الفصل الرابع

العوامل التي تؤثر في نمو الميكروبات

● الغذاء ● الماء والرطوبة ● تركيز أيون الهيدروجين ● درجة الحرارة ● الضغط الأسموزي ● جهد الأكسدة والاختزال

تستخدم الميكروبات في التخمرات الصناعية على نطاق واسع ؛ وحيث يتم إنتاج الكثير من المواد لصالح الإنسان ولهذا الغرض يتم تهيئة الظروف المثلى للنمو لحث الخلايا على النمو السريع. ولكي نحمي الأغذية من الفساد الميكروبي يلزمنا معرفة نمو الميكروبات ونشاطها، وأعني بذلك معرفة الظروف التي تؤثر في نموها (الجدول رقم ٢) وفي نشاطها خاصة ما يتعلق بالنشاط الإنزيمي ضد الغذاء وما يحتويه من البروتينات والدهون والكربوهيدرات.

الجدول رقم (٢). العوامل التي تؤثر في نمو الميكروبات

عوامل داخلية Intrinsic factors	عوامل خارجية Extrinsic factors
الغذاء	درجة الحرارة
النشاط المائي	الأكسجين
الأس الهيدروجيني	الرطوبة النسبية
الضغط الأسموزي	نوعية الهواء المحيط
جهد الأكسدة والاختزال	نوع التغليف

obeikandl.com

وفيما يلي العوامل البيئية الرئيسية التي تؤثر في نمو ونشاط الميكروبات وهي:

الغذاء

لكل كائن حي متطلبات غذائية Nutritional requirements خاصة تلزم لتسيير العمليات الكيموحيوية اللازمة للنشاط والتكاثر. وتختلف المتطلبات الغذائية لهذه الأحياء اختلافا كبيرا، بل إنه داخل المجموعة الواحدة أو الجنس الواحد يكون هناك بعض الاختلافات بالنسبة للمتطلبات الغذائية. فبعض الميكروبات لها متطلبات بسيطة مما يجعل نموها محتملا على أوساط غذائية كثيرة ولعل بكتريا القولون تكون مثلا لذلك. أما البعض الآخر فله متطلبات غذائية كثيرة يلزم توفرها لكي ينمو، هذه الميكروبات توصف بأنها متشرطة غذائيا Nutritionally fastidious، ومثال لذلك كثير من الممرضات Pathogens وبكتيريا حمض اللبن Lactic acid bacteria والتي تنمو على أوساط محدودة. تأتي هذه الفروق من اختلاف مقدرة بعض البكتيريا على استخدام عديد من المواد الغذائية كمصادر للكربون، والطاقة والنيتروجين وكذا اختلاف قدرتها على تصنيع عوامل النمو.

المتطلبات الغذائية للميكروبات

يعطي تركيب الخلية الميكروبية فكرة عن مدى حاجتها للعناصر المختلفة. ويبين الجدول رقم (٣) مثالا على ذلك، وهو تركيب خلية *E. coli* على أساس الوزن الجاف.

ويشكل الماء حوالي ٨٠-٩٠٪ من الوزن الرطب للخلية الميكروبية.

الجدول رقم (٣). تركيب خلية بكتيريا *E. coli* على أساس الوزن الجاف.

العنصر	النسبة٪	العنصر	النسبة٪
الكربون	٥٠	صوديوم	١
الأكسجين	٢٠	كالسيوم	٠,٥
نيتروجين	١٤	مغنسيوم	٠,٥
هيدروجين	٨	كلور	٠,٥
فوسفور	٣	حديد	٠,٢
كبريت	١	عناصر أخرى	٠,٣
بوتاسيوم	١		

وتعكس المتطلبات الغذائية البسيطة للميكروب Simple Nutrient Requirements قدرة تمثيلية Biosynthetic عالية، حيث يمكن تصنيع مركبات عضوية عديدة تحتاجها الخلية الميكروبية من عناصر أولية.

وعلى العموم، فإن أي ميكروب يلزمه ما يلي:

١- مصدر للكربون لتصنيع مكونات الخلية من جدار وغشاء خلويين والكروموزومات والسيتوبلازم والإنزيمات.

٢- مصدر للطاقة اللازمة للتصنيع الحيوي Biosynthesis وللعمليات التي تحتاج إلى طاقة مثل الحركة.

٣- مصدر للنيتروجين لتصنيع المواد النيتروجينية والبروتينات والقواعد النيتروجية اللازمة لتصنيع الأحماض النووية.

٤- عوامل نمو (كالفيتامينات).

٥- ماء.

obeikandl.com

تقسم الكائنات الحية الدقيقة –وكذلك الكائنات الحية بصفة عامة –حسب مصدر الطاقة والكربون إلى عدة مجموعات منها ما يلي :

١- مجموعة الميكروبات التي تعتمد على الضوء كمصدر للطاقة وتستخدم ثاني أكسيد الكربون للحصول على الكربون Photosynthetic microorganisms وهي بهذا تشبه النبات.

٢- كائنات تعتمد على الضوء كمصدر للطاقة ولكن تعتمد على مصادر عضوية للحصول على الكربون وتسمى Photoheterotrophs .

٣- كائنات حية تحصل على الطاقة بأكسدة بعض المواد غير العضوية المختزلة مثل NH_3 وH_2S وهذه الأحياء تستخدم CO_2 كمصدر للكربون الذي يتم تثبيته من الجو بواسطة طاقة الأكسدة. ويطلق على هذه الكائنات ذاتية التغذية كيميائيا Chemoautotrophs.

