

GIDALARDA ANAEROBİK BAKTERİ SAYIMI VE LAKTİK ASİT SAYIMI

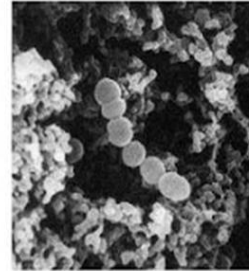
8. Hafta



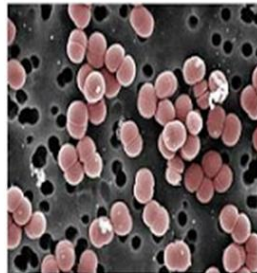
Lactobacillus



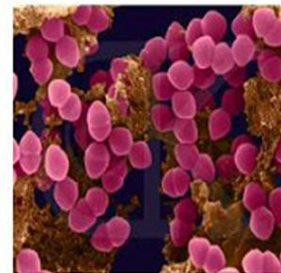
Leuconostoc



Lactococcus



Pediococcus



Enterococcus

GENEL ÖZELLİKLER

- ▶ Laktik asit bakteriler, Gram (+), hareketsiz, peritrik flagellalı, tekli veya zincir formu çubukçuklardır.
- ▶ Büyüklükleri 2 - 5 μm dir.
- ▶ Üreme Koşulları anaerob veya mikroaerofiliktir.
- ▶ Optimal üreme sıcaklıkları 30 - 40 $^{\circ}\text{C}$ dir.
- ▶ Optimal pH değeri 4.2 dir.
- ▶ Nitrat ve katalaz negatiftir.
- ▶ Bitki, sindirim sistemi ve fermente gıdalarda bulunur.
- ▶ Apatojen özelliğindedir.



Laktik asit bakterileri

- ▶ LAB lar çeşitli gıdalardaki faaliyetleri sonucu karbonhidratlardan laktik asit üretme yeteneğine sahip mikroorganizmalardır.
- ▶ Bu mikroorganizmalar cins ve tür özelliklerine bağlı olarak karbonhidratlardan laktik asit yanından **asetik asit**, **karbonhidrat**, **alkol** ve bazı **tat ve aroma maddeleri** de üretebilmektedir.
- ▶ Bu maddelerin üretimiyle çok az da olsa gıdanın kalori değerinde bir değişim söz konusu olmaktadır.

- Genel olarak laktik asit bakterileri,
 - ❖ süt ve süt ürünlerinde,
 - ❖ bitkilerde ve bitki artıklarında,
 - ❖ insan ve hayvan barsak mukozalarında bulunabilirler.

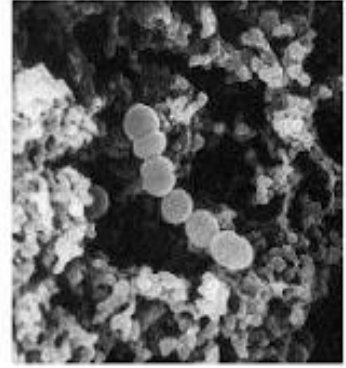
- Laktik asit bakterileri, glikozu homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere 2 şekilde katabolize ederler.



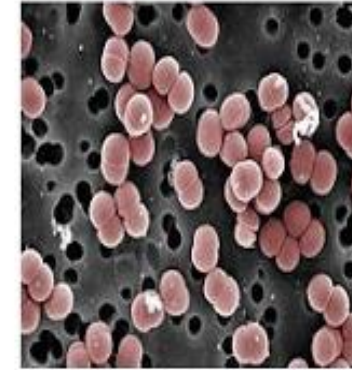
Lactobacillus



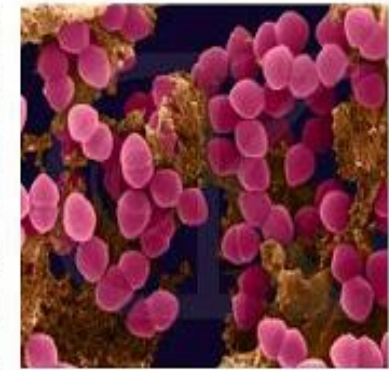
Leuconostoc



Lactococcus



Pediococcus



Enterococcus

- ▶ **1. Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri:** Glikozu EMP (Embden Meyerhoff Parnas) yolunu kullanarak parçalaması sonucu, % 90 laktik asit % 10 CO₂ oluşturan bakterilerdir.
- ▶ **2. Heterofermentatif Laktik Asit Bakterileri:** Bu tip bakteriler, glikozu HMP (Hekzozmonofosfat) yoluyla parçalayarak laktik asit yanında etanol, asetik asit ve CO₂ gibi yan ürünler oluştururlar. Laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan laktik asidin miktarı türlere göre değişmektedir .
- ▶ Laktik asit bakterilerinin bu özelliklerinden dolayı geleneksel gıdalarda ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaları sonucunda; ürünün muhafazası, duyuşal özellikleri ve besin değeriinde geliştirmeler meydana gelir.

