

## Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi (01)

### 01. Önsöz

Gıda güvenliği konusunda yeni yaklaşımlar, analiz yöntemlerinde bir seri değişikliği de beraberinde getirmiştir. Buna bağlı olarak, laboratuvarlarda otomasyon, kalibrasyon, akreditasyon, yöntemlerin geçerli kılınması (validasyon), standart yöntemlerin doğru uygulanması (verifikasyon), ölçüm belirsizliği gibi matematiksel uygulamalar ağırlık kazanmaya başlamış ve genetik-serolojik esaslı analizler laboratuvarlarda giderek yaygınlaşmıştır.

Türkiye'de de bu tip uygulamalar çok yeni değildir. Özellikle akademik çalışmalarda ve gıda sanayisinin kaliteye önem verilen kuruluşlarında oldukça uzun bir zamandan beri uygulanmaktadır. Hatta bu kavramlar batıda daha yeni filizlenmeye başlarken, sistemi batıdan tümüyle habersiz olarak geliştiren laboratuvarlarımız da vardır.

Yeni geliştirilen ve kimi yerde modern kimi yerde ise yeni olarak tanımlanan bu yaklaşımların geçerliliği standart yöntemlerle kıyaslanarak sınanmaktadır. Bir diğer deyişle, yeni bir analiz yaklaşımının, uluslararası platformda geçerli olarak tanınması için en azından standart yöntemlere eşdeğer performans göstermesi zorunludur.

Bu durumda klasik yöntemler hâlâ geçerlidir ve FDA ile ISO gibi kuruluşlar bu yöntemleri esas almaktadırlar.

Dolayısı ile gıdaların mikrobiyolojik analizinde bu gün için standart yöntemler geçerlidir, ancak daha hızlı ve –genetik-serolojik esaslı testlerde olduğu gibi– daha doğru ya da daha duyarlı sonuç veren, daha kolay uygulanan yöntemlerin de geçerliliği kabul edilmek zorundadır. Kısa bir süre sonra özellikle genetik-serolojik esaslı testlerin artık standart analiz yöntemi olarak geçerli olacağı açıktır.

OrLab OnLine Mikrobiyoloji Dergisinin bu sayısı ile birlikte klasik analizlerden başlayarak "Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi" başlığı altında bir seri makale yayımlanacak, her dergideki makalelerde farklı bir ya da birkaç konu işlenecek, özellikle akademik çerçevede farklı yazarlar katkıda bulunacaktır.

Bu yazı dizisi tamamlandığında [www.mikrobiyoloji.org](http://www.mikrobiyoloji.org) olarak çalışmanın bütününe gerek sitemizde OnLine olarak yayımlanması gerek basılı kitap haline getirilmesi planlanmaktadır.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. A. Kadir Halkman'ın editörlüğünde yürütülmektedir.

Programına katkıda bulunmak isteyen tüm meslektaşlarımızın [kitap@mikrobiyoloji.org](mailto:kitap@mikrobiyoloji.org) e-posta adresi ile yazışmalarını rica ediyoruz.

## 02. Gıdalarda Mikrobiyolojik Analizlerin Temel Yaklaşımı

### A. Kadir Halkman<sup>1</sup>

#### 02.01. Giriş

Gıdaların mikrobiyolojik analizleri başlıca;

- Sayım,
- Var/yok testleri,
- Biyolojik stabilite testi,
- Toksin testleri,
- Diğer testler olarak gruplandırılabilir.

Gıda mikrobiyolojisi, esas olarak, gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların kontrolü olarak tanımlanır. Bu çerçevede mikroorganizmalar aracılığı ile herhangi bir ürün (yoğurt, enzim vb.) elde edilmesi, gıda mikrobiyolojisi değil tümüyle endüstriyel mikrobiyoloji içinde yer alır.