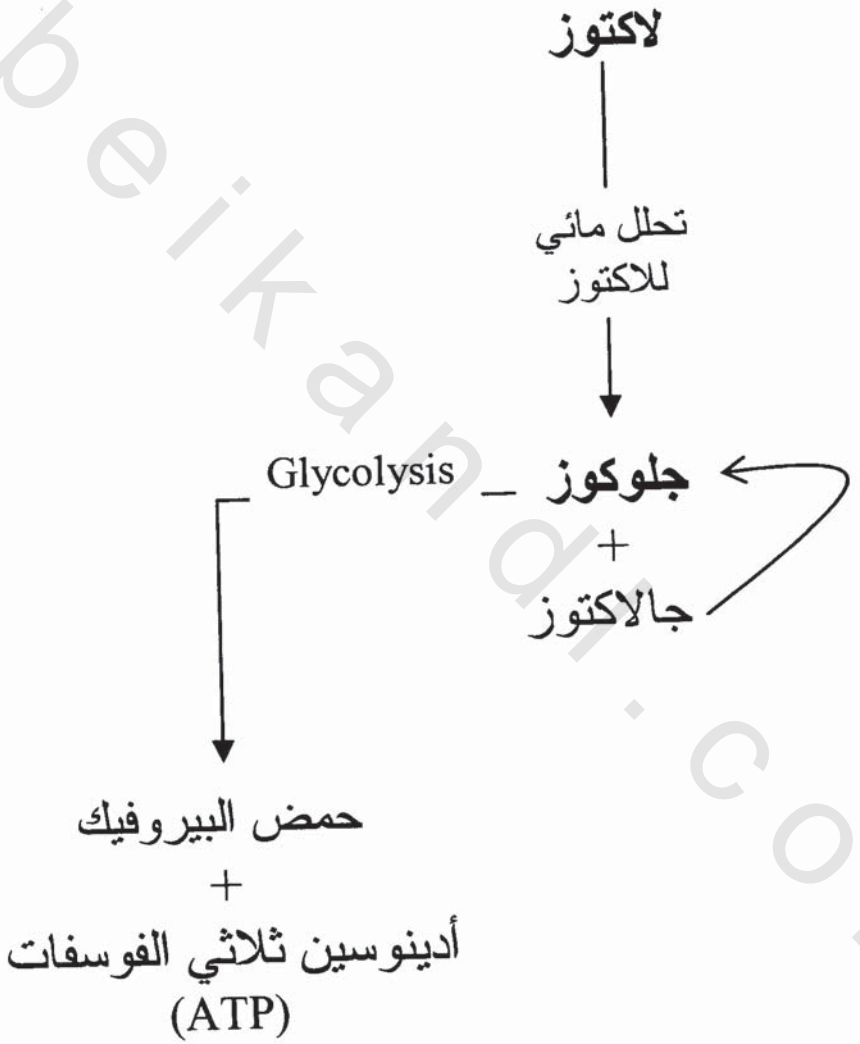
٤- كائنات تحصل على الكربون والطاقة من المصادر العضوية . هذه المجموعة تضم معظم الكائنات الحية كالإنسان والحيوان والبدائيات والبروتوزوا (الأوالي) والفطريات ومعظم البكتيريا. ويطلق على هذه الكائنات مغايرة التغذية Chemoheterotrophs, Chemoorganotrophs, organotrophs or Heterotrophs

مصدر الكربون: الميكروبات التي نتعامل معها في هذا المقرر تحتاج إلى مواد عضوية كمصدر للكربون ؛ أي ليس من بينها ما يمكن أن يعتمد على ثاني أكسيد الكربون ولهذا تدعى Chemoorganotrophic أو Heterotrophic وهذا لا يعني أن كل الميكروبات سواسية في هذا الشأن بل العكس صحيح فبينما تستطيع بعض الميكروبات استغلال مواد عديدة كمصدر للكربون فقد يكون مصدر الكربون من السكريات المتعددة مثل النشا والسليلوز، وقد يكون مصدره سكرا بسيطا كالجلوكوز الذي تفضله

جميع الميكروبات كمصدر للكربون والطاقة على بقية المصادر العضوية نظرا لسهولة ؛ تمثيله ولهذا السبب فهو يستخدم كمصدر للكربون في البيئات المعملية، وكذا للأوساط المعدة لإنتاج المنتجات المختلفة من خلال ما يعرف بالتخمرات الصناعية Industrial fermentations. وقد يكون سكرا ثنائيا كالسكروز أو اللاكتوز، وقد يكون كحول الإثيل أو حمض الستريك. فبينما تعتبر بكتريا القولون وجنس الكلوستريديوم *Clostridium* من البكتيريا التي يمكن أن تنمو على مصادر عديدة للكربون، فإن بعض البكتريا كال *Pseudomonas* لها القدرة على استعمال مصادر غير كربوهيدراتية وذلك كالأحماض الدهنية والعضوية الأخرى وكذا الكحولات وهذا يفسر مقدرة هذه البكتريا على النمو على اللحوم الذي يعتبر فقيرا في المواد الكربوهيدراتية.

لو أخذنا سكر الحليب مثلا وأضفناه إلى بيئة معروفة التركيب، تحتوي على جميع متطلبات الميكروب خلاف مصدر الكربون وهي ما تعرف بـ Carbon-free base وأضفنا اللاكتوز كمصدر وحيد للكربون وجربنا مقدرة عدد من الميكروبات على النمو في هذه البيئة، سنجد أن بعض الميكروبات لن ينمو ؛ مما يعني أن هذه الميكروبات ليست لها القدرة على الاستفادة من اللاكتوز كمصدر للكربون والطاقة ؛ لأن اللاكتوز يحتاج لتحليل مائيHydrolysis يلزمه إنزيم متخصص يعمل على تحلل هذا السكر الثنائي إلى سكرين أحاديين هما الجلوكوز والجالاكتوز اللذان يمكن أن يدخلا مسار الطاقة (الشكل رقم ٦). ويقاس على ذلك بقية المواد الكربوهيدراتية الأخرى مثل النشا والسليلوز وبقية السكريات.

إن قدرة بعض الميكروبات على تمثيل بعض المواد العضوية لها أهميتها حيث تستغل في إنتاج بعض المنتجات الهامة، ومثال ذلك محاولة الاستفادة من قدرة بعض الميكروبات على تمثيل بعض المركبات الهيدروكربونية والكحول المثيلي في إنتاج الكتلة الحية Biomass على حساب هذه المواد.



الشكل رقم (٦). رسم تخطيطي مبسط يوضح مسار تمثيل اللاكتوز خلال مرحلة Glycolysis.

obeikandi.com

ولقد كان للمؤلف تجربة في هذا الشأن حيث قام بعزل خميرة ذات مقدرة عالية على تمثيل الكحول المثيلي (الميثانول) للاستفادة منها في إنتاج البروتين الميكروبي Single cell protein وقام بالتعرف عليها. ومن المعروف أن هذا الكحول يمكن إنتاجه في المملكة بتكلفة زهيدة، وتقوم الشركة السعودية للصناعات الأساسية (سابك) حاليا بإنتاجه بكميات وفيرة. كما أن هذه الاختلافات في القدرة التمثيلية يستفاد منها في التعرف على الميكروبات و تحديد الأجناس والأنواع والسلالات الميكروبية.

مصدر النتروجين: تحتاج الميكروبات للأحماض الأمينية والتي يوجد منها عشرون حمضا أمينيا لبناء بروتينات الخلية والتي منها الإنزيمات. بعض الميكروبات تستطيع أن تنمو على الينتروجين الهوائي مباشرة بينما البعض الآخر يمكن أن يعتمد على النترات No_3^- أو النتريتات No_2^- أو الأمونيا كمصدر للنيتروجين لبناء الأحماض الأمينية ولكن بعض الميكروبات يلزم تزويدها ببعض الأحماض الأمينية.

عوامل النمو Growth factors: تعرف عوامل النمو على أنها عناصر غذائية يحتاجها الميكروب لنموه بكميات ضئيلة نسبيا مقارنة بمصدر الكربون الذي يحتاج منه الميكروب كميات كبيرة نسبياً ولا يمكن أن يقوم بتصنيعها من مواد أولية، وعليه يلزم توافرها في البيئة لكي ينمو، ومنها:

١- الأحماض الأمينية.