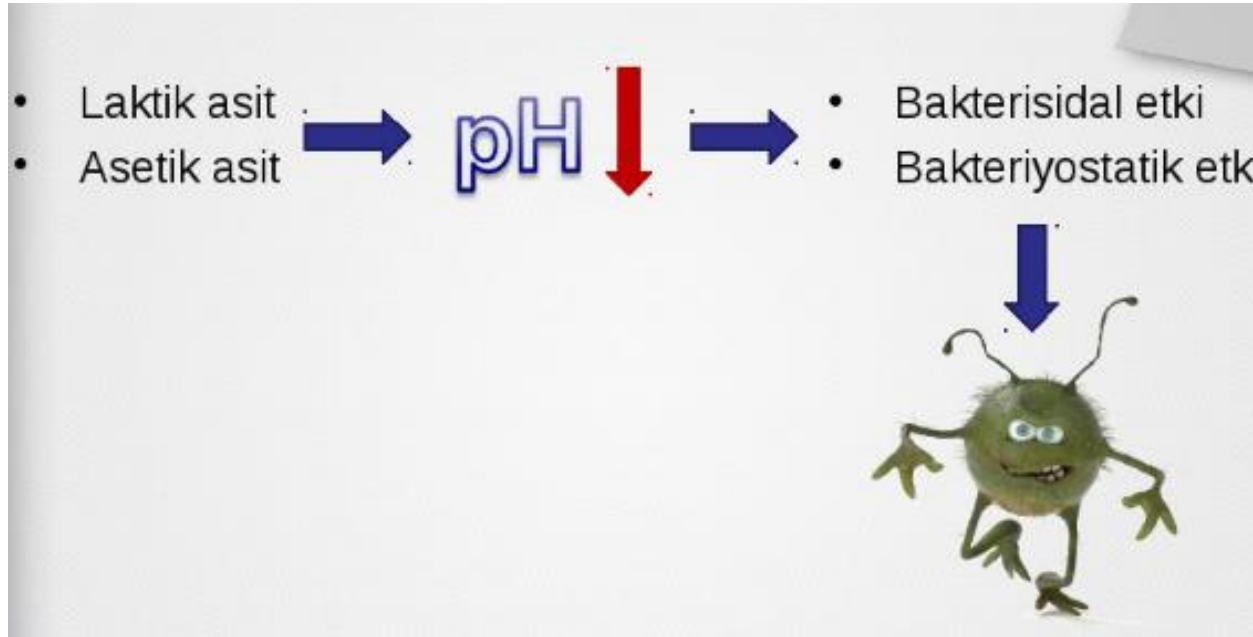
- ▶ Ayrıca laktik asit bakterileri gıdaların bozulmasında rol oynayan mikroorganizmalar ve insanlarda hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmalar üzerinde de ürettikleri **asit** ve **antimikrobiyal maddeler** (bakteriosinler v.b.) nedeniyle **antagonistik** etkiye sahiptirler.
- ▶ Bu nedenle laktik asit bakterilerinin faaliyetiyle üretilen fermente gıdalar gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonları düşünüldüğünde insan sağlığı açısından daha güvenilir gıdalar olarak kabul edilebilir.



- ▶ Laktik asit bakterileri ortamda bulunan diğer mikroorganizmaları inhibe ederek mikrobiyal açıdan güvenilir fermente gıdaların üretilmesine olanak tanımaktadır.
- ▶ LAB ların geliştikleri ortamda diğer mikroorganizmaları inhibe edici özellikleri bu bakterilerin ortamda gelişmesi sonucu ürettikleri bazı antimikrobiyal maddelerden ve oluşan koşullardan kaynaklanmaktadır. Bunlar;
 - ❖ düşük pH
 - ❖ Organik asitler
 - ❖ Bakteriyosinler
 - ❖ Hidrojen peroksitler
 - ❖ Etanol
 - ❖ Düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyeli

Düşük pH

- ▶ Fermente gıdalarda diğer molarların inhibisyonunda etkili en önemli faktörlerden biri düşük pH'dır.
- ▶ Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit nedeniyle bu gıdaların büyük çoğunluğunun pH'sı son üründe 3,5-4,5 arasında değişmektedir.



