μεταφορά ηλεκτρονίων από μία ένωση που οξειδώνεται σε μία άλλη ένωση που το δέχεται η οποία και ανάγεται. Αυτός είναι και ο λόγος που οι αντιδράσεις καλούνται οξειδοαναγωγικές (*oxidation-reduction reactions*).
- Τα ηλεκτρόνια λόγω του φορτίου τους, δεν μπορούν να υπάρξουν ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα. Αντίθετα συνδέονται και μεταφέρονται με τις ακόλουθες ενώσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων: NAD^+ , $NADP^+$, FAD .
- Πάρα πολλές από τις βιοχημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στο κύτταρο διενεργούνται με τη μεσολάβηση ειδικών πρωτεϊνών που ονομάζονται «ένζυμα» (*enzymes*) τα οποία έχουν καταλυτική δράση, δηλαδή συμμετέχουν άμεσα στην έναρξη και ολοκλήρωση μίας αντίδρασης, όμως στο τέλος παραμένουν αναλλοίωτα. Χωρίς την μεσολάβηση των ενζύμων οι βιοχημικές αυτές αντιδράσεις δεν εξελίσσονται.
- Η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) είναι ένωση με δύο πλούσιους σε ενέργεια δεσμούς, είναι το «ενεργειακό νόμισμα» του κυττάρου.
- Για την διατήρηση της λειτουργίας των κυττάρων απαιτείται ενέργεια και ύλη (και τους ομοιοστατικούς μηχανισμούς). Τόσο τα δομικά υλικά του κυττάρου όσο και η ενέργεια για την αξιοποίηση αυτών των δομικών υλικών μπορεί να προέρχονται από δύο πηγές. Σε ό,τι αφορά την ενέργεια μπορεί να προέρχεται είτε από ακτινοβολίες (φως) είτε από την διάσπαση χημικών ενώσεων. Σε ό,τι αφορά την ύλη – στην περίπτωση της ζωής στην γη, η βασική δομική ύλη είναι ο άνθρακας – αυτή μπορεί να προέρχεται από δύο πηγές: είτε από το διοξείδιο του άνθρακα είτε από οργανική ύλη. Συνεπώς έχουμε τις ακόλουθες τέσσερις ομάδες μικροοργανισμών με βάση βέβαια την προέλευση της ύλης και ενέργειας που χρησιμοποιούν.

1. Φωτοαυτότροφα (*photoautotrophs*):

- a. Πηγή ενέργειας: Το φως
- b. Πηγή άνθρακα: Το διοξείδιο του άνθρακα

2. Φωτοετερότροφα (*photoheterotrophs*):

- a. Πηγή ενέργειας: Το φως
- b. Πηγή άνθρακα: Οργανικές ουσίες

3. Χημειοαυτότροφα (*Chemoautotrophs*):

- a. Πηγή ενέργειας: Χημικές ενώσεις
- b. Πηγή άνθρακα: Το διοξείδιο του άνθρακα

4. Χημειοετερότροφα (*Chemoheterotrophs*):

- a. Πηγή ενέργειας: Χημικές ενώσεις
- b. Πηγή άνθρακα: Οργανικές ουσίες

- Τα θρεπτικά συστατικά τα οποία είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών μπορούν να χωρισθούν σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι γενικές θρεπτικές ουσίες οι οποίες μπορούν να συντεθούν από το ίδιο το κύτταρο. Στην δεύτερη κατηγορία κατατάσσονται εκείνες οι ουσίες οι οποίες δεν μπορούν να συντεθούν από το ίδιο το μικροοργανισμό αλλά θα πρέπει να διατεθούν από το υπόστρωμα. Οι θρεπτικές αυτές ουσίες καλούνται **παράγοντες ανάπτυξης** (*growth factors*) και είναι διαφορετικοί για διάφορες ομάδες μικροοργανισμών. Αυτοί οι παράγοντες ανάπτυξης δεν είναι πάντα γνωστοί και για όλα τα είδη των μικροοργανισμών και γίνεται έρευνα για οργανισμούς που ενδιαφέρουν την τεχνολογία τροφίμων (*Bifidobacteria*). Οι περισσότεροι παράγοντες ανάπτυξης συνήθως ανήκουν στις ακόλουθες κατηγορίες: Αμινοξέα, ιμινοσάκχαρα, βιταμίνες, πουρίνες, πυριμιδίνες, λιπαρά οξέα, κ..α
- Υπάρχουν μικροοργανισμοί οι οποίοι έχουν ανιχνευθεί στο περιβάλλον, (έχει ανιχνευθεί το DNA τους, αλλά όχι οι ίδιοι) αλλά δεν είναι δυνατόν να ανακαλλιεργηθούν σε συνθετικά ή σύνθετα υποστρώματα σε συνθήκες εργαστηρίου. Οι μικροοργανισμοί αυτοί λέγονται «**ζωντανοί αλλά μη καλλιεργήσιμοι**» (*viable but not culturable*). Οι αιτίες του φαινομένου αυτού δεν είναι απόλυτα γνωστοί αλλά εικάζεται ότι μια από τις αιτίες είναι ότι αγνοούμε τους κατάλληλους παράγοντες ανάπτυξης που έχει διαθέσιμους στο φυσικό του περιβάλλον ο μικροοργανισμός.
- Οι ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών ανήκουν σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες ομάδες. Στις παραγράφους που ακολουθούν γίνεται σε πάρα πολύ γενικές γραμμές, μια πολύ απλουστευμένη περιγραφή των πολύ βασικών βιοχημικών μηχανισμών παραγωγής ενέργειας από αυτές (αναλυτική περιγραφή στο μάθημα της Βιοχημείας).
- Στο πρώτο στάδιο του καταβολισμού τα μακρομόρια (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια) υδρολύονται, με τη μεσολάβηση ενζύμων, στα δομικά τους συστατικά. Στο δεύτερο στάδιο του καταβολισμού, τα προϊόντα του πρώτου σταδίου μετατρέπονται στο κομβικό, από μεταβολικής απόψεως, μόριο που είναι το «πυρουβικό οξύ». Στο τρίτο στάδιο το πυρουβικό οξύ ακολουθεί διάφορα μεταβολικά μονοπάτια ανάλογα με το επικρατούσες συνθήκες και το είδος του κυττάρου στο οποίο λαμβάνει χώρα η καταβολική διαδικασία.
 - 1] **Πολυσακχαρίτες:** Ανεξάρτητα με την φύση των πολυσακχαριτών (πολυσακχαρίτες, ολιγοσακχαρίτες) μόνο η γλυκόζη είναι άμεσα εκμεταλλεύσιμη από τα κύτταρα. Η γλυκόζη οξειδώνεται είτε πλήρως είτε μερικώς από το κύτταρο για να παράγει ενέργεια μέσω της γλυκόλυσης (*glycolysis*). Η γλυκόλυση μπορεί να ακολουθήσει τις ακόλουθες «διαδρομές – οδούς» (*pathways*):
 - A. «**Οδός Embden-Meyerhof**» (από τα ονόματα αυτών που την ανακάλυψαν): η γλυκόζη μετατρέπεται σε πυρουβικό οξύ με ταυτόχρονη καθαρή παραγωγή 2 μορίων ATP.
 - B. «**Οδός των φωσφορικών πεντοζών**»: η γλυκόζη μετατρέπεται σε πυρουβικό οξύ ταυτόχρονη καθαρή παραγωγή 1 μορίου ATP (το μισό από τον παραπάνω δρόμο). Όμως τα μεταβολικά προϊόντα που παράγονται, ενδιάμεσα, χρησιμοποιούνται, για την σύνθεση των δομικών συστατικών του DNA. Είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι τα δύο παραπάνω μεταβολικά μονοπάτια εξελίσσονται ταυτόχρονα στα κύτταρα, και δεν είναι παραπληρωματικά.
 - Γ. «**Οδός Entner-Doudoroff**»: η γλυκόζη μετατρέπεται σε πυρουβικό οξύ ταυτόχρονη καθαρή παραγωγή 1 μορίου ATP. Εμφανίζεται σε πολύ λίγα βακτήρια σε αντικατάσταση της οδού «Embden-Meyerhof», όπως στο *Pseudomonas aeruginosa* και *Enterococcus faecalis*.

