

Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi (04)

05. Laboratuvar Örneğinin Hazırlanması

A. Kadir Halkman¹

05.01. Giriş

Laboratuvara getirilen gıda maddesinden çoğu defa 10 g (mL) ya da 25 g (mL) örnek alınarak mikrobiyolojik açıdan analiz edilir. Suların mikrobiyolojik analizinde sıklıkla 100 mL hatta 5 L gibi değerlere de rastlanmaktadır.

Gıda örneğinin bileşimi, laboratuvar örneğinin hazırlanmasında en önemli etkenlerden birisidir. Sıvı bir gıdanın basit olarak elle çalkalanması dahi yeterli bir homojenizasyon sağlayabilir. Tersine olarak katı gıdalarda laboratuvar örneğinin alınması ve homojenizasyon çok daha özel koşullar gerektirir.

05.02. Sıvı Gıdalar

Süt örneklerinde bu tip bir homojenizasyonun sağlanması için Food and Drug Administration (FDA) tarafından standart çalkalama şekli tarif edilmiştir². Buna göre; yaklaşık 3/4 oranında dolu olan örnek kapları 7 saniye süre içinde 30 cm mesafe içinde 25 kez hareket ettirilerek çalkalanır. Son tüketici ambalajındaki örnekler 25 kez baş aşağı çevrilir. Çalkalama işleminden sonra 3 dakika içinde örnek alınmış olmalıdır.

Bu çalkalama tanımı süt için verilmiş olmakla birlikte, diğer sıvı gıdalar için de uygulanabilir ya da laboratuvar kendi standardını tanımlamalıdır.

05.03. Katı Gıdalar

Bütün gıda analizlerinde katı gıdalardan örnek hazırlama ve homojenizasyon, üzerinde en çok çalışılan konulardan birisidir. Basit olarak; bir karabiber çuvalının altından, ortasından ya da üzerinden örnek alınması halinde bu 3 örnek arasında toplam koliform bakteri içeriği açısından büyük bir fark beklenmeyecektir. Ancak bir beyaz peynir kalıbı için durum çok farklıdır.

¹ Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.

Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: halkman@eng.ankara.edu.tr

² <http://www.fda.gov/opacom/morechoices/fdaforms/FDA-2400a.pdf>

Katı gıdanın çeşidine ve hedef mikroorganizma analizine göre hazırlanmış pek çok dikey standart vardır. Öncelikle bu standartlara uyulması gereklidir. Gıdanın üretim teknolojisi de bu konuda önemlidir. Örneğin; kaymaklı ve kaymaksız tip yoğurtta, üretim teknolojisine bağlı olarak istenmeyen mikroorganizma analizinde farklı hazırlıklar yapılması gerekir. Aşağıda bazı tipik örnekler verilmiştir.

-Küçük ambalajda kuru gıda: En az sorunlu olan örneklerdir. Temel mikrobiyoloji kuralları gereğince steril bir kaşık ya da uygun bir çubuk ile karıştırmak ve örnek almak yeterlidir.

-Büyük ambalajda kuru gıda: Ambalajın altı, ortası ve üstünden farklı örnekler alınıp hepsi karıştırılmalı ve bu kompozit örnekten analiz örneği alınmalıdır.

-Dondurulmuş örnek: Kuru gıda örneğindeki gibidir.

-Ekmek: Küfler sadece yüzeyde bulunur. Tersine olarak rop sporu, nem faktörüne bağlı olarak iç kısımlarda çimlenip çoğalır ve sünme hastalığına neden olur. Ekmek, olabildiğince ince olarak dilimlenip, içi ve dışı temsil edilecek şekilde tartım yapılmalıdır.

-Gövde et: Bütün mikroorganizmalar yüzeydedir. Özel sonda ile örnek alınmalıdır. Sadece yüzeyden belirli bir alanda sayım da yapılabilir.

-Salatalar: Salata hammaddeleri salata içinde homojen dağılmaz ve hammaddeler farklı mikroorganizma popülasyonu içerir. Bu durumda örnek alınmadan önce salata olabildiğince karıştırılmalı ve rasgele olarak farklı yerlerinden örnek alınmalıdır.

-Sucuk: İçi ve dışında farklı tür ve sayıda mikroorganizma görülebilir. Olabildiğince ince olarak dilimlenmeli ve tartım bu dilimler kullanılarak yapılmalıdır.