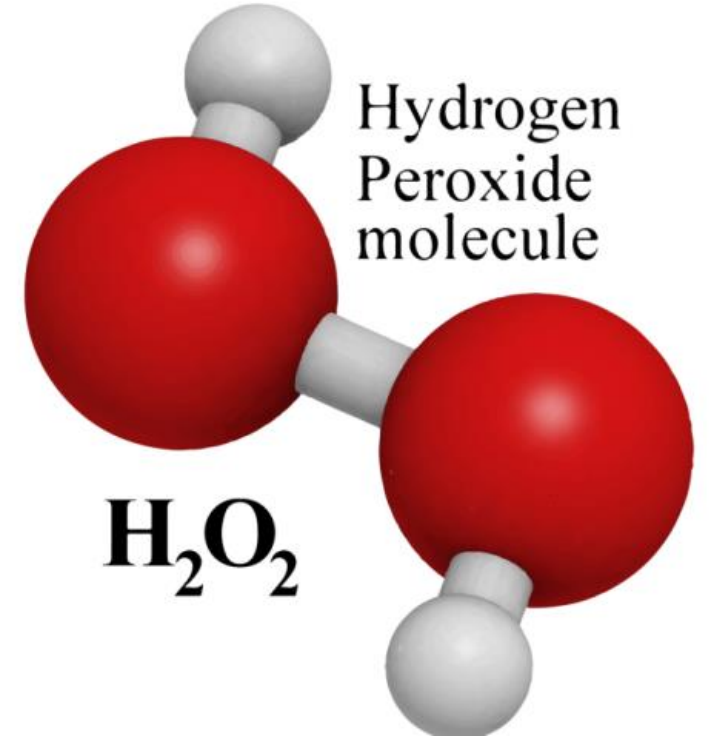
Bakteriyosinler

- ▶ Fermente gıdalarda düşük ph dışında antimikrobiyal etkiyi oluşturan en önemli faktörlerden biri fermantasyonda rol oynayan laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerdir.
- ▶ Bakteriyosinler bakteriyosidal etkili peptidler veya proteinlerdir.
- ▶ Bakteriyosinlerden en önemlisi **nisin**, *Lactococcus lactis* tarafından üretilen 34 aminoasitli bir polipeptittir ve asidik pH'larda ısıya karşı dirençlidir.



Hidrojen Peroksit

- ▶ Fermente gıdalarda patojenler ve bozulmaya neden olan molar üzerindeki diğer bir antimikrobiyal etki de yine laktik asit bakterileri tarafından üretilen hidrojen peroksitten kaynaklanmaktadır.
- ▶ Laktik asit fermantasyonları anaerobik proseslerdir ve bu ortamlarda hidrojen peroksit oluşumu fermantasyonun başlangıcında substratta çözünen oksijen konsantrasyonu ile sınırlıdır.
- ▶ Ortamda bulunan diğer moların inhibe edilebilmeleri açısından fermantasyonun en kritik dönemi olan başlangıç aşamasında laktik asit bakterileri tarafından üretilen hidrojen peroksit seçici bir ortam yaratmaktadır.



Prebiyotik ve Probiyotikler

► Probiyotik: Vücutta sindirim sisteminde bulunarak sağlık üzerine faydalı etkilerde bulunan canlı mikrobiyal gıda katkısı.

► Tüketici sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan mikroorganizmaları içeren veya bu mikroorganizmalar tarafından üretilmiş gıdalar olarak tanımlanır.

- Yoğurt vb fermente ürünler
- İçecekler
- Süttozu
- Dondurulmuş tatlı vb ürünler

Probiyotik Besinler:

