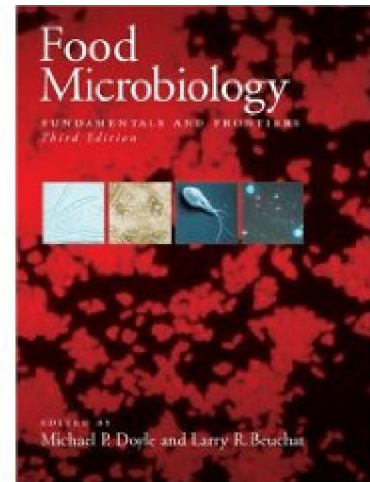




Besin Mikrobiyolojisine Giriş



Besin mikrobiyolojisine giriş

Mikroorganizmalar tüm biyosferde yaşarlar:

Suda: okyanuslar, göller, göletlerde, şelalelerde, bataklılarda, hatta yağmur bulutlarında!

Karada: Toprak ve kayalarda (hem içinde hem de dışında)

Ara katmanlarda: tüm su diplerinde, yeraltı sularında

Hayvan ve bitkilerin içinde ve dışında

Mikroorganizmalar

- ekmek,
 - peynir,
 - bira,
 - antibiyotik,
 - aşı,
 - vitamin,
 - enzim vs.
- yapımı için gereklidirler.

Mikroorganizmalar:

- Bakteri
- Mantar
 - Maya
 - Küf
- Protozoon
- Alg
- Çok hücreli parazit

Ve yaşamayan

- Virus
- Prion



- **Antony van Leewenhoek (1632 - 1723)**
ilk mikroskopu bulan, mikroorganizmaları
ilk gözleyen ve tarif eden kişi.

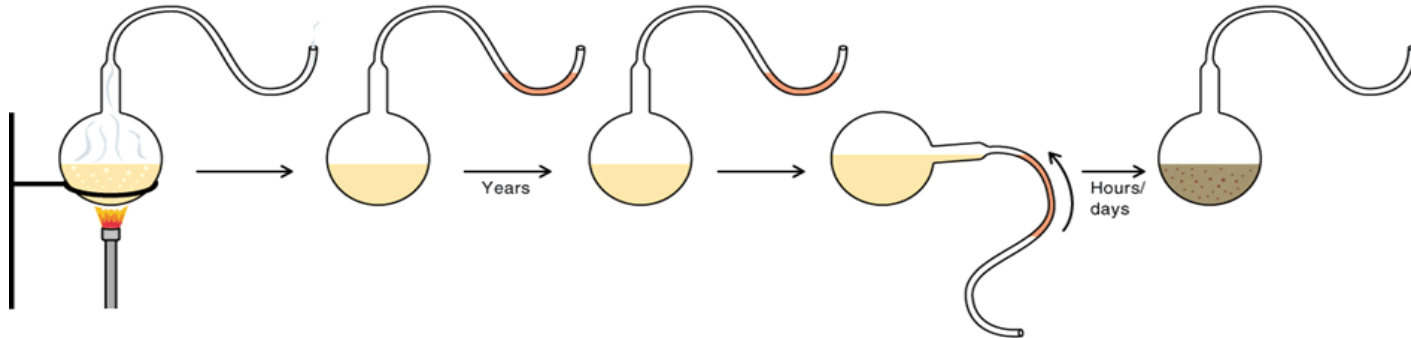
TARİHÇE

- **Berkeley and Pasteur** - mikroorganizmalar hastalık oluşturur.
- - **Joseph Lister** - cerrahi operasyonların steril yapılmasını sağladı.
- **Robert Koch (1843 - 1910)** *Bacillus anthracis* ile şarbon arasındaki ilişkiyi gösterdi ayrıca verem basilini izole etti.
- **Charles Chamberland (1851-1908)** virusları keşfetti ve hastalığındaki rollerini gösterdi.

Louis Pasteur (1822 - 1895)



- Su çiçeği, şarbon ve kuduz aşılarını geliştirdi.
- Tüm fermentasyonların özel maya ve bakterilere bağlı olduğunu gösterdi.
- Şarap saklanması için Pastörizasyonu geliştirdi.
- Fermentasyon yapan mikroorganizmaların anaerobik olduklarını ve oksijen varlığını yaşayamadıklarını gösterdi. Fermentasyonun özel maya ve bakteriler tarafından yapıldığını gösterdi.

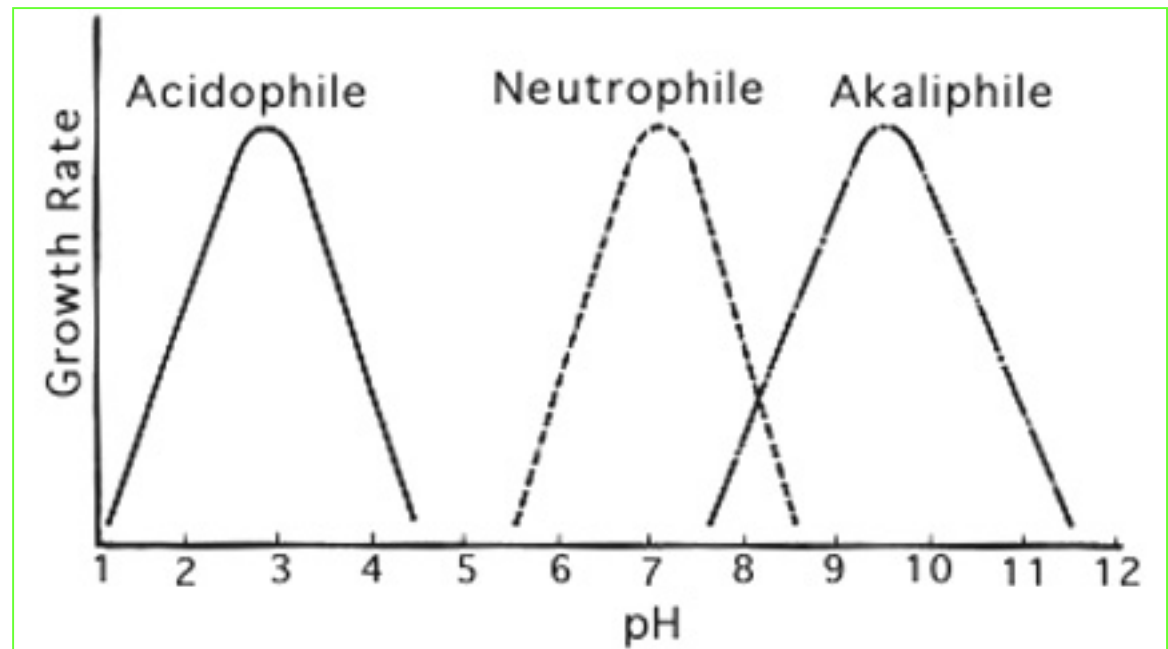


Besinlerde Mikroorganizma Üremesini Etkileyen Faktörler:

- ✓ Besinlerde doğal olarak bulunan, üremeyi arttıran veya azaltan maddeler
- ✓ Besin koruyucusu olarak eklenen maddeler
- ✓ Besinin oksidasyon-redüksiyon potansiyeli
- ✓ Besindeki su aktivitesi
- ✓ Besindeki hidrojen iyonu aktivitesi (pH)
- ✓ Ortamın sıcaklığı
- ✓ Ortamdaki gazların bileşimi ve yoğunluğu

Fiziksel Faktörler

- pH
 - Asidofiller, Nötrofiller, Alkalifiller





Hidrojen iyon yoğunluğu

- $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$, 0-14
 - Asidik < 5.0
 - Nötral = 6-8
 - Alkali > 8.0
- Birçok bakteri pH 7'de yaşamlarını sürdürür.
 - Laboratuvarlarda uygun pH aralığının sağlanması için tamponlanmış besiyerleri kullanılır.