Buna bağlı olarak bu çalışmada sadece gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların kontrolü ele alınacaktır. Kontrolden kasıt, genel olarak sadece laboratuvar analizi değildir. Bu mikroorganizmaların bir şekilde gıdaya bulaşmasının, gelişmesinin engellenmesi de bir çeşit kontroldür. Bulaşmanın engellenmesi hammadde açısından ele alındığında EUREPGAP ön plana çıkar. Gelişmenin engellenmesi ise HACCP yaklaşımı ile soğutmadan, koruyucu kullanımına kadar farklı şekillerde sağlanabilir.

Bu çalışmada EUREPGAP ve HACCP yaklaşımlarına da yeterli ölçüde girilmesi kaçınılmazdır.

#### 02.02. İstenmeyen Mikroorganizma Kavramı

Çok basit bir örnekle; küflü peynir üretiminde kullanılan *Penicillium roquefortii* küfü kaşar peynirine ya da yoğurda bulaşırsa "istenmeyen mikroorganizma" olarak değerlendirilir. Herhangi bir kaynaktan *Penicillium roquefortii* bulaşmış bir kaşar peynirinin tüketilmesinde sağlık açısından hiçbir sorun yoktur ancak bu küfün kaşar peynirindeki varlığı kaşar peynirini üreten işletmenin, asgari hijyen kavramını oturtmadığının açık göstergesidir.

Bunun nedeni, yasal olarak kaşar peynirinde toplam maya-küf sayımı yapılmasıdır. İzin verilen sınırların dışında küf belirlenirse bunun sağlığa zararlı olup olmadığı araştırılmaz. Konuya işletme hijyeni açısından bakılır.

Gıda mikrobiyolojisi açısından bu gibi pek çok örnek vardır:

-Yoğurttan ve pastörize içme sütünde belirli sayıda koliform bakteri bulunmasına izin verilirken UHT sütte insan sağlığına yararlı olduğu kanıtlanmış olan probiyotik bakteri

---

<sup>1</sup> Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.  
Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [halkman@eng.ankara.edu.tr](mailto:halkman@eng.ankara.edu.tr)

bulunmamalıdır. Aksi halde kalite kaybı olarak değerlendirilir. UHT süte bir şekilde probiyotik bakteri bulaşursa süt yoğurt ya da peynir gibi bir yapıya dönüşür. Bu durum, tüketici tarafından benimsenmez. Kamu çıkarları adına görev yapan kontrol kuruluşları, bu yapı değişikliğinin insan sağlığına etkisi olup olmadığı konusu ile hiç ilgilenmez.

-Çok yaklaşık 2500 *Salmonella* serotipi içinde insan patojeni olanların sayısı sadece 50 kadardır. Günlük (rutin) testlerde doğrudan insan tüketimine sunulan bir gıdada *Salmonella* 'ya rastlanırsa bunun insan patojeni olma şansı sadece %2'dir. Ancak, *Salmonella* için serotip belirlenmesi ve buna göre gıdanın güvenli olup olmadığının araştırılması oldukça pahalı ve zahmetli bir analizdir. Ayrıca bazı *Salmonella* serotiplerinin patojenitesi tartışma konusudur. Dolayısı ile %2 gibi düşük bir risk kabul edilmez ve *Salmonella* pozitif ürün reddedilir. Serotipin belirlenmesi sadece salgınlarda önemlidir. Bu da gıda değil, klinik mikrobiyoloji açısından önemlidir. Gıda mikrobiyolojisi, salgına hangi serotipin neden olduğu ile genellikle hiç ilgilenmez. Gıda mikrobiyolojisi açısından doğrudan tüketime sunulan bir gıdada *Salmonella* olmaması esastır.

-Çiğ süt ve çiğ kıymada *Salmonella* 'ya izin verilip verilmemesi uluslararası platformda tartışılmaktadır. *Salmonella*, ısıtma işlemine dirençsiz bir bakteridir. Çiğ süttten peynir yapılması özellikle Fransa gibi batı ve çiğ köfte başta Türkiye olmak üzere doğu toplumlarında yaygındır. Çiğ et ve süt ürünleri farklı risk faktörü taşıdıkları için ayrı bir konu başlığında ele alınacaktır.

