

Maya - Kf

[01. Genel Bilgiler](#)

[02. Standart Analiz Yntemi.](#)

[03. zel Grupların Sayımı](#)

[04. Kullanılan Besiyerleri](#)

[04.01. Yeast extract Glucose Chloramphenicol Agar](#)

[04.02. Malt Extract Agar](#)

[04.03. Potato Dextrose Agar](#)

[04.04. %50 Glucose Broth](#)

[04.05. Oxytetracyclin Glucose Yeast \(OGY\) Agar \(Merck 1.10877\)](#)

[04.06. Wort Agar \(Merck 1.05448\)](#)

[04.07. Rose Bengal Chloramphenicol \(RBC\) Agar \(Merck 1.00467\)](#)

[04.08. Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol \(DRBC\) Agar \(Merck 1.00466\)](#)

[04.09. Dichloran Glycerol \(DG 18\) Agar \(Merck 1.00465\)](#)

01. Genel Bilgiler

Maya – küf sayısı açıkta pazarlanan, üretim teknolojisi gereği paketleme işleminden önce açık havaya maruz kalan, ürün pastörize olsa dahi ambalaj materyalinden bulaşma olabilen, yıkama ve soğutma/dondurma dışında teknolojik işlem görmeyen gıdalar için önemli bir kalite göstergesidir. Baharat gibi toprakla teması fazla olan ve yıkama dahi yapılmadan sadece ğtlp ambalajlanan ürünlerde küf sayısı oldukça yüksek iken, şekerli ürünlerde daha ziyade maya hakimdir.

Gıda mikrobiyolojisi ile ilgili standartlarda genel olarak toplam maya ve küf sayısı beraberce ele alınır. Bu deyim, toplam bakteri sayımında olduğu gibi uygun bir besiyerinde uygun inkübasyon koşulları sonunda koloni oluşturabilen maya ve kf hücrelerinin toplam sayısını verir. Genel olarak maya ve küfler için yaygın kullanılan besiyerleri ile yapılan analizlerde bu iki grup mikroorganizma kolaylıkla gelişebilirken, bakterilerin gelişerek koloni oluşturmaları başta yüksek asitlik veya antibiyotik kullanımı ile engellenir.

Maya – küf hakkında daha fazla genel bilgi için [burayı tıklayın](#).

02. Standart Analiz Yöntemi

Çoğu standartta toplam maya ve küf sayısı dikkate alınırken, özellikle ticari ilişkilerde azımsanmayacak boyutta olmak üzere maya ve küf sayılarının ayrı ayrı ele alınması da mümkündür. Bu koşulda ya bu iki grup mikroorganizmanın adı geçen besiyerlerinde koloni morfolojileri dikkate alınarak ayrı sayımları yapılır ya da amaca uygun olarak farklı besiyerleri kullanılabilir. Örneğin, sadece mayaların gelişmesi isteniyor ise besiyeri bileşimine %0,25 konsantrasyonda sodyum propionat katılarak kf gelişmesi baskılanabilir.

Toplam maya-küf sayımı için genel olarak 25-28 °C (bazı kaynaklara göre 20-22 °C) ve 5 gün süren aerobik inkübasyon yapılır. Aşırı kf miseli gelişmesi neticesinde sayım güçlüğü olacağından, sayım sonuçları 3. günün sonundan itibaren alınabilmektedir. Prensip olarak bu

sürenin sonunda maya ve özellikle küf gelişimi gözlenmemişse inkübasyona 48 saat daha devam edilmektedir. Küflerin, mayalara göre daha geç koloni oluşturması, küf kolonilerinin yayılarak daha önce gelişmiş maya kolonilerini örtmesi gibi nedenlerle maya kolonilerinin önceden sayılması ve/veya petri kutusunda işaretlenmesi yararlı bir uygulamadır.