Hidrojen iyonu yoğunluğu

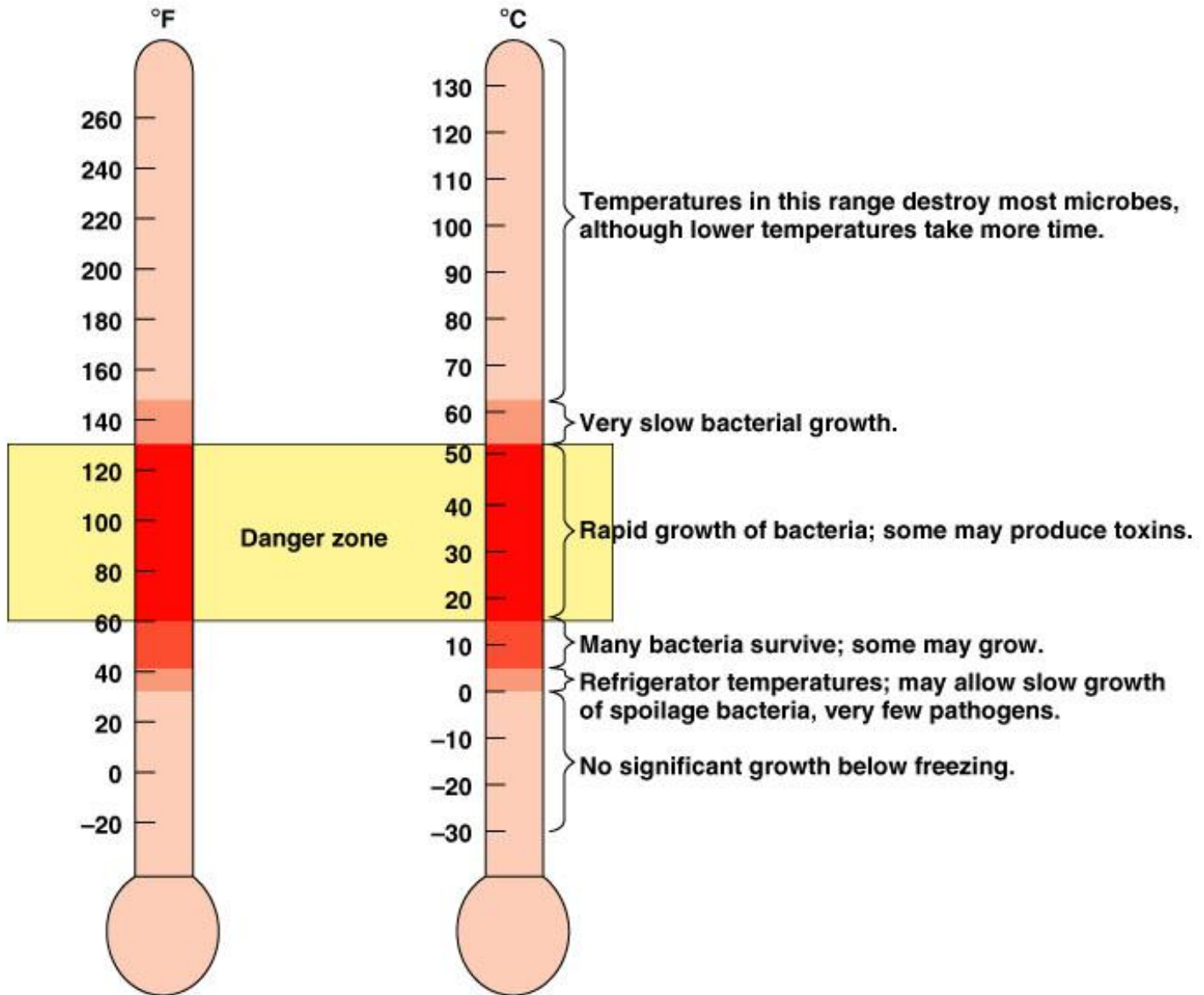
- **Asit ortam;**
 - Maya, küf, laktobasil
- **Nötral ortam;**
 - Birçok patojen bakteri türleri
- **Alkali ortam;**
 - *Vibrio cholerae*, *Mycoplasma*, toprak bakterileri

pH

pH	[H ⁺] (Molarity)		Environmental examples	Microbial examples
0	10 ⁻⁰ (1.0)	Increasing acidity 	Concentrated nitric acid	<i>Ferroplasma</i> <i>Picrophilus oshimae</i>
1	10 ⁻¹		Gastric contents, acid thermal springs	<i>Dunaliella acidophila</i>
2	10 ⁻²		Lemon juice Acid mine drainage	<i>Cyanidium caldarium</i> <i>Thiobacillus thiooxidans</i> <i>Sulfolobus acidocaldarius</i>
3	10 ⁻³		Vinegar, ginger ale Pineapple	
4	10 ⁻⁴		Tomatoes, orange juice Very acid soil	
5	10 ⁻⁵		Cheese, cabbage Bread	<i>Physarum polycephalum</i> <i>Acanthamoeba castellanii</i>
6	10 ⁻⁶	Neutrality 	Beef, chicken Rain water Milk Saliva Pure water Blood	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Euglena gracilis</i> , <i>Paramecium bursaria</i>
7	10 ⁻⁷			<i>Staphylococcus aureus</i>
8	10 ⁻⁸		Seawater	<i>Nitrosomonas</i> spp.
9	10 ⁻⁹		Strongly alkaline soil Alkaline lakes	
10	10 ⁻¹⁰	Soap	<i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Bacillus alcalophilus</i>	
11	10 ⁻¹¹	Household ammonia		
12	10 ⁻¹²	Saturated calcium hydroxide solution		
13	10 ⁻¹³	Bleach Drain opener		
14	10 ⁻¹⁴	Increasing alkalinity		

Fiziksel Faktörler

- **Sıcaklık**
 - Psikofiller, Mezofiller, Termofiller
 - Üreme eğrisi
- Aralık: $-12 / 110^{\circ}\text{C}$
- Tipik bakterilerde aralık $30-40^{\circ}\text{C}$
 - Geniş değişkenlik gösterir
 - *Bacillus licheniformis* ($10-50^{\circ}\text{C}$)
 - *Neisseria gonorrhoeae* ($36-38^{\circ}\text{C}$)



Sıcaklık

- Psikofiller

- Bazı toprak ve deniz bakterileri
- -8/+15 °C
- Zorunlu psikofil (30 °C'de ölürleri)
- Değişken psikofil (30 °C'ye dayanıklı)
- Soğuk yiyeceklerde üreme
 - *Listeria* üremesi

Sıcaklık

- **Mezofiller**

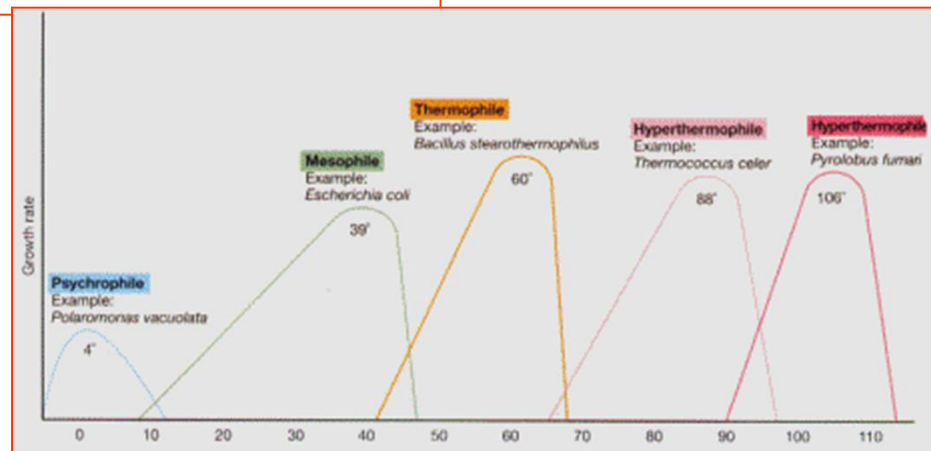
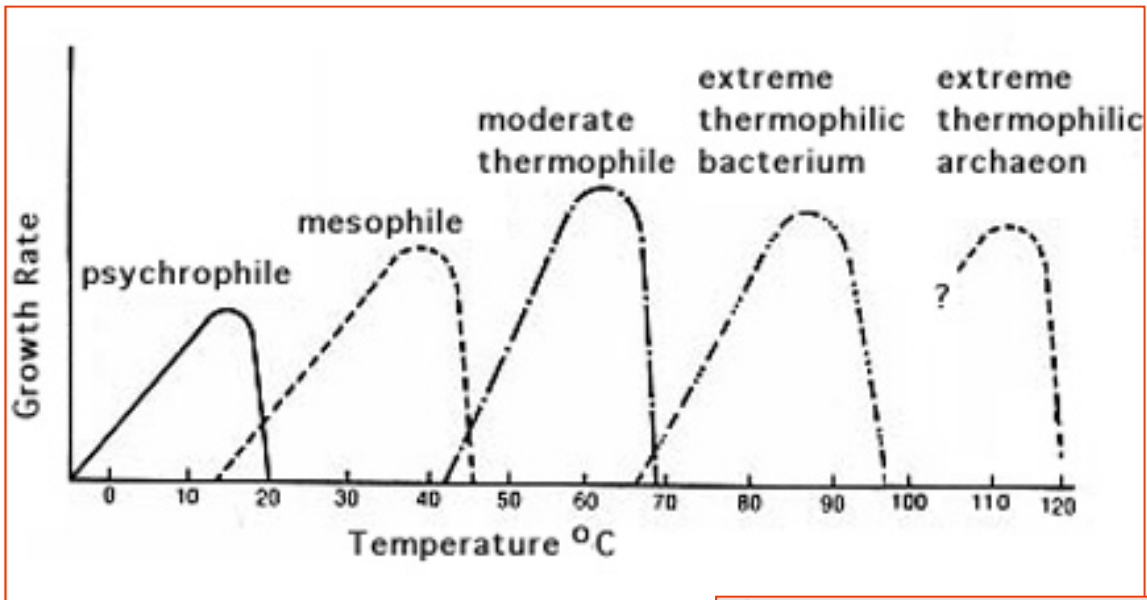
- Sıcak kanlı hayvan ve insanlarda hastalık yapan bakteriler
- +20/+45 °C
- Patojen bakteriler; 37 °C

