# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

Genel ve taksonomik özellikleri

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ (LAB)

- LAB çeşitli gıdalardaki faaliyetleri sonucu karbonhidratlardan (heksozlardan) laktik asit üretme yeteneğine sahip kok ve basillerden oluşan grubun adıdır.
- Bunlar cins ve tür özelliklerine bağlı olarak karbonhidratlardan laktik asit yanında asetik asit, karbondioksit, alkol ve bazı tat ve aroma maddeleri de üretebilmektedirler.
- Bu maddelerin üretimiyle çok az da olsa gıdanın kalori değerinde bir değişim söz konusu olmaktadır.

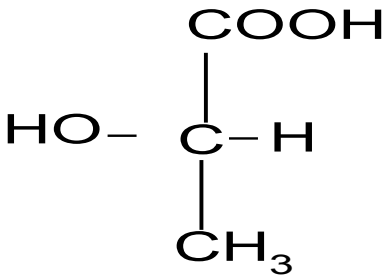
# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ (LAB)

- LAB gıdaların bozulmasında da rol oynarlar.
- İnsanlarda hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmalar üzerinde de ürettikleri bazı 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 güvenilir gıdalar olarak kabul edilebilir.
- LAB glukoz metabolizması sonucunda ürettikleri son ürüne bağlı olarak iki ana gruba ayrılmıştır.

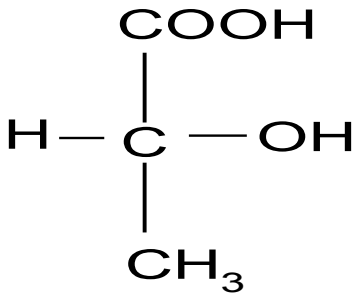
# Karbonhidrat Metabolizması

Temel olarak Laktik Asit Bakterilerinin karbonhidrat metabolizması homolaktik ve heterolaktik olarak ikiye ayrılmaktadır.

Homolaktik fermentasyon, glikoliz için Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) Yolunu takip eder. LAB, hem D(-) hem de L(+) laktik asit veya her iki izomerin rasemik karışımını üretir.




L (+) Laktik asit




D (-) Laktik asit

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- 1. Heksoz şekerlerin fermentasyonu sonucu birincil derecede laktik asit üreten türlere ***homofermentatif LAB*** denir. Homofermentatif özellik heksoz şekerlerin metabolizmasında gözlenir.
- Bazı homofermentatif LAB pentozları kullanarak asetik asit ve laktik asit üretebilirler.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- 2. Metabolik faaliyetleri sonucu heksozlardan laktik asit, $CO_2$ ve etanol üreten LAB ise ***heterofermentatif LAB*** olarak adlandırılırlar.
- Heterofermentatif türler homofermentatif türlere kıyasla asetaldehit ve diasetil gibi tat ve aroma maddelerinin üretimi açısından çok daha fazla önem taşırlar.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- Homofermantatif ve heterofermantatif LAB genetik ve fizyolojik farklılıklarından dolayı glukozu farklı metabolik yollarla kullanarak farklı son ürünler üretirler.
- Homofermentatif LAB, aldolaz ve heksozisomeraz enzimine sahipken, fosfoketolaz enzimi yoktur ve Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) metabolik yolunu izleyerek bir molekül glukozdan iki molekül laktik asit üretirler.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- Heterofermentatif LAB ise aldolaz ve heksozisomeraz enzimi yerine fosfoketolaz enzimine sahiptirler.
- Bu gruba giren LAB glukozun yıkımında EMP metabolik yolu yerine heksozmonofosfat veya pentozfosfat metabolik yolunu kullanırlar.
- Bunların ayrıca fosfoketolaz glikolitik yolunu da kullanırlar.

LAB'nin heksoz metabolizmasında kullandığı üç temel yolu göstermektedir.