٢- البيورينات Purines والبيريميدينات Pyrimidines

٣- الفيتامينات.

obeikandl.com

من الميكروبات التي تتطلب عوامل نمو عديدة، بكتيريا حمض اللبن Lactic acid bacteria حيث تتطلب ١٦-٢٠ حمضا أمينيا وأربع بيورينات وبيرميدينات والعديد من الفيتامينات، هذه المتطلبات المعقدة تعكس طبيعة البيئة الطبيعية Natural habitat التي تعيش فيها الميكروبات والتي عادة ما تكون غنية مثل الحليب والنباتات المتحللة وفي ضروع الحيوانات.

وبعض الميكروبات تتطلب عوامل نمو معينة كالفيتامينات، فمثلا بعض الميكروبات تتطلب وجود فيتامين B خاصة البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ولاسيما بكتريا حمض اللبن، ولقد استغلت هذه الناحية للكشف عن وجود هذه العناصر وتحديد كمياتها وهو ما يعرف بالتحليل الحيوي Bioassay.

حاجة الميكروبات للعناصر المعدنية

يلزم للميكروب كل من المعادن التالية: الفوسفور، والكبريت، والبوتاسيوم، والمغنسيوم، والكالسيوم، والحديد، والمنجنيز، والكوبلت، والنحاس، والمولبدنيوم، والزنك. أما البوتاسيوم، والمغنسيوم، والكالسيوم، والحديد فإن الميكروبات تحتاجها بكميات كبيرة نسبيا، ولذا يلزم إدخالها ضمن مكونات البيئة المعدة لتنمية الميكروب في المعمل. وبالمقابل بعض المعادن تكون ضرورية لبعض الميكروبات ولكن في الغالب نادرا ما تظهر أعراض نقص هذه العناصر، وبالإضافة إلى ذلك فإن بعض المعادن لها تأثير كبير في بعض الخواص الفسيولوجية للكائنات الدقيقة.

مما سبق يتضح أهمية العناصر الغذائية المختلفة بما فيها الماء على نمو الميكروبات، كما يبدو واضحا أن الغذاء كلما كان متزنا من حيث التركيب الكيميائي(الجدول رقم ٤)، وكلما كان يفي بمتطلبات الميكروبات ؛ كان بيئة مناسبة

لنمو الكثير من الميكروبات والعكس صحيح، أي أن افتقار الغذاء لعنصر أو أكثر من العناصر الغذائية أو نقص أحد العناصر فيه يحول دون نمو الميكروبات. وهذا ما يفسر عدم صلاحية الماء كوسط لنمو الميكروبات أو حتى كوسط انتقالي أثناء عمليات التخفيف للعد. كما يفسر اختلاف قابلية الأغذية للفساد.

الجدول رقم (٤). يوضح تركيب بعض الأغذية.

	النسبة المئوية للعناصر الغذائية			
الغذاء	**كربوهيدرات**	**دهن**	**بروتين**	**ماء**
خس	٢,٩	٠,١	٠,٩	٩٥,٥
فاصوليا خضراء	٧,١	٠,٢	٢	٩٠
ملفوف	٥,٥	٠,٢	١,٣	٩٢,٥
بطاطس	١٧,١	٠,١	٢,١	٨٠
تمر	٧٥	٠,٣	٢	١٥
رطب	٤٠	٠,٢	١,٤	٥٠
تفاح	١٤	٠,٦	٠,٢	٨٥
موز	٢٢,٢	٠,٢	١,١	٧٦
برتقال	١٢,٢	٠,٢	١	٨٦
زبيب	٧٧,٤	٠,٢	٢,٥	١٨
عسل	٨٢,٣	صفر	٠,٣	١٧,٢
سكر أبيض	٩٩,٥	صفر	صفر	٠,٥
زبدة الفول السوداني	١٧,٢	٤٩,٥	٢٧,٨	١,٨
لحوم حمراء	١	١٤-٣٠	١٥-١٨	٦٥
لحوم دواجن	١	١٣	٢٠	٦٦
لحم سمك (قليل الدهن)	صفر	٠,٥	١٦	٨٢

obeikandl.com

الغذاء	النسبة المئوية للعناصر الغذائية			
	كربوهيدرات	دهن	بروتين	ماء
بيض كامل	٩	١١,٥	١٢,٩	٧٣,٧
سجق	٢,٥	٢٥,٥	١٣	٥٦,٥
حليب بقر كامل	٥	٣,٥	٣,٥	٧٨,٤
حليب إبل	٤,٨	٣	٣,٤	٨٨,٣
حليب جاف	٣٨	١٧,٥	٢٦,٤	٢
لبن (رائب)	٤,٨	٣	٣,٤	٨٨
جبن سويسري	٢	٢٨	٢٧,٥	٣٩
روب (زبادي)	٥,٢	١,٧	٣,٤	٨٩
إقط	٢٤	١٨	٤٥	٥-٤

الماء أو الرطوبة Moisture

يعتبر الماء عنصرا أساسيا لجميع الميكروبات وبدون الماء لا يمكن أن تبقى حية لمدة طويلة، وهذا مصداق لكلام الله تعالى: ﴿ وَجَعَلْنَا مِنَ ٱلْمَآءِ كُلَّ شَىْءٍ حَىٍّ ﴾، إذ أن الماء يعتبر الوسط الذي فيه تتم معظم التفاعلات الكيموحيوية والوسط الذي يساعد على نقل العناصر الغذائية إلى الخلية ومن ثم طرح الفضلات خارجها. كما أن الماء يستخدم لتكسير الجزيئات الكبيرة إلى جزيئات بسيطة ومن ذلك ما يعرف بالتحلل المائي للبروتين Hydrolysis of protein الذي يؤدي إلى تحلل البروتين إلى ببتونات وببتيدات...، وكذلك التحلل الذي يحدث للسكريات العديدة Polysaccharides حيث تتحلل إلى سكريات بسيطة. وكذا الحال بالنسبة للدهون التي تتحلل مائيا إلى جزيء جلسرين وأحماض دهنية حرة.

يوجد الماء إما حرا Free أو مرتبطا Bound. ويعتبر الماء المرتبط ماء غير متيسر.

obeikandl.com

يتخذ من النشاط المائي Water activity والذي يرمز له بـ a_w مقياسا لمدى تيسر الماء للميكروب في البيئة من عدمه.

إن كمية الماء المتيسر للميكروب لا يمكن قياسها مباشرة وبمعنى آخر فإنه لا يمكن الاستدلال مباشرة من نسبة الماء على مدى تيسر الماء ؛ لأن الماء قد يكون مرتبطا مع بعض المواد الذائبة. نظرا لأن وجود هذه المواد الذائبة يؤثر في الضغط البخاري للماء فإنه يمكن قياس النشاط المائي عن طريق قياس الضغط البخاري للماء بما فيه من المواد الذائبة ونسبة ذلك للضغط البخاري للماء النقي عند نفس الظروف.