Kefir

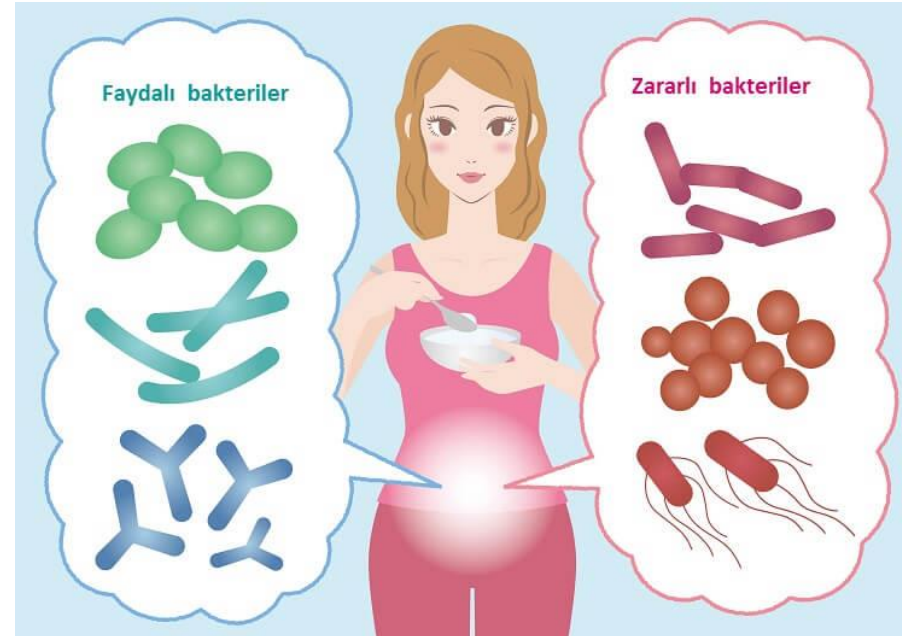
Yoğurt

Turşu

Sirke

Boza

Peynir



Prebiyotik ve Probiyotikler

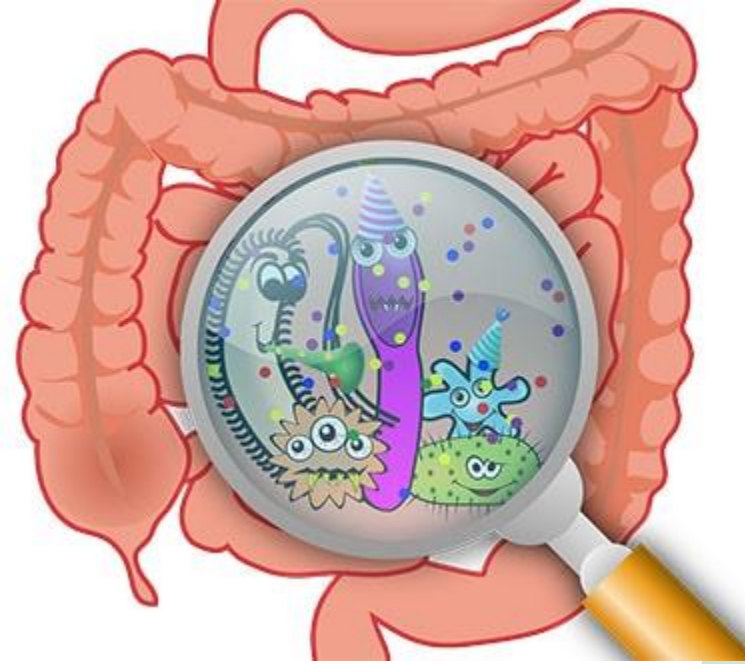
- ▶ Probiyotiklerin gelişimi, ortamda oligosakkarit olarak bilinen kompleks karbonhidratların bulunmasına bağlıdır.
- ▶ Probiyotiklerin gelişimi, ortamda oligosakkarit olarak bilinen kompleks karbonhidratların bulunmasına bağlıdır.

- ▶ Oligosakkaritler (kısa zincirli karbonhidratlar) prebiyotik olarak bilinir ve kalın barsakta patojen bakterilerin sayısını sınırlayan, probiyotik bakterilerin ise gelişimini destekleyen sindirilemeyen gıdalar olarak tanımlanır.
- ▶ Prebiyotikler; bifidobakteriler, laktobasiller ve eurobakteriler gibi insan sağlığı için önemli bakterilerin gelişimini stimüle ederler.