Το τελικό προϊόν αυτών των οδών είναι το **πυρουβικό οξύ**, του οποίου το μεταβολικό μονοπάτι μπορεί να είναι ένα από τα ακόλουθα ανάλογα με τις συνθήκες:

I. «Αναπνοή» (respiration): το πυρουβικό οξύ, μέσω του βιοχημικού «κύκλου του Krebs», και της «αναπνευστικής αλυσίδας» (*respiratory chain*), οξειδώνεται και παράγεται το μεγαλύτερο ποσό της ενέργειας των κυττάρων, υπό την μορφή ATP πάντα. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η «αναπνευστική αλυσίδα» βρίσκεται στα μιτοχόνδρια ενώ στα προκαρυωτικά (βακτήρια) στην κυτταρική μεμβράνη. Θυμίζουμε ότι στην «αναπνευστική αλυσίδα» υπάρχει μια συνεχής μονόδρομη ροή ηλεκτρονίων τα οποία πρέπει να έχουν ένα τελικό αποδέκτη. Ανάλογα με τον τελικό δέκτη ηλεκτρονίων της «αναπνευστικής αλυσίδας» μπορεί να έχουμε:

II. «Αερόβια Αναπνοή» (aerobic respiration): τελικός δέκτης των ηλεκτρονίων είναι το οξυγόνο (αερόβια, και μικροαερόφιλα βακτήρια).

III «Αναερόβια Αναπνοή» (anaerobic respiration): τελικός δέκτης των ηλεκτρονίων δεν είναι το οξυγόνο, αλλά ανόργανε ενώσεις όπως θειούχα ή νιτρώδη άλατα (προαιρετικά αναερόβια και αναερόβια βακτήρια).

IV. «Ζύμωση» (fermentation): Το πυρουβικό οξύ οξειδώνεται μερικώς χωρίς την μεσολάβηση του «κύκλου του Krebs» και της «αναπνευστικής αλυσίδας», αλλά χρησιμοποιώντας ως τελικό δέκτη ηλεκτρονίων χημικές οργανικές ενώσεις.

Από ενεργειακής απόδοσης συντριπτικά μεγαλύτερη απόδοση έχει η αναπνοή. Συγκεκριμένα ισχύει:

i.«Αερόβια Αναπνοή»: 36-38 μόρια ATP

ii.«Αναερόβια Αναπνοή»: 2-36 μόρια ATP

iii.«Αναερόβια Αναπνοή»: 2 μόρια ATP

- 2] **Πρωτεΐνες:** Μόνο τα αμινοξέα, οι δομικές μονάδες, των πρωτεϊνών, μπορούν να περάσουν την κυτταρική μεμβράνη. Ακολουθεί απαμίνωση, δηλαδή απομάκρυνση της αμινικής ομάδας, ενώ το υπόλοιπο κομμάτι εισέρχεται στον μεταβολικό «κύκλου του Krebs», για την παραγωγή ενέργειας.
- 3] **Λιπίδια:** Τα λιπίδια διασπώνται μέσω των λιπασών (ένζυμα) σε γλυκερόλη και ελεύθερα λιπαρά οξέα. Η γλυκερόλη, μετά από ορισμένες χημικές τροποποιήσεις, οξειδώνεται προς πυρουβικό οξύ του οποίου η τύχη εξαρτάται από τις συνθήκες. Τα λιπαρά οξέα, ενζυμικά «τεμαχίζονται» (β-οξείδωση) και «κομμάτι-κομμάτι» μεταφέρονται και εισάγονται στον «κύκλου του Krebs», όπου και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενέργειας.
- Εάν ένα κύτταρο έχει διαθέσιμες δύο πηγές ενέργειας, τότε καταβολίζει πρώτα το υπόστρωμα που έχει την μεγαλύτερη ενεργειακή απόδοση. Εάν στο περιβάλλον υπάρχουν λιπίδια και υδατάνθρακες το κύτταρο θα «προτιμήσει» να διασπάσει τους υδατάνθρακες. Εάν στο περιβάλλον υπάρχει δισακχαρίτης (λακτόζη) και μονοσακχαρίτης (γλυκόζη) το κύτταρο θα μεταβολίσει πρώτα τον μονοσακχαρίτη. Η αιτία είναι ότι ο μονοσακχαρίτης θα αξιοποιηθεί αμέσως, ενώ για την οξείδωση του δισακχαρίτη θα χρειαστεί να καταναλωθεί ενέργεια για να διασπασθεί σε δύο μονοσακχαρίτες.
 - Στο παραπάνω οφείλεται και το φαινόμενο της **Διαύξης** (Diauxic) όπου η καμπύλη ανάπτυξης του μικροοργανισμού παρουσιάζει διπλή λογαριθμική φάση. Μετά την πρώτη όπου ο μικροοργανισμός έχει καταναλώσει τον μονοσακχαρίτη ακολουθεί δεύτερη λογαριθμική φάση όπου πλέον ο μικροοργανισμός καταναλώνει τον δισακχαρίτη.
 - Το κύτταρο αποτελείται κατά 90-95% από **νερό**, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό είναι η δομική του ύλη, η ξηρή μάζα η οποία αποτελείται από τα ακόλουθα στοιχεία (σε ποσοστά επί ξηρού βάρους):

- **Άνθρακας (50%):** Από τα βασικότερα δομικά συστατικά του κυττάρου. Είναι ο δομικός λίθος όλων των οργανικών ουσιών.
 - **Οξυγόνο (20%):** Συμμετέχει σε πλήθος ανόργανων και οργανικών ενώσεων. Τελικός αποδέκτης των ηλεκτρονίων των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων στην «αερόβια αναπνοή».
 - **Άζωτο (14%):** Η βασική δομική ύλη των αμινοξέων (πρωτεΐνες-ένζυμα) και των νουκλεοτιδίων (DNA).
 - **Υδρογόνο (8%):** Συμμετέχει σε πλήθος ανόργανων και οργανικών ενώσεων.
 - **Φωσφορος (3%):** Συμμετέχει στα νουκλεϊκά οξέα, στα φωσφολιπίδια των μεμβρανών, σε συνένζυμα καθώς και στο ATP.
 - **Νάτριο (1%):** Διατήρηση της ηλεκτρικής ισορροπίας (ιοντικής) του κυττάρου.
 - **Θείο (1%):** Συμμετοχή στα θειούχα αμινοξέα, παρουσία στους δισουλφιδικούς δεσμούς στις πρωτεΐνες
 - **Κάλιο (%):** Διατήρηση της ηλεκτρικής ισορροπίας (ιοντικής) του κυττάρου. Συμπαράγοντας κάποιον ενζύμων.
 - **Χλώριο (0.5%):** Διατήρηση της ηλεκτρικής ισορροπίας (ιοντικής) του κυττάρου.
 - **Μαγνήσιο (0.5%):** Καίριο συστατικό της χλωροφύλλης, στα φωτοσυνθετικά κύτταρα. Συμπαράγοντας κάποιων ενζύμων.
- **Ασβέστιο (0.25%):** Συμμετοχή στην δομή του τοιχώματος των ενδοσπορίων. Συμπαράγοντας κάποιων ενζύμων.
 - Όπως έχει αναφερθεί η διαπερατότητα της κυτταρικής είναι ελεγχόμενη και πολύ περιορισμένη με αποτέλεσμα μόνο πολύ μικρά μόρια να είναι δυνατόν να εισέλθουν στο εσωτερικό του βακτηρίου και να αξιοποιηθούν. Υπάρχουν δύο δυνατότητες για τους μικροοργανισμούς: είτε να χρησιμοποιούν μόνο τα πολύ μικρά μόρια ή να διασπούν τις μεγαλομοριακές ενώσεις σε μικρότερες ενώσεις. Στην πραγματικότητα οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν και τους δύο μηχανισμούς ανάλογα με το είδος τους. Η διάσπαση των εξωκυτταρικών μεγαλομοριακών ενώσεων (πρωτεϊνών, πολυσακχαριτών, λιπιδίων) πραγματοποιείται από την δράση εξειδικευμένων ενζύμων που συνήθως είναι εξωκυτταρικά. Τα ένζυμα που διασπούν τις πρωτεΐνες λέγονται πρωτεϊνάσες, τα ένζυμα που διασπούν τους πολυσακχαρίτες καλούνται σακχαρολυτικά, και τα ένζυμα που διασπούν τα λιπίδια καλούνται λιπάσες.
 - Τα ένζυμα ανάλογα με την διάρκεια της δράσης τους διακρίνονται σε:
 - i. **Επαγώγιο (induced):** Είναι τα ένζυμα εκείνα τα οποία δεν συνθέτονται συνεχώς από το κύτταρο αλλά μόνο όταν «ανιχνευθεί» (από το κύτταρο) το αντίστοιχο υπόστρωμα στο περιβάλλον.
 - ii. **Συνεχή:** Είναι τα ένζυμα εκείνα τα οποία συνεχώς συνθέτονται από το κύτταρο.
 - Ένα τυπικό μη-εκλεκτικό συνθετικό υπόστρωμα συνήθως περιέχει:
 1. **Πρωτεΐνες:** Κυρίως παρέχουν το απαραίτητο N₂ που χρειάζεται το κύτταρο. Στα υποστρώματα οι πρωτεΐνες παρέχονται με τη μορφή πρωτεοζών ή πεπτονών δηλαδή διασπασμένων πρωτεϊνών σε μικρότερα και πολύ μικρότερα κομμάτια (μακροπεπτίδια και μικροπεπτίδια, αντίστοιχα). Η διάσπαση γίνεται είτε χημικά είτε ενζυμικά. Ο λόγος της διάσπασης είναι ότι οι