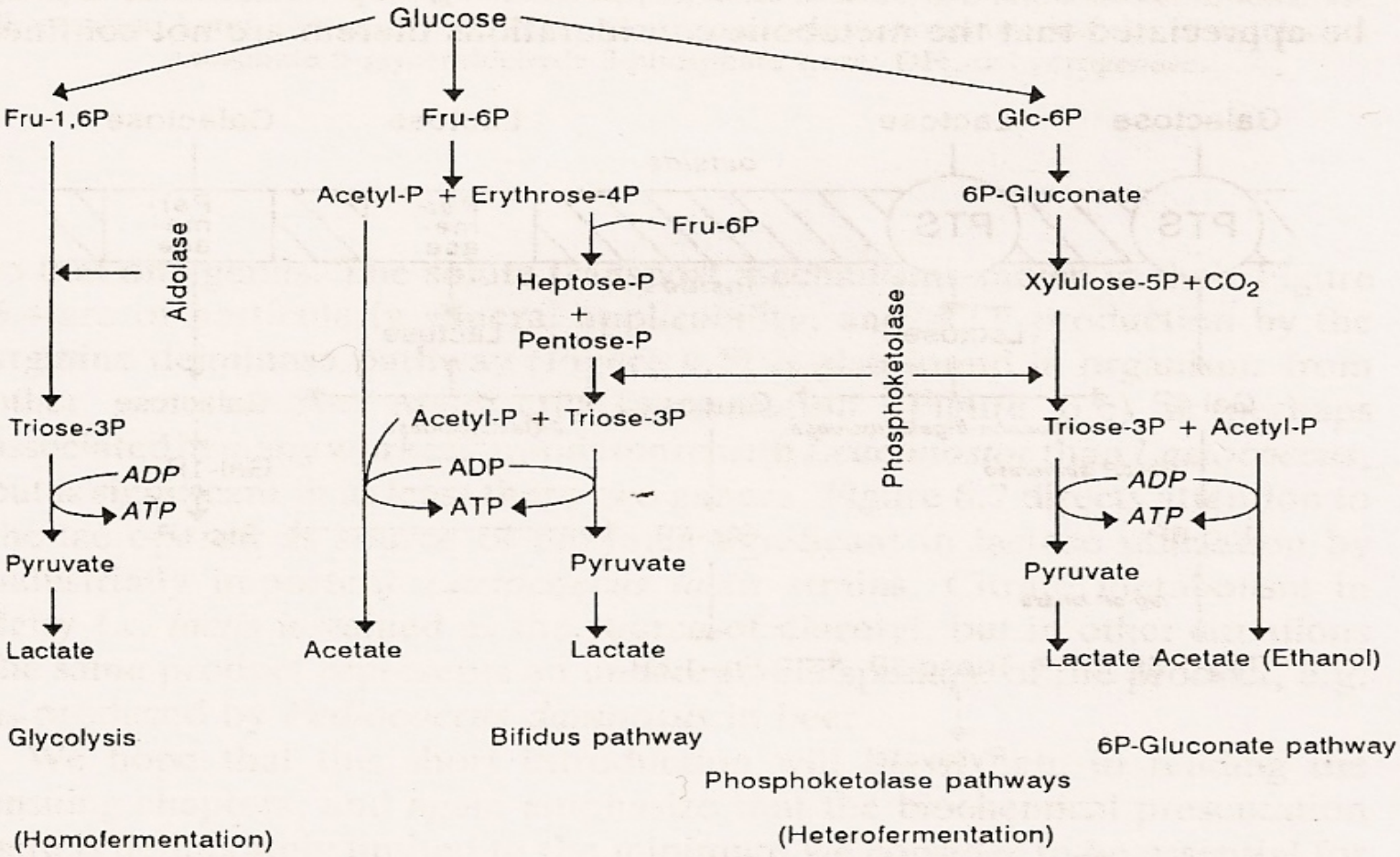



**Figure 1.1** Schematic presentation of the main pathways of hexose fermentation in lactic acid bacteria (Reproduced from Kandler, 1983, by permission of Kluwer Academic Publishers.)

# Homofermentatif ve heterofermentatif LAB ve laktik asit konfigürasyonları

| Homofermentatif Organizma | Laktik asit konfigürasyonu | Heterofermentatif Organizma | Laktik asit konfigürasyonu |
|---|---|---|---|
| *Lactobacillus* | | *Lactobacillus* | |
| *L.acidophilus* | DL | *L.brevis* | DL |
| *L.bulgaricus* | D(-) | *L.buchneri* | DL |
| *L.casei* | L(+) | *L.cellobiosus* | DL |
| *L.coryniformis* | DL | *L. confusus* | DL |
| *L.curvatus* | DL | *L.coprophilus* | DL |
| *L.delbrueckii* | D(-) | *L.fermentum* | DL |
| *L.helveticus* | DL | *L.hilgardii* | DL |
| *L.jugurti* | DL | *L.sanfrancisco* | DL |
| *L.jensenii* | D(-) | *L. trichodes* | DL |
| *L. lactis* | D(-) | *Wesissella (L.) viridescens* | DL |
| *L.leichmannii* | D(-) | *Leuconostoc* | |
| *L.plantarum* | DL | *L.cremoris* | D(-) |
| *L.salivarus* | L(+) | *L.dextranicum* | D(-) |
| *Pediococcus* | | *L. lactis* | D(-) |
| *P. acidilactici* | DL | *L.mesenteroides* | E>(-) |
| *P.cerevisiae* | DL | *Oenococcus oeni (L.oenos)* | D(-) |

**Tablo: Homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterileri ve laktik asit konfigürasyonları**

| Homofermentatif Organizma | Laktik asit konfigürasyonu | Heterofermentatif Organizma | Laktik asit konfigürasyonu |
|---|---|---|---|
| *Pediococcus* | | *Leuconostoc* | |
| *P. pentosaceus* | DL | *W. (L.) paramesenteroides* | D(-) |
| *Streptococcus* | | *L.gelidum* | D(-) |
| *S.bovis* | D(-) | *L.carnosum* | D(-) |
| *Sthermophilus* | D(-) | *Carnobacterium* | |
| *Lactococcus* | | *C.divergens* | |
| *L.lactis ssp.lactis* | | *L.fermentum* | |
| *L.lactis ssp.cremoris* | | *C.mobile* | |
| *L.lactis ssp.diacetylactis* | | *C.gallinarum* | |
| *L.lactis ssp.hordniae* | | *C.piscicola* | |
| *L.garviae* | | *W. (L.) viridescens* | |
| *L.plantarum* | | | |
| *L.raffinolactis* | | | |
| *Vagococcus* | | | |
| *V.fluvialis* | | | |
| *V.salmoninarum* | | | |

# LAB'nin Fermentasyon ürünleri

- Laktik asit bakterileri homofermantatif veya heterofermantatif grup olmak üzere ayrılabilir.