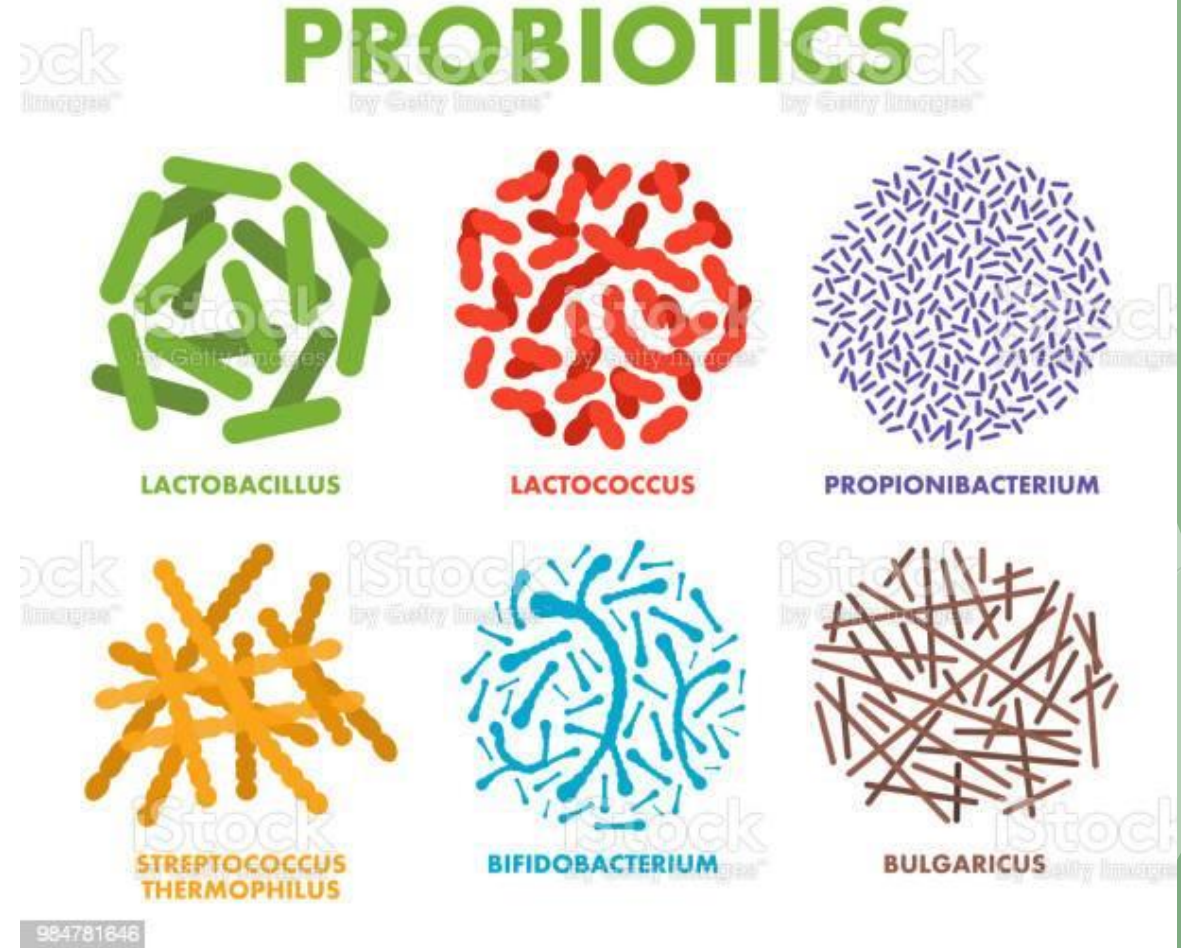
Bir mikroorganizmanın **probiyotik** olarak kabul edilebilmesi için sahip olması gereken özellikler:

- ▶ Asit ve safra tuzu toleransı
- ▶ Antagonizm
- ▶ Tutunma özellikleri
- ▶ Proteolitik aktivite
- ▶ β -D-galaktosidaz aktivitesi



Dünyada yaygın olarak kullanılan probiyotik laktik asit bakterileri:

- ▶ *L. acidophilus*
- ▶ *L. bulgaricus*
- ▶ *L. lactis*
- ▶ *L. plantarum*
- ▶ *L. rhamnosus*
- ▶ *L. reuteri*
- ▶ *L. casei*
- ▶ *L. paracasei*
- ▶ *L. fermentum*
- ▶ *L. helveticus*



Asit ve safra tuzu toleransı

- ▶ Probiyotik organizmalar midedeki asidik koşullar (pH=1,5) ile sindirim sistemindeki safra tuzu konsantrasyonunda canlı kalabilmelidir.
- ▶ Probiyotik organizmalar için en önemli seçim kriteridir
- ▶ Bütün probiyotik organizmaların asit ve safra tuzunu tolere edebileceği genellenemez.



Antagonistik Etki:

- ▶ Probiyotik bakteri kombinasyonu kullanılmadan önce, bakterilerin birbirlerine karşı antagonistik etkileri kontrol edilmelidir.
- ▶ Yoğurt bakterilerinin probiyotik bakterilere karşı bakteriyosin üretmeleri
- ▶ *L. acidophilus* ve *L. casei* tarafından laktik asit üretilmesi



Tutunma

- ▶ En önemli seçim kriterleri arasındadır.
- ▶ Bağırsaklara tutunmaları, koloni oluşturmaları ve çoğalabilme özelliklerini tanımlar.
- ▶ Bütün probiyotik organizmalarda bu özellik bulunmaz.