يتم تقدير مدى تيسر الماء على النحو التالي :

النشاط المائي (a_w) = الضغط البخاري للمحلول (الماء بما فيه من المواد الذائبة) ÷ الضغط البخاري للماء النقي

$$a_w = P \div P_o$$

Where: P = Vapour pressure of solutes, P_o = Vapour pressure of pure water

كما يمكن حسابه عن طريق المعادلة الآتية :

النشاط المائي = عدد مولات الماء ÷ (عدد مولات الماء + عدد مولات المواد الذائبة)

$$a_w = N_2 \div (N_2 + N_1)$$

N_1 = No. of Moles of Solutes عدد مولات المواد الذائبة

N_2 = No. of Moles of Pure water عدد مولات الماء النقي

من المعادلة السابقة يتضح أن a_w تقل بزيادة مولات المواد الذائبة وتكون $a_w = 1$ عندما يكن الماء نقيا.

التوضيح

عدد مولات الماء :

يوجد في اللتر من الماء النقي ١٠٠٠ مل ÷ ١٨ (الوزن الجزيئي للماء) =٥٥,٥١ مولاً

وبهذا يكون a_w للماء النقي : $a_w = N_2 \div (N_2 + N_1) = 55.51 \div 55.51 = 1$

obeikandi.com

أما إذا أضفنا مولاً واحداً من المواد الذائبة كالسكر مثلا تصبح المعادلة :

$a_w = 55.51 \div (55.51 + 1) = 0.98$

تأثير النشاط المائي

١- يؤثر في النمو.

٢- تكوين الجراثيم وكذا إنبات الجراثيم.

٣- إنتاج السموم.

٤- مقاومة الميكروبات للظروف المعاكسة الأخرى كالحرارة وفي هذا الصدد فإن انخفاض a_w يعني ازدياد المقاومة حتى تصل إلى حد حرج.

النشاط المائي للغذاء

النشاط المائي a_w للأغذية الطازجة مثل الفواكه و الخضار واللحوم الطازجة يتراوح من ٩٨، ٠إلى ٩٩، ٠ (الجدول رقم ٥) وهذا يسمح بنمو معظم الميكروبات ولاسيما البكتيريا والتي هي حساسة للجفاف، إلا أن انخفاض الأس الهيدروجيني pH قد يحد من نموها كما هو الحال في بعض الفواكه.

الجدول رقم (٥). قيم النشاط المائي لبعض الأغذية.

المادة الغذائية	النشاط المائي a_w	المادة الغذائية	النشاط المائي a_w
لحوم ودواجن وأسماك طازجة	١-٠,٩٨	جيلي	٠,٩٤-٠,٨٢
فواكه وخضار طازجة	١-٠,٩٧	مربى	٠,٨٠-٠,٧٥
عصائر وفواكه وخضار	٠,٩٧	عسل	٠,٧٥-٠,٥٤
البيض	٠,٩٧	فواكه مجففة	٠,٨٠-٠,٥٥
أجبان	١-٠,٩٥	حليب مجفف	٠,٢
خبز طازج	٠,٩٦	منتجات حبوب	٠,٢-٠,١
لحوم مصنعة	٠,٩٥-٠,٨٧	سكر	٠,١٩

obeikandl.com

ينخفض النشاط المائي a_w بالتجفيف وإضافة المواد الذائبة كالملح والسكر والتجميد. يكون a_w للأغذية الجافة حوالي ٧٥، ٠ ويعتبر ٦٥، ٠ الحد الأدنى لنمو معظم الميكروبات مع أن بعض التفاعلات الإنزيمية قد تأخذ مجراها. بعض الأغذية يتم خفض النشاط المائي بها باستخدام السكر كالمربيات والهلام Jelly والبعض الآخر باستخدام الملح كما هو الحال بالنسبة للحوم المملحة.

معظم الميكروبات التي تتسبب في فساد الأغذية ذات النشاط المائي a_w المنخفض أعفان أو خمائر أو بكتيريا تقاوم الجفاف Xerophilic bacteria ويمكن الرجوع إلى الجدول رقم (٦) أدناه للوقوف على بعض الأمثلة.

الجدول رقم (٦). يوضح قيم النشاط المائي الأدنى لبعض الميكروبات

الميكروب	النشاط المائي الأدنى
كلوستريديوم بوتشيلينوم أ	٠,٩٤
كلوستريديوم بوتشيلينوم هـ	٠,٩٧
ليستريا مونوسايتوجنس	٠,٩٢
سالمونيلا *Salmonella spp.*	٠,٩٤
المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*	٠,٨٣
خميرة الخباز Baker's yeaster	٠,٨٥

تركيز أيون الهيدروجين

ويعرف على أنه اللوغاريثم السالب لتركيز أيون الهيدروجين مول/لتر [H]log– ويكتب بهذه الطريقة pH . يأتي تأثير الـ pH من كونه يؤثر في نفاذية الغشاء الخلوي ومرور الغذاء من خلال الغشاء الخلوي، كما يؤثر في مدى تيسر العناصر

الغذائية للميكروب و يؤثر في النشاط الإنزيمي داخل وخارج الخلية. وله تأثير أيضا على المواد المثبطة.

تختلف الميكروبات في درجة تحملها للحموضة. وعلى العموم فإن معظم البكتيريا تنمو جيدا تحت ظروف قريبة من التعادل أي pH قريب من ٧. تعتبر البكتيريا المنتجة للحموضة مثل بكتيريا حمض اللبن ومثالها عصيات الحليب *Lactobacillus* والمكورات السبحية *Streptococcus* وبكتيريا حمض الخل *Acetobacter* أكثر تحملا لانخفاض الأس الهيدروجيني، ولكن لاتصل إلى قدرة الأعفان والخمائر في تحمل الحموضة. وعلى النقيض من ذلك، البكتيريا المحللة للبروتينات مثل الكاليجنس *Alkaligenes* وسيدوموناس *Pseudomonas* يمكن أن تنمو في ظروف قلوية معتدلة. أما الأعفان والخمائر فإنها تتحمل حموضة عالية إذا ما قورنت بالبكتيريا (الجدول رقم ٧). وتجدر الإشارة إلى أنه توجد بعض البكتيريا التي قد تتحمل قلوية عالية مثل *Vibrio cholerae* التي تنمو جيدا عند pH أعلى من ٨ ، كما أنه توجد بكتيريا تتحمل حموضة عالية مثل بكتيريا حمض اللبن وبكتيريا الكبريت. ولكن عموما فإن الأس الهيدروجيني pH الأقل من ٤ يثبط نمو معظم البكتيريا ولهذا السبب يضاف حمض الطرطريك لبيئة أجار البطاطس والدكستروز PDA التي تستخدم لتنمية الفطريات وعزلها حيث يضاف هذا الحمض (١ مل من حمض الطرطريك ١٠٪ لكل ١٠٠ مل بيئة PDA) لخفض الـ pH إلى حوالي ٥ ، ٣ مما يجعل نمو البكتيريا شبه معدوم، ويمكن تحقيق هذا الهدف باستخدام أحد المضادات الحيوية كالكلورامفينيكول أو مادة روزبنجال Rosebengal.

الجدول رقم (٧). يوضح المدى التقريبي من الـ pH المناسب لنمو الميكروبات.

