

Lipolitik Bakteriler ¹

Hilal B. DOĞAN, Çağla TÜKEL, İbrahim ÇAKIR
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

01. Genel Bilgiler
02. Sayılması

01. Genel Bilgiler

Gıda maddelerinin birçoğu önemli miktarlarda lipit içermektedir. Gıdalarda bulunan özellikle düşük molekül ağırlığına sahip serbest yağ asitleri lipit hidrolizinin en önemli nedenlerinden birisidir. Lipit oksidasyonu sonucu meydana gelen kısa zincirli yağ asitleri gıdaların kendine has kokusunu kaybetmesine neden olmaktadır. Lipit parçalanması genellikle mikrobiyel olmayan nedenlerden kaynaklanmakla birlikte, bakterilerin birçoğu, mayalar ve bazı küfler sahip oldukları lipaz ve fosfolipaz C gibi enzimlerle gıdalarda lipolitik parçalanmaya neden olabilmektedir. Örneğin *Bacillus cereus* ve *Pseudomonas fluorescens* süt lipoproteinlerini parçalayan lipaz enzimi üretirken, Gram negatif psikrotrofik bakterilerin birçoğu ekstraselüler fosfolipaz C enzimi üretmektedirler.

Lipit içeren gıdalar oksidatif ransidite sonucu mikrobiyel olmayan bozulmaya uğrayabilirler. Ancak süt, krema, tereyağı, beyaz peynir ve margarin gibi bazı gıdalarda meydana gelen mikrobiyel lipoliz üründe kalite kaybına ve bozulmaya neden olmaktadır. Gerçekte lipit içeren her gıda maddesi mikrobiyel lipoliz sonucu bozulabilmektedir. Diğer yandan gıdalarda meydana gelen lipolitik değişimler bazen tat ve aroma oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Örneğin peynir ve sucuk gibi bazı fermente ürünlerin olgunlaşarak istenen tat ve aroma bileşenlerine sahip olması mikrobiyel lipoliz sonucu meydana gelmektedir. Bir diğer deyiş ile bazı ürünlerde belirli bir lipoliz gerçekleşmesi bir kalite faktörü olarak değerlendirilmektedir.

Lipaz üreten mikroorganizmalar doğada çok geniş bir alana yayılmıştır. Lipolitik aktivite gösteren bakteri türleri *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Moraxella* ve *Staphylococcus*, küf türleri *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Mucor* ve *Penicillium* ve maya türleri ise *Candida*, *Rhodotorula* ve *Hansenula* cinsleri içinde yer almaktadır.

Mikrobiyel lipaz enzimi genellikle ısıya dirençli bir yapı göstermektedir. Bu nedenle bozulmuş bir gıda maddesinde bozulma etmeni mikroorganizmanın tespit edilememesi, başka bir deyişle ısıl işlemle mikroorganizmanın öldürülmüş olması gıdanın mikrobiyel lipaz faaliyeti sonucu bozulmayacağı anlamına gelmez. Bazı psikrotrofik *Pseudomonas* türleri tarafından oluşturulan lipazlarda $D_{150\text{ °C}} = 4,8$ dakika ve $D_{160\text{ °C}} = 0,7$ dakika olarak belirlenmiştir. Seçilen pastörizasyon veya sterilizasyon derecesi mikrobiyel sterilitiyi sağlamakta ancak gıdadaki bulunan mikrobiyel lipazın tamamını inaktive edememektedir. Bunun sonucu gıdadaki kalan mikrobiyel lipaz enzimi istenmeyen tat ve kokuların oluşmasına neden olmaktadır. Özellikle UHT içme sütü ve süt ürünlerinde bu önemli bir sorun oluşturmaktadır. Tersine olarak lipaz düşük sıcaklık derecelerine de oldukça fazla direnç göstermektedir. -30 °C 'a kadar aktivite göstermesi dondurulmuş etlerde sorun çıkartmaktadır.

¹ Kaynak : Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 29. Bölüm

02. Sayılması

Lipolitik mikroorganizma aranmasında kullanılan besiyerlerinden bazıları Tributyrin Agar (TA), yumurta sarısı içermeyen Baird-Parker Agar (BPA), Nutrient Agar (NA), Standart Method Agar (SMA) veya Plate Count Agar (PCA), Trypticase Soy Agardır. Lipaz üretimini tespit etmek amacıyla NA, SMA veya PCA besiyerlerine substrat olarak bir yağ kaynağı ilave edilmelidir. Bu amaç için en çok kullanılan substrat tributyrindir. Tributyrin besiyerine katılmadan önce petrol eterde çözülerek (5-10 g/100 ml) aktif alüminyum kolonundan geçirilir. Tributyrin dışında mısır yağı, soya yağı, zeytin yağı veya diğer likit yağlar kullanılabilirdiği gibi antioksidan içermeyen katı yağlar da kullanılabilir. Ayrıca besiyerinin bileşimine Victoria blue B indikatör boyası da katılmaktadır. Tributyrin agar ticari olarak elde edilebilir.

Lipolitik mikroorganizma aranmasında/sayılmasında genellikle tek tabaka dökme kültür yöntemi kullanılmaktadır. Ancak bazen ısı işlem sonucu zarar görmüş mikroorganizmaların kendilerini toparlayarak daha iyi gelişmelerini sağlamak için çift tabaka ekim yöntemi de kullanılabilir. Bu amaç için önce standart seyreltme yapıp ekim yapıldıktan sonra katılaştıran besiyeri üzerine NA veya PCA kullanılarak ikinci tabaka ilave edilmelidir. Lipit kaynağı olarak besiyerinde tributyrin kullanılmışsa 20-30 °C 'da 3 gün, diğer yağlar kullanılmışsa 7-10 gün inkübasyona bırakılması gerekmektedir.

Lipolitik mikroorganizmaların sayımında Victoria blue B indikatörü içermeyen TA besiyerinde mikroorganizmalar, etrafı saydam bir halka ile çevrilmiş koloniler oluşturmaktadır. İndikatör içeren besiyerinde ise açık mavi zeminde lipolitik kolonilerin etrafı koyu renkli bir zon ile çevrelenmiş durumdadır. İnkübasyon sonucunda sadece tipik zon oluşumu gösteren koloniler sayılarak gıda örneğinin g veya ml 'sindeki lipolitik mikroorganizma sayısı belirlenebilir.

Besiyerinin bileşimine giren lipit ve indikatör boyanın kontrol edilmesi amacıyla aynı besiyerlerine, *Geotrichum candidum*, *Pseudomonas fragi* ve lipolitik olmayan bir mikroorganizma örneğinin *E. coli* kullanılarak sürme yapıp, petri kutuları *Geotrichum candidum*, ve *Pseudomonas fragi* için 20-25 °C 'da, *E. coli* için 30 °C 'da 3-7 gün inkübasyona bırakılmalıdır. *Geotrichum candidum* 'dan ekim yapılan besiyerlerinin bileşiminde bulunan tributyrin yavaş bir şekilde fakat tamamen parçalanması gerekmektedir. Eğer *Geotrichum candidum* veya *Pseudomonas fragi* kolonilerinden herhangi birinin etrafında zayıf hidroliz zonları oluşmuşsa, besiyerinin bileşimine katılan lipit veya yağda inhibisyona neden olan bazı maddelerin olabileceği düşünülebilir. Kontrol amacıyla ekilen *E. coli* kolonilerinin etrafında hiçbir lipoliz zonu oluşmaması gerekmektedir.