Sıcaklık

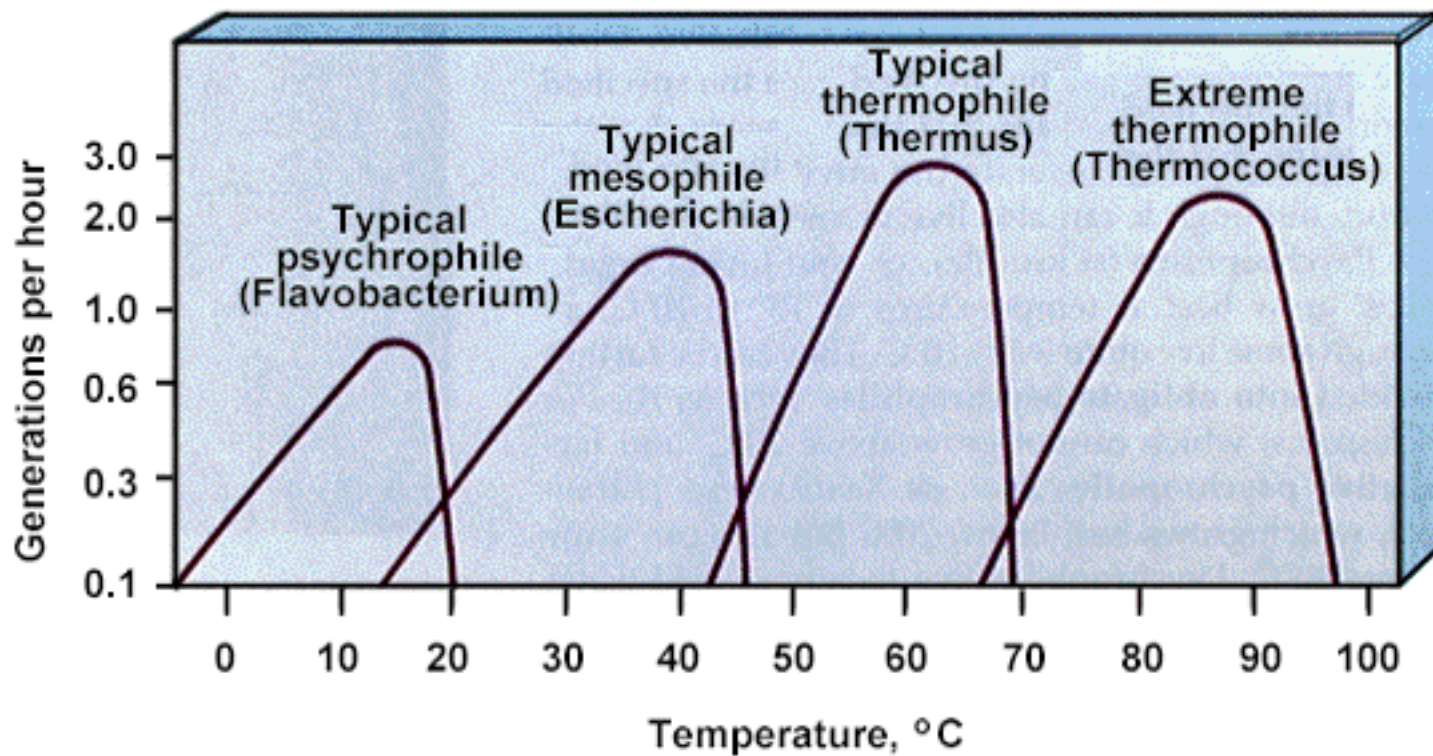
- **Termofiller**

- Sıcak kükürtlü su çevresinde, sütte, toprakta, gübrede
- +50/+70 °C'de yaşarlar

Sıcaklık



Sıcaklık



Tuz Konsantrasyonu

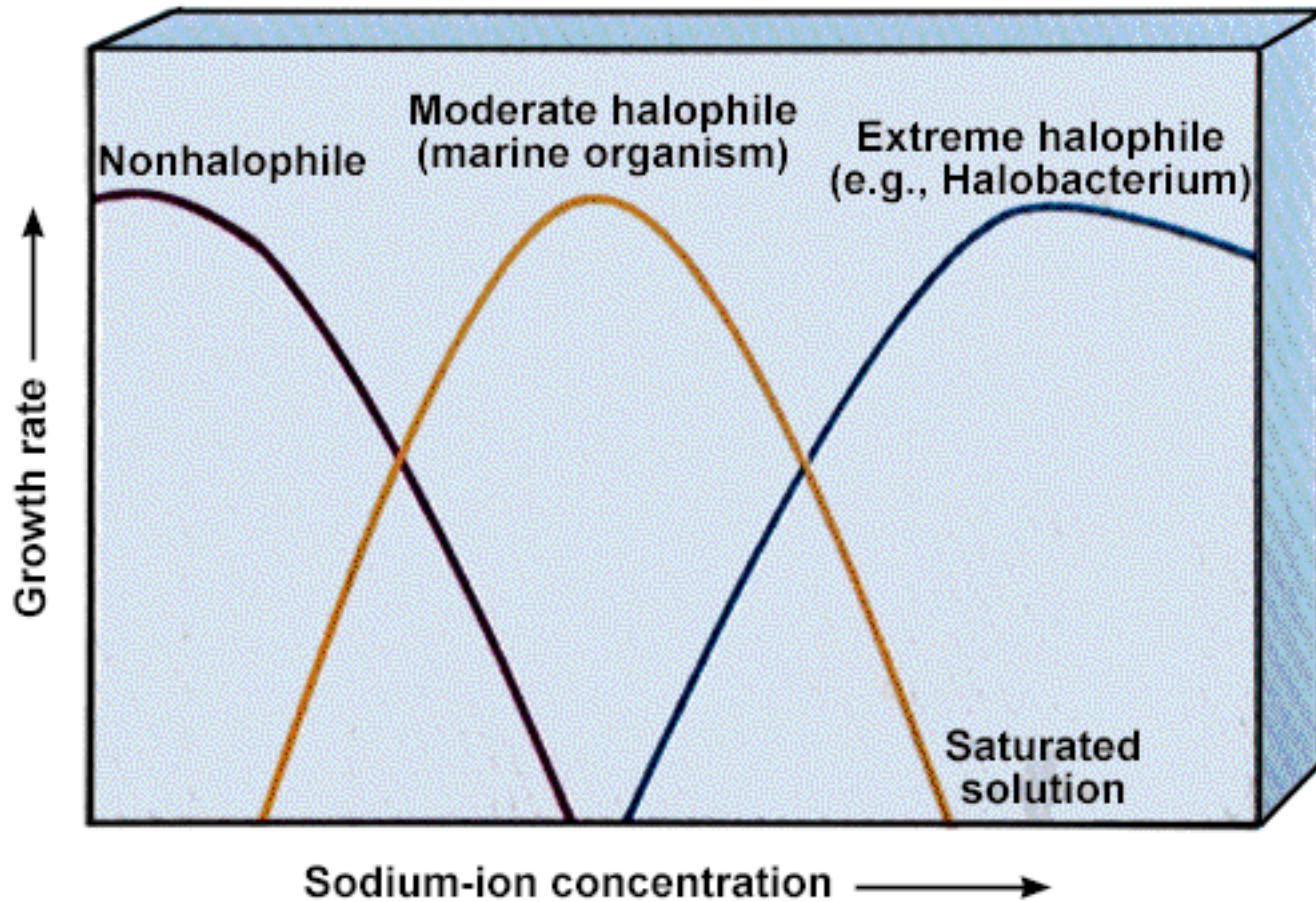
- Yüksek tuz konsantrasyonuna sahip çevrelerde su hücre dışına hareket eder
- Yüksek tuz konsantrasyonu bakteri metabolizmasını bozar
- Engellenmezse plazmolizise yol açar
 - Dehidrasyon ve büzüşme
 - Hücre membranında hasar
- Örnekler
 - Tuz Gölü, Ölü Deniz
 - Soda Gölleri

