



# MİKROORGANİZMALARIN BESLENMESİ VE GELİŞİMİ

# Genel özellikler



- Mikroorganizmaların besin istekleri yüksek yapılı organizmalara kıyasla genel olarak daha azdır.
- Değişen çevre şartlarına göre metabolizmalarını kolayca değiştirirler.
- Mikroorganizmalar gelişmek ve çoğalabilmek için
  - su,
  - enerji kaynağı,
  - azot kaynağı,
  - vitaminler ve
  - minerallere gereksinim duyarlar.



- Farklı gelişme evrelerinde besin istekleri farklı:
  - spor evresinde metabolizmaları en az düzeyde ve besin ihtiyacı en az veya hiç yok
  - aktif metabolizmaya sahip olanlar (gelişen ve çoğalan hücreler) önemli ölçüde besine ihtiyaç duyar
- Örneğin küf mantarlarının çoğu, normal besiyerlerinde vejetatif olarak geliştikleri halde, çoğalmaları için zengin besiyerlerine gereksinim duyar



- Herhangi bir mikroorganizmanın besinlerden yararlanma yeteneği, sahip olduğu enzim sistemlerine / genetik yapısına bağlıdır
- Küfler gibi zengin enzim sistemlerine sahip olan mikroorganizmalar çok yetersiz besin içeriđindeki ortamlarda bile gelişebilir



- Besin gereksinimi açısından en düşükten en yükseğe doğru sıralama yapıldığında
  - 1) küfler
  - 2) mayalar
  - 3) gram-negatif bakteriler
  - 4) gram-pozitif bakteriler



- Besinlerin hücre içine alınması ve metabolizma ürünlerinin dışarı atılmasında
- - hücre duvarı
  - yarı geçirgen sitoplazmik zar
- Küçük moleküllü maddeler hücre duvarını geçip sitoplazmik zarı geçemezler. Çünkü sitoplazmik zar da seçici taşıma mekanizmaları vardır ve bunlar besin maddelerini seçerek hücre içine taşır.



- Genel olarak mikroorganizmalar
  - küçük moleküllü maddeleri direkt olarak
  - büyük moleküllü olanları ise salgıladığı hücre içi enzimlerle hücre dışında küçük yapı taşlarına parçaladıktan sonra hücreye alır

# 1) Basit (pasif) difüzyon



- mineral tuzlar ve şekerler
- Geçiş rastgele molekül hareketiyle olur ve madde zardaki herhangi bir maddeyle reaksiyona girmez
- Hücre içindeki ve dışındaki konsantrasyon dengeleninceye kadar geçişler devam eder.





## 2) Kolaylaştırılmış difüzyon:

- çözünen molekül, zar da bulunan protein yapısındaki taşıyıcı molekül ile birleşir ve taşıyıcı çözünen bileşiği zarın iç ve dış yüzeyi arasında hareket eder.
- Çözünen molekülü hücre içine bırakan taşıyıcı yeni bir molekül ile birleşir



### 3) Grup translokasyonu:

- Bakterilerde glikoz, früktoz ve mannoz gibi şekerler taşınır
- taşıyıcı proteinler, yüksek enerji içeren fosfat grupları (fosfoenolpürüvat) ve hücre içi enzimler görev yapar
- Metabolik enerji (adenozin trifosfat= ATP) gereklidir



## 4) Aktif taşınma

- ❖ bütün çözünen maddeler, şekerler, amino asitler, peptidler, nükleotidler ve iyonlar
- ❖ Sitoplazmik zar da bulunan enzim özelliğindeki bazı taşıyıcılar görev yapar
  - çözünen maddenin zardaki taşıyıcıya bağlanması
  - çözünen-taşıyıcı kompleksinin zar da çaprazlamasına yer değiştirmesi
  - taşıyıcının çözünen maddeyi serbest bırakması aşamalarını içermektedir
  - Metabolik enerji (ATP) gereklidir.

# Beslenme şekillerine göre sınıflandırma



- Sınıflandırmada mikroorganizmaların
  - Karbon
  - Enerji
  - Hidrojen/elektron

İhtiyaçları dikkate alınmıştır



# Karbon ihtiyacı

## Ototrof mikroorganizmalar

inorganik karbonlu bileşiklerden ( $\text{CO}_2$ ) faydalanırlar

toprak ve suda yaşarlar

## Heterotrof mikroorganizmalar

organik bileşiklerden (karbonhidrat, amino asit, vitamin vs.) faydalanırlar

Mikroorganizma türlerinin çoğu bu gruptandır  
İnsanda ve hayvanda hastalık oluştururlar



# Enerji ihtiyacı

- **Kemotrof mikroorganizmalar:**
  - inorganik maddeleri oksitleyerek enerji sağlarlar
- **Fototrof mikroorganizmalar:**
  - Yeşil bitkilerde olduğu gibi ışık enerjisinden faydalanırlar
    - **1) Fotolitotroflar**
  - Işığı inorganik basit kaynaklardan yararlanmak için kullanırlar
    - **2) Fotoorganotroflar**
  - Işığı organik kaynaklardan yararlanmak için kullanır



# Hidrojen/elektron kaynağı

- **Litotrof mikroorganizmalar:**

Elektron vericisi olarak

H<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, Fe<sup>+2</sup>, CO gibi

inorganik bileşikleri elektron vericisi olarak kullanır

- **Organotrof mikroorganizmalar:**

Organik bileşikleri elektron vericisi olarak kullanan mikroorganizmalardır.



## Makro besinler

- karbon, oksijen, hidrojen, azot ve fosfor
- membranın, proteinlerin, nükleik asitlerin ve diğer hücre yapılarının oluşturulması için gereklidir
- mikroorganizmalar bunlara aynı zamanda ve fazla miktarda gereksinim duyarlar
- hücre kurumaddesinin %1'den fazlasını oluştururlar





## Mikro besinler

- mikroorganizmalar daha düşük konsantrasyonlarda olmak üzere;
- kalsiyum, magnezyum, potasyum, sülfür, demir ve mangan'a da ihtiyaç duyarlar.
- hücre kurumaddesinin % 0.1- 1'ni oluşturduğundan hücre yapısında daha az miktarda yer alırlar.