- Homofermantatif türler şekeri Fructose-biphosphat yolu (Glikoliz) üzerinden hemen hemen tamamen laktik asite parçalarlar.
- (2 mol ATP kazanılması ile 1 mol glukozdan 2 mol Pyruvat oluşturulur. Glycerinaldehyd-3-phosphat'ın dehidrojenasyonunda kaybedilen H Pyruvat'a geçer).

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- Geçmişte LAB'nin taksonomik olarak sınıflandırılmasında Gram reaksiyonu, katalaz negatiftik, laktik asit konfigürasyonu (D, L ve DL) ve çeşitli karbonhidratları fermente edebilme yetenekleri gibi özellikler kullanılmaktaydı.
- Ancak yapılan detaylı genetik çalışmalarla DNA baz kompozisyonları, (16S) rRNA dizilişleri, hücre duvarı mukopeptid tipleri ve enzimlerin immünolojik spesifik yapıları gibi özellikler de tanımlama ve sınıflandırmada kullanılmaktadır.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- Laktik asit bakterileri bu tip genetik özellikleri açısından çok büyük çeşitlilik göstermektedirler.
- DNA baz kompozisyonu (molar G+C yüzdesi) laktik asit bakterilerinde en az %35 *(L.salivarus)* ve en fazla %53 *(L.fermentum)* arasında değişmektedir.
- Bu gruplandırmaya göre *Lactobacillus'*lar molar G+C yüzdesi açısından üç gruba ayrılmaktadır:

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- **Grup 1**: Molar G+C yüzdesi %32,4-%38,3 arasında değişen türler; *L.jugurti, L.helveticus, L.salivarus, L.bulgaricus, L.(jugurti) bulgaricus*
- **Grup 2**: Molar G+C yüzdesi %42,7-%48 arasında değişen türler; *L.buchneri, L.brevis, L.casei, L.(Weisella)viridescens, L.plantarum*
- **Grup 3**: Molar G+C yüzdesi %49-%51,9 arasında değişen türler; *L.lactis, L.leichmannii, L.delbrueckii, L.fermentum, L.cellobiosus.*

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- 1. grupta yer alan türlerin hepsi homofermentatiftir. 2. ve 3. grupta ise hem homofermentatif hem de heterofermentatif türler yer almaktadır.
- G+C yüzdesi açısından aynı gruba giren türler DNA hibridizasyonu ve immünolojik metotlarla birbirlerinden ayrılarak tanımlanabilirler.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- LAB'nin taksonomik sınırları henüz kesin olarak çizilememiştir ve bu konuda değişik genetik çalışmalar sürdürülmektedir.
- Şu ana kadar tanımlanmış ve laktik asit bakterileri grubuna dahil edilmiş mikroorganizmaların bazı genel özellikleri aşağıda sıralanmıştır:

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- Bu mikroorganizmalar gelişebilmek için aminoasitler, B grubu vitaminler, pürin ve pirimidin gibi besin ögelerine ihtiyaç duyarlar
- Çoğu mezofilik mikroorganizmalardır. Ancak bazıları 5°C'nin altında, termofilik türler ise optimum 45°C gibi yüksek sıcaklıklarda gelişebilirler.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- Bu mikroorganizmaların çoğu optimum 4,0-4,5 pH'da gelişebilmelerine rağmen bazıları 3,2 gibi düşük ve 9,6 gibi yüksek pH'larda da gelişebilmektedir.
- Bazıları zayıf proteolitik ve lipolitik özelliğe sahiptir.

- Laktik asit bakterilerinin taksonomisi ile ilgili çalışmalar hala devam etmektedir.
- Sürekli olarak yapılan genetik çalışmalar yardımıyla her geçen gün yeni cinsler oluşturulmakta ya da eski cinsler yeni cins isimleri ile adlandırılmaktadır.