Tuz Konsantrasyonu

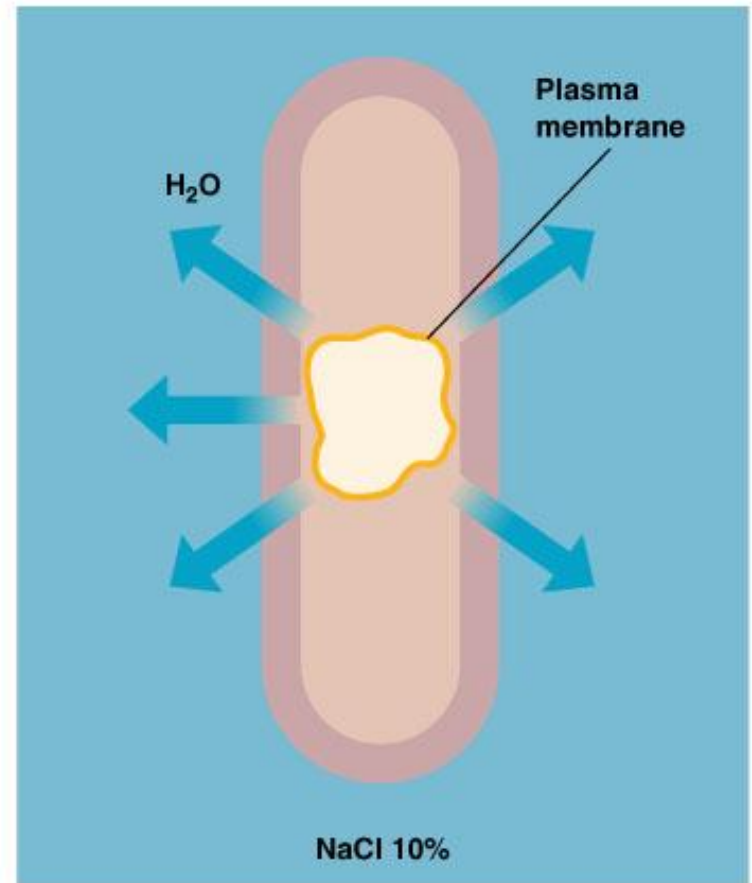
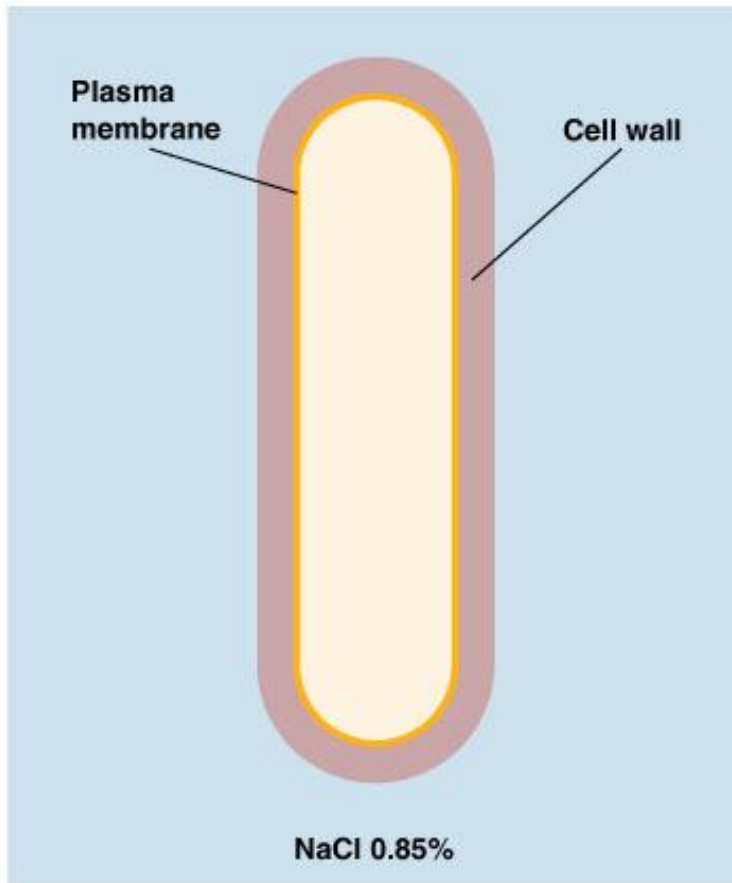
Ozmolariteye göre sınıflandırma

- **Halotoleran**
Düşük tuz konsantrasyonlarında ürer fakat yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklıdır
 - **Halofil**
Yüksek tuz konsantrasyonlarına ihtiyaç vardır
 - **Yüksek Halofil**
Yüksek tuz konsantrasyonuna gereksinim duyar ($> 4 \text{ M}$)
 - **Ozmofil**
Kuru çevrelerde yaşayan bakteriler
Yüksek şeker konsantrasyonunda yaşayan mayalar
 - **Xerofil**
Birçok bakterinin $a_w=0.98$. Yiyeceklerin korunmasında kurutma yöntemi kullanılmasının nedeni budur.
- **Water activity (a_w)**: suyun yeterliliğinin kantitatif olarak saptanması

Tuz Konsantrasyonu



Tuz Konsantrasyonu



Oksijen Gereksinimleri

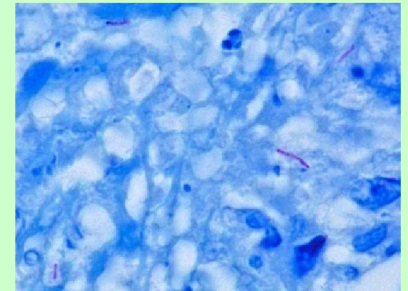
Aerop Bakteriler

- $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (Katalaz)
- $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ (Süperoksit dismutaz)



- **Zorunlu aeroplara**
Oksijen şarttır

- *Bacillus subtilis*,
- *Mycobacterium tuberculosis*,
- *Bacillus anthracis*,
- *Corynebacterium diphtheriae*



Mikroaerofil bakteriler

- %1-4 O_2 veya %5-10 CO_2 'li ortamda ürerler.
 - Metabolizmaları sırasında oksijene gereksinim duyarlar, fakat atmosferik yoğunlukta (%21) yaşayamazlar
 - **Mikroaerofiller**
 - *Brucella abortus*
 - *Campylobacter jejuni*

Fakültatif anaerop bakteriler

- Oksijen varlığında aerobik solunum
- Oksijen yokluğunda fermentasyon veya anaerobik solunum mekanizmalarını kullanırlar.

Fakültatif anaeroplara

Var olması halinde kullanırlar, yokluğunda üreme devam eder.

- *Salmonella*,
- *Shigella*,
- *Streptococcus*,
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella*,
- *Proteus*

Anaerop bakteriler

- Oksijeni kullanamazlar ve varlığında ölürlər
- Katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri yoktur.
 - Zorunlu anaeroplər
 - *Clostridium*,
 - *Fusobacterium*,
 - *Bacteriodes*,
 - *Peptococcus*,
 - *Peptostreptococcus*

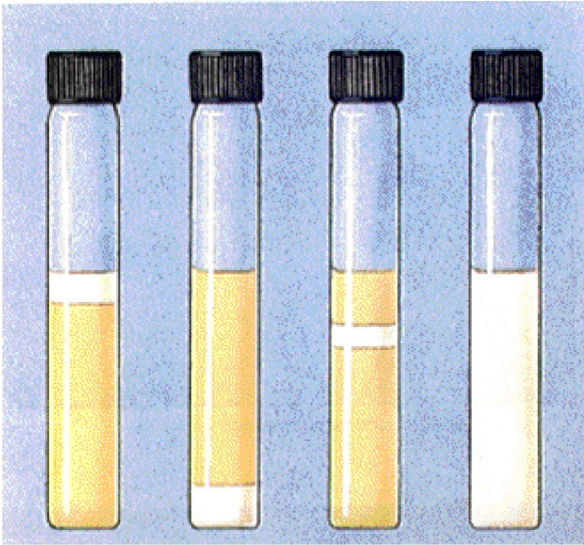
Sıvı Tiyoglikolat Besiyeri

- Pepton, maya ekstreleri, glukoz
- Tiyoglikolat- O_2 bağlar
- Agar-oksijenin yavaş difüzyonu
- Rezasurin- O_2 indikatörü

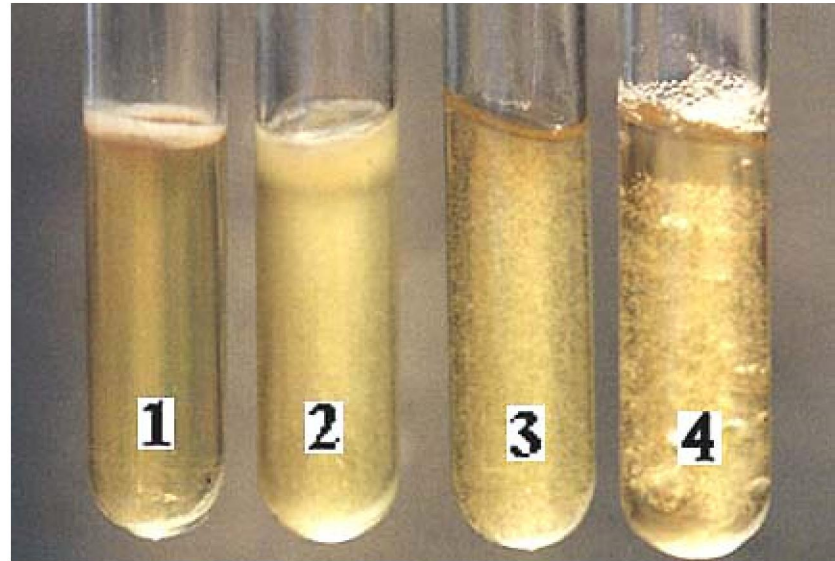
Tiyoglikolat besiyeri

- Oksijenin girişini önlemek için redükleyici ajanlar içerir
 - Tiyoglikolik asit, sistein, agar
 - Birçok mikroorganizmanın üremesi için zengin besiyeri
- Oksijen yalnız tüpün 1/3 üst kısmına kadar penetre olmaktadır
- Aerop - oksijen gereksinimi gösterir
- Fakültatif - oksijeni kullanır/ kullanmaz
- Aerotoleran -kullanmaz fakat etkilenmez
- Anaerop - oksijen varlığında yaşayamaz