# İz elementler

- Miktarları çok azdır (% 0.1'den daha az)
- Ancak canlı hücrelerin fonksiyonları için mutlak bulunmaları gerekmektedir
- pek çoğu bazı enzimlerde kofaktör olarak görev yapmaktadır

# Gelişme (büyüme) faktörleri



- az miktarlarda ihtiyaç duyulmasına karşın metabolik olaylar için mutlak gerekli
  - Bazı m.o. bu maddeleri sentezleyemediğinden dışarıdan hazır olarak alınmalıdır
- **a. Amino asitler:** Protein sentezi
  - **b. Purinler ve pirimidinler:** DNA ve RNA gibi nükleik asitlerin sentezi
  - **c. Vitaminler**
    - az miktarda kullanılır
    - bir kısmı koenzimlerin yapısında bulunur ve belirli enzimlerin üretimi için gereklidir
    - bakteriler genellikle vitaminleri sentezleyemez (mayalar B grubu vitaminleri sentezleyebilir)

# sıcaklık



- hücre içi kimyasal tepkimelerin gerçekleşmesinde önemlidir
- Mikroorganizmalar  $-34^{\circ}\text{C}$ 'den  $100^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar değişen çok geniş bir sıcaklık aralığında yaşarlar
- Her m.o. için en düşük, en yüksek ve optimum bir sıcaklık değeri vardır ve bu değerler belirli bir aralıkla ifade edilir
- Nedeni: m.o lar arasındaki bireysel farklılıklar ve diğer çevresel faktörler sıcaklığı etkiler
- Sıcaklık isteklerine göre m.o.
  - Psikrofil
  - Mezofil
  - Termofil

# Psikrofil



- Psikrotrof veya psikrofil mikroorganizma terimi soğucu seven ve soğukta iyi gelişenler için kullanılmaktadır
- Küf ve mayalar sadece psikrotrof ve mezofil bakterilere özgü sıcaklık aralıklarında gelişirken, bakteriler her 3 gruba da dahil olabilir
- Düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen gıdalardaki bakterilerin büyük çoğunluğu psikrotroftur
- *Pseudomonas, Enterococcus, Alcaligenes, Micrococcus*
- *Candida, Rhodotorula*
- *Aspergillus, Cladosporium, thamnidium*

# Mikroorganizma grupları ve gelişme sıcaklıkları



Mikroorganizma	Sıcaklık (°C)		
	En düşük	Optimum	En yüksek
Psikrofil(zorunlu psikrofil)	(-15) – 5	15 – 20	20 – 30
Psikrotrof(fakültatif psikrofil)	(- 5) – 7	25 – 30	30 – 40
Mezofil	5 – 25	30 – 40	40 – 50
Termofil	35 – 45	45 – 65	60 – 90
Zorunlu termofil	40 – 45	55 – 65	70 – 90
Fakültatif termofil	35 – 40	45 – 55	60 – 80



## Mezofil grup

- Mezofiller (ılığı seven) doğada en sık görülen mikroorganizmalardır
- Optimum gelişme sıcaklığı 35-45°C
- Psikrofil grupta sayılan bütün cinsler mezofilikler arasında yer alabilir
- Buzdolabı sıcaklığında saklanan bütün gıdalarda bulunurlar, ancak gelişemezler
- Patojenler önemlidir



## Termofilik/ termodurik

- Termofil (Sıcağı seven, sıcakta gelişen) grup
- optimum gelişme sıcaklığı 45-65°C
- Bu aralıkta gelişen maya ve küf olmadığından termofilik terimi 55°C'de en iyi gelişen bakteriler için kullanılır
  - *Bacillus*
  - *Clostridium* (konserve sanayinde önem taşır)
- Termodurik grup yüksek sıcaklıklarda canlılıklarını sürdürebilen ancak üreyemeyen bakterilerdir
- Çoğunlukla spor oluştururlar
- ısıtma işlemine direnç gösterir ve son üründe canlılıklarını korur, daha sonra uygun koşullarda gelişerek, özellikle pastörize süt gibi ürünlerde bozulmalara neden olurlar
  - *Micrococcus*
  - *Streptococcus*
  - *Lactobacillus*



# Su aktivitesi



- mikroorganizmalar saf suda gelişemez, susuz ortamda canlılıklarını sürdürür fakat çoğalamazlar
- suyun fonksiyonları
  - çözülmüş besinlerin hücre içine alınması ve metabolizma artıklarının hücre dışına çıkarılması
  - büyük moleküllerin hücre içine taşınabilir ve hücrede kullanılabilir bileşenlere hidrolizi
  - hidrojen vericisi olarak hücre içi sıcaklığının ve pH'sının düzenlenmesi
- gıdalarda su iki formdadır
  - bağlı su
  - serbest su
- Bağlı su gıda moleküllerine fiziksel güçlerle tutunan su
- çözücülük ve kimyasal reaksiyonları gerçekleştirme özelliği olmadığından mikroorganizmalar bağlı sudan
- 
- Suyun içindeki Çözünen madde miktarının arttıkça; DN düşmekte, KN yükselmekte, ozmotik basınçta artış ve buhar basıncında azalma görülmektedir.