# Laktik Asit Bakterileri grubuna;

- *Lactobacillaceae* familyası

*Lactobacillus*

- Kok şeklindeki *Streptococcaceae* familyası

*Streptococcus*

*Pediococcus* ve

*Leuconostoc* cinsleri dahil edilmekte iken

Son yıllarda yapılan genetik ve taksonomik çalışmalar sonucu aşağıdaki beş cins de eklenmiştir:

- *Lactococcus*
- *Carnobacterium*
- *Enterococcus*
- *Vagococcus*
- *Weissella*

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- 1984-1985 yıllarında LAB grubuna dahil edilen *Lactococcus, Carnobacterium* ve *Enterococcus* cinsleri genetik olarak farklı özelliklere sahip bazı *Lactobacillus* ve *Streptococcus* türlerinin bu cinslerden ayrılması ile oluşturulmuştur.
- *Carnobacterium* cinsi daha önceleri *Lactobacillus* cinsi içinde yer alan bazı türlerden, *Lactococcus* cinsi N grubu *Streptococcus* türlerinden, *Enterococcus* cinsi ise Lancefield D grubu *Streptococcus* türlerinden oluşmaktadır.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

- 1990'lı yıllarda yapılan çalışmalarla da N grubu bazı *Lactococcus* türleri *Vagococcus* cinsi adı altında toplanmıştır.
- *Leuconostoc paramesenteroides* ile *Lactobacillus*'un bazı türleri *Weissella* cinsi olarak adlandırılmıştır. Bu beş cinsden en son üzerinde çalışılan cins *Weissella* 1993 yılında yapılan çalışmalarla ortaya konmuş yeni bir cinstir.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

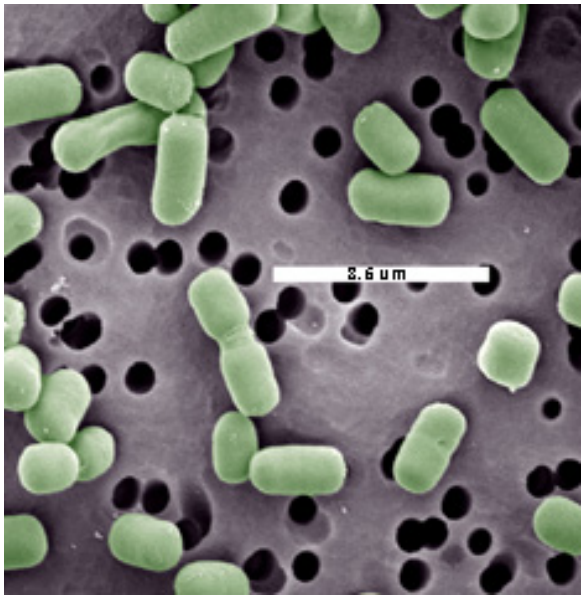
- Bunlara ilaveten bazı yeni kaynaklarda *Aerococcus, Oenococcus, Atopobium, Dolosigranum, Tetragenococcus, Alloiococcus* ve *Gemella* gibi yukarıda adı verilen 5 yeni cinsten farklı bazı yeni cinslere de rastlanmaktadır.
- Ancak bu mikroorganizmalar gıdalarda önem taşımayan cinsler olarak bildirilmekte ve henüz bunlarla ilgili taksonomik çalışmalar tamamlanmadığı için kesin sınıflandırılmaları yapılamamaktadır.

# LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

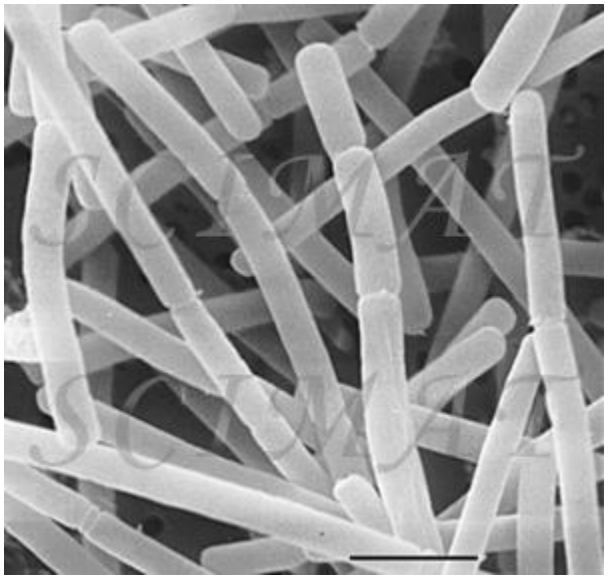
- *Pediococcus halophilus'un* ismi son çalışmalarla *Tetragenococcus halophilus* olarak değiştirilmiştir.
- Bazı araştırıcılar hem genetik, hem de biyokimyasal açıdan LAB ile büyük farklılıklar gösteren, EMP, fosfoketolaz veya heksozmonofosfat glikolitik yolunu kullanmayan ve son ürün olarak asetik ve laktik asit üreten *Bifidobacterium* cinsini dahi laktik asit bakterileri grubuna dahil etmektedirler.