Tiyoglikolat Besiyeri



Obligate
aerobe Obligate
anaerobe Micro-
aerophile Facultative
anaerobe



1. Ekilmemiş
2. Aerop
3. Fakültatif
4. Anaerop



**Obligate
aerobe**



**Facultative
anaerobe**



**Aerotolerant
anaerobe**



**Strict
anaerobe**



Microaerophile

Üremenin Hızı

Genetik faktörler

- Enzimlerin hızı
- Metabolizmanın hızı

Çevresel Faktörler

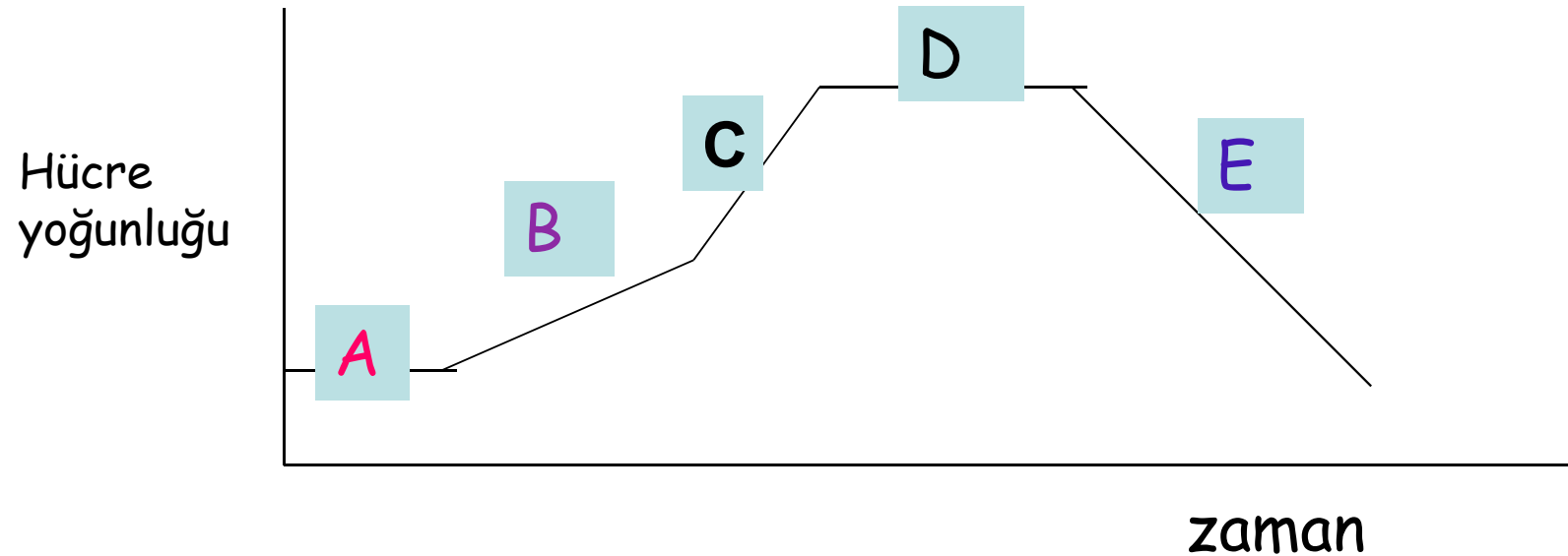
- Besinlerin sağlanması
- Sıcaklık
- Oksijen konsantrasyonu

- *E. coli* ideal koşullarda 20 dakikada bir
- *Mycobacterium türleri* 12-24 saatte bir çoğalmaktadır

Dönem

Üreme hızı

- A-Gizli (latent) Sıfır
- B-Hızlanma Artar
- C-Logaritmik artış Sabit
- D-Duraklama Bakteri ölümü ile dengeli
- E-Azalma ve ölüm Sıfır



Gizli (latent) dönem: Yeni ortama uyum

- Çoğalma yok
- Hacim büyür, enzim ve ara maddeler sentezlenir
- Dönemin süresi mikroorganizmaya bağlı

Üremenin hızlandığı dönem:

- Uygun koşullar
- Dönem sonunda rejenerasyon zamanı minimuma ulaşır

Logaritmik üreme dönemi:

- Bakteri sayısı maksimuma ulaşır
- Üreme hızı sabit
- Hücreler küçük
- Fiziksel ve kimyasal etkilere duyarlılar
(biyoaktiviteleri yüksek)

Besiyerinde oksijen ve besinlerin azalması, toksik metabolitlerin birikimi ile dönem biter

Üremenin durma dönemi

- Besin azlığı ve metabolitlerin birikimi ile bakteri çoğalması-ölümü dengede

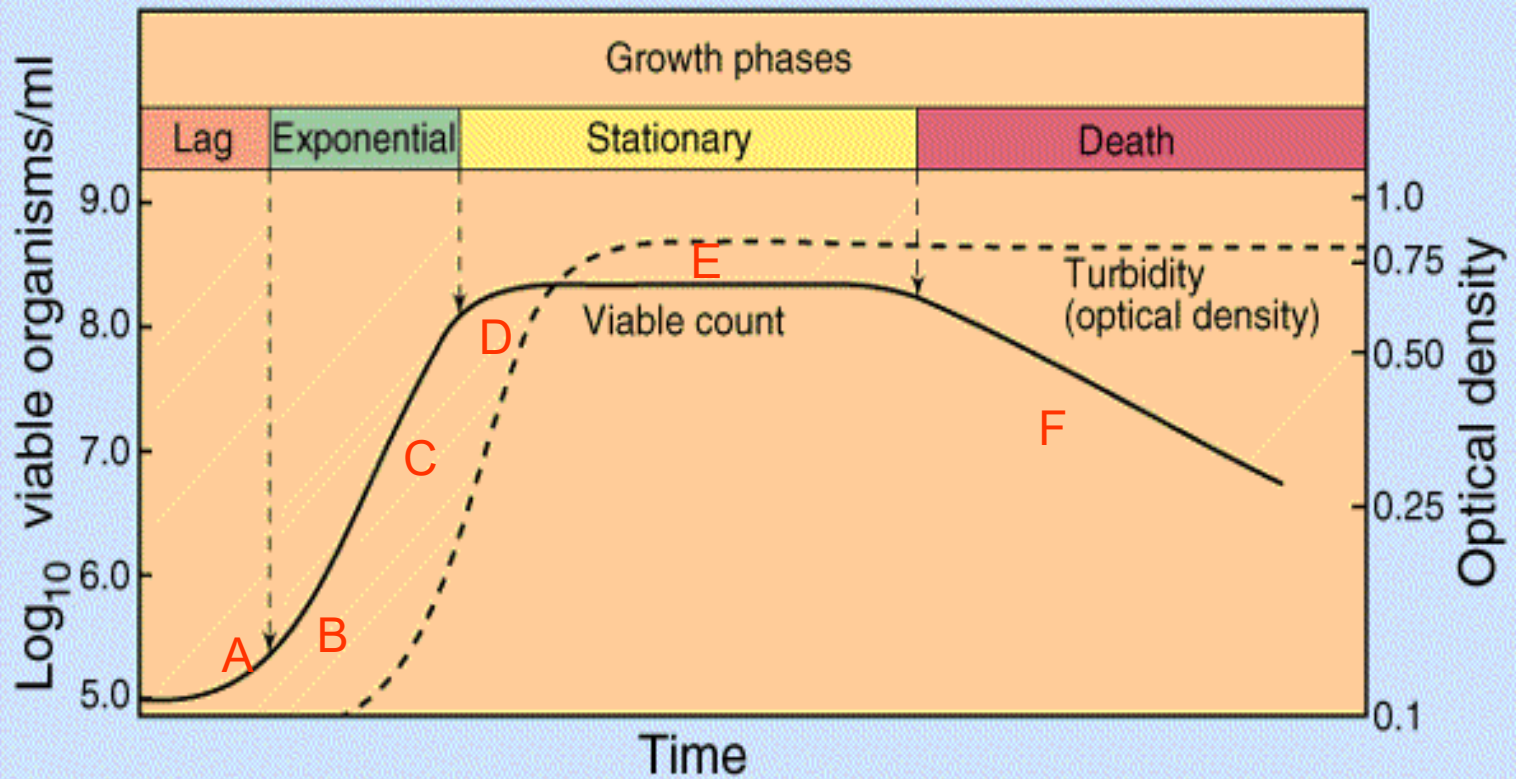
Azalma ve ölüm dönemi:

- Canlı bakteri sayısı azalır
- Tüm bakteriler ölebilir
- Canlı kalanlar ay/yıllarca yaşayabilir