# Su aktivitesi



- Mikroorganizmaların su ihtiyacını geliştikleri ortamın su aktivitesi ( $a_w$ ) değeri
- Bu değer bir ortamdaki mikrobiyel gelişim ve çeşitli aktiviteler için gerekli olan kullanılabilir suyun indeksidir.
- Su aktivitesi: gıdanın/gelişme ortamının buhar basıncının ( $P$ ) aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına ( $P_o$ ) oranı
  - $a_w = P / P_o$
- Saf suyun buhar basıncı gıda yüzeyinden buharlaşarak uzaklaşan su (bağıl (nisbi) nem) miktarına bağlıdır
- Bağıl nem ile su aktivitesi arasında ilişki
- $\text{Bağıl nem} = 100 \times a_w$
- $A_w$  0 – 1 arasında değişir ve saf su için bu değer 1'dir.
  - bakteriler 0.91
  - mayalar 0.88
  - küfler 0.80'den düşük su aktivitesi değerlerinde gelişemezler



## Bazı mikroorganizmaların gelişebildiği minimum $a_w$ değerleri

Mikroorganizma grupları	$a_w$	Spesifik mikroorganizmalar	$a_w$
Bozulma yapan bakteriler	0.91	<i>Pseudomonas</i> türleri	0.97
Bozulma yapan mayalar	0.88	<i>Leuconostoc</i> türleri	0.97
Bozulma yapan küfler	0.80	<i>Campylobacter</i> türleri	0.97
Halofilik bakteriler	0.75	<i>E. coli</i>	0.96
Kserofilik küfler	0.61	<i>Clostridium perfringens</i>	0.95
Ozmofilik mayalar	0.61	<i>Salmonella</i> türleri	0.95
		<i>B. cereus</i>	0.95
		<i>Clostridium botulinum</i>	0.94
		<i>Candida utilis</i>	0.94
		<i>B.stearothermophilus</i>	0.93
		<i>Lactobacillus</i> türleri	0.93
		<i>Listeria monocytogenes</i>	0.90
		<i>S. aureus</i>	0.86
		<i>Penicillium patulum</i>	0.81
		<i>Aspergillus flavus</i>	0.78
		<i>Aspergillus glaucus</i>	0.70
		<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61



- Mikroorganizmalarda gelişimin yanı sıra;
  - spor oluşturma
  - sporun çimlenmesi
  - toksin üretimi
  - sıcaklığa direnç
  - canlılığın sürdürülmesi gibi özelliklerde farklı AW değerlerine sahiptir ve bu durum mikroorganizmanın cinsine göre değişim göstermektedir
- Örneğin, küflerde spor oluşturma ve çimlenme için gerekli aw değeri gelişme sırasında gereksinim duyulan değerden daha yüksek olmaktadır.



# Çevrenin bağıl nemi

- Depolama sırasında gıdada değişimler
  - çevrenin bağıl nemine
  - su aktivitesi değerine
  - depolama sıcaklığına bağlı
- Çevrenin (gıdaların muhafaza edildiği depoların) bağıl nemi  $a_w$  değerine bağlı olarak MO'nun yüzeyde gelişimi açısından önemlidir
- Düşük su aktiviteli kuru gıdalar bağıl nemi yüksek ortamda depolanırsa adsorpsiyona (su tutma, nemlenme) uğrar. Sonuçta bu gıdaların yüzeyinde veya yüzeyin hemen altında mikrobiyel bozulmaya yol açacak su aktivitesi değerine ulaşılır
- yüksek su aktiviteli gıdalarda ise desorpsiyon (su kaybetme, kuruma) görülür ve sonuçta yüzeyde büzüşme, kuruma gibi istenmeyen duyuşal değişimler meydana gelir.
- Bakteri, maya ve küf gelişmesi sonucu yüzeyinde bozulma meydana gelen gıdalar düşük bağıl nemli ortamlarda depolanmalıdır
- çevrenin bağıl nemi değiştirilemiyorsa atmosferin gaz bileşimi değiştirilerek yüzeyde gelişen mikroorganizmalar engellenebilir



# Yüzey gerilimi

- Metabolik olayların düzenli seyredebilmesi için
  - hücre duvarının yarı geçirgen özellikte olması
  - sıvı ortam ile bakteri yüzeyi arasındaki moleküler gerilimin dengede bulunması gerekir
- Bakteriye temas eden sıvı yüzeyindeki moleküllerin oluşturduğu gerilim çok fazla olursa, kuvvetli bir moleküler membran oluşur ve besin maddelerinin giriş ve çıkışı güçleşerek bakteri beslenemez
- Tersine durumda, yani zayıf moleküler membran olduğunda sıvı ile bakteri yüzeyi birbirine çok sıkı temas eder, sıvı içindeki maddeler bakteri yüzeyinde toplandığından bakteri yine beslenemez
- Yüzey gerilimini düşürmek amacıyla sabun, deterjan, safra, fenol gibi maddeler kullanılmaktadır.



# Ozmotik basınç

- Mikroorganizmalar üredikleri sıvı besi yeri ile hücrelerindeki ozmotik basınç arasında bir denge kurmuşlardır. Bu denge yarı geçirgen hücre zarıyla düzenlenir ve devam ettirilir.
- **İzotonik/izoozmotik ortam**
  - Üreme ortamının ozmotik basıncı, bakteri içindeki basınçla aynıdır veya çok az farklıdır
  - bakteri zarlarından giriş ve çıkış kolay olur
  - bakteri üreme ve gelişmesine devam eder
- **hipotonik-hipoozmotik ortam)**
  - ortamın ozmotik basıncı azalmıştır
  - dışardan bakteri içine fazla sıvı girerek bakteriyi şişirir ve patlatır
  - Bu olaya **plazmoptiz** denir. Bakteri % 1 tuz içeren bir ortama konulursa plazmoptiz görülür

# Ozmotik basınç



- **Hipertonik/hiperozmotik ortam**

- bakterinin içinden dışarıya fazla sıvının çıkması sitoplazmik membranın hücre duvarından ayrılarak büzülmesine ve ortada toplanmasına neden olur
- Bu olaya **plazmoliz** denir
- Bakteri % 20 tuzlu bir çözeltiye konursa hipertonik ortam oluşacağından plazmoliz meydana gelir.