- Laktik asit bakterileri morfolojik olarak birbirine benzemeyen,

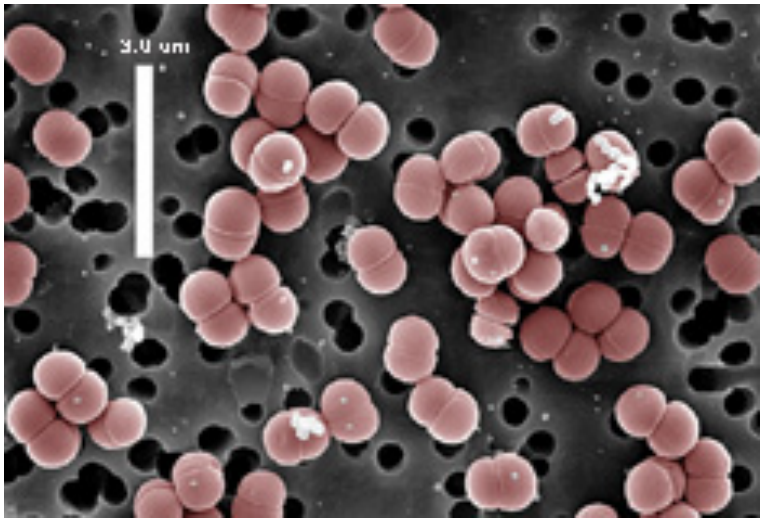
- Gram pozitif, hareketsiz ve katalaz negatif bakterilerdir.



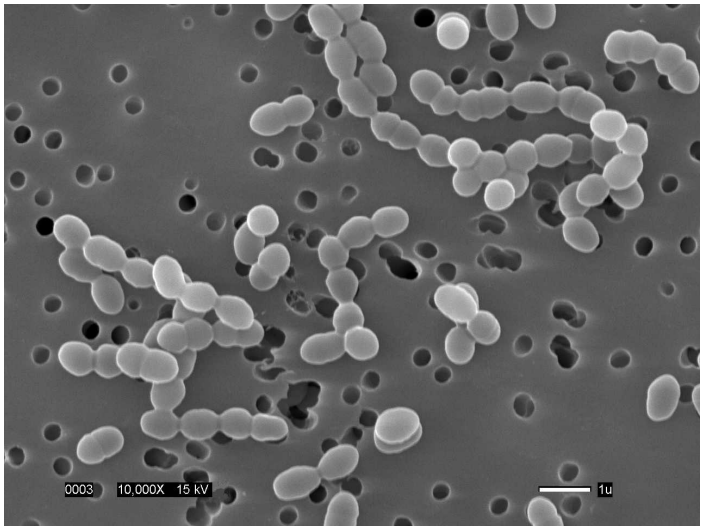

*L. brevis*



*L. bulgaricus*



*Pediococcus* sp.




*Leuconostoc* sp.

# Laktik asit bakterilerinin filogenetik ilişkileri

- Bakterilerin filogenetik farklılıkları ile ilgili geçerli bilgi temel olarak 16S rRNA (ribozomal ribonükleik asidin) karşılaştırmalı dizilim analizlerine dayanmaktadır.
- Bu verilere dayanarak bakteriler 12 ana sınıfa ayrılmaktadır.

- Laktik asit bakterileri, Gram-pozitif bakterilerin değişik bir grubu olan spor oluşturmayan bakterileri kapsar.

- Kok veya çubuk şeklinde olabilirler ve çok nadir de olsa pseudo-katalazlar bulunabilmesine karşın, katalaz üretmezler.

- Kemo-organotrofiktirler ve sadece kompleks besin ortamlarında gelişebilirler.

- Enerji kaynağı olarak fermente olabilen karbonhidratları kullanırlar.
- Heksozları temel olarak laktata parçalarlar (homofermentatif)
- veya laktat ve asetat, etanol, $CO_2$, format veya süksinat gibi ilave ürünler oluştururlar (heterofermentatif).

- Laktik asit bakterileri, gıdalarda (süt ürünleri, fermente etler, ekşi hamur, fermente sebzeler, içecekler), bitkiler üzerinde ve ayrıca tüm insan ve diğer memelilerin genital, intestinal ve solunum sistemlerinde bulunurlar.

- 16S ve 23S rRNA dizilim verilerine dayanarak, Gram-pozitif bakteriler iki sınıf oluştururlar.
- Birinci sınıf DNA kompozisyonunda %50 den az guanin ve sitozin (G+C) içeren ve *Clostridium* sınıfı olarak adlandırılan Gram-pozitif bakteriler,
- diğer sınıf (actinomycetes) ise %50 den fazla G+C içerenlerdir.

- Tipik laktik asit bakterileri, *Carnobacterium, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus ve Streptococcus*, %50 den az G+C içerirler ve *Clostridium* sınıfına dahildirler.