الميكروب	الحد الأدنى من pH	الـ pH الأمثل	الحد الأعلى من pH
معظم الميكروبات	٤,٥	٧,٥-٦,٥	٩
Bacillus subtilis	٤,٥-٤,٢	٧,٢-٦,٨	١٠-٩
Clostridium botulinum	٥-٤,٨		٨,٩
E.coli	٤,٤-٤,٣	٨-٦	٩
معظم *Lactobacillus*	٤,٤-٣	٦-٥,٥	٨-٧,٢
معظم *Pseudomonas*	٥,٦	٧-٦,٥	٨
معظم *Salmonella*	٥-٤,٥	٧,٥-٦	٩
معظم *Staphylococcus*	٤,٢	٧,٥-٦,٨	٩,٣
معظم *Streptococcus*	٥-٤	٦,٢	
معظم *Vibrio*	٦		٩
V. cholerae		٨,٦	
V. parahaemolyticus	٤,٨		٧,٨
معظم الخمائر	٣,٥-١,٥	٦,٥-٤	٨,٥-٨
S. cerevisiae	٤,٢-٢	٥-٤	
معظم الأعفان	٣,٥-١,٥	٦,٨-٤,٥	٨

بالنسبة للمواد الغذائية تصنف عادة حسب الحموضة إلى:

١- أغذية حامضية جدا High acid foods يكون pH تحت ٣,٧ مثل الليمون والمخللات

٢- أغذية حامضية Acid foods يكون ٣,٧ ــ ٤,٦ pH مثل الطماطم والأناناس والعنب واللبن.

obeikandl.com

٣- أغذية وسطية الحموضة Medium acid foods يكون ٤,٦ ـ ٥,٣ pH مثل القرع والموز

٤- أغذية قليلة الحموضة أو غير حامضية Nonacid foods يكون pH أكثر من ٥,٣ مثل الحليب، و اللحوم.

ويلاحظ أن هذا التقسيم المبني على الأس الهيدروجيني (جدول ٨) لا يأخذ في الاعتبار المفهوم الكيميائي للحموضة والقلوية والتعادل.

الجدول رقم (٨). تصنيف الأغذية حسب الأس الهيدروجيني.

درجة الحموضة	المدى من الأس الهيدروجيني	أمثلة	الأس الهيدروجيني
شديدة الحموضة	أقل من ٣,٧	عصائر	٣,٩-٣,٥
		حمضيات	٣,٥-٣
		تفاح	٣,٣-٢,٩
حمضية	٤,٥-٣,٧	مايونيز	٤,١-٣
		طماطم	٤
متوسطة الحموضة	٥,٣-٤,٥	الموز	٥,٢-٤,٥
منخفضة الحموضة	٧-٥,٥	بيض كامل	٨-٧
أوغير حمضية		حليب	٦,٥-٦,٣
		لحم دجاج	٦,٤-٥,٦
		لحم أسماك	٧-٦,٨
		لحم أحمر	٦,٢-٥,٤

openkandil.com

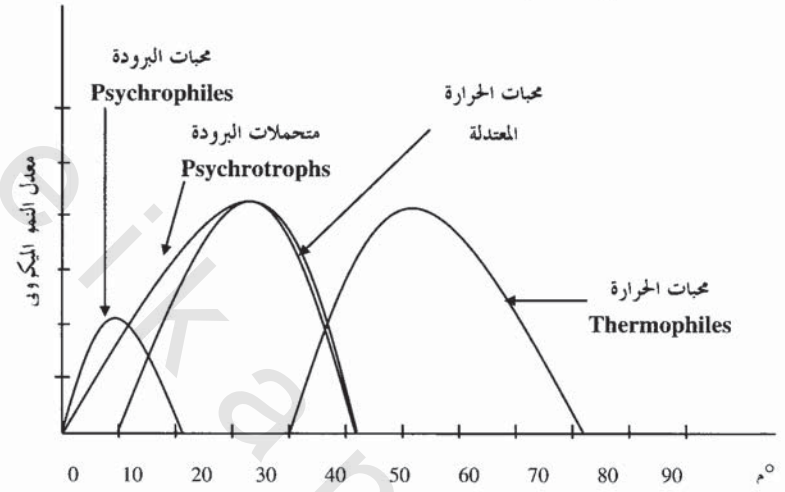
الجدول رقم(٩). بعض الأمثلة على حموضة بعض الأغذية (على أساس الـ pH).

المادة الغذائية	pH	المادة الغذائية	pH
الأجبان (معظمها)	٥ — ٦	طماطم	٤,٩-٣,٧
أناناس	٣ — ٤	العسل	٣ — ٥
برتقال	٤-٢,٨	عصير الطماطم	٤,٧ — ٣,٩
البصل	٥,٣ — ٥,٨	عنب	٣ — ٤,٥
بطاطس	٥,٤ — ٦,٣	كريفروت	٣ — ٤
بياض البيض	٧,٦ — ٩,٥	لبن (رائب)	٤
تفاح	٣,٥-٢,٩	لحم الدجاج	٥,٥ — ٦,٤
التمر	٦,٢ — ٦,٥	لحم السمك	٦,٥ — ٧
حليب	٦,٣ — ٦,٨	لحوم حمراء	٥,٣ — ٦
الخس	٦,٠ — ٦,٤	ليمون	٢,٢ — ٢,٤
الربيان	٦,٨ — ٨,٢	ليمون أبوزهيرة	١,٨ - ٢
زبدة	٦,١-٦,٤	مشمش	٣,٥ — ٤,٠
صفار البيض	٦- ٦,٣	الموز	٤,٥ — ٥,٢

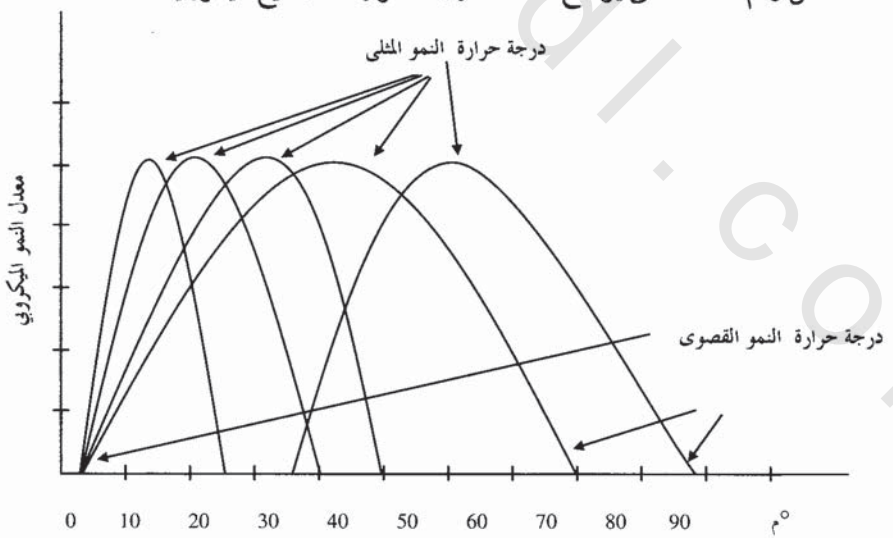
درجة الحرارة Temperature

لكل ميكروب - سواء كان بكتيريا أو عفنا أو خميرة - درجة حرارة مثلى Optimum أو مدى حراري أمثل ينمو ضمنه، أو درجة حرارة دنيا Minimum temp. والتي هي أقل درجة حرارة يمكن للميكروب أن ينمو عليها، وحرارة قصوى Maximum temp. وهي الدرجة التي بعدها لا ينمو الميكروب أو هي أقصى درجة

يمكن للميكروب أن ينمو عليها. وتختلف الميكروبات فيما بينها بالنسبة لهذه الدرجات الثلاث(الشكلان رقما ٧ و٨).