## Hidrostatik basınç

- hücre duvarlarında sert ve dayanıklılık nedeniyle mekanik ve hidrostatik basınçlara karşı dirençlilik
- **barofilik** mikroorganizmalar
  - Okyanusların, denizlerin ve göllerin diplerinde ve petrol yataklarında bulunan ve yaşamlarını sürdürebilirler
  - 10.000 lb/inc<sup>2</sup> değerindeki basınca dayanım gösterirler
- **barotolerant** mikroorganizmalar
  - 500 atm basınca kadar toleranslı mikroorganizmalar
- yüksek basınç mo da bazı değişimlere neden olabilmektedir. Örneğin kamçılı mikroorganizmalar hareketlerini ve bölünme kabiliyetlerini kaybedebilirler
- *Serratia marcescens* ve *S. lactis* 85.000-100.000 lb/inc<sup>2</sup> basınç altında 10 dakika içinde ölür.



# ışık

- **fototrof bakteriler** gelişmeleri için ışığa muhtaç olan bakteriler
- Genel olarak ışığa ihtiyaç duymazlar ancak
  - durgun sularda, nemli kayalarda, sıcak su kaynaklarında gelişen **aerob fototrof bakteriler** (mavi-yeşil algler) ile
  - tatlı su ve deniz suyunda gelişen **anaerob fototrof bakteriler** (kükürtsüz mor bakteriler, kükürtlü mor bakteriler, yeşil kükürt bakterileri) fotosentez için ışığa ihtiyaç duyarlar.

# elektrik



- Sıvı ortamlarda mikroorganizmalardan doğru veya alternatif akım geçirilirse mikroorganizmalar zarar görebilir
- Meydana gelen zarar akımın şiddeti ve süresiyle doğru orantılıdır. Elektrik nedeniyle sıvı ortamda bazı kimyasal değişimler de meydana gelebilir
- Doğru akım, ortamdaki ozon ve klorini açığa çıkartır, bu da bakteriler üzerinde öldürücü etki yapar.



## Koruyucu biyolojik yapılar

- fındık, ceviz, badem gibi meyvelerdeki kalın dış kabuk
- bazı meyve ve sebzelerin (elma, lahana) yüzeyindeki balmumu benzeri örtü
- Yumurta kabuğu üzerindeki gözenekler bakteri, maya ve küf misellerinin içeri gelişmesine olanak sağlayabilir.
- Ancak kabuğun hemen üzerinde kütikül tabakası mo ya karsı ilk koruyucu engeldir.
- Meyve sapının koparılması kabuk soyma, kesme, ezme ve dondurma gibi işlemler mo ın gıda içine yayılmasına neden olur
- Balık ve sığır etinin dış yüzeyi iç dokuya göre daha kalın ve çabuk kuruma eğiliminde olduğundan mikrobiyel bulaşmayı ve bozulmayı kısmen engellemektedir.



# Aerob mikroorganizmalar

- yüksek düzeyde serbest oksijen ihtiyacı
- Dik agar besiyerinde üstte koloni oluşturma
- Gerekli enerjiyi solunum yoluyla karşılanır
- Metabolizma artıkları CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O dur
- *M. tuberculosis*
- *B. Antracis*
- *B.subtilis*
- küf mantarları



# Anaerob mikroorganizmalar

- Moleküler oksijenin olmadığı ortamlarda gelişirler
- Oksijen zehirleyici etki yapar
- Enerjiyi fermantasyon yoluyla kazanırlar, H-akseptör olarak organik maddelerden faydalanırlar
- Metabolizma atıkları metan, CO<sup>2</sup>, etil alkol, organik asitle
- Dik agar besiyerinin alt tarafında ürerler
- *Clostridium sp.*



# Fakültatif mikroorganizmalar

- Serbest oksijenin hem bol hem de kısıtlı olduğu ortamda gelişir
- Oksijenli ortamlarda normal üreme, anaerobik şartlarda ise sülfür, karbon gibi redükte olabilen maddeleri enerji kaynağı olarak kullanırlar
- Dik agarın hemen her yerinde üreme gösterir
  - Süt asidi bakterileri
  - Stafilokoklar

# Mikroaerofilik mikroorganizmalar



- Oksijene havadakinden daha düşük konsantrasyona gereksinim duyar
- Anaerobik koşullarda gelişemez
- Oksijen oranı % 1-2 kadar düşürülmüş veya havasına % 5-10 CO<sup>2</sup> katılmış ortamlarda ürer
- katı besiyerinin yüzeyinden 1.0-1.5 cm kadar aşağıda ürerler
- Laktik asit bakterileri
- *Penicillium roqueforti*





## **Aerotolerant (oksijeni en fazla tolere edebil)**

- Çoğunlukla yüzeyde olmak üzere, hem aerobik hem de anaerobik ortamlarda üreme yeteneğine sahiptir
- *Clostridium perfringens*



# Redoks potansiyeli(OR – O/R – Eh)

- bir maddenin e-/H kazanması yada kaybetmesindeki kolaylı maddeye oksijen bağlanması
- Gelişme ortamındaki bir element veya bileşik elektronlarını verdiği zaman yükseltgenir (oksidasyon), elektron aldığına ise indirgenir (redüksiyon).
- - $$\text{Cu} \xrightleftharpoons[\text{redüksiyon}]{\text{oksidasyon}} \text{Cu} + e^-$$
  - $$\text{Cu} + \text{O}^2 \xrightarrow{\text{oksidasyon}} 2 \text{CuO}$$
- Madde elektron kaybettiğinde bu elektronlar ortamdaki diğer bir madde tarafından alınır
- elektronların bir bileşikten diğerine aktarılması sırasında iki bileşik arasında oluşan potansiyel fark **OR potansiyeli** dir
- Milivolt (mV) cinsinden ifade edilmekte olup, Eh ile gösterilir

# Redoks potansiyeli(OR – O/R – Eh)



- Gıdaların Eh değerleri +400 mV ile -400 mV arasında değişir
- pozitif elektrik potansiyeli
  - Ortam ne kadar çok okside olmuşsa
  - kuvvetli yükseltgen maddeler içeriyorsa
  - çözünmüş oksijen içeriyorsa
- negatif elektrik potansiyeli
  - ne kadar kuvvetli indirgen maddeler içeriyor
  - çözünmüş oksijeni uzaklaştırılmışsa
- yükseltgen ve indirgen madde konsantrasyonları eşit ise Eh sıfırdır
- gıdalarda indirgen özellik taşıyan maddeler
  - hayvansal gıdalardaki sistein gibi (-SH) grupları içeren amino asitler
  - bazı demir bileşikleri
  - bitkisel gıdalardaki askorbik asit
  - indirgen şekerler