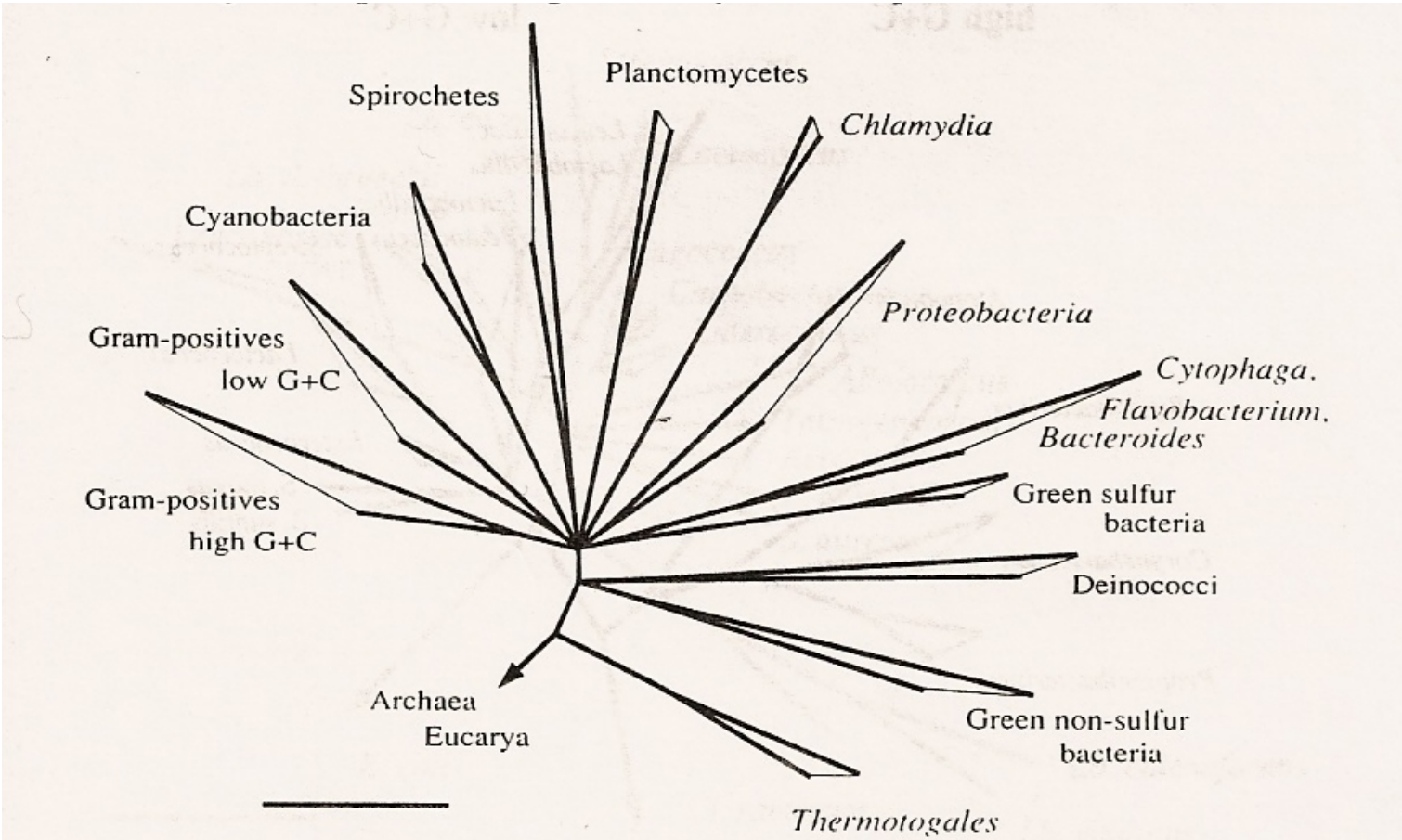



**Figure 2.1** Phylogenetic tree of bacteria based upon 16S rRNA sequence comparison. The bar indicates 10% expected sequence divergence.