διασπασμένες πρωτεΐνες αποικοδομούνται και αξιοποιούνται ταχύτερα από τα βακτήρια σε σύγκριση με τις ολόκληρες πρωτεΐνες.

2. **Σάκχαρα:** Παρέχουν άμεση ενέργεια για την ανάπτυξη του κυττάρου. Προτιμώνται οι μονοσακχαρίτες και κυρίως η γλυκόζη διότι αξιοποιείται άμεσα χωρίς υψηλό ενεργειακό κόστος.
 3. **Βιταμίνες:** Πέρα από τις πρωτεΐνες, και τους υδατάνθρακες, τα βακτήρια χρειάζονται και βιταμίνες. Δεν παρέχουν ενέργεια στο κύτταρο (δεν έχουν θερμιδική αξία) αλλά είναι απολύτως απαραίτητες διότι οι βιταμίνες συμμετέχουν ως «συμπαράγοντες» (*cofactors*) στις ενζυμικές αντιδράσεις. Χωρίς βιταμίνες, πολλά κύτταρα δεν αναπτύσσονται. Στα υποστρώματα οι βιταμίνες παρέχονται μέσω του «εκχυλίσματος ζύμης» (*yeast extract*).
 4. **Άλατα:** Σχεδόν πάντα υπάρχουν άλατα σ' ένα συνθετικό υπόστρωμα. Η αιτία είναι ότι ορισμένα μέταλλα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη ορισμένων βακτηρίων. Επίσης η παρουσία συνδυασμού αλάτων σ' ένα υπόστρωμα του δίνει «ρυθμιστική ικανότητα» (*buffering capacity*) καθώς και «ωσμωτική πίεση» ώστε να είναι «ισότονο» με το ίδιο το κύτταρο. Ρυθμιστική ικανότητα υποστρώματος σημαίνει ότι το pH του υποστρώματος διατηρείται σταθερό όταν προσθέτονται σε αυτά μικρές ποσότητες οξέων ή βάσεων. Σ' ένα θρεπτικό υπόστρωμα όπου δεν υπάρχει «ρυθμιστική ικανότητα», τα οξέα που παράγονται από τον μεταβολισμό των βακτηρίων, μειώνουν ταχύτητα το pH του υποστρώματος και δεν επιτρέπουν περαιτέρω ανάπτυξη του βακτηρίου. Αντίθετα σ' ένα διάλυμα με υψηλή ρυθμιστική ικανότητα, παρόλο που παράγεται οξύ από τον μεταβολισμό των βακτηρίων, η τιμή του pH δεν μειώνεται, οπότε και δίνεται η δυνατότητα στο βακτήριο να αναπτυχθεί σε υψηλούς αριθμούς.
- Για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών δεν αρκεί μόνο η παροχή ενέργειας και ύλης αλλά και το κατάλληλο περιβάλλον. Σ' ένα αντίξοο περιβάλλον ακόμα και αν παρέχουμε ύλη και ενέργεια δεν είναι δυνατόν να εμφανιστεί ζωή. Υπάρχουν λοιπόν οι ακόλουθοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που έχουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών:
 - A. **Θερμοκρασία (*temperature*):** Η θερμοκρασία του εξωτερικού περιβάλλοντος είναι κρίσιμη, διότι επηρεάζει την δραστηριότητα των ενδοκυτταρικών ενζύμων των κυττάρων καθώς και την λειτουργικότητα των μεμβρανών τους. Τα βακτήρια με βάση τον ρυθμό ανάπτυξής τους και την θερμοκρασία του περιβάλλοντος δίνουν καμπύλη η οποία δεν είναι συμμετρική, αντίθετα χαμηλώνει σχετικά απότομα λίγο μετά την άριστη θερμοκρασία επώασης., δηλαδή η άριστη θερμοκρασία επώασης δεν είναι πολύ μακριά από την μέγιστη θερμοκρασία επώασης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι υψηλές θερμοκρασίες προκαλούν σοβαρές και μη-αντιστρεπτές αλλοιώσεις στο βακτήριο. Αντίθετα οι αντίστοιχες μεταβολές σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι πολύ πιο αργές, λιγότερο σοβαρές και συχνά αντιστρεπτές.
 - i. **Άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης (*optimum*):** Η θερμοκρασία εκείνη στην οποία ο ρυθμός ανάπτυξης του μικροοργανισμού, άρα και των μεταβολικών διεργασιών του, είναι ο μέγιστος.
 - ii. **Ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξης (*minimum*):** Η χαμηλότερη θερμοκρασία στην οποία ο μικροοργανισμός παρουσιάζει μεταβολική δραστηριότητα.
 - iii. **Μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης (*maximum*):** Η μέγιστη θερμοκρασία στην οποία ο μικροοργανισμός παρουσιάζει μεταβολική δραστηριότητα.

Ανάλογα με την **άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης** οι μικροοργανισμοί διακρίνονται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- i. **Ψυχρόφιλα** (*psychrophile*): Είναι οι μικροοργανισμοί που η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξή τους είναι περίπου στους 0°C ή άριστη στην περιοχή των 12°C και η μέγιστη όχι πάνω από τους 20-22°C. Απαντούν στους Πόλους, και σε ιζήματα στους πάγους. Τα ψυχρόφιλα βακτήρια είναι εξοπλισμένα με ειδικά ένζυμα (ψυχροενεργά ένζυμα) που η δομή τους δεν επηρεάζεται από τις χαμηλές θερμοκρασίες.

Επίσης οι κυτταρικές τους μεμβράνες είναι πλούσιες σε ακόρεστα λιπαρά οξέα ώστε το σημείο πήξεώς τους να είναι χαμηλά, ώστε να διατηρείται η ρευστότητα των μεμβρανών ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες.

- ii. **Ψυχρότροφοι** (*psychrotrophic*) ή **ψυχροανεκτικοί** (*psychrotolerant*): Όπως φανερώνει και η λέξη είναι μικροοργανισμοί που απλά «ανέχονται» τις χαμηλές θερμοκρασίες, έστω και αργά αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες γύρω από τους 0°C, αλλά η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι μεταξύ 20-40°C.
- iii. **Μεσόφιλοι** (*mesophilic*): Οι μικροοργανισμοί που έχουν άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης στην περιοχή μεταξύ 30-40°C.
- iv. **Θερμόφιλοι** (*thermophilic*): Οι μικροοργανισμοί που έχουν άριστη θερμοκρασία πάνω από τους 45°C.
- v. **Υπερθερμόφιλοι** (*hyperthermophiles*): Είναι εκείνοι οι μικροοργανισμοί που έχουν άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης πάνω από τους 85°C ενώ μπορούν να επιβιώνουν μέχρι και λίγο πάνω από τους 110°C. Η δυνατότητα των βακτηρίων να επιβιώνουν σε τόσο υψηλές θερμοκρασίες οφείλεται στα εξαιρετικά θερμοάντοχα ένζυμα που είναι εξοπλισμένοι και στις μεμβράνες τους που είναι πλούσιες με κορεσμένα λιπαρά οξέα. Επίσης οι περισσότεροι υπερθερμόφιλοι ανήκουν στα Αρχαία (στους πιο αρχαίους έμβιους «κατοίκους» της Γης) οι οποίοι δεν περιέχουν καθόλου λιπαρά οξέα στις μεμβράνες τους αλλά υδρογονάνθρακες..