Bifidobakteriler özellikle kalın bağırsak olmak üzere bağırsakların çok az bölümünde bulunurken, *L. acidophilus* daha fazla bölümünde bulunabilmektedir

Proteolitik aktivite

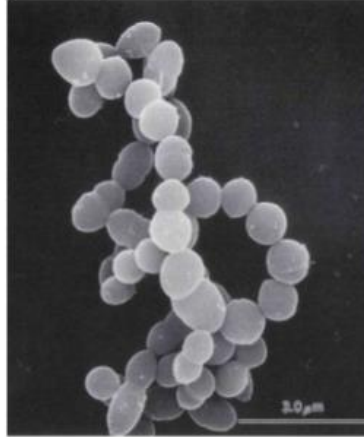
- ▶ Yoğurt bakterileri (*Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus*, *L. Delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) yüksek proteolitik aktiviteleri ve simbiyotik ilişkilerinden ötürü esansiyel amino asitleri üretirler. Bu bakteriler sütte çok hızlı gelişirler.
- ▶ Probiyotik bakterilerin proteolitik aktiviteleri ise daha düşüktür. Sütteki gelişmeleri yavaşdır.
- ▶ Yoğurt bakterilerinin probiyotik ürünlere katılarak fermentasyon süresinin kısaltılması yaygın bir uygulamadır.
- ▶ Yoğurt bakterileri ile karıştırıldığında, probiyotik bakterilerin fermentasyon süresi 24 saate inerken, yoğurt bakterileri için bu süre yaklaşık 4 saattir.

β -D-galaktosidaz aktivitesi

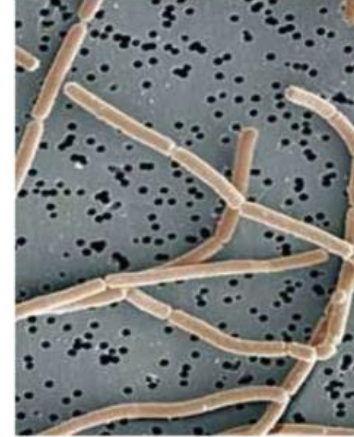
- ▶ Yoğurt bakterileri probiyotik bakterilerden daha fazla β -D-galaktosidaz aktivitesine sahiptirler.
- ▶ Yoğurt ve probiyotik bakteriler birlikte kullanıldıklarında, probiyotik bakterilerden daha hızlı geliştikleri için, proteolitik ve β -D-galaktosidaz aktiviteleri daha yüksektir.