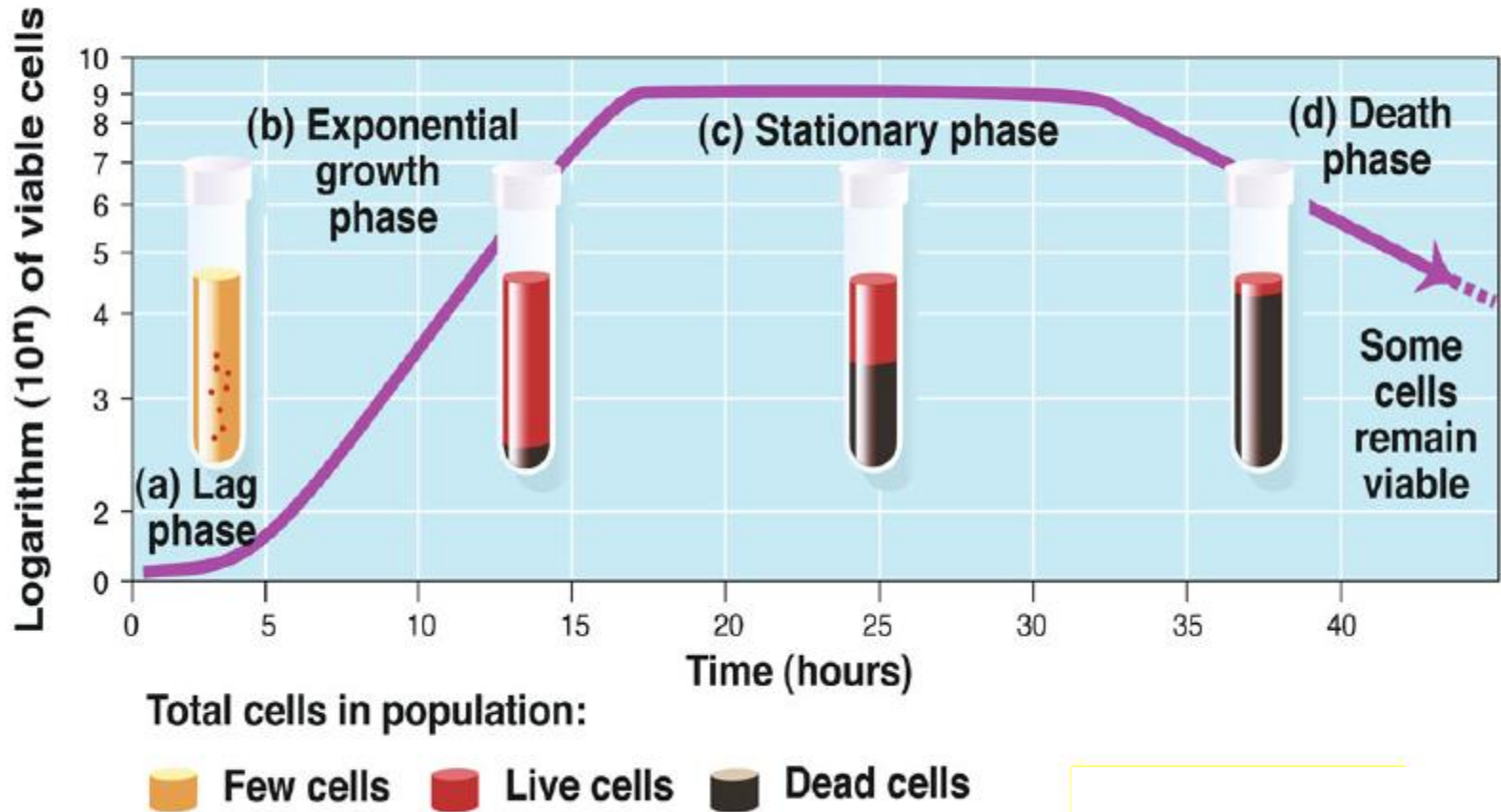
Üremenin Fazları

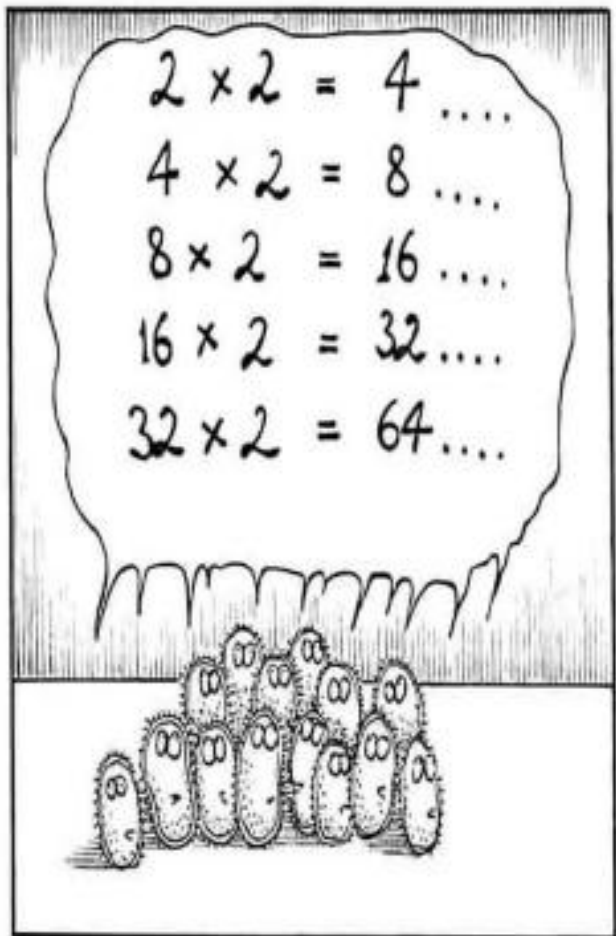
Eğri	Faz	Üreme hızı
A	Lag	Sıfır
B	Hızlanma	Artan hızda
C	Eksponensiyel	Sabit
D	Durağan	Azalan hızda
E	Maksimum durgunluk	Sıfır
F	Azalma	Negatif (ölüm)

Üremenin Fazları



Üreme dönemleri







Sporlar

Sporlar bakterilerin sitoplazması içinde özel koşullarda oluşan ve fizik-kimyasal çevre etkilerine dayanıklı oluşumlardır.