# Hidrojen iyonları konsantrasyonu



- Mikroorganizmalar ortamın pH değerinden etkilenirken aynı zamanda ortamın pH değerini de etkileyebilir
- genel olarak bakterilerin gelişebildiği pH aralıkları küf ve mayalara göre daha dar
- bakteriler daha seçici, en seçici olanlar ise patojenler
- bakteriler
  - nötral değerlerden (6.8-7.5) hafif asit-alkali (4.9) sınırlara doğru değişim gösterir
- Mayalar ve küfler
  - genellikle asidik ortamları tercih eder
  - bazı küfler pH 3.5-8.0 arasında geniş bir pH toleransı gösterirler.



- Düşük pH larda sitoplazmik zar  $H^+$  iyonlarınca doygunluk nedeniyle katyonların hücre içine geçişi zorlaşır
- Yüksek pH larda  $OH^-$  iyonlarınca doygunluk nedeniyle anyonların zardan hücre içine geçişi zorlaşır
- Uygun olmayan pH koşullarında
  - hücre geçirgenliği ve enzim aktiviteleri olumsuz etkilenir, protein sentezi durur
  - hücreler toksik maddelere karşı daha duyarlı hale gelir
  - Mo da morfolojik değişiklere neden olur
  - bazı iyonların çözünürlüğüne mo ların bunlardan yararlanmasını etkiler (kalsiyum iyonları alkali ortamlarda çözünemez ve kullanılamaz)
  - lag (gecikme) fazları uzar



## Mikroorganizma gruplarının gelişebildiği yaklaşık pH değerleri

Mikroorganizma	En düşük	Optimum	En yüksek
Bakteri	4.5	6.5 – 7.5	9.0 –
Küf	1.5 – 3.5	4.5 – 6.8	9.0 – 11.0
Maya	1.5 – 3.5	4.0 – 6.5	8.0 – 8.5



# Çevredeki gazlar ve konsantrasyonu

- gazların çeşidi ve konsantrasyonu mevcut floranın gelişimini etkileyerek bazılarını baskın duruma geçirir.
- 
- normal düzeydeki oksijen, aerobik mik.org. geliştirir ve yüzeyde bozulma
- vakum uygulaması durumunda da fakültatif anaeroplarda gelişir.
- depo ortamlarındaki veya ambalaj içerisindeki CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> oranlarının ayarlanmasıyla oluşturulan koşullar “**kontrollü atmosfer**” veya “**modifiye atmosfer**” olarak isimlendirilir
- meyve ve etlerin depolanmasında yaygın
- *Pseudomonas sp.*, *Acitenobacter-Moraxella* grubu CO<sub>2</sub>'e en duyarlı
- LAB anaeroplarda CO<sub>2</sub>'e en dirençli bakteriler
- Depolama sırasında maya-küf gelişimini önlemek amacıyla kullanılan % 20-50 oranındaki karbondioksitin *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus* küflerine etkili



# Biyolojik Faktörler

## 1) Gıdaların yapısında bulunan doğal inhibitörler

### Yumurta akında

lizozim, avidin, biyotin, konalbumin, ovoflavoprotein

bakterilerin hücre duvarını parçalamakta (özellikle gram(+) duyarlı)

metal iyonları ve vitamin bağlama

### Çiğ sütte

lizozim, aglütinin, laktoferrin, laktoperoksidaz (LP) sistemi, kazein, yağ asitleri

LP sistemi= LP enzimi, tiyosiyanat (SCN-) ve hidrojen peroksit

*Pseudomonas* gibi gram-negatif prokaryotik bakteriler

### Etlerde

antikorlar, polipeptidler, biyojen aminler, hormonlar





## 2) Bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen antimikrobiyel aktiviteye sahip inhibitörler

Bazı mo ürettikleri inhibitör etkili maddelerle veya değiştirdikleri çevre koşullarıyla aynı ortamdaki diğer mo gelişimini engelleyerek hakim duruma geçer

### Laktik antagonizm

LAB = bakteriyosinler, antibiyotikler, laktik asit ve diğer organik asitler, hidrojen peroksit ve diasetil

### Bakteriyosinler:

*Lactococcus lactis subsp. lactis*'in ürettiği nisin

Reuterin *Lactobacillus reuteri*

Kolisin, *E.coli*

Propiyonik asit bakterilerinin İsviçre tipi peynirlerde ürettiği propiyonik asit küf gelişimini engeller.

Mayaların ürettiği alkol aynı ortamdaki diğer mikroorganizmalar üzerinde belirli ölçüde inhibitör etki

# Filtrasyon



- ❖ Sıvı kültürlerde, sıvı besiyerlerinde, patolojik sıvılarda ve serumlarda bulunan bakterileri ve partikülleri gidermek
- ❖ Filtreler yapılarını oluşturan maddelere göre:
  - aspesten (Seitz filtreleri)
  - fosil diatom toprağından
  - sırsız porselenden
  - cam tozlarının bir araya getirilip birleştirilmesinden
  - selüloz asetat (milipor)
  - selüloz nitrattan (gradokol membran) üretilirler
- ❖ Gözenek çapları dikkate alındığında; çok kaba, kaba, orta, ince, çok ince olarak gruplandırılırlar. Selüloz nitrat filtrelerin gözenek çapı 3-10 nanometre, bakteri geçirmeyenlerin çapı 1 mikrometreyi aşmamalıdır
- ❖ Laboratuvarlarda en çok kullanılanlar Seitz ve milipor filtreleridir.