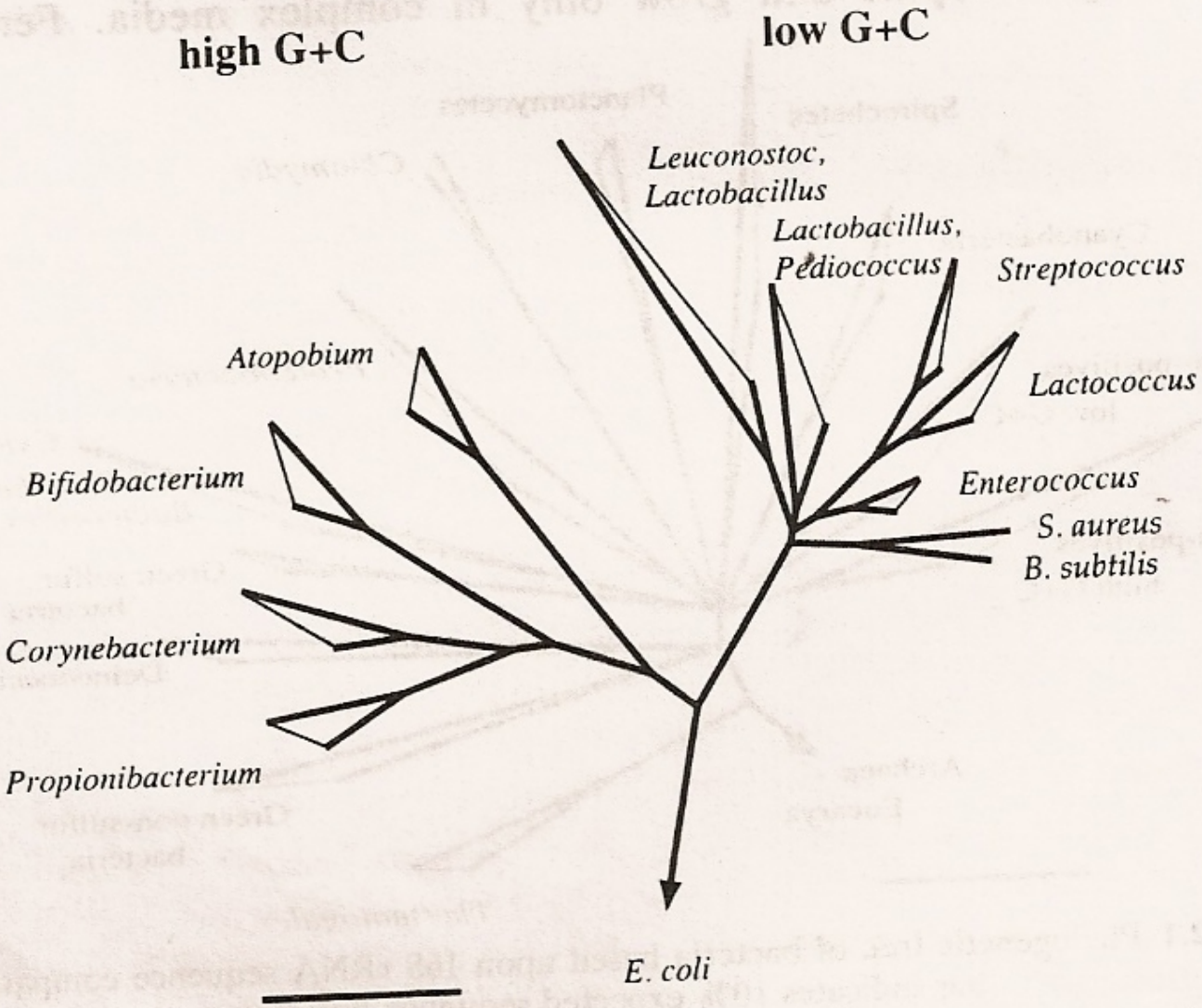



**Figure 2.2** Phylogenetic trees of Gram-positive bacteria. The bar indicates 10% expected sequence divergence.

- *Bifidobacterium,* laktik asit bakterisi olarak değerlendirilmekte ise de, filogenetik olarak yüksek G+C içeriği ve 16S rRNA verileri ile Actinomycetes sınıfına dahildir.

- Gıdalar ve yemler için oldukça önemli olan diğer bazı Gram-pozitif bakteriler de mevcuttur ve Actinomycetes sınıfına dahildirler; *Brevibacterium, Corynebacterium, Microbacterium* ve *Propionibacterium* gibi.

# Lactobacillus, Leuconostoc ve Pediococcus cinsleri

Bu üç cins, farklı morfoloji ve/veya fermentasyon paternleri dolayısıyla birbirlerinden ayrı olarak ele alınır.