Yoğurt Bakterileri

Streptococcus salivarius ssp thermophilus

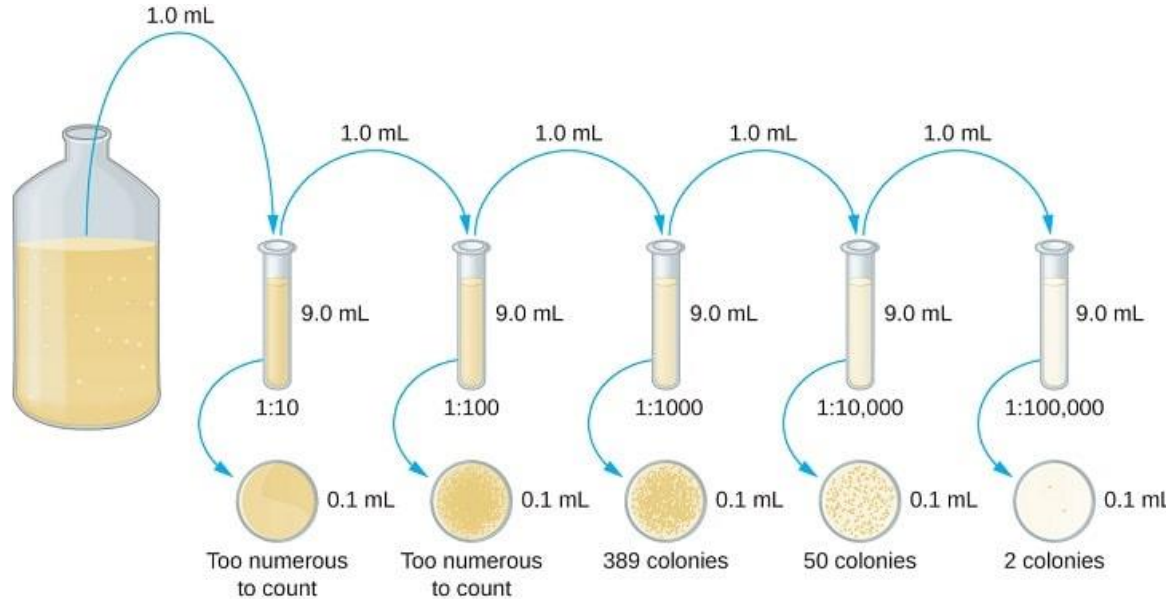


Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus



DENEY

- ▶ 10 g numune hassas terazide tartılarak steril poşet veya kavanoza konulur.90 ml peptonlu su ile 1 / 10 oranında homojenize edilir.
- ▶ Her gıda-içecek numunesinin Özel Şartnamesinde belirtilen sınır kadar dilüsyonlar hazırlanıp en son dilüsyondan MRS besiyerine, dökme plak (1 ml), yayma plak (0.1 ml) veya damla plak (0.05 ml) yöntemlerinden birisi seçilerek ekim yapılır.



- ▶ Ekim yapılan besiyerleri 37 °C'de 72 saat anaerob kořullarda inkübe edilir.
- ▶ Kolonilerin değerlendirilmesi: Inkubasyondan sonra MRS de üreyen beyaz opak renkli koloniler sayılır. Sonuçlar rapora yazılmak üzere kaydedilir.
- ▶ Deneyi devam eden numuneler Gıda Mikrobiyoloji Laboratuvarında numuneler için tahsis edilmiş soğutucuya konulur. Sonuç çıkana kadar burada bekletilir.



Rapor Gönderim Koşulları ve Örnek Rapor Şablonu

Genel Mikrobiyoloji Lab. Gülsüm Batman 1030604225 1.Haft...

Kime [erciyesgida <erciyesgidamikrolab@gmail.com>](mailto:erciyesgida<erciyesgidamikrolab@gmail.com>) bu adrese mail gönderilecek Cc Bcc

Genel Mikrobiyoloji Lab. Gülsüm Batman 1030604225 1.Hafta Raporu 10/10/2020

Merhaba Hocam,
Genel Mikrobiyoloji Lab. Dersi 1. Hafta Raporum ektedir.

Gülsüm Batman
1030604225

Mail başlığı bu şekilde olacak

- Dersin Adı
- Ad Soyad
- Öğrenci No
- Raporun Haftası
- Rapor Gönderim Tarihi

mail içeriğine ekinizi ekleyerek bu şekilde bir içerik ekleyiniz.

Gönder

Windows'u Etkinleştirin
Windows'u etkinleştirmek için

Deney No: 4

Ad Soyad - No: Hanide Nur Şeker - 1030610759

Deneyin Adı: En Muhtemel Sayı Yöntemi (EMS)

Deneyin Amacı: Mikrobiyal yükün az olduğu düşünülen (steril) gıdalarda mikroorganizma sayısının hesaplanması.

→ Mikrobiyal yükün az olduğu düşünülen (steril) gıdalarda (MHT süt, konserve-ler...) yapılan bir sayım yöntemidir. Yöntemin esası, ardışık 3 seyreltiden 3'er adet sıvı besiyerine 1'er ml ekim, inkübasyon sonunda tüplerin pozitif ya da negatif olarak değerlendirilmesi ile elde edilecek kodun, istatistik yöntemlerle elde edilmiş çığelgeden okunmasıdır.

→ Yöntemin "En Muhtemel Sayı" olarak adlandırılma nedeni; yukarıda da yazıldığı gibi, örnekteki mikroorganizma sayısının istatistiksel olarak hesaplanması ile elde edilen çığelgelerden yararlanılarak hesaplanmasıdır. Ekimi yapılan tüpe en az 1 adet canlı hücre geçer ise bu tüp inkübasyon sonunda pozitif sonuç, aksine tüpe 1 adet bile canlı hücre geçmez ise inkübasyon sonunda bu tüp negatif sonuç verir.

→ Bu yöntemde her zaman sıvı besiyeri kullanılır, katı kullanılmaz. Petriye ekim yapılırsa doğru olmaz. Besiyeri olarak FTS ve PBS ortamları kullanılır. Bu ortamlarda mikroorganizmalar ne gelişir ne de ölür.