## vibrasyon

- ultrasonik vibrasyonla tam anlamıyla sterilizasyon sağlamaz
- 20-1000 Hz dalgalar bakteri hücrelerini parçalayabilir
  - Sıvı içinden geçen ses dalgaları 10 mikrometre çapında boşluklar birbiriyle birleşir çöker
  - Bu sırada oluşan yüksek basınçlı enerji bakterilerin hücre duvarlarını parçalar.
  - Bunun yanı sıra sıvı içinde meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler bakteriler üzerinde olumsuz etki yapar ve parçalanmayı hızlandırır.
- Bakteri küçüldükçe daha yüksek frekans kullanılması gerekir.
- Ultrasonik vibrasyonlara *Staphylococcus* cinsi bakteriler dirençli olmasına karşın, diğer gram-pozitif ve negatif mikroorganizmalar daha duyarlıdır.

# alkalama



- hareketsiz mikroorganizmaların veya zayıf üreme gösterenlerin buldukları ortamlardan daha elverişli yerlere ulaşarak üremelerini hızlandırmak amacıyla uygulanmaktadır.
- Ancak mikroorganizmaların sertçe veya devamlı çalkalanması bazılarının ölümüne neden olabilir
- bu etkili bir inaktivasyon sağlamaz ve mikroorganizmaların büyük bir kısmı canlı kalabilir

# Santrifüj



- Normal laboratuvar santrifüjleri ile bir sıvı içindeki mikroorganizmaları gidermek pratik olarak mümkün değildir.
- Yüksek devirli santrifüjler ile hem bakteriler hem de virüsler çökebilir, ancak bu yolla bakteri ve virüslerin % 100 oranında ayrılması mümkün değildir.
- Özellikle sıvı içinde fazlaca virüs kalabilir.



## Ezme

- ❖ Santrifüjle ayrılan mikroorganizmalar bir havan veya ezme aletiyle ezilerek parçalanabilir
- ❖ Bu yöntem de tüm mikroorganizmalar için etkili bir inaktivasyon sağlamaz

## Basınç uygulaması

- ❖ Devamlı ve yüksek basınç altında bazı mikroorganizmalar inaktif hale gelebilir.

# Diğer Faktörler



- MO gelişme ve çalışmaları üzerine bir çok kimyasal madde etki yapar
- asitler, alkaliler, alkoller, formaldehitler, metal tuzları  
—→ protoplazmanın koagülasyonuna
- fenol bileşikleri, sabunlar —→ sitoplazmik zarın geçirgenliğini bozmaktadır.
- Ayrıca, civa ve arsenik —→ hücredeki enzimlerle birleşerek onları inaktif hale getirmektedir.



## Mikrobiyel Gelişmenin Kontrol Altına Alınması

- **Nedeni**
  - Hastalık ve enfeksiyonların yayılmasını önlemek
  - Bulaşmış konakçıyı mikroorganizmadan ayırmak
  - Gıda ve eşyaları mikrobiyel bozulmaya karşı korumak
- **Nasıl gerçekleştirilir**
  - Mikroorganizmaların gelişmelerinin durdurulması (inhibisyon)
  - Mikroorganizmaların öldürülmesi
  - Mikroorganizmaların buldukları ortamdan ayrılması
- **SİDAL ETKİ**
- MO hücrelerinin öldürülmesi(bakterisidal/bakterisit, virüsidal, fungusidal, sporosidal)
- **STATİS/STATİK ETKİ**
- MO gelişiminin engellenmesi veya üremenin durdurulması (bakteriyostasis, virüstasis, fungistasis)





## **Mikroorganizmaların fiziksel yöntemlerle kontrolü**

- **Isıl işlem**
  - **Kuru ısı**
    - **Kuru hava sterilizasyonu:**
    - **Alevden geçirme**
  - **Nemli ısı**
    - **Basınçlı Buhar**
    - **Fraksiyone Sterilizasyon (Tyndalizasyon)**
    - **Pastörizasyon**
    - **Sterilizasyon**
- **Soğutma ve dondurma**
- **Işınlama**



## Isıl işlem

- Isının etkisi: MO protein ve enzimlerinin ısıyla denatürasyonu ve ölümün gerçekleşmesi
- Nemli ısı hücre içeriğini pıhtılaştırır
- Kuru ısı oksitler
- nemli ısı kuru ısıya göre daha çabuk ve etkili bir yöntemdir nedeni:
  - suyun ısı kapasitesi (ısıyı taşıma yeteneği) çok yüksek olduğundan nemli hava kuru havaya göre daha fazla ısı tutma yeteneğindedir
- Bu nedenle Kuru ısıda bakteri sporları daha yüksek sıcaklıkta ve daha uzun sürede inaktif hale gelmektedir.
- tuzlu ve asitli ortamlarda ısının etkisi daha yoğundur
- protein ve yağ ise mikroorganizmaları korur

# Kuru Isı



- **Kuru hava sterilizasyonu**
- yüksek sıcaklığa dayanıklı cam malzemeler buhardan etkilenen toz materyal, yağ, bazı aletler

160°C/2 saat      175°C/ 1. 5 saat

- **Alevden geçirme**

Öze, iğne, pens, bıçak gibi aletler bunzen alevinden geçirilir

# Nemli ısı



- **Basıncılı Buhar**

- Basıncı altında kaynama derecesinin üzerinde elde edilen sıcaklıkla otoklavda uygulanır
- besiyeri, cam malzeme ve filtreler
- 121°C/ 10-15 dakika

- **Fraksiyone Sterilizasyon (Tyndalizasyon)**

- Protein ve karbonhidrat gibi ısıya dayanıksız bileşenler
- Malzemeler arka arkaya 3 gün 70-80°C/ 1 saat ısıtma işlemi
- Birbirini izleyen ısıtma işlemleri sırasında vejetatif hale geçen sporeler de bir sonraki ısıtmada öldürülür