B. Συγκέντρωση υδρογονοκατιόντων (pH): Κάθε μικροοργανισμός, ανάλογα με το είδος του, μπορεί να αναπτυχθεί σ' ένα εύρος τιμών pH που κυμαίνεται 2-3 μονάδες από την άριστη τιμή του. Με βάση την άριστη τιμή pH στην οποία οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε τρεις, άτυπες, ομάδες: Με βάση την ανθεκτικότητά τους έναντι της τιμής του pH οι μικροοργανισμοί διακρίνονται σε:

- i. **Οξεόφιλοι** (*acidiphils*): Μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται καλύτερα σε χαμηλές τιμές pH. Χαρακτηριστικά οξεόφιλοι οργανισμοί είναι οι μύκητες. Η ιδανική τιμή pH για τους μύκητες είναι στην περιοχή 5.0 αλλά χωρίς δυσκολία αναπτύσσεται και χαμηλότερα (3.5-4.0). Υπάρχουν, βέβαια, και ορισμένα υποχρεωτικά οξεόφιλα βακτήρια όπως το *Picrophilus oshimae* που έχει άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 60°C και αναπτύσσεται άνετα σε τιμή pH 0.7. Βέβαια απαντάται σε ηφαιστιογενή εδάφη.
- ii. **Ουδετερόφιλοι** (*neutrophils*): Η άριστη τιμή του pH για τους μικροοργανισμούς αυτούς είναι γύρω από το 6.0-7.0. Τα περισσότερα βακτήρια που υπάρχουν στο περιβάλλον των τροφίμων ανήκουν στην ομάδα αυτή. Ειδικά τα παθογόνα βακτήρια δεν αναπτύσσονται σε τιμές pH μικρότερες από 4.6 αν και, ορισμένα, επιβιώνουν για κάποιο χρονικό διάστημα.
- iii. **Αλκαλεόφιλοι** (*alcaliphile*): Ονομάζονται ορισμένες φορές και αλόφιλα. Αναπτύσσονται καλύτερα σε τιμές pH 9-10. Τα λιπολυτικά και πρωτεολυτικά

ένζυμα κάποιων από αυτών έχουν βρει ευρείες βιομηχανικές εφαρμογές, όπως στην παραγωγή απορρυπαντικών, διότι εξακολουθούν να είναι δραστικά ακόμα και στο αλκαλικό περιβάλλον που δημιουργούν τα ίδια τα απορρυπαντικά.

▪ **Μεταβολές του pH:** Μεταβολές του pH είτε ενδοκυτταρικά είτε εξωκυτταρικά μπορεί να αναστείλει την ζωτικότητα των μικροοργανισμών είτε να τους θανατώσει με έναν από τους δύο τρόπους:

i. **Εξωκυτταρική διαταραχή της τιμής του pH:** Πραγματοποιείται με την εφαρμογή ανόργανων οξέων όπως το υδροχλωρικό οξύ που υπάρχει στο στομάχι μας. Τα ανόργανα οξέα, επειδή διίστανται πλήρως, και έχουν φορτίο δεν μπορούν να διαπεράσουν την κυτταροπλασματική μεμβράνη, ωστόσο προκαλούν ανεπανόρθωτες βλάβες στα ένζυμα και πρωτεΐνες που υπάρχουν εκεί.

ii. **Ενδοκυτταρική διαταραχή της τιμής του pH:** Πραγματοποιείται με την εφαρμογή οργανικών οξέων τα οποία είναι ασθενή, δηλαδή δεν διίστανται πλήρως. Η αδιάστατη μορφή των οργανικών οξέων εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα και προκαλούν διαταραχή στο «ηλεκτροχημικό δυναμικό» της μεμβράνης. Όπως έχει αναφερθεί μεταξύ του ενδοκυτταρικού και εξωκυτταρικού χώρου της μεμβράνης υπάρχει «διαφορά συγκεντρώσεων» φορτισμένων ενώσεων, με τα αρνητικά φορτία να κυριαρχούν στο εσωτερικό, δημιουργώντας «ηλεκτροχημική διαφορά δυναμικού» στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης, το οποίο δυναμικό είναι απαραίτητο για την λειτουργία της. Οποιαδήποτε διαταραχή του δυναμικού αυτού δημιουργεί προβλήματα στις λειτουργίες της μεμβράνης του βακτηρίου με αποτέλεσμα την μείωση της ενέργειας που παράγει. Επίσης, στο pH στο εσωτερικό του κύτταρου είναι στην περιοχή του 7.0 επιτρέποντας έτσι την λειτουργία των ενζύμων. Και πάλι οποιαδήποτε μεταβολή της τιμής του pH αναστέλλει τις λειτουργίες των ενζύμων. Τα βακτήρια, αλλά και όλοι οι μικροοργανισμοί έχουν αναδραστικούς/ομοιοστατικούς μηχανισμούς που όταν η ιοντική ισορροπία διαταράσσεται αναλαμβάνουν να την ανατρέψουν. Έτσι όταν το κύτταρο βρεθεί σε περιβάλλον με χαμηλό pH, μόρια του οργανικού οξέως (στην μη-δισταμένη μορφή τους) έχουν την τάση να εισέλθουν στο κυτταρόπλασμα. Αρχικά η μεμβράνη αρχικά αποτρέπει την είσοδό τους, αλλά αυτό δεν είναι δυνατόν να γίνεται συνεχώς. Όταν, πλέον, τα μόρια του οξέως αρχίζουν να εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα σε μεγάλους αριθμούς και να διίστανται, το κυτταρόπλασμα «πλημμυρίζει» από H^+ και προσπαθεί να αποκαταστήσει την ισορροπία, αποβάλλοντας όσο περισσότερα από αυτά μπορεί προς το περιβάλλον. Όμως αυτό είναι εξαιρετικά ενεργοβόρο και η ενέργεια που ξοδεύει το κύτταρο για να «αντλεί» H^+ από το εσωτερικό προς το εξωτερικό, την στερεί από άλλες βασικές λειτουργίες του. Αρχικά, λοιπόν, το κύτταρο, παύει να αναπτύσσεται, επιβιώνει μεν, αλλά δεν θανατώνεται. Ωστόσο η διαδικασία αποβολής H^+ , δεν μπορεί να συνεχίζεται επί μακρόν. Κάποια στιγμή, καταρρέει ο μηχανισμός απομάκρυνσης H^+ , το κύτταρο «πλημμυρίζει» από H^+ , το pH μειώνεται δραματικά και το κύτταρο πεθαίνει.

▪ **Οργανικά οξέα, μεταβολή του pH και αντιμικροβιακή δράση:** Δεν έχουν όλα τα οργανικά οξέα την ίδια αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Γενικά την ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση έχουν τα ασθενέστερα (μεγαλύτερη pK) δηλαδή εκείνα που διίστανται λιγότερο. Η αιτία βρίσκεται στο ότι τα οξέα στην μη-δισταμένη μορφή τους δεν έχουν φορτίο, οπότε μπορούν να εισέλθουν ευκολότερα από την μεμβράνη του κύτταρου. Αντίθετα όταν έχουν διασταθεί, έχουν φορτίο, και δεν εισέρχονται. Έτσι τα ανόργανα οξέα που διίστανται πλήρως, δεν μπορούν να διαπεράσουν την πλασματική μεμβράνη. Συνεπώς η αντιμικροβιακή δράση του οξέως εξαρτάται από την σταθερά διάστασης του οξέως η οποία βέβαια, με την σειρά της, εξαρτάται από: το pH του περιβάλλοντος, και την θερμοκρασία. π.χ. τα οξέα οξικό (ξύδι), γαλακτικό και

κιτρικό σε pH 4.0 έχουν pK 4.8, 3.8, και 3.1, αντίστοιχα. Τα ποσοστά διαστάσεως είναι 15.5, 60.8 και 81.1. Την ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση, υπό τις συνθήκες που περιγράφονται, έχει το οξικό οξύ.