### 02.03. Sayım

Gıdaların mikrobiyolojik analizinde genel ya da özel mikroorganizma grubu sayımı, çok genel olarak istenmeyen mikroorganizmaların sayılarını belirlemek için uygulanır.

Sayımında temel yöntem, Petri kutusunda yayma yöntemi ile yapılan kültürel sayımdır. Gıdada aranacak mikroorganizma sayısı 1000 kob/mL ya da 10000 kob/g düzeyinde ve daha fazla ise yayma kültürel sayım yöntemi uygundur. Sayı, 100 kob/mL ya da 1000 kob/g düzeyinde ise dökme kültürel sayım, bu değerlerden az ise EMS yöntemi ya da analiz edilecek gıda uygun ise membran filtrasyon yöntemi kullanılır. Bu konuda [www.mikrobiyoloji.org](http://www.mikrobiyoloji.org) başta olmak üzere pek çok Türkçe kaynağa erişilebilir.

Sayım için Spiral Plater kullanılabileceği gibi EMS için tam otomatik cihazlar da geliştirilmiştir. Ayrıca metabolizmaya dayalı olarak çok basit testlerden empedans ölçümü esaslı cihazlar da vardır. İleride bu konuda ayrıntılı bilgi verilecektir.

Gıdaların mikrobiyolojik analizinde mikroskobik yöntemlerden de yararlanılır ancak bu sayım sonuçları sadece çok genel bir bilgi verir. Starter kültür çalışmalarında ise çalışılan materyal tümüyle canlı hücreden oluştuğu kabul edildiği için mikroskobik sayım sıklıkla kullanılmaktadır.

## 02.04. Var/Yok Testleri

*Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 serotipi gibi gıda kaynaklı birincil (primer) patojenlerin gıdalarda bulunmasına izin verilmez. Çoğu uluslararası standartta analiz edilecek gıda miktarı 25 g ya da 25 mL olarak verilmektedir ve yasal olarak analiz edilecek gıda miktarını ifade eder. İstenirse, gıda fabrikasında daha fazla miktarda örnek analiz edilebilir.

Standart analizlerde selektif olmayan bir genel besiyerinde ön zenginleştirme, selektif besiyerinde zenginleştirme, selektif katı besiyerine geçiş, tipik kolonilerin izolasyonu ve tanımlanması yapılır. Bazı analizlerde selektif olmayan ön zenginleştirme uygulamasına gerek yoktur. Bazılarında ise selektif zenginleştirme ile selektif katı besiyeri birleştirilerek analiz süresi kısaltılır.

Günümüzde var/yok testleri için immuno-kromatografi esaslı hızlı kit kullanılmakta ve selektif zenginleştirme aşamasından sonra bu kitlerle 30-40 dakika içinde sonuç alınabilmektedir. Benzer şekilde immuno manyetik seperasyon, PCR vb. pek çok sistem, akademik çalışmalarda ve kontrol kuruluşlarının laboratuvarlarında yer almaktadır. Bu sistemlere de ileride değinilecektir.

Var/yok testleri sadece patojenler için uygulanmaz. Gıdanın 1 gramında *E. coli* bulunmaması isteniyorsa basit olarak var/yok testi uygulanır. Benzer şekilde müşteri, elma suyu konsantresinin 10 gramında ozmofilik/ozmotolerant maya bulunmamasını isteyebilir. Bu gibi durumlarda da var/yok testi uygulanır.