Maya-küf sayımı için kullanılan besiyerlerinde bakterilerin gelişmesi ortamın asitlendirilmesi veya antibiyotik kullanımı ile önlenir. Asit olarak filtre ile sterilize edilmiş %10' luk tartarik asit veya laktik asit kullanılır. Asit, sterilize edilmiş ve 45 °C' a kadar soğutulmuş ve sıvı halde tutulan besiyerine ilave edilir. İlave edilecek miktar ön denemelerle saptanabilir ve aynı besiyeri için her zaman aynı asit aynı miktarda katılabilir. Asit ilavesinden sonra dondurulan besiyeri hiçbir şekilde yeniden eritilmez. Antibiyotik olarak klortetrasiklin hidroklorür kullanımı önerilir. Bu antibiyotik %1 konsantrasyonda hazırlanıp filtre ile sterilize edilir. Karanlıkta ve +4 °C' da olmak üzere en uzun 1 ay depolanabilir. Antibiyotik son konsantrasyonu 40 ppm olacak şekilde, sterilize edilip 45 °C' da sıvı halde tutulan besiyerine ilave edilir. Maya-küf sayımı için kullanılacak tüm besiyerlerine asit veya antibiyotik katılacak diye bir kural yoktur. Bazı besiyerlerinde zaten antibiyotik vardır ve/veya besiyerinin kendisi zaten yeterince asitlidir.

Gıdalarda maya ve küflerin sayımı için Oxytetracyclin Glucose Yeast Agar (Merck 1.10877) Potato Dextrose Agar (Merck 1.10130), Malt Extract Agar (Merck 1.05398), Wort Agar (Merck 1.05448), Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Merck 1.00467), Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck 1.00466), süt ve ürünlerinin analizi için Yeast extract Glucose Chloramphenicol Agar (Merck 1.16000), düşük su aktiviteli gıdalardaki kserofil küflerin sayımı için Dichloran Glycerol (DG 18) Agar (Merck 1.00465) en yaygın kullanılan besiyerleridir.

Sayım standart yayma veya dökme kültürel sayım yöntemi ile yapılır. Dökme yöntemi ile çalışıldığında termal şoklardan sakınmak için besiyeri sıcaklığının 45 °C 'ı geçmemesine dikkat edilmelidir. Yayma kültürel sayım yöntemi kullanılmasının, besiyeri yüzeyinde maya ve küflerin daha hızlı üremesi, düzgün ve standart koloni oluşumu, sayım sonrası izolasyon identifikasyon kolaylığı nedeniyle daha avantajlı olduğu belirtilmektedir.

Küflerin sayımında EMS yöntemi pratik olarak kullanılmamakla beraber, maya sayımında bu yöntem kullanılmaktadır ve aşağıda ozmofilik maya sayımı bölümünde bu konuda örnek verilmiştir.

Maya – küf hakkında daha fazla analiz bilgisi için [burayı tıklayın](#).

03. Özel Grupların Sayımı

Ozmofilik – ozmotolerant maya sayımı özellikle ve başta elma suyu konsantresi olmak üzere meyve suyu konsantrelerinde hemen hemen en önemli hatta tek mikrobiyolojik kalite kriteridir. Bu grup mayalar meyve suyu konsantrelerinde gelişerek üründe bozulmalara neden olmaktadır. Ozmofilik – ozmotolerant mayaların beraberce sayımında %50 Glikoz Broth besiyeri kullanılarak EMS yöntemi ile sayım sıklıkla kullanılmakla beraber, Uluslararası Meyve Suyu Federasyonu (IFU) her iki grubun ayrı sayımını önermektedir.