Γ. Δυναμικό οξειδοαναγωγής (*redox potential - Eh*): Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι περισσότερες βιοχημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στο κύτταρο είναι αντιδράσεις «οξειδοαναγωγής», δηλαδή αντιδράσεις όπου ηλεκτρόνια φεύγουν από μία ένωση που οξειδώνεται και πηγαίνουν σε μία ένωση που ανάγεται. Μεταξύ της αναγόμενης ουσίας και της οξειδωτικής σχηματίζεται διαφορά δυναμικού η οποία καλείται «Δυναμικό Οξειδοαναγωγής» (*redox potential-E_h*). Η τάση (ευκολία) με την οποία ηλεκτρόνια φεύγουν από μια ένωση και πηγαίνουν σε μία άλλη, εκφράζεται σε mV (millivolts). Όσο ευκολότερα οξειδώνεται μια ουσία η τιμή του E_h είναι θετική. Όταν η συγκέντρωση οξειδωτικού και αναγωγικού είναι ίσες τότε η τιμή του E_h =0.

Τα βακτήρια, ανάλογα με το βιοχημικό τους εξοπλισμό, απαιτούν για να αναπτυχθούν, διαφορετικές **οξειδοαναγωγικές συνθήκες**, και διακρίνονται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- i. **Αυστηρά αναερόβια (*strictly anaerobic*):** απαιτούν περιβάλλον με αρνητικές τιμές οξειδοαναγωγής (E_h -200 mV), δηλαδή απαιτούν «αναγωγικό περιβάλλον». (αναερόβια αναπνοή, ζύμωση).
 - ii. **Αυστηρά ή υποχρεωτικά αερόβια (*strictly aerobic*):** απαιτούν περιβάλλον με θετικές τιμές οξειδοαναγωγής (E_h +400 mV), δηλαδή απαιτούν «οξειδωτικό περιβάλλον». Απαιτούν οξυγόνο για την ανάπτυξή τους. Παρουσιάζουν αερόβια αναπνοή.
 - iii. **Προαιρετικά αναερόβια (*facultative anaerobic*):** έχουν την δυνατότητα να αναπτυχθούν τόσο σε οξειδωτικό (αερόβιο) περιβάλλον όσο και σε αναγωγικό περιβάλλον (αναερόβιο). Ωστόσο σε αερόβιο περιβάλλον αναπτύσσονται καλύτερα. Παρουσιάζουν αερόβια και αναερόβια αναπνοή ή ζυμώνουν.
 - iv. **Μικροαερόφιλα (*microaerophiles*):** Αναπτύσσονται καλύτερα σε περιβάλλον με σε ελαφρά αναγωγικές συνθήκες δηλαδή σε περιβάλλον με πολύ χαμηλή συγκέντρωση σε οξυγόνο. Παρουσιάζουν αερόβια αναπνοή.
- Τα πρώτα βακτήρια που αναπτύχθηκαν ήταν τα αναερόβια διότι κατά τα πρώτα στάδια δημιουργίας της ζωής δεν υπήρχε οξυγόνο στην ατμόσφαιρα. Μετά την δημιουργία του μορίου της χλωροφύλλης και την εισαγωγή του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα, κάποια βακτήρια ανέπτυξαν μηχανισμούς αξιοποίησης του και επιβίωσαν. Αντίθετα τα αυστηρά αναερόβια βακτήρια δεν μπόρεσαν να προσαρμοστούν και, συνεπώς παρουσία οξυγόνου δεν μπορούν να αναπτυχθούν.
 - Στο εσωτερικό των «κονσερβοποιημένων» προϊόντων το δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι αρνητικό.
 - Επίσης τα αερόβια βακτήρια κατά την ανάπτυξή τους μειώνουν το δυναμικό οξειδοαναγωγής του τροφίμου.
 - Στα εσωτερικό των τροφίμων που έχουν δεχθεί θερμική επεξεργασία (π.χ. βρασμός) επικρατεί αρνητικό δυναμικό οξειδοαναγωγής. Αυτός είναι και ο λόγος που π.χ. κατά την οικιακή παραγωγή συμπυκνωμένου χυμού ντομάτας οι νοικοκυρές βράζουν, χωρίς πώμα, για λίγη ώρα τις φιάλες πριν τα κλείσουν και τα σφραγίσουν με κερί. Κατά τον βρασμό, ουσιαστικά απαερώνουν το χυμό, και αποκλείουν την ανάπτυξη των αερόβιων ζυμών και μυκήτων στο περιεχόμενο της φιάλης.

- Είναι ενδιαφέρον, ίσως, να σημειωθεί ότι για τα αναερόβια βακτήρια δεν είναι τοξικό το ίδιο το μοριακό οξυγόνο της ατμόσφαιρας (O_2) αλλά τα προϊόντα μεταβολισμού του, που είναι: ενεργοποιημένο μοριακό οξυγόνο (1O_2), υπεροξειδική ρίζα οξυγόνου (O_2^-), περοξειδικό ανιόν οξυγόνου (O_2^{2-}), ελεύθερες υδροξυλικές ρίζες (OH).

Τα **αερόβια βακτήρια** έχουν αναπτύξει κατάλληλα ένζυμα και ουσίες που αδρανοποιούν τα τοξικά παραπροϊόντα του μεταβολισμού του οξυγόνου, όπως:

- Καροτενοειδή (carotenoids):** αδρανοποιούν το ενεργοποιημένο μοριακό οξυγόνο (1O_2).
- Υπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase):** αδρανοποιούν την υπεροξειδική ρίζα οξυγόνου (O_2^-), το περοξειδικό ανιόν, (1O_2).
- Καταλάση (catalase):** αδρανοποιούν το περοξειδικό ανιόν οξυγόνου (O_2^{2-}).
- περοξειδάση (peroxidase):** αδρανοποιούν το περοξειδικό ανιόν οξυγόνου (O_2^{2-}) και τις ελεύθερες υδροξυλικές ρίζες (OH).

Δ. Ενεργότητα νερού (water activity - a_w): Το νερό είναι, ίσως, το βασικότερο συστατικό της ζωής. Από πρακτικής απόψεως η ενεργότητα νερού (a_w) εκφράζει το ποσοστό του νερού που είναι διαθέσιμο για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Η ενεργότητα του καθαρού νερού είναι 1.0. Όσο πιο χαμηλή είναι η τιμή a_w τόσο λιγότερο είναι το διαθέσιμο νερό για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Τα περισσότερα αλλοιογόνα και παθογόνα βακτήρια μπορούν να αναπτυχθούν σε τιμές a_w μέχρι 0.90. Οι ζύμες μέχρι 0.88 και οι μύκητες μέχρι 0.80.

Τα Gram αρνητικά βακτήρια, γενικά, απαιτούν μεγαλύτερες τιμές a_w σε σύγκριση με τα Gram θετικά. Πιστεύεται ότι τα Gram θετικά βακτήρια είναι περισσότερο ανθεκτικά στις χαμηλές τιμές ενεργότητας νερού διότι έχουν ισχυρό κυτταρικό τοίχωμα που προστατεύει το κυτταρόπλασμα από το ισχυρό σοκ της χαμηλής ενεργότητας νερού.

Η χαμηλή διαθεσιμότητα νερού, δηλαδή η χαμηλή ενεργότητα νερού a_w , παρεμποδίζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών για τους εξής λόγους: (α) δεν υπάρχει αρκετό νερό για να διαλυθούν τα θρεπτικά συστατικά που υπάρχουν στο περιβάλλον, για να είναι διαθέσιμα μετά στο βακτήριο και (β) διότι προκαλεί ωσμωτικό σοκ στους μικροοργανισμούς, δηλαδή νερό αρχίζει να διαχέεται από το κύτταρο προς το περιβάλλον, το οποίο τελικά αφυδατώνεται. Ας σημειωθεί ότι η αφυδάτωση δεν οδηγεί πάντα σε θάνατο των μικροοργανισμών αλλά σε αναστολή του μεταβολισμού του.

Η ενεργότητα νερού συνδέεται αντιστρόφως ανάλογα με την ωσμωτική πίεση, δηλαδή όσο χαμηλότερη είναι η ενεργότητα νερού τόσο μεγαλύτερη είναι η ωσμωτική πίεση.