## 02.05. Biyolojik Stabilite Testleri

Üretim teknolojileri gereği steril olmayan ancak, yoğun şeker konsantrasyonu, asitlik, koruyucu madde ilavesi vb. gibi şekillerde korunan ve marketlerde standart rafta pazarlanan (soğutulmasına gerek olmayan) reçel, ketçap, soslar vb. gibi gıdalarda çok yaygın olarak uygulanan bir analizdir. Ürün içinde canlı mikroorganizma bulunabilir ancak bunların çoğalarak ürünü bozmaması önemlidir. Reçel içinde bakteri spor formunda canlı olarak kalabilir. Reçeldeki asitlik ve yoğun şeker miktarı sporun germine olmasına ve bakterinin çoğalmasına izin vermez ya da bu işlemi çok yavaşlatır. Böylece ürün, mikrobiyolojik olarak stabil kalır.

Bu gıda maddesi mikrobiyolojik olarak analiz edildiğinde, besiyerinde, reçelden gelen asitlik ve şeker baskılaması ortadan kalkacağı için bakteriler hızla germine olur ve koloni oluşturur. Ancak aynı bakterinin reçel ortamında bu şekilde gelişmesi söz konusu değildir.

Biyolojik stabilite testinde hızlandırılmış raf ömrü testleri ile ürünün mikrobiyolojik açıdan stabil olup olmadığı araştırılır. Basit olarak, farklı inkübasyon sıcaklıklarında ve tercihen çalkalamalı bir inkübatörde 1-2 hafta kadar tutulur. Bu süre sonunda üründe duyusal testler, pH ölçümü, gıda uygunsu mikroskopik analizler ya da doğrudan kültürel sayım vb. uygulamalarla ürünün mikrobiyolojik olarak bu süre içinde değişip değişmediği kontrol edilir.

Biyolojik stabilite testi sadece, saprofitlerin ürünü bozup bozmayacağını kontrolü için uygulanır. Patojenler, hijyen indikatörleri bu test içinde yer almaz.

## 02.06. Toksin Testleri

Enfeksiyon tipi gıda kaynaklı hastalık yapan mikroorganizmalardan farklı olarak intoksikasyon yapanlarda mikroorganizma, gıda maddesi üzerinde gelişerek toksin oluşturur. Daha sonra mikroorganizma otosterilizasyon nedeni ile ölse, öldürülse ya da bir şekilde gıdadan uzaklaştırılsa bile toksin, gıda üzerinde kalır.

Dolayısı ile gıdanın mikrobiyolojik analizinde aranan mikroorganizma bulunmaması o mikroorganizma toksininin olmadığı anlamına gelmez. Tersine olarak, aranan mikroorganizmanın bulunması o mikroorganizmanın gelişerek toksin yapacağı anlamına da gelmez. Gıdanın nem, asitlik vb. gibi koruyucu faktörleri söz konusu mikroorganizmanın gelişmesini engelleyebileceği gibi gelişse bile toksin oluşturmasını da engelleyebilir.

Dolayısı ile bu gibi patojenlerin mikrobiyolojik yönden analizi yerine doğrudan toksinlerinin belirlenmesi çok daha akılcı görülmektedir. Nitekim *Aspergillus flavus* yerine doğrudan aflatoksin analizi çok yaygın olarak uygulanmaktadır.

İntoksikasyon tipi zehirlenmelerde *Staphylococcus aureus* önemli bir bakteridir. Analizi oldukça kolaydır. Toksin testi için geliştirilmiş kitler de vardır. Mikrobiyolojik olarak canlı bakteri sayısının belirlenmesi, sadece bu bakterinin potansiyel tehlikesini gösterir. Çeşitli salatalar ve soslar gibi *Staph. aureus* açısından riskli gıdalarda tüketime sunulmadan önce toksin testi yapılması daha doğru görülmekle beraber, analiz maliyeti ve laboratuvar koşulları açısından çok sınırlı bir uygulamadır.

## 02.07. Diğer Testler

Başta mikroorganizma tanımlaması olmak üzere gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında uygulanan başka analizler de vardır. Bunlara ileride değinilecektir.