Deneyin Yapılışında Kullanılan Malzemeler:

- Numune → Mikro Pipet
- Tüp (içerisinde 9 ml dilüsyon sıvısı) → Besiyeri
- Bek Alevi → Stmacher

Deneyin Yapılışı:

→ Gıda örneği 1:9 oranında homojenize edilip (10^{-1}) (10 gr/ml örnek alınır 90ml sıvıda çözümler stmacherde) bundan standart yöntemle devam edilerek 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ... beklenen sayıya göre seyreltiler elde edilir. (Ardışık)

→ Daha sonra 3 tane seyreltilmiş çözeltili seçiyoruz, daha sonra 3 adet besiyerine her birinden 3 adet ekim yapılır. Daha güvenli sonuçlar elde edilmek isteniyorsa 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} olmak üzere ardışık 4 seyreltiden ekim yapılarak sonuçlara göre EMS çığelgesinde kullanılarak ardışık üç seyreltiler seçilir.

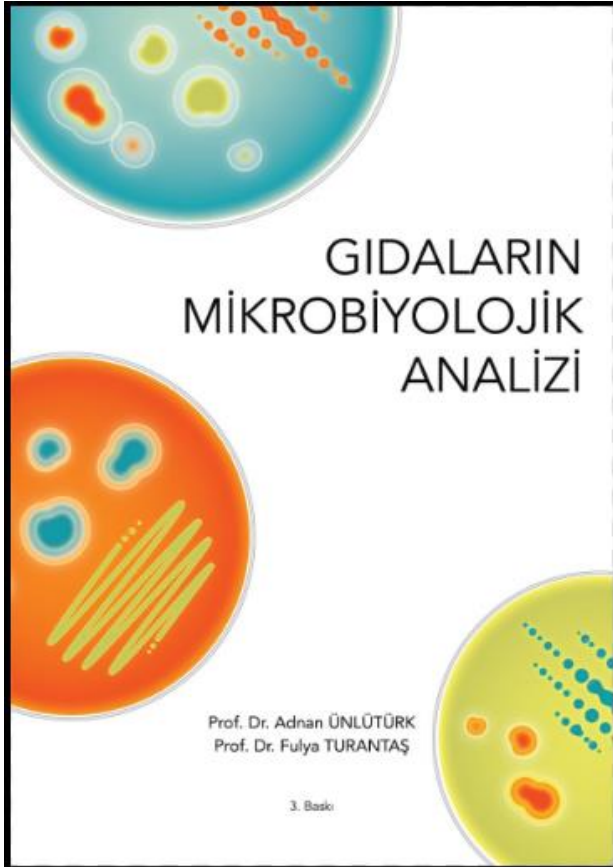
→ Daha sonra tüpler inkübasyona bırakılır. 37 °C'de 24 saatın sonunda bakılır.

→ Tüplere ekim yapılırken 10^{-3} 'lükten 0.01 ml alınırsa 10^{-4} 'ten 0.1 ml alınmalıdır bunun sebebi ortamın mikrobiyal yüklerini eşitlemektir.

Sonuç

Kaynaklar

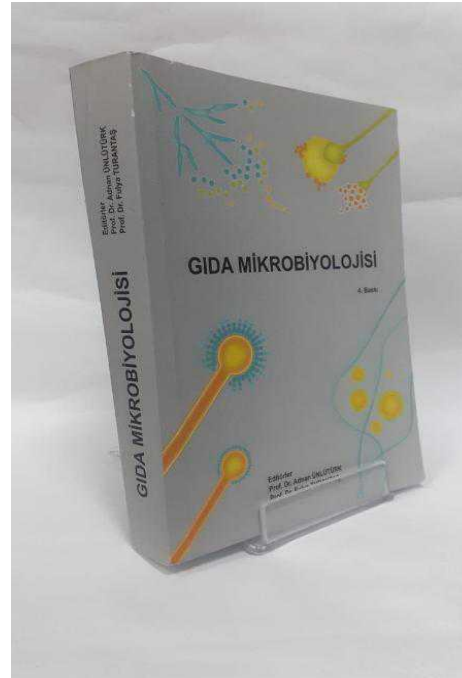
Ana Kaynak



sidasmedya@gmail.com

Diğer Kaynaklar

1. MEGEP Gıda Teknolojisi Laboratuvar Organizasyonu ve Laboratuvar Hizmetleri Föyü
2. <https://gida.erciyes.edu.tr/upload/IVKSWT4laktik-asit-bakteri-sayimi.pdf>
3. <https://genderi.org/probiyotikler.html>



TEŞEKKÜRLER