Η **ενεργότητα νερού (a_w)** ενός διαλύματος μπορεί να **μειωθεί** με δύο τρόπους:

- με την **προσθήκη διαλυτών ουσιών** είτε ανόργανων όπως π.χ. αλάτι είτε οργανικών όπως π.χ. ζάχαρη. Η μείωση της ενεργότητας νερού που μπορεί να επιτευχθεί για την ίδια συγκέντρωση ουσίας, εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, όπως: το είδος της ουσίας, την χημική της σύσταση, το μοριακό μέγεθός της, την διαλυτότητά της, κ.α. Γενικά όμως ισχυρότερη μείωση της ενεργότητας νερού προκαλούν τα ανόργανα άλατα (π.χ. αλάτι) παρά οι οργανικές μεγάλες μοριακού βάρους (π.χ. ζάχαρη).

- ii. με την **απομάκρυνση νερού** (αφυδάτωση), ή την μείωση της διαθεσιμότητας του νερού (π.χ. συμπύκνωση, κατάψυξη). Η ενεργότητα νερού του πάγου εξαρτάται από την θερμοκρασία τους και στους -40°C είναι, $a_w = 0.68$.

Ενδεικτικά αναφέρονται:

$a_w = 1.0$ / Νερό,

$a_w = 1.0 - 0.95$ / Νωπά φρούτα, λαχανικά, ψάρια, γάλα, κρέας, ζαμπόν, κ.α.

$a_w = 0.95 - 0.91$ / Παστό κρέας, ορισμένοι συμπυκνωμένοι χυμοί φρούτων, κ.α.

$a_w = 0.91 - 0.80$ / Σαλάμια, κέικ, ζαχαρούχο γάλα, αλεύρι, σιρόπι σοκολάτας, κ.α.

Με βάση την **δυνατότητα των οργανισμών να αναπτύσσονται** σε διαφορετικές τιμές ενεργότητας νερού αυτοί διακρίνονται σε:

- i. **Αλοανεκτικά** (*halotolerant*): Αναπτύσσονται σε μετρίως υψηλές συγκεντρώσεις NaCl (6% NaCl, $a_w = 0.95$).
- ii. **Αλόφιλα** (*halophilic*): Αναπτύσσονται σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις NaCl, έως 15% που αντιστοιχεί σε $a_w = 0.91$
- iii. **Ακραία αλόφιλα** (*extreme halophilic*): Αναπτύσσονται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις NaCl, έως 30% που αντιστοιχεί σε $a_w = 0.75$).

Εκτός από τις παραπάνω τρεις κατηγορίες βακτηρίων, οποίες ορίζονται με βάση την επίδραση του NaCl επί του a_w , υπάρχουν ακόμα δύο ομάδες οι οποίες, κυρίως αφορούν ζύμες και μύκητες:

- i. **Ωμοφίλοι ζύμες-μύκητες** (*osmophilic yeasts-molds*): Έχουν την δυνατότητα να αναπτύσσονται σε περιβάλλον με υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα μέχρι $a_w = 0.66$ (π.χ. αποξηραμένα φρούτα, καραμέλες, μέλι).
- ii. **Ξηρόφιλοι μύκητες** (*xerophilic molds*): Αναπτύσσονται σε τρόφιμα αφυδατωμένα (π.χ. ζαχαρωτά, ζελέδες, ξηροί καρποί).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί υπάρχουν μικροοργανισμοί που είναι ανθεκτικοί σε χαμηλές τιμές ενεργότητας νερού. Αυτό οφείλεται σε ομοιοστατικούς μηχανισμούς που διαθέτουν οι ίδιοι οι μικροοργανισμοί, οι οποίοι αυξάνουν την ωσμωτική πίεση του κυτταροπλάσματος τους αντισταθμίζοντας την αυξημένη εξωτερική ωσμωτική πίεση. Οι ζύμες και οι μύκητες συνθέτουν πολυόλες, γλυκερόλη, αραβιτόλη, μανιτόλη, ενώ τα βακτήρια συνθέτουν αμινοξέα (προλίνη) ή παράγωγα αμινοξέων. Άλλοι πάλι αντλούν άλατα από το περιβάλλον προς το κυτταρόπλασμα.

- **Το άριστο της ανάπτυξης** ενός μικροοργανισμού, δηλαδή όταν εμφανίζει το άριστο του μεταβολικού ρυθμού και την ταχύτερη ανάπτυξή του, επιτυγχάνεται όταν όλοι οι περιβαλλοντικοί παράμετροι (θερμοκρασία, ενεργότητα νερού, θρεπτικά συστατικά, pH, και δυναμικό οξειδοαναγωγής) είναι στις αντίστοιχες, άριστες τιμές τους. Αυτή βέβαια είναι η ιδανική κατάσταση και όταν επιτυγχάνεται δεν είναι διαρκής. Υπάρχουν δε τα ακόλουθα ενδεχόμενα:
 - i. **Μία από τις κρίσιμες παραμέτρους είναι σε πολύ ακραία τιμή:** Στην περίπτωση αυτή, ακόμα και όταν οι υπόλοιπες παράμετροι είναι άριστη, ο μικροοργανισμός δεν μπορεί να επιβιώσει. (π.χ. κατά το μαγείρεμα δεν επιβιώνουν τα κύτταρα των βακτηρίων ακόμα και αν όλοι οι άλλοι παράμετροι είναι ιδανικοί).

- ii. **Μία από τις κρίσιμες παραμέτρους είναι σε σχετικά ακραία τιμή:** Ο μικροοργανισμός αντιμετωπίζει μεν δυσκολίες στην ανάπτυξή του, και είτε αναπτύσσεται πολύ αργά είτε απλά επιβιώνει. Επίσης είναι περισσότερο ευάλωτος σε άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Έστω π.χ. ότι το pH του περιβάλλοντος δεν είναι ουδέτερο αλλά σχετικά όξινο, 4.5-5.0. Στην περίπτωση αυτή το κύτταρο είναι περισσότερο ευαίσθητο σε θερμική επεξεργασία, σε σύγκριση με το ίδιο κύτταρο σε ουδέτερο περιβάλλον pH. Γενικά ισχύει ότι ένας μικροοργανισμός μπορεί να αντέξει πιο ακραίες περιβαλλοντικές τιμές (π.χ. pH) εάν οι υπόλοιπες είναι στο άριστο (θερμοκρασία, θρεπτικά συστατικά, κ.α.).
- iii. **Περισσότερες από μια παράμετροι είναι σχετικά ακραία τιμή:** Όσο περισσότεροι παράμετροι ανάπτυξης είναι μακριά από την ιδανική περιοχή τόσο πιο δύσκολη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Συνεπώς στην περίπτωση όπου όλοι οι παράμετροι είναι μακριά από την ιδανική τιμή τους (χωρίς, όμως, κανένας να είναι σε ακραία θανατηφόρα, τιμή) ο μικροοργανισμός δεν μπορεί να αναπτυχθεί ή να επιβιώσει. Παράδειγμα: αλατισμένες αλιές (χαμηλό a_w), με pH γύρω το 4.6, και ήπια θερμική επεξεργασία είναι δυνατόν να διατηρηθούν επί ένα έτος και πάνω εκτός ψυγείου. Τα πολλαπλά εμπόδια ήπιας έντασης είναι το ίδιο ισχυρά με ένα ένα εμπόδιο μεγάλης έντασης. Το φαινόμενο αυτό περιγράφεται ως «**φαινόμενο πολλαπλών εμποδίων**» (*hurdle effect*) και η εξήγησή του βρίσκεται στο γεγονός ότι ένας οργανισμός μπορεί
- **«Προσαρμοσμένα κύτταρα (*stress-adapted cells*):** Όπως έχει συχνά αναφερθεί, οι μικροοργανισμοί, ως έμβια συστήματα, έχουν αναδραστικούς (προσαρμοστικούς) μηχανισμούς οι οποίοι μεταβάλλοντας τους βιοχημικούς μηχανισμούς τους, προσπαθούν να κρατήσουν τον μικροοργανισμό στην ζωή όταν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες δεν είναι ιδανικοί. Γενικά έχει αποδειχθεί ότι οι μικροοργανισμοί φέρουν στο DNA τους ειδικά γονίδια τα οποία όταν ο μικροοργανισμός βρεθεί υπό αντίξοες συνθήκες, ενεργοποιούνται («εκφράζονται») και βοηθούν ώστε το κύτταρο να επιβιώσει. Παραδείγματα: σε συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών, τα λιπαρά οξέα της μεμβράνης του βακτηρίου *L. monocytogenes* αποκτούν περισσότερους διπλούς δεσμούς (περισσότερο ακόρεστα) ώστε να διατηρηθεί η κατάλληλη ρευστότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Τα είδη αυτά ορισμένες φορές λέγονται και «περιβαλλοντικά είδη» για να διαφοροποιηθούν από τους μικροοργανισμούς του εργαστηρίου, που δεν αντιμετωπίζουν, βέβαια, το συνεχώς μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Συχνά δε, έχει δείχθει, ότι «προσαρμοσμένα» στελέχη μπορεί να επιβιώσουν ήπιων επεξεργασιών και να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών.
 - Όπως όλα τα ενεργά βιολογικά συστήματα έτσι και οι μικροοργανισμοί παράγουν ή αποβάλλουν **διάφορες βιομόρια** τα οποία μπορεί να είναι:
 - i. **Χρωστικές:** Παραμένουν στο εσωτερικό των μικροοργανισμών ή διαχέονται στο περιβάλλον. Δίνουν χρώμα στις αποικίες. Ανήκουν στην ομάδα των καροτενοειδών.
 - ii. **Πολυσακχαρίτες:** Αυξάνουν το ιξώδες του υποστρώματος, και ορισμένες φορές εμφανίζουν γλοιώδη υφή στο τρυβλίο. Σε ορισμένες περιπτώσεις σε τρόφιμα μπορεί να είναι επιθυμητή η παρουσία τους. Από χημικής απόψεως ανήκουν στην ομάδα των δεξτρανών.
 - iii. **Τοξίνες (*toxins*):** Γενικά ως τοξίνες θεωρούνται όλες οι χημικές ή βιολογικές ενώσεις οι οποίες είναι δυνατόν να προκαλέσουν παθολογικές καταστάσεις στον άνθρωπο. Μπορεί να είναι είτε πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες ή μικτής φύσης. Διακρίνονται σε **δύο ομάδες:**
 - **Ενδοτοξίνες (*endotoxins*):** Διαλυτές πρωτεΐνες που εκκρίνονται στον εξωκυτταρικό χώρο. Γενικά είναι θερμικώς σταθερές και η παρουσία