الشكل رقم (٧). منحنى يوضح نطاقات درجة الحرارة للمجاميع الميكروبية المختلفة.



الشكل رقم (٨). منحنيات نمو افتراضية توضح درجات الحرارة الدنيا والمثلى والقصوى للنمو لميكروبات مختلفة.

وعلى أساس درجة الحرارة المثلى للنمو(الجدول رقم ١٠) تصنف البكتيريا إلى المجاميع التالية :

الجدول رقم (١٠).تصنيف الميكروبات إلى مجاميع حسب درجة الحرارة

المجموعة الميكروبية	درجة الحرارة الدنيا°م	درجة الحرارة المثلى°م	درجة الحرارة القصوى°م
المحبة للبرودة إجباريا	-١٥ -صفر	١٠ — ١٨	٢٠ — ٢٢
المتحملة للبرودة	-٥ + ٥	٢٥ — ٣٠	٣٠ — ٤٠
الوسطية للحرارة	٥ — ٢٥	٢٥ — ٤٠	٤٠ — ٥٠
المحبات للحرارة	٣٥ — ٤٥	٤٥ — ٦٥	٦٠ — ٩٠
إجبارية	٤٠ — ٤٥	٥٥ — ٦٥	٧٠ — ٩٠
اختيارية (متحملة للحرارة)	٣٥ — ٤٠	٤٥ — ٥٥	٦٠ - ٨٠

محبات للبرودة Psychrophiles

هذه البكتيريا لا تنمو عادة إلا إذا توفرت لها البرودة وتكون درجة الحرارة القصوى لها منخفضة نسبيا ؛ أي أنها لا تتحمل ارتفاع درجة الحرارة ويعود السبب إلى أن هذه الميكروبات تكون متأقلمة على الحياة في بيئات باردة طبيعية كمنطقتي القطبين أو المناطق القريبة منهما ، أو في بيئات من صنع الإنسان كالمجمدات والبرادات. ومعظم هذه الميكروبات تكون درجة حرارة النمو المثلى لها عادة دون ٢٠°م. وهذه الميكروبات لا تشكل أهمية تحت الظروف السائدة في المملكة والمنطقة العربية حيث لا يتوافرالجو المناسب لنموها على مدار العام.

محبات للحرارة المعتدلة Mesophiles

هـذه البكتيريـا تـشكل مجموعـة كـبيرة مـن الميكروبـات الـتي نتعامـل معهـا في الأغذية، درجة حرارة النمو المثلى لها تتراوح مابين ٢٥-٣٧°م

محبات للحرارة المرتفعة Thermophiles

هذه الميكروبات تنمو عادة عند توفر الحرارة المرتفعة والتي عادة ماتكون فوق ٤٠°م، وهذه المجموعة يمكن تقسيمها إلى مجموعتين:

محبات للحرارة المرتفعة إجبارياً Obligate thermophiles

وهي ميكروبات لا تنمو إلا عندما تتوفر لها درجات حرارة مرتفعة نسبياً ودرجة الحرارة الدنيا لها عادة مرتفعة ومن ذلك باسلس ستيروثيرموفيلس *B.stearothermophilus* التي تسبب مايعرف بالأحماض المستوي Flat sour في المعلبات. هذه البكتيريا لا تنمو عند ٣٥°م ولكن تنمو جيداً عند ٥٥°م وتتحمل درجات حرارة أعلى من ذلك تصل إلى ٧٠°م.

متحملات للحرارة المرتفعة Thermodurics

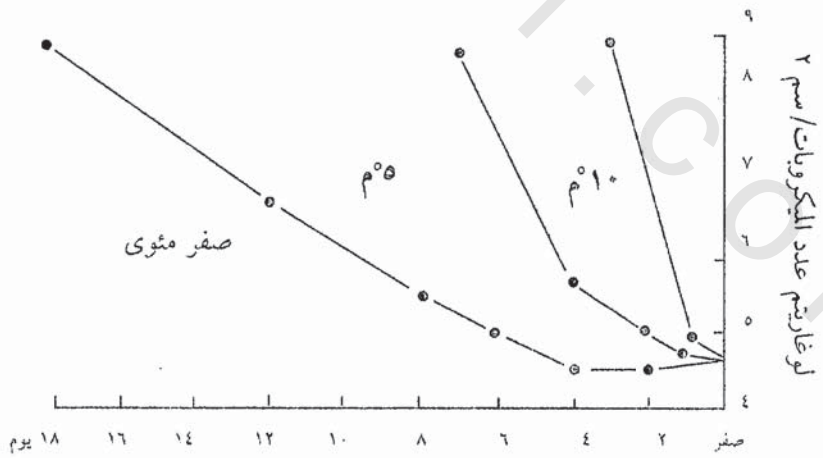
وهي ميكروبات تتحمل درجات حرارة مرتفعة والمثلى لها عادة فوق ٤٠°م ولكن يمكن أن تنمو عند درجات حرارة منخفضة نسبياً (٣٥°م) ومن الأمثلة على ذلك لاكتوباسلس بولجاريكس *L. bulgaricus* ولاكتوباسلس لاكتس *L .lactis* .

متحملات للبرودة Psychrotrophs

تجدر الإشارة إلى أن هناك ميكروبات يمكنها النمو عند درجات حرارة منخفضة تقرب من درجة حرارة الثلاجة ولكنها تختلف عن محبات البرودة فى أن درجة الحرارة المثلى لنموها تكون أعلى بكثير – هذه الميكروبات يطلق عليها متحملات البرودة

openkandi.com

Psychrotrophs ومن الأمثلة على ذلك بعض الأنواع التي تنتمي للجنس سيدوموناس والجنس باسلس ومثل لستيريا مونوسيتوجنس *L monocytogenes* التي يمكن أن تنمو في الثلاجة ولكن درجة الحرارة المثلى لنموها حوالي ٣٥°م. هذه الميكروبات تعتبر مهمة في مجال الأغذية ؛ لأنها تتسبب في إفساد الكثير من الأغذية المبردة. وهذه المجموعة تعد أكثر أهمية من محبات البرودة بالنسبة للظروف المناخية السائدة في المملكة والنطاقات المناخية المشابهة. فمحبات البرودة عادة لا تتوافر إلاّ في بيئات تكون البرودة الشديدة هي السائدة طوال العام – مما أدى إلى تأقلم تلك الميكروبات على تلك الأجواء، ومن ثم لا تنمو في نطاقات مناخية أخرى. ثم إن متحملات البرودة تستمر في النمو في الثلاجة وبمعدل بطيء قد يؤدي إلى إفساد المادة الغذائية المبردة مع طول فترة التخزين المبرد Cold storage (الشكل رقم ٩). وبعد انتهاء التبريد تستأنف الميكروبات النمو وبمعدل سريع، مما يتسبب في إفساد المادة الغذائية المبردة بعد إخراجها من جهاز التبريد في وقت قصير.