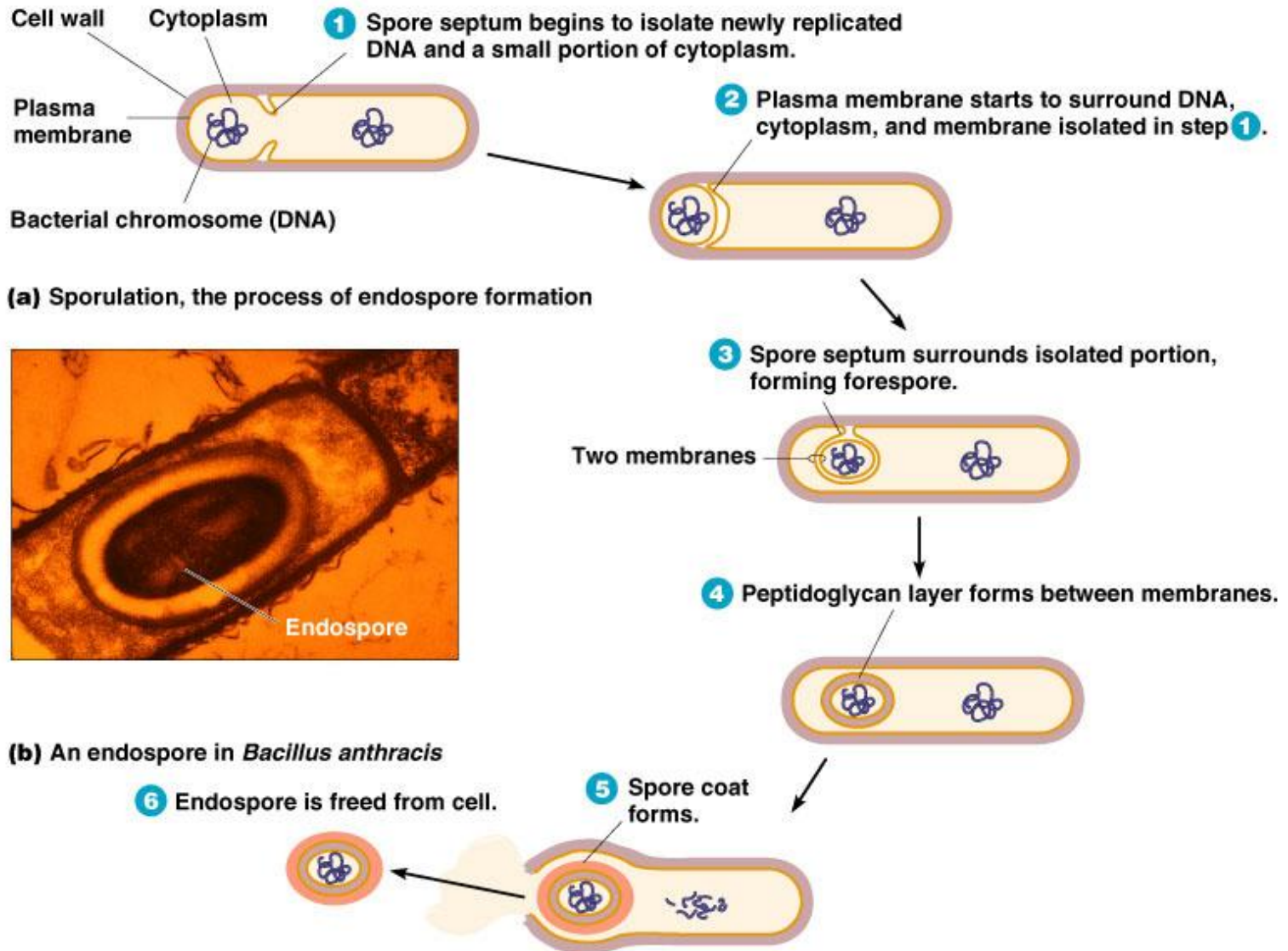
Spor yapan bakteriler

- Zorunlu aerobik bakteri
 - *Bacillus anthracis*; merkezi yerleşimli
- Zorunlu anaerobik bakteri
 - *Clostridium tetani*; terminal yerleşimli
 - *Clostridium botulinum*; subterminal yerleşimli
- Gram-pozitif kokal bakteri
 - *Sporosarcina*

Sporulasyon

- ✓ Eksponensiyel üreme fazının sonunda gözlenir.
- ✓ Spor dış çevrede 40 yıl yaşar.
- ✓ Nitrojen ve karbon kaynaklarının tükenmesi
- ✓ Birçok gen inaktive olur  vejetatif hücre fonksiyonları durur.
- ✓ Birçok gen aktive olur  **Diferensiyasyon**

Spor oluşumu



Endospor oluşumu

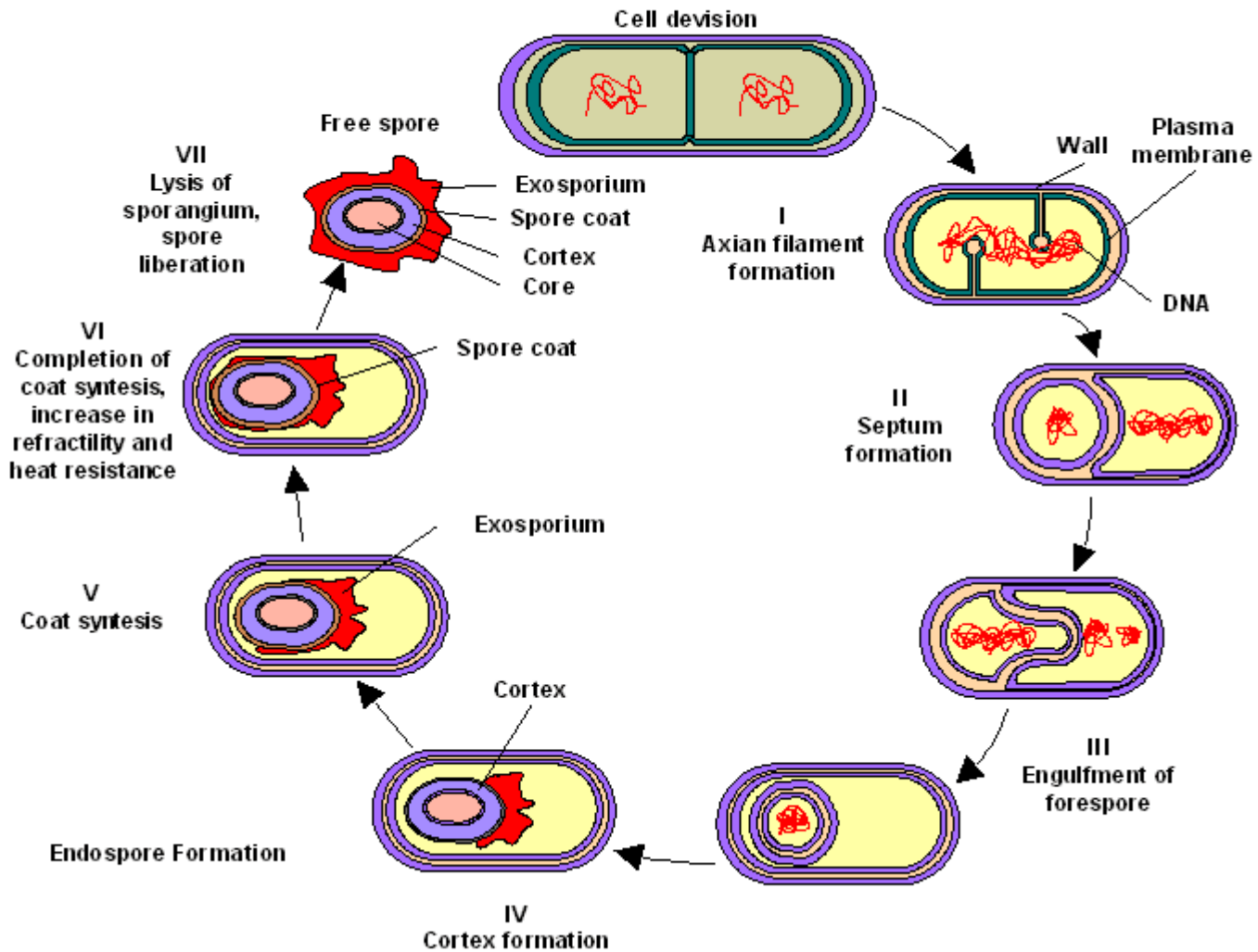
1. **Kor:** Spor protoplastı

- ✓ Nükleus, protein sentez yapıları, enerji sistemi
- ✓ Sitokrom enzimler yok
- ✓ Vejetatif hücre enzimleri bulunur
- ✓ Dipikolinik asit sentetaz; 3-fosfogliserat yapımı için
- ✓ Kalsiyum dipikolinat; sporun ısıya direnci için, sporun kuru ağırlığının %15'i.

Endospor oluşumu

2. **Spor duvarı**: Spor zarını çevreleyen iç tabaka.
3. **Korteks**: Spor zarfının en kalın tabakası (lizozime hassas peptidoglikan, jermantasyonun tetiklenmesi)
4. **Kılıf**: Keratin benzeri protein (antibakteriyel dirençten sorumlu)
5. **Ekzosporyum**: Lipoprotein membran

Endospore Formation



Jerminasyon

Aktivasyon: Spor kılıfında bir defekt oluşur.

- ✓ pH, serbest sülfidril grupları, ısı

Jerminasyon başlama fazı (Initiation):

- ✓ Effektör (L-alanin, adenozin) reseptöre bağlanır
- ✓ Otolizin aktive olur
- ✓ Korteks peptidoglikanı yıkılır
- ✓ Su içeri alınır, kalsiyum dipikolinat serbestleşir

Gelişme:

- ✓ Spor dış katmanları yıkılır
- ✓ Vejetatif hücre gelişimi başlar

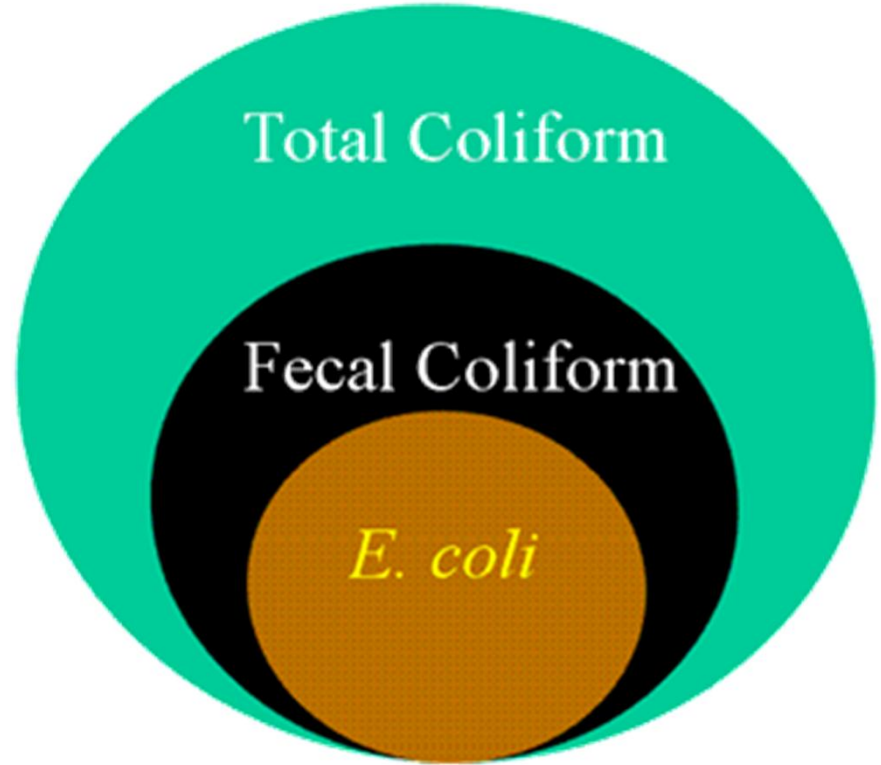
SPOR DİRENCİ

- 1) Dondurulmaya direnci
- 2) Basınca olan direnci
- 3) Gama ışınlarına direnç
- 4) UV ışınlarına direnç
- 5) Kimyasal ajanlara direnç
- 6) Isıya direnç