# Pastörizasyon



- 100°C'nin altında uygulanan ısı işlem
- Süt, krema, meyve suları, bira, şarap gibi içecekler
- pastörize ürün steril değildir, bakteri sporları ve ısıya dirençli bazı termofilik mikroorganizmaları korur
- Pastörizasyonda indikatör mikroorganizmalar
  - Q humması etmeni *Coxiella burnetii* 63°C/ 30 dakika ya da 72°C/ 15 saniye
  - tüberküloz etmeni *Mycobacterium tuberculosis* 69°C/ 15 dakika



# Sterilizasyon

- 100°C'nin üzerindeki ısı işlemler, mo tamamı inaktif olur
- Isıl işlem süresi artarken canlı kalan vejetatif hücre veya spor sayısı logaritmik olarak azalır
- ısıya karşı dirençte etkili faktörler
  - Vegetatif hücre veya spor formu
  - Ortamın pH'sı ve bileşimi
  - Mo sayısı ve yaşı
  - Uygulanan sıcaklık-süre kombinasyonu

## Desimal azalma süresi (D10):



populasyondaki hücrelerin % 90'nı öldürmek için geçen süre

Sporlu bakteriler	Desimal azalma süresi (saniye)					
	105°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C
<i>Bacillus cereus</i>	12.1	4.2	2.6	1.3	1.0	0.7
<i>Bacillus subtilis</i>	27.8	4.5	3.1	2.1	1.1	0.5
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	2857.0	38.6	8.8	3.9	2.4	1.4



## Sabit ısıtma işlemi sonucunda sporların canlı kalma olasılıkları

Isıtma süresi (dakika)	Isıtma sonunda canlı kalan spor sayısı
0	$10^5$
D	$10^4$
2D	$10^3$
3D	$10^2$
4D	$10^1$
5D	$10^0$
6D	$10^{-1}$
7D	$10^{-2}$

$10^{-1}$  = sporun canlı kalma olasılığı

canlı spor olasılığı 1/10 veya % 10

başlangıçta  $10^5$  adet spor içeren 100 test tüpü belirli bir sıcaklıkta 6D süresince ısıtıldıktan sonra tüplerin % 10'unda (10 test tüpünde birer tane) canlı spor var





- **Bakteri vegetatif hücreleri:** 80°C/ birkaç dakika
- **bakteri sporları:** 100°C/ birkaç dakika-20 saat
- **Maya-küf vegetatif hücreler:** 60-65°C/ 5-10 dakika
- **Küflerin aseksüel sporları:** 70-75°C/ 5-10 dakika
- ***Mucor, Aspergillus, Penicillium:*** 100°C/ uzun süre



# Soğutma ve dondurma

- Bazı bakteri, maya ve küf mantarı kültürleri, agarda 4-7°C'de aylarca canlı kalabilir (kültür muhafaza yöntemi)
- Çeşitli gıdalar, meyve ve sebzeler buzdolabında ve soğuk hava depolarında aynı prensiple saklanır
- Bakteri ve virüsler
  - -20°C (mekanik dondurucu),
  - -70°C (kuru buz ve donmuş CO<sub>2</sub>)
  - -195°C'de (sıvı azot) canlı kalabilirler.
- Dondurulma sırasında bazı hücreler ölür, bir kısmı canlı kalır ve mikrobiyel metabolizma durur.

# Mikroorganizmaların kimyasal yöntemlerle kontrolü



- Kimyasal yöntemler= antimikrobiyal maddeler
- sürekli koruma sağlamaları nedeniyle fiziksel yöntemlerden daha avantajlı
- fiziksel metotlar ancak uygulama zamanında etkili
- antimikrobiyal madde grupları
  - ❖ Antibiyotikler/ilaçlar (kemoterapötikler)
  - ❖ Antiseptik ve dezenfektanlar
  - ❖ Koruyucular

# Antibiyotikler/ilaçlar (Kemoterapötikler)



- Bakteri, mantar, bitkilerden elde edilir ya da kimyasal sentezlenir
- doğal olanlar sentetik bileşiklerden antibiyotik tanımı ile ayrılır.
- Antibiyotik:
  - canlı mikroorganizmaların bazı özel türleri tarafından sentezlenen maddeler, kendisini üreten mikroorganizmanın dışında kalan ve antibiyotik üretmeyen organizmaların çoğalmalarının engeller
- Doğal olanlar MO lar tarafından kolayca inhibe edildiğinden sentetik ve yarı sentetik antibiyotikler hazırlanır daha dayanıklı olmaktadır
- kimyasal yolla sentezlenenler:
  - Sülfanomidler
  - nitrofuranlar
  - izonikotinik asit hidrazid



- mikroorganizmalar üzerindeki etki şekilleri
- 1) Bakterinin hücre duvarında parçalanma ve sentezini önleme
- 2) Sitoplazmik zarı etkileyerek hücre duvarında zedelenme
- 3) Ribozomların yapısını bozma ve protein sentezinin çeşitli aşamalarını etkileme
- 4) Nükleik asitlerin fonksiyonunu ve sentezini bozma



- **Antiseptikler;** çoğunlukla canlı organizmaya deri veya mukoz membran üzerine uygulanır, dahili olarak kullanılmaması gerekir
- **Dezenfektanlar;** genellikle cansız objelerdeki hastalık etkenlerinin bulaşmasını ve enfeksiyonun yayılmasını önlemek için kullanılır
- **Antiseptik ve dezenfektanlar arasındaki temel farklılık,** kullanılan **konsantrasyondur.**
  - Örneğin; sodyum hipoklorit (klorin) %0.02 oranında içme sularına ilave edildiğinde içilebilir. Ancak % 5'lik hipoklorit mükemmel bir dezenfektandır, fakat içilmez