τους στον ανθρώπινο οργανισμό είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση πυρετού (ενεργοποίηση του υποθαλάμου στον εγκέφαλο).

- **Εξωτοξίνες (exotoxins):** Λιπο-πολυσακχαρίτες της εξωτερικής μεμβράνης των Gram αρνητικών βακτηρίων. Γενικά θεωρούνται θερμικά ευαίσθητες και απλός βρασμός των τροφίμων ή μαγείρεμα γενικότερα, είναι ικανό να τις αδρανοποιήσει. Δυστυχώς, όμως, υπάρχουν και θερμικά ανθεκτικές εξωτοξίνες. Με βάση δε το μηχανισμό δράσης τους διακρίνονται σε:
 - ✓ **Νευροτοξίνες (neurotoxins):** εξαιρετικά τοξικές διότι παρεμποδίζουν την λειτουργία του νευρικού συστήματος (π.χ. τοξίνη του «βοτουλισμού» και του τετάνου»).
 - ✓ **Κυτοτοξίνες (cytotoxins):** εισβάλλουν σε κύτταρα και τους προκαλούν βλάβες.
 - ✓ **Εντεροτοξίνες (enterotoxins):** προκαλούν βλάβες ειδικά στα επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα.

- iv. **Ένζυμα (enzymes):** Μπορεί να δραστηριοποιούνται είτε αποκλειστικά στο εσωτερικό του κυττάρου είτε στο εξωτερικό του κυττάρου. Ανάλογα δε με τον **λειτουργικό τους ρόλο** διακρίνονται σε ένζυμα:
 - Αναγωγής: προσθήκη H⁺ ή e⁻
 - Οξειδωσης αφαίρεση H⁺ ή e⁻
 - Αφυδρογόνωσης αφαίρεση H₂O
 - Υδρόλυσης προσθήκη H₂O
 - Απαμίνωσης απομάκρυνση -NH₂
 - Αποκαρβοξυλίωσης απομάκρυνση -COO⁻
 - Φωσφορυλίωσης προσθήκη -PO₃
 - Μεταφοράς μεταφορά χημικών ομάδων
 - Ισομερείωσης μετατροπή της ισομέρειας

- v. **Παραγωγή αερίων (gas):** Μπορεί να είναι δύσσομα ή άοσμα. Μπορεί, ανάλογα με το τρόφιμο, να είναι επιθυμητά ή μη.
 - Διοξείδιο του άνθρακα (CO₂)
 - Υδρογόνο (H₂)
 - Μεθάνιο (CH₄)
 - Άζωτο (N₂)
 - Υδρόθειο (H₂S)

- vi. **Παραγωγή Πτητικών ενώσεων (Microbial volatile organic compounds (MVOCs):** Αρκετά από τα μεταβολικά προϊόντα των μικροοργανισμών είναι πτητικές ενώσεις με ευχάριστο ή μη άρωμα. Σε εργαστηριακά πειράματα έχουν απομονωθεί περισσότερα από 200. Ορισμένες από αυτές έχουν ευχάριστο, μέχρι ενός ορίου, άρωμα. Μεταξύ αυτών είναι: διακετύλιο, ακετοΐνη, 2,3- βουτανοδιόλη, ινδόλη, κ.α.

- vii. **Αμμωνία:** Παράγεται από την απαμίνωση των αμινοξέων. Μετατρέπεται σε NH₄OH και δημιουργεί αλκαλικό περιβάλλον ανεβάζοντας το pH του υποστρώματος.

- viii. **Αλκοόλες - κετόνες:** Είναι προϊόντα ζυμώσεων. Συνήθως σε μικρές δόσεις η παρουσία τους είναι επιθυμητή στα τρόφιμα διότι τους προσδίδουν ιδιαίτερο

χαρακτήρα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα: αιθανόλη στα αλκοολούχα ποτά, ακετόνη και ισο-προπανόλη σε ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα.

ix. Οργανικά οξέα: Μπορεί να είναι δύσοσμα, άοσμα ή αρωματικά. Μπορεί, ανάλογα με το είδος του τροφίμου, να είναι επιθυμητά ή μη.

- Γαλακτικό οξύ (*lactic acid*)
- Οξικό οξύ (*acetic acid*)
- Προπιονικό οξύ (*propionic acid*):
- Βουτυρικό οξύ (*butiric acid*).

▪ Όλοι οι «μεταβολίτες» των μικροοργανισμών διακρίνονται σε «πρωτογενείς» και «δευτερογενείς» ανάλογα με την φάση ανάπτυξης του μικροοργανισμού κατά την οποία παράγονται.

i. **Πρωτογενείς μεταβολίτες (*primary metabolites*):** Παράγονται κατά την αυξητική φάση του μικροοργανισμού. Χαρακτηριστικό πρωτογενούς μεταβολίτη είναι η αλκοόλη που παράγεται κατά την ομώνυμη ζύμωση. Έχουν ζωτική σημασία για την ανάπτυξη τους.

ii. **Δευτερογενείς μεταβολίτες (*secondary metabolites*):** Παράγονται κατά την στατική ή στάσιμη φάση ανάπτυξης. Δεν έχουν ζωτική σημασία ούτε για την αύξηση ούτε για την αύξηση ούτε για την αναπαραγωγή των μικροοργανισμών.