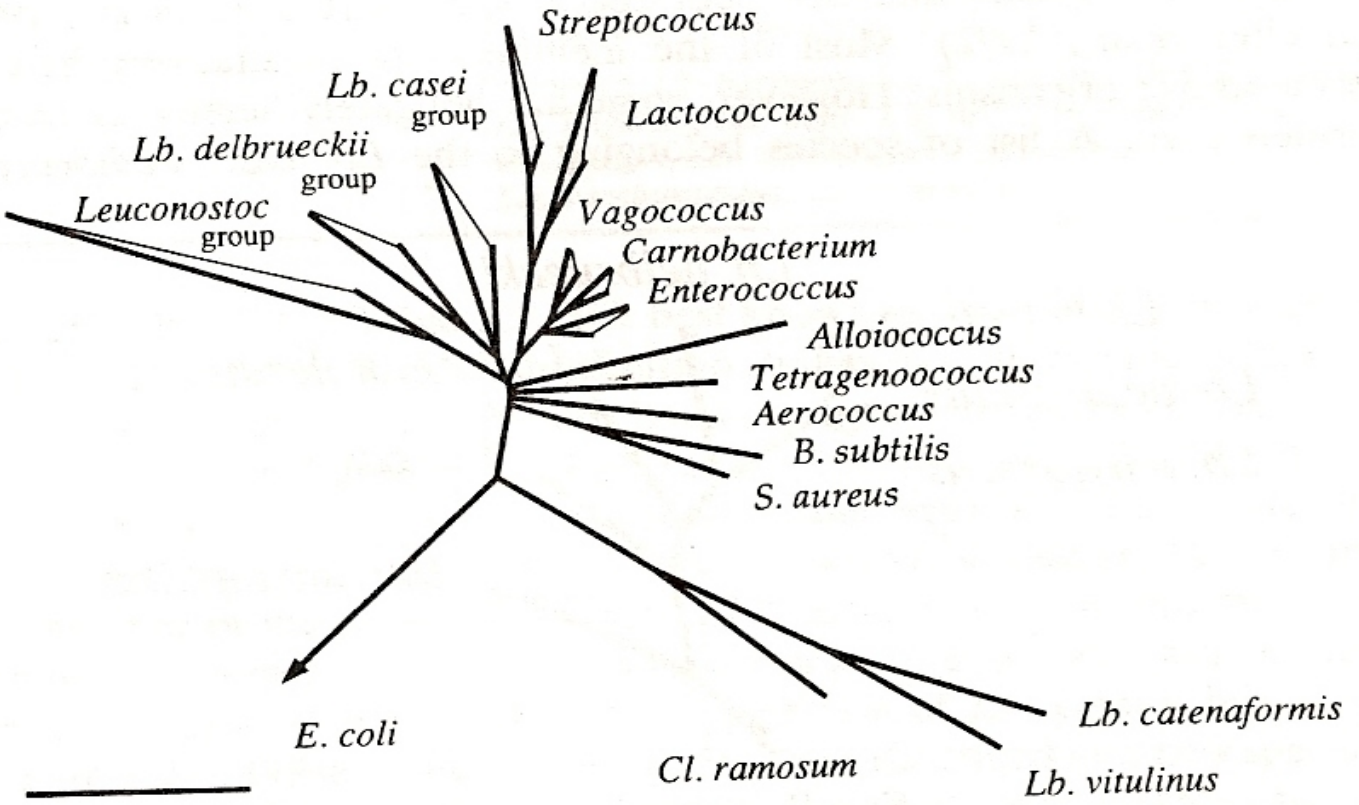



**Figure 2.3** Phylogenetic tree of lactic acid bacteria and related bacteria. The bar indicates 10% expected sequence divergence.

- Klasik tanımlama filogenetik ilişkileri tam olarak yansıtmaz. Örnek olarak *Lactobacillus* cinsinin internal (iç) yapısı, orijinal alt bölümler olan *Thermobacterium, Streptobacterium* ve *Betabacterium* veya homo- veya heterofermentatif yol gibi metabolik özellikler ile korelasyon göstermez.
- 16S rRNA çalışmaları temel alınarak Lactobacillus cinsi ve akrabası olan cinslerin üç alt sınıfa ayrılması önerilmiştir.

- Laktobasiller ve ilişkili organizmaların uygun 16S rRNA verileri kullanılarak yapılan dikkatli sıralama analizleri ile filogenetik ağaç, farklı metodlar (distance matrix, parsimony ve maksimum yakınlık analizleri gibi) ile yeniden yapılandırılmıştır.

- Bu analizler göstermiştir ki *Leuconostoc* grubu diğer laktik asit bakterilerinden açık şekilde ayrıdır ve diğer iki grup, yani *Lb. delbrueckii* ve *Lb. casei* grubu, birbirlerine ve diğer laktik asit bakterilerine göre daha yakındır ve değerlendirmeleri kolaydır.

# LAB’İN YENİ SINIFLANDIRMASI

# Section I

- **The family: *Aerococcaceae***
  - **The genus: *Abiotrophia***
  - **The genus: *Aerococcus***
  - **The genus: *Facklamia***
  - **Minor genera of the *Aerococcaceae:* (*Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Globicatella*, *Ignavigranum*)**

# Section II

- **The family: *Carnobacteriaceae***
  - **The genus: *Carnobacterium***
  - **The genus: *Marinilactibacillus***
  - **The genus: *Trichococcus***
  - **The genus: *Alkalibacterium***
  - **Minor genera of the *Carnobacteriaceae*: *Allofustis, Alloiococcus, Atopobacter, Atopococcus, Atopostipes, Bavariicoccus, Desemzia, Dolosigranulum, Granulicatella, Isobaculum* and *Lacticigenium***

# Section III

- **The family: *Enterococcaceae***
  - **The genus: *Enterococcus***
  - **The genus: *Tetragenococcus***
  - **The genus: *Vagococcus***
  - **Minor genera of the *Enterococcaceae:* (*Catellicoccus*, *Melissococcus* and *Pilibacter*)**

# Section IV

- **The family: *Lactobacillaceae***
  - **The genus: *Lactobacillus***
  - **The genus: *Paralactobacillus***
  - **The genus: *Pediococcus***

# Section V

- **The family: *Leuconostocaceae***
  - **The genus: *Fructobacillus***
  - **The genus: *Leuconostoc***
  - **The genus: *Oenococcus***
  - **The genus: *Weissella***
  - **The genus: *Lactococcus***

# Section VI

- **The family: *Streptoccaceae***
  - **The genus: *Lactovum***
  - **The genus: *Streptococcus***

# Section VII

- **Physiologically ‘related’ genera**
  - **The genera: *Bifidobacterium*, *Parascardovia* and *Scardovia***
  - **The genus: *Sporolactobacillus***
  - **The genera: *Bacillus*, *Geobacillus* and *Halobacillus***
  - **The genera: *Halolactibacillus* and *Paraliobacillus***