Buğday ve diğer tahıllar, fındık vb. ürünlerde küflü dane sayımı çoğu kere başvurulan bir kalite göstergesidir. Temel olarak küf gelişimine uygun bir besiyerine analizi yapılacak örnekten yeteri sayıda dane doğrudan önceden Petri kutusuna dökülmüş ve katılmış besiyerine

yerleştirilir. Bu işlemde danenin tümünün besiyeri ile temas etmesine özen gösterilir. İnkübasyon sonrasında Petri kutusuna ekilmiş daneler içinde küf gelişimi olanların sayısı toplam ekilen dane sayısına bölünerek yüzde küflü dane sayısı hesaplanır. Bu uygulamada küf kolonilerinin birbirine karışmasının ve buna bağlı olarak sayım güclüğü ile karşılaşılmasının önlenmesi amacı ile inkübasyonun genellikle üçüncü gününde steromikroskop ile Petri kutusu incelenir ve mikrokoloni oluşturan daneler sayılır.

Howard Lamı ile küflü saha sayımı özellikle salça ve ketçap gibi domates ürünlerinde kullanılan hammaddenin kalitesi hakkında bilgi veren bir sayım yöntemidir. Bu yöntem meyve sularında da uygulanmaktadır. Howard lamı sayım yöntemi için [burayı tıklayın](#).

Thoma lamı ise mayaların fermantasyon amacı ile kullanıldığı üretimlerde (bira, şarap, vs.) maya sayısının hızlı bir şekilde belirlendiği mikroskobik bir sayım yöntemidir. Diğer mikroskobik sayım yöntemlerinden farklı olarak canlı hücre sayısı belirlenebilir. Thoma lamı sayım yöntemi için [burayı tıklayın](#).

04. Kullanılan Besiyerleri

04.01. Yeast extract Glucose Chloramphenicol Agar (Merck 1.16000)

Dehidre besiyeri 40 g/l olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilir, otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir ve steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak sarı renklidir ve buzdolabında 4 ay, oda sıcaklığında 2 hafta depolanabilir. Besiyeri bileşimindeki kloramfenikol refakatçi floranın gelişimini baskılar. Besiyerinin diğer maya-küf besiyerlerine göre çok büyük bir hazırlama kolaylığı antibiyotiğin bileşimde olması ve otoklav sonrası başka bir katkıya gerek duyulmamasıdır. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 1000 petri kutusu hazırlanır.

04.02. Malt Extract Agar (Merck 1.05398)

Dehidre besiyeri 48 g/l olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilir, otoklavda 121 °C' da 10 dakika sterilize edilir ve steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak sarımsı renklidir ve buzdolabında 2 ay depolanabilir. Otoklavda sterilizasyon sırasında aşırı ısıtmadan kaçınılmalıdır. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 833 petri kutusu hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.03. Potato Dextrose Agar (Merck 1.10130)

Dehidre besiyeri 39 g/l olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilir, 121 °C' da otoklavda 15 dakika sterilize edilir ve steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak açık sarı renklidir ve buzdolabında 2 ay depolanabilir. Asitlendirme isteniyor ise (pH yaklaşık 3,5) su banyosunda tutulan besiyeri sıcaklığı 45-50 °C' a düştüğünde filitre ile sterilize edilmiş %10 tartarik asitten 14 ml ilave edilir, karıştırılıp yine steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Asitlendirilmiş besiyeri tekrar eritilemez. Analiz edilecek örnekte refakatçi flora olarak bakteri yükü fazla değilse ve/veya önemli değil ise PDA besiyeri asitlendirilmeden de kullanılabilir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 1040 petri kutusu hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.04. %50 Glucose Broth