-Peynirler: İçi ve dışında farklı tür ve sayıda mikroorganizma görülebilir. Olanak varsa kalıp rendelenmeli ve tartım bu rendelenmiş kısımdan yapılmalıdır. Özel sondalar da kullanılabilir. Ya da çok ince olarak dilimlenmelidir.

06. Homojenizasyon

06.01. Giriş

Analize alınacak gıda örneği olabildiğince homojen olmalıdır. Basit olarak; kaymaklı yoğurdun kaymağının altındaki bölgeden örnek alındığında yoğurttaki yağ miktarının %0'a yakın çıkacağı kuşkusuzdur. Buna göre kaymaklı yoğurtta yağ analizi yapılacak ise öncelikle kaymak, tüm kitleye homojen bir şekilde dağıtılmalıdır.

Mikrobiyolojide homojenizasyon denildiğinde analize alınacak örneğin tüm kitleyi temsil etmesi yanında özellikle katı gıdaların sıvılaştırılması da anlaşılır. Bir diğer deyiş ile katı bir gıda agarlı bir besiyerine doğrudan ekilemeyeceği için belirli bir sıvı içinde çözülür. Bu işlem de homojenizasyon olarak anılır.

Tuz, şeker gibi katı gıdalar su içinde kolaylıkla çözülebilir. Bunlar için el ile karıştırmak dahi yeterli bir homojenizasyon sağlar. Yoğurdun, erleni elle karıştırarak suda çözülmesi çok uzun zaman alır. Sucuk gibi gıdalar için mutlaka homojenizatör kullanılması gerekir. Mayonez ise homojenizatörden ziyade özel çözücülere gerek duyulur.

06.02. Homojenizatörler

En yaygın kullanılanları "blender" ve "stomacher"dır.

06.02.01. Blender

Her ne kadar laboratuvarında ev tipi mutfak blenderi kullanmak mümkünse de bunların alkol ile yapılan sterilizasyonlarına özen gösterilmesi gerekir. Plastik gövdeden alkolün uzaklaştırılması steril su ile çalkalayarak yapılır. Plastik gövde için alev ile alkol uzaklaştırması yapılmamalıdır. Laboratuvar tipi paslanmaz çelik gövdeli bazı blenderların kapakları plastik olup sadece alkol ile sterilize edilebilir.

Blender kullanılmasında hız ve süre önemlidir. Mikroorganizmaya zarar vermemek için olabildiğince düşük hız ama gerekli ise uzun süreli homojenizasyon yapılmalıdır.

Anaerobların analizinde blender kullanılmaz. İşlem sırasında oluşan anafor nedeni ile bol miktarda hava (oksijen) ile temas edecekleri için sahte negatif ya da olduğundan daha düşük sayılarda sonuç alınır. *Clostridium perfringens* aerotolerant olmakla birlikte bu kadar fazla oksijen varlığında zarar görür.

06.02.02. Stomacher

Adını, midedekine benzer öğütmeden alır (stomach= mide). 1960'lı yıllarda başlayan mikrobiyoloji laboratuvarı otomasyonunda ilk ciddi gelişme olarak kabul edilir. Basit olarak basınca dirençli özel torbaya gıda ile homojenizasyonda kullanılan sıvı konulur. 2 pedal aracılığı ile sıkıştırarak homojenizasyon sağlar.

Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarlarında kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Filtreli tip torbaların kullanılması büyük rahatlık sağlamaktadır.

06.02.03. Diğerleri

Kullanım amacına göre manyetik katıştırıcı, mutfak tipi el mikserleri de homojenizasyon amacı ile kullanılmaktadır. Peynir rendesi, havan içinde kum ile ezme işlemleri de yeterli bir homojenizasyon sağlayabilmektedir. Rendelenmiş yumuşak peynirler doğrudan erlene ilave edilerek manyetik katıştırıcıda homojenizasyon sağlanabilir ancak sert peynirlerde bu uygulama yeterli olmaz.

06.03. Homojenizasyonda Kullanılan Çözeltiler

Homojenizasyon, aynı zamanda 10^{-1} seyreltme olduğu için prensip olarak seyreltmede kullanılan çözeltiler bu amaçla kullanılır. Mayonez gibi yalpy gıdaların homojenizasyonu için Triton X 100 kullanılmalıdır. Seyreltme çözeltileri hakkında Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları³ adlı kitapta açıklayıcı bilgi vardır.

³ www.mikrobiyoloji.org sitesi ana sayfasından ücretsiz olarak bilgisayara indirilebilir.