Ερωτήσεις

Οι απαντήσεις των ερωτήσεων μπορεί να προέρχονται από τις διαφάνειες του μαθήματος, τις συζητήσεις επί των ερωτήσεων κατά τη διάρκεια του μαθήματος, καθώς και οποιαδήποτε άλλη έγκυρη επιστημονική πηγή

1. Τί χρειάζεται απαραίτητα το κύτταρο για να διατηρηθεί στην ζωή;
2. Τί είναι «μεταβολισμός», «αναβολισμός» και «καταβολισμός»;
3. Τί είναι οι λεγόμενες «οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις»;
4. Τί είναι τα ένζυμα και ποιός ο λειτουργικός τους ρόλος;
5. Ο άνθρωπος είναι φωτο-αυτότροφος, φωτο-ετερότροφος, χημειο-αυτότροφος ή χημειο-ετερότροφος και γιατί;
6. Τι είναι οι λεγόμενοι «παράγοντες ανάπτυξης»;
7. Υπάρχουν μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται μόνο στην φύση και όχι στο εργαστήριο; Αν ναι που νομίζετε ότι οφείλεται αυτό;
8. Τί είναι η γλυκόλυση και πόσες «μεταβολικές διαδρομές» μπορεί να ακολουθήσει;
9. Ποιό είναι το τελικό προϊόν της γλυκόλυσης;
10. Τί είναι η «αερόβια αναπνοή»; Σε ποιά βακτήρια απαντάται;
11. Τί είναι «αναερόβια αναπνοή»; Σε ποιά βακτήρια απαντάται;
12. Σε ένα υπόστρωμα υπάρχει διαθέσιμο και δισακχαρίτης και μονοσακχαρίτης. Ποιός από τους δύο θα διασπασθεί πρώτα και γιατί; Πώς ονομάζεται το φαινόμενο αυτό;
13. Ποιά, σε πολύ γενικές γραμμές, είναι η σύσταση ενός βακτηρίου (νερό, ξηρή μάζα);
14. Ο άνθρωπος και τα βακτήρια μοιράζονται, τουλάχιστον, τέσσερα βασικά στοιχεία στην δομή τους.
15. Ποιά είναι αυτά;
16. Γιατί τα θρεπτικά συστατικά (τροφή) των βακτηρίων πρέπει να περιέχουν οπωσδήποτε άνθρακα;
17. Γιατί το άζωτο είναι απαραίτητο για τη ανάπτυξη των βακτηρίων; Από ποιές ουσίες προμηθεύονται το άζωτο οι μικροοργανισμοί;
18. Γιατί ο φώσφορος είναι απαραίτητος για τα βακτήρια;
19. Σε ποιά βακτήρια είναι απαραίτητο το Μαγνήσιο;
20. Γιατί το νερό είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη των βακτηρίων;

21. Τα βακτήρια χρειάζονται βιταμίνες (Γιατί); Πως τις παρέχουμε στα υποστρώματα;
22. Πολλά μόρια (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες) έχουν μεγάλο μέγεθος για να διαπεράσουν την μεμβράνη των κυττάρων. Πως έχουν «επιλύσει» το πρόβλημα αυτό τα βακτήρια;
23. Η ανάπτυξη ή/και επιβίωση των βακτηρίων εξαρτάται από τέσσερις πολύ βασικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ποιοί είναι αυτοί;
24. Γιατί είναι απαραίτητες οι πρωτεΐνες σ' ένα υπόστρωμα;
25. Τί είναι οι πρωτεόζες/πεπτόνες;
26. Γιατί τα υποστρώματα πρέπει να έχουν «ρυθμιστική ικανότητα»;
27. Τι σημαίνει «ελάχιστη», «άριστη» και «μέγιστη» θερμοκρασία ανάπτυξης» ενός βακτηρίου;
28. Τα βακτήρια με βάση την «άριστη» θερμοκρασία ανάπτυξης διακρίνονται σε 4 κατηγορίες. Ποιές είναι αυτές;
29. Ποιά η διαφορά των «ψυχρόφιλων» από τα «ψυχρότροφα»;
30. Γιατί η θερμοκρασία επηρεάζει την επιβίωση/ανάπτυξη των βακτηρίων;
31. Ποιό είναι το pH στο εσωτερικό των βακτηρίων;
32. Τα βακτήρια με βάση το pH του περιβάλλοντος και την δυνατότητά τους να αναπτύσσονται σε διαφορετικές τιμές του διακρίνονται σε τρεις ομάδες. Ποιές είναι αυτές;
33. Ποιά είναι η άριστη τιμή pH για την ανάπτυξη των βακτηρίων;
34. Η τιμή pH=4.6 είναι κρίσιμη για κάποια ομάδα βακτηρίων. Ποιά είναι αυτή;
35. Πώς δρουν τα ανόργανα ισχυρά οξέα στην μεμβράνη των βακτηρίων;
36. Πώς εκδηλώνουν την αντιμικροβιακή δράση τους τα οργανικά οξέα; Πώς τα βακτήρια προσπαθούν να αντιμετωπίσουν το φαινόμενο;
37. Όλα τα οργανικά οξέα (οξικό, κιτρικό, γαλακτικό) στην ίδια τιμή pH έχουν την ίδια αντιβακτηριακή δράση; Ναι ή όχι και γιατί;
38. Σε pH=4 το οξικό οξύ έχει διασταθεί κατά 15.5% και το κιτρικό κατά 81.1%. Ποιο έχει ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση και γιατί;
39. Τί εκφράζει το «δυναμικό οξειδοαναγωγής»;
40. Τα βακτήρια με βάση την δυνατότητά τους να αναπτύσσονται παρουσία ή μη οξυγόνου διακρίνονται σε τέσσερις ομάδες. Ποιές είναι αυτές;
41. Γιατί τα αναερόβια βακτήρια δεν μπορούν να αναπτυχθούν παρουσία οξυγόνου; Γιατί τα αερόβια μπορούν;
42. Σε αναγωγικές συνθήκες το E_h έχει αρνητικές ή θετικές τιμές;
43. Τα αναερόβια βακτήρια αναπτύσσονται σε αρνητικό ή θετικό δυναμικό οξειδοαναγωγής;
44. Ένα ένα τρόφιμο συσκευασμένο υπό κενό το E_h είναι θετικό ή αρνητικό;
45. Κατά την αεροβίωση των βακτηρίων ποιός είναι ο τελικός δέκτης των ηλεκτρονίων;
46. Όσο αυξάνεται ο πληθυσμός των βακτηρίων σ' ένα τρόφιμο το δυναμικό οξειδοαναγωγής αυξάνεται η μειώνεται;
47. Τί εκφράζει η «ενεργότητα νερού»;
48. Είναι δυνατόν δύο τρόφιμα να έχουν την ίδια περιεκτικότητα σε νερό αλλά διαφορετική ενεργότητα νερού (Ναι ή όχι και γιατί);
49. Ποίο έχει χαμηλότερη ενεργότητα νερού (a_w), το νερό ή ο πάγος;
50. Τί είναι τα αλόφιλα βακτήρια; Σε ποιά τρόφιμα μπορεί να τα βρούμε;
51. Η χαμηλή ενεργότητα νερού θανατώνει τα βακτήρια. Ισχύει η πρόταση, ναι ή όχι και γιατί;
52. Γιατί στην κατάψυξη τα βακτήρια δεν αναπτύσσονται;
53. Σε ζαχαρώδη προϊόντα είναι πιθανότερο να αναπτυχθούν βακτήρια ή ζύμες και γιατί;
54. Έχουμε δυο διαλύματα 10% κ.β. το ένα σε χλωριούχο νάτριο (NaCl) και το άλλο σε ζάχαρη. Ποίο ασκεί ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση και γιατί;
55. Υψηλή ωσμωτική πίεση σημαίνει χαμηλό ή υψηλό a_w ;
56. Τα Gram θετικά βακτήρια επιβιώνουν σε χαμηλότερες τιμές a_w σε σύγκριση με τα Gram αρνητικά. Γιατί;
57. Νερό, μαρμελάδα, ψάρια, φρυγανιές, καραμέλες. Κατατάξτε τα προηγούμενα τρόφιμα κατά σειρά μειούμενης a_w

- 58.** Όταν ένας μικροοργανισμός βρεθεί σε διάλυμα με υψηλή ωσμωτική πίεση τι ακριβώς συμβαίνει;
Με ποιούς μηχανισμούς προσπαθεί να «αντισταθεί» ο μικροοργανισμός;
- 59.** Όταν ένας μικροοργανισμός βρεθεί σε διάλυμα σε χαμηλή ωσμωτική πίεση, τι ακριβώς συμβαίνει;
- 60.** Τί είναι «πρωτογενείς» και τί «δευτερογενείς» μεταβολίτες;