# Yaygın olarak kullanılan antiseptik ve dezenfektanlar



Kimyasal	Etki Tarzı	Kullanımı
Etanol (%50-70)	Proteinleri denatüre eder, lipidleri çözer	Deri antiseptiği
İzopropanol (%50-70)	Proteinleri denatüre eder, lipidleri çözer	Deri antiseptiği
İyot (%2) (%70 alkolde)	Protein inaktivasyonu	Deri antiseptiği
Gümüş nitrat	Proteinleri çöktürür	Genel antiseptik (özellikle yeni doğanların gözlerinde)
Klor (Cl <sub>2</sub> ) gaz	Kuvvetli okside edici bileşik ((HClO formunda)	Genel dezefektan (özellikle içme sularında)
Civa klorid	Sülfid gruplarıyla reaksiyona girip proteinleri inaktif eder	Dezenfektan (çoğunlukla da deri antiseptiği olarak kullanılır)
Formaldehit (%8)	NH <sub>2</sub> , SH ve COOH gruplarıyla reaksiyona girer	Dezenfektan, endosporları öldürür
Etilen oksit (gaz)	Alkilleştirici bileşik	Dezenfektan, lastik ve plastik gibi ısıya hassas objelerin sterilizasyonu
Fenolik bileşikler	Proteinleri denatüre eder, hücre membranını parçalar	Düşük konsantrasyonda antiseptik, yüksek konsantrasyonda dezenfektan
Deterjanlar (dörtlü amonyum bileşikleri)	Hücre membranını parçalar	Dezenfektan ve deri antiseptiği



## Fenol ve fenolik bileşikler

- En iyi yüzey dezenfektanı
- % 2-3'lük solusyonları kullanılır
  - Bakterisit
  - bakteriyostatik
  - fungusit etki
- Deri ve yara dezenfeksiyonu
  - hücre proteininin yapısını bozar
  - sitoplazmik zardaki oksidaz ve dehidrogenaz enzimlerinde inaktivasyon



# Organik solventler



- Genel olarak sporlar üzerinde etkisizdir
- Etil alkol % 50-70 konsantrasyonda kullanılır (vejetatif hücreler için)
- Metil alkolün etkisi zayıf ve zehirli
- Aseton, eter, toluenden sıvıları muhafaza etmek amacıyla yararlanılır
- Alkoller protein yapısı ve lipidleri eritip sitoplazmik zarı bozarak etki gösterirler



## Halojen ve bileşikleri

- Klorid (sodyum-kalsiyum hipoklorid) ve kloraminlerin sulu çözeltileri kuvvetli oksidan etkiye sahiptir, gaz halinde klor kullanımı zahmetlidir ve özel ekipmanları gerektirir
  - şehir sularında
  - Havuzlarda
  - Evlerde
  - süt ve gıda endüstrisinde dezenfeksiyon
- açığa çıkan serbest klor ve oksijen hücre proteinleriyle birleşerek mikroorganizmaları öldürür.
- İyot ve bileşikleri tüm bakteri çeşitleri, spor, fungus ve virüslere karşı etkili
  - Tentürdiyod ve iyodoforlar cilt dezenfeksiyonu ve havuzlarda



## Ağır metaller ve bileşikleri

- Tek başlarına veya bileşikleri mikrobisidal ve mikrobistatik etkili
- En etkili olanlar civa, gümüş ve bakırdır
  - Civa ve bileşikleri eller dezenfeksiyonunda serum ve aşılarda koruyucu
  - Gümüş nitrat lokal antiseptik olarak burun, boğaz, göz dezenfeksiyonunda
  - Bakır bileşikleri tarımda algisid ve fungusid olarak kullanılır
- Ağır metaller enzim sistemini bozarak etki gösterirler, özellikle civa sülfidril (-SH) grupları ile birleşir



# Deterjanlar

- Yüzey aktif maddeler, yüzey gerilimini düşürme / ıslatma özelliklerine sahip
  - Cilt dezenfeksiyonunda
  - süt, gıda ve meşrubat endüstrisinde temizleme maddesi olarak kullanılır
- Deterjanların yapısında hidrofilik (suda çözünen) ve lipofilik/hidrofobik (yağda çözünen) gruplar mevcut
- mikroorganizmalar üzerindeki etkisi
  - bakteri zarının fonksiyonlarını (yarı geçirgenlik özelliği) bozar
  - enzimleri denatüre eder.



- **Katyonik deterjanlar:**

- pozitif elektrikle yüklü iyonlar vererek çözünürler
- Gram pozitif ve negatif bakteriler, protozoolar ve funguslara etkilidir.
- **Dörtlü amonyum bileşikleri-zefiran**

- **Anyonik deterjanlar:**

- Suda çözündükleri zaman negatif elektrikle yüklü iyonlar verir
- Gram-negatif bakterilere karşı etkisi zayıftır.
- **Sabunlar**

- **İyonik olmayan deterjanlar:**

- İyonize olmazlar.
- Etkili değildir, ancak derideki bakterileri uzaklaştırır
- Büyük bir kısmı sıvı formdadır.



## Aldehitler

- glutaraldehit ve formaldehit
- geniş spektrumlu kuvvetli bir antimikrobiyel aktiviteye sahiptir. Vejetatif bakteri, fungus sporları ve virüslere karşı etkilidir
- tıbbi aletlerin sterilizasyonunda kullanılır.
- bakteri proteinlerinin karboksil, hidroksil ve sülfidril gibi fonksiyonel gruplarıyla reaksiyona girer ve denatüre eder.



# Gaz yapısında sterilizant bileşikler

- Etilen oksit en fazla kullanılan
- Kullanım alanları
  - Kapalı odaların sterilizasyonu
  - Laboratuvar, hastane ve endüstride nemden etkilenen materyallerin sterilizasyonu
  - ısıya dayanıksız aletlerin sterilizasyonu kullanılır.
- Bakteri sporlarını da öldürür
- 
- Enzim inaktivasyonu, DNA / RNA'da bozukluklar

# Koruyucular



- çoğunlukla gıdalara ve tıbbi bileşiklere (aşı) ilave edilir
- tüketildiğinde zehirleyici etki göstermemelidir
- Mikroorganizmalar üzerindeki etkisi
  - sitoplazmadaki proton konsantrasyonunu artırır
  - DNA replikasyonunu engeller
  - protein sentezini engeller
  - enzimleri inhibe eder