Gıdaların spor yapan bakterilerle bozulması

- *Clostridium botulinum*
 - Konserve gıdalar
- *Clostridium perfringens*
 - Sebze, meyve, işlem görmüş etler (dışkı ile kontamine), kurutulmuş besinler, baharatlar
- *Bacillus* türleri
 - *Bacillus anthracis*
 - İyi pişmemiş veya çiğ et yenmesi ile
 - *Bacillus cereus*
 - Süt, un, baharat, otlar ve kurutulmuş besinler ile

Birçok farklı koliform bakteri vardır;
Bunların bir kısmı dışkıda bulunur;
E.coli bunlardan birisidir



Gıda patojenlerini azaltan yöntemler

- Kontaminasyonunun engellenmesi
- Üremenin inhibe edilmesi

İndikatör Mikroorganizmalar

- Patojenlerin varlığını ölçerler
- Kötü üretim veya paketlemeyi ölçerler
 - Yetersiz öldürme
 - Yetersiz temizlik ve sanitasyon
 - Uygunsuz ekipman veya işlem
 - Yetersiz paketlenme
 - Ürünün yeniden kontaminasyonu
- Ürünün kalitesini ölçerler

İNDİKATÖR MİKROORGANİZMALAR

- *Escherichia coli*
- Fekal koliformlar
- Toplam koliformlar
- Fekal Streptokoklar
- Sülfidi indirgeyen *Clostridium*'lar
- Bakteriofajlar
- *Aeromonas* türleri ve *Pseudomonas aeruginosa*

İndikatörlerin Saptanması:

1. Mikrobiyal sayım

Aerobik kültür sayımı

Direkt mikroskopik sayım

2. Mikroorganizmaların metabolik ürünlerinin saptanması

ATP, pH, Trimetilamin...

3. Özgül mikroorganizma gruplarının saptanması

Enterobactreiaceae, *Escherichia coli*, *Listeria* türleri...



İndikatörün seçimi

Mikrobiyolojik indikatörün seçimi bazı koşullara bağlıdır:

- Ürünün tipi (örn: nemli/kuru)
- Ürünün öyküsü (bilinen patojenlerle ilişkisi)
- Bitki çevresi ile ilişkisi
- Ürünün işlenmesi sırasındaki basamaklar
- Tahmin edilen ürün florası
- İşlem sırasında veya öncesinde takip
- Bozulmaya karşı güvenilirlik...

İndikatör: özgül patojenler

- Özel koşullar altında çevrede özgül patojenler aranabilir.
 - Süt tozları
 - Baharatlar
 - Kurutulmuş sebze ve sebze tozları
 - Tahıl ürünleri
- Özgül patojenlerin seçimi ürün veya ürünün işlenmesi öyküsüne bağlıdır.
 - Süt tozlarında ve baharatlarda *Salmonella*
 - Öğütülmüş ette *E.coli O157:H7*
 - Kuru toz ürünler

Gıda güvenliği açısından indikatörler mikroorganizmalar

- Avantajları
 - Kolay ve hızlı saptanabilmelidirler.
 - Gıda florasının diğer elemanlarından kolay ayrılabilirler
 - Varlığını gösteren patojen ile sabit ilişki göstermelidir
 - Patojen varlığında her zaman bulunmalıdır.
 - Patojen varlığını gösteren sayı ile ilişkili bir organizma olmalıdır
 - Patojen ile aynı üreme ihtiyacı ve üreme hızı bulunmalıdır.
 - Patojen olmayan gıdalarla varlığı gösterilmemeli veya çok az sayılarda olmalıdır.
 - Ucuz yolla üretilebilir olmalıdırlar.

Çevresel Mikrobiyolojik İzlem

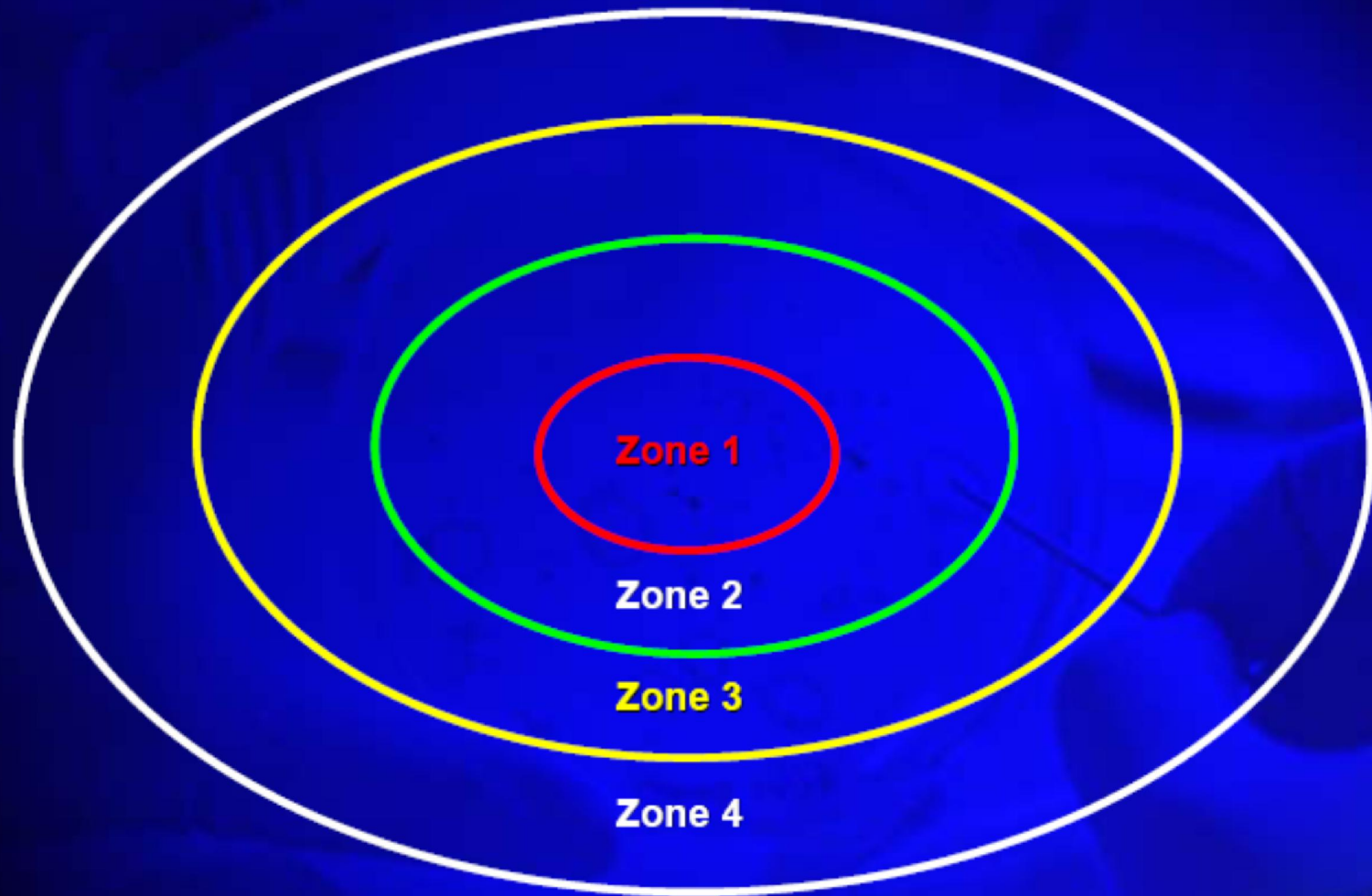
- Bölgeler

- Paketleme nerede yapılmaktadır?

- Gıdanın temas ettiği yüzeyler
 - Gıdanın temas etmediği yüzeyler
 - Çevre (hava, su, personel)

- İnceleme sıklıkla bölgelere ayrılarak yapılır.

Environmental Monitoring



Çevrenin monitorizasyonu

Zoning Concept

Zone 1

Doğrudan ve dolaylı gıda temas yüzeyleri
Taşıma bandları
Kesici aletler
Açık gıda ürünleri üzerindeki borular

Zone 2

Zon 1 bölgesine yakın yüzeyler
Ekipman korumaları
Ekipman yapısı

Zone 3

Tüketilmeye hazır odalardaki diğer yüzeyler
Yerler Musluklar Duvarlar
Diğer ekipmanlar

Zone 4

Yükleme alanı
Giyinme bölgesi
Çalışanların kafeteryası