الشكل رقم (٩). يوضح تطور عدد الميكروبات المتحملة للبرودة أثناء التخزين المبرد

يوضح الجدولان رقما (١١ و١٢) مدى درجة الحرارة الملائم لنمو بعض الميكروبات.

الجدول رقم (١١). المدى الحراري لبعض الفطريات.

الأعفان	درجة الحرارة الدنيا للنمو°م	درجة الحرارة القصوى للنمو°م	درجة الحرارة المثلى للنمو°م
معظم الأعفان	-١٠	٥٥	٢٠-٢٥
بوتريتس ساينيريا *Botrytis cinerea*	-١	٣٠	٢٠
كلادوسبوريوم *Cladosporium*	-٥		
ميوكر ميوسيدو *Mucor mucedo*	صفر	٢٥	٢٠
ميوكر بيوسيلس *Mucor pusillus*			٤٠-٤٥
بنيسيليوم روبروم *Penicillium rubrum*		٢٥	٢٠
رايزوبس ستولونيفر *Rhizopus stolonifer*	٥		
معظم الخمائر	-٥ -١٠	٥٠-٦٠	٢١-٣٢
كانديدا *Candida*	صفر	٢٩-٤٨	٢٢-٢٥
كانديدا ليبوليتيكا *C. lipolytica*	٥	٣٥-٤٥	٢٥
هانسنولا *Hansenula*		٥٠	٣٧-٤٢
رودوتوريولا *Rhodotorula*	١	٣٧	٢٢-٢٥
ساكرومايسيس *Saccharomyces*	صفر - ٧	٤٠	٢٠-٣٠
تورولوبسيس *Torulopsis*	صفر	٣٠-٣٥	١٧-٢٥
بيكيا *Pichia*	٢	٣٢	٢٠-٢٥

obeikandl.com

الجدول رقم (١٢). المدى الحراري لعدد من بكتيريا الأغذية.

الميكروب	درجة الحرارة الدنيا (°م)	درجة الحرارة القصوى (°م)	درجة الحرارة المثلى (°م)
سيدوموناس *Pseudomonas*	٤	٤٥	٣٢-٢٢
المكورات السبحية *Streptococcus lactis*	١٠	٤٠	٣٠-٢٥
Lactobacillus bulgaricus			٤٣-٤٠
عصيات الحليب *Lactobacillus*	٥	٥٣	٤٠-٣٠
كلوستريديوم بيرفرنجنس *Cl. perfringens*	١٥-٢٠	٥٠-٥٥	٤٥-٣٥
كلوستريديوم بوتيولينوم أ، ب *Cl.botulinum* A & B	١٠-١٢	٤٥	٣٧-٣٥
كلوستريديوم بوتيولينوم هـ *Cl.botulinum* E	٣,٣	٤٠	٣٠
المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus*	٣٥-٣٧	٤٥	١٠
سالمونيلا *Salmonella*	٥	٤٥	٣٧
لستريا مونوسيتوجينس *Listeria monocytogenes*	١-٢،٥	٤٥	٣٧-٣٥
يرسينيا إنتيروكاليتيكا *Yersinia enterocalitica*	صفر-٤	٤٠	٣٥-٢٥
باسيليس سيريس *Bacillus cereus*	١٠-١٢	٤٨-٥٠	٣٥-٢٥
كامبيلوباكتر جيجوني *Campylobacter jejuni*	٢٥		٤٣-٣٢
بروتيوس *Proteus*	١٠	٤٣	٣٧
كلوستريديوم ثيرموساكارولييتيكوم *Cl.thermosaccharolyticum*			٥٥
باسيلس ستيروثرموفيلس *B. stearothermophilus*	٣٠	٧٥	٥٥-٤٥
بروسيلا *Brucella*	٢٠	٤٠	٣٧

obeikandl.com

دور الأكسجين في نمو الكائنات الحية

تنقسم الميكروبات بالنسبة لحاجتها للأكسجين إلى:

١- هوائية إجباريا Strict aerobes

هذه الكائنات تستعمل الأكسجين O_2 كمستقبل نهائي للإلكترون. تشمل هذه المجموعة العديد من البكتيريا والأعفان وكثير من الخمائر والأوالي (البدائيات) Protozoa

٢- لاهوائية اختياريا Facultative anaerobes

وهذه الكائنات يمكن أن تحصل على الطاقة من التمثيل الهوائي أو اللاهوائي، ومن ثم يمكنها النمو فى غياب الأكسجين مع وجود مادة عضوية قابلة للتخمر Fermentable.

٣- لاهوائية إجباريا Strict anaerobes

هذه الميكروبات لا تتحمل وجود الأكسجين؛ ولهذا تستوطن هذه الميكروبات الأماكن التي ينعدم فيها الأكسجين الجوي كقيعان البحيرات والمحيطات وأمعاء الحيوانات، كما أن معظم هذه الميكروبات تنتج الطاقة التي تحتاجها عن طريق التخمر.

٤- متحملات الهواء (الأكسجين) Aerotolerant

وهي ميكروبات لا تحتاج للأكسجين في تمثيل الطاقة وهي بهذا تشترك مع الميكروبات اللاهوائية ولكن تختلف عنها بأنها يمكن أن تتحمل وجود الأكسجين.

٥- ميكروبات تحتاج للهواء بكميات طفيفة Microaerophilic

وهي ميكروبات يلزم الأكسجين الجوي لنموها، وتحتاج إلى كميات ضئيلة جدا وكثيره سام لها. ومن الأمثلة على ذلك مجموعة بكتيريا حمض اللبن Lactic acid bacteria.

obeikandl.com

أثناء الأيض الهوائي وبوجود الأكسجين الجزيئي (O_2) Molecular oxygen . المعروف بنشاطه التفاعلي يتكون ما يعرف بالـ(O_2^-) Superoxide free radical). الميكروبات التي تتحمل وجود الأكسجين تنتج إنزيم Dismutase والذي يحول هذا الجزء الحر إلى المركب H_2O_2 الأقل سمية :

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

ومعظم الميكروبات الهوائية تنتج إنزيم الكاتليز Catalase الذي يكسر فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى ماء وأكسجين :

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$$

أما ثاني أكسيد الكربون، فإن البكتيريا تختلف فيما بينها في حساسيتها للتراكيز المرتفعة من هذا الغاز، فلقد وجد أن بعض البكتيريا في الأغذية يتم تثبيطها بوجود CO_2 بتركيز ١٠٪ الأمر الذي أدى إلى استعماله في التعبئة لاسيما بالنسبة للحوم المبردة ؛ إذ تتسبب البكتيريا السالبة لصبغة جرام العصوية الهوائية - مثل الأنواع التابعة لجنس سيدوموناس –Pseudomonas في إفساده في معظم الحالات. كما تجدر الإشارة إلى أن بعض البكتيريا مثل الليستيريا والبروسيلا تنمو بصورة أفضل بوجود CO_2 بحدود ٥٪ في البيئة، ولذا يضاف لبيئة عزل الليستيريا، كما وجد أن بعض البكتيريا الممرضة تحفز أيضا بوجود ثاني أكسيد الكربون في الوسط. وكان الاعتقاد السائدسابقا أنه ضروري فقط للبكتيريا الذاتية التغذية Autotrophs .

الضغط الأزموزي Osmotic Pressure

نظرا لأن الخلايا الميكروبية تحاط بأغشية شبه منفذة Semi permeable membranes وتحتوي على بعض المواد الذائبة Solutes، كما تحاط الخلية عادة بمحاليل مائية ؛ لذا فإنه يتولد ضغط يتسبب في انتقال الماء من الخلية الميكروبية وإليها، يعرف

بالضغط الأزموزي. ويعرف بأنه الضغط الذي يقع على الغشاء الخلوي بفعل تركيز المواد الذائبة.

الضغط الأزموزي الداخلي غالبا ما يكون أعلى من البيئة المحيطة وتعمل الخلية على التحكم في هذا الضغط. ومن الناحية النظرية فإنه من المفروض أن يدخل الماء إلى داخل الخلية الميكروبية لحين معادلة الضغط الأزموزي. وباختصار فإن الضغط الأزموزي لأي وسط يحيط بالخلية الميكروبية يمكن أن يكون على النحو التالي :

ضغط أزموزي متعادل Isotonic

عندما يتساوى الضغط الأزموزي داخل الخلية والوسط المحيط بها أي عندما يتساوى الضغط الأزموزي على جانبي الغشاء الخلوي.

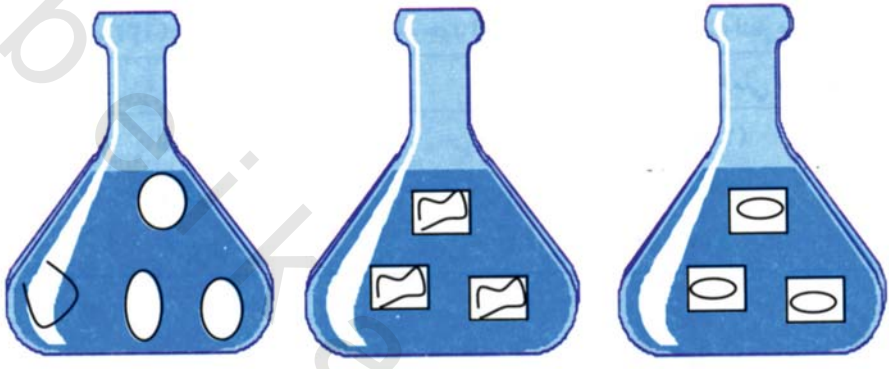
ضغط أزموزي منخفض Hypotonic

عندما يكون الضغط الأزموزي داخل الخلية أعلى منه خارجها ، مثلما يحدث عندما توضع البكتريا في ماء مقطر.وهذا الوضع بدوره يؤدي إلى دخول الماء إلى داخل الخلية وقد يؤدي إلى انفجارها Bursting. يطلق على هذه الحالة Plasmoptysis ؛ولهذا فإن الماء المقطر لا يصلح كبيئة لنمو الميكروبات بسبب افتقاره للعناصر الغذائية، ولا يصلح كبيئة انتقالية كما هو الحال عند عمل التخفيفات بهدف العد والعزل وعلى ذلك يتم عمل التخفيفات في محاليل ملحية ذات ضغط أزموزي قريب مما في الخلية.

ضغط أزموزي عالٍ Hypertonic

ويحدث عندما يكون الضغط الأزموزي داخل الخلية أقل منه خارجها، مثلما يحدث عندما توضع الخلية الميكروبية داخل وسط ملحي أو سكري. هذا الوضع يجعل

الخلية تفقد جزءا من مائها مما يجعل محتوياتها داخل الخلية تنكمش، ويمكن أن ينفصل الغشاء الخلوي عن الجدار الخلوي (شكل ١٠) وتسمى هذه الحالة Plasmolysis.



الشكل رقم (١٠). رسم افتراضي لشكل الخلايا البكتيرية داخل أوساط ملحية مختلفة الضغط الأزموزي.

جهد الأكسدة والاختزال Oxidation-Reduction Potential

ويعرف على أنه النسبة بين قوة الأكسدة (القدرة على استقبال الإلكترون) وبين قوة الاختزال (القدرة على منح الإلكترون) للمادة ويعبر عنه بالأحرف اللاتينية Redox ويمكن تعريفه على أنه مقياس مدى قدرة مادة معينة على استقبال أو منح الإلكترونات ويقاس هذا الجهد بوحدة المللي فولت Millivolt .

وتختلف الميكروبات بالنسبة للمدى من جهد الأكسدة والاختزال المناسب لنموها (الجدول رقم ١٣).

الجدول رقم (١٣). بعض المجاميع الميكروبية وجهد الأكسدة والاختزال المناسب لنموها

المجموعة	جهد الأكسدة والاختزال (ملي فولت)
اللاهوائية	١٠٠ — (- ٢٥٠)
الاختيارية	١٠٠ - ٣٠٠
الهوائية	٣٠٠ - ٥٠٠

تختلف الأغذية فيما بينها بالنسبة لجهد الأكسدة والاختزال (الجدول رقم ١٤)، ويعود السبب إلى تركيب المادة الغذائية وما تحتويه من مواد وبالأخص المواد المؤكسدة والمختزلة وكذا الأس الهيدروجيني، ونوع التعبئة والنمو الميكروبي. معظم الأغذية يكون جهد الأكسدة والاختزال لها موجب، وقد يكون سالبا في بعض الأغذية لوجود مواد مختزلة. معظم الأغذية ذات الجهد المرتفع تفسد بواسطة البكتيريا الهوائية غالبا. ففي حالة اللحوم مثلا، تنمو البكتيريا الهوائية على السطح حيث يتوافر Eh مرتفع، بينما يكاد ينعدم نموها داخل الأنسجة لانخفاض Eh بسبب وجود بعض المواد المختزلة وبسبب قلة الأكسجين.

الجدول رقم (١٤). يوضح قيم جهد الأكسدة والاختزال لبعض المواد الغذائية.

المادة الغذائية	الجهد		
قمح	(-٣٢٠)	-	(-٣٦٠)
بطاطس	-١٥٠		

المادة الغذائية	الجهد
عصير عنب	٤٠٩
معلبات	(-١٣٠) - (-٥٥٠)
حليب	٣٠٠ - ٣٤٠
جبن شدر	١٠٠ - ٣٠٠
جبن سويسري (عيون)	(-٥٠) - (-٢٠٠)
بيض	٥٠٠
لحم (كتل)	(-٦٠) - (-١٥٠)
لحم (مفروم)	٢٢٥
لحم معلب	(-٢٠) - (-١٥٠)

obeikandl.com