Meyve suyu konsantrelerinde ozmofilik/ozmotolerant maya sayımı için kullanılan bu besiyerinin hazır ticari preparatı yoktur. Ancak laboratuvarında rahatlıkla hazırlanabilir. Su ile 1 litreye işaretlenen boş erlene 500 g glikoz (Merck 1.08342), %0,5 olacak şekilde 5 g maya ekstraktı (Yeast Extract ; Merck 1.03753) ve işaretlenmiş yere kadar distile su ilave edilir. Isıtılarak ve karıştırılarak eritilir. Tüplere 10' ar ml dağıtıldıktan sonra 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kahve renklidir. Buzdolabında 2 aya kadar depolanabilir. Bileşimdeki yüksek glikoz konsantrasyonu nedeni ile bu besiyerinde ozmofilik/ozmotolerant mayalar dışındaki refakatçi flora gelişemez. Ozmotik şoktan sakınmak için %20 glikoz kullanılarak yapılan seyreltmeden sonra standart EMS yöntemi ile ekim yapılır ve tüplerin üzeri 2 cm olacak şekilde (yaklaşık 4 ml) steril katı parafin (Merck 1.07158) ile örtülür ve 30 °C' da 10 güne kadar inkübasyona bırakılır. Bu süre sonunda gaz oluşumuna bağlı olarak parafin tabakasının yukarı itilmesi pozitif olarak değerlendirilir. Ekimi bitirilmiş tüplere katı parafin ilavesi zor ve zahmetli bir uygulamadır. Kullanılacak pipetin önceden bunzen bekinde ısıtılması ile katı parafinin pipet içinde donması önlenebilir.

04.05. Oxytetracyclin Glucose Yeast (OGY) Agar (Merck 1.10877)

Başta gıda olmak üzere her türlü materyalde maya ve küflerin belirlenmesi ve sayımı için kullanılır. Dehidre besiyeri 30 g/l konsantrasyonda olacak şekilde destile su içinde ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklav sonrasında 50 °C 'a soğutulan besiyerine 2 şişe/l OGY selektif katkısı (Merck 1.09877) ya da 1 ml/l gentamicin çözeltisi (Merck 1.11977) ilave edilir, karıştırılır ve petrilere dökülür. OGY katkısı oxytetracycline bileşimindedir. Bu besiyeri özellikle tereyağının rutin analizi için önerilmektedir. Dışkı analizlerinde Enterobacteriaceae familyası üyelerinin daha iyi baskılanması için oxytetracycline yerine gentamicine kullanılmalıdır. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 12,5 ml/petri hesabı ile 1333 petri hazırlanır. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri için 33 şişe OGY katkısına gerek vardır. Bu katkı 15 şişe/kutu olarak pazarlanmaktadır. Yine 500 ml dehidre besiyeri için gereken gentamicine çözeltisi ise 17 ml 'dir. Bir şişe gentamicine çözeltisinde 10 ml bulunmaktadır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.06. Wort Agar (Merck 1.05448)

Özellikle mayalar için geliştirilmiş bir besiyeridir. Dehidre besiyeri 55 g/l konsantrasyonda olacak şekilde destile suda ısıtılarak eritilir, otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Bakteri gelişmesinin engellenmesi için pH 'nın 3,5 'e düşürülmesi isteniyor ise 50 °C 'a soğutulup filitre ile sterilize edilmiş %10 laktik asit çözeltisinden 12 ml/l olacak şekilde ilave edilir, karıştırılır ve petri kutularına dökülür. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 727 petri kutusu hazırlanır. Laktik asit (Merck 1.00366) %90 konsantrasyonda ve 500 ml olduğuna göre 1 şişe laktik asit 500 g olan 41 kutu dehidre besiyeri için yeterlidir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.07. Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar (Merck 1.00467)

Özellikle proteinli gıdalarda maya ve küf sayımı içindir. Dehidre besiyeri 32,2 g/litre konsantrasyonda olacak şekilde destile su içinde kaynatılarak eritilip, otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri pembe – kırmızı renklidir. Karanlıkta ve buzdolabında olmak kaydı ile 1 hafta depolanabilir. Besiyeri pH 'sı nötr olmakla beraber, bakteri gelişimi chloramphenicol ile baskılanır. Rose – bengal ise küflerin yayılıcı koloni oluşturmasını engelleyerek sayımı kolaylaştırır. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 12,5 ml/petri hesabı ile 1242 petri hazırlanır.

04.08. Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck 1.00466)

Gıdalarda bozulma yapan maya ve küflerin sayımı içindir. Dehidre besiyeri 31,6 g/litre konsantrasyonda olacak şekilde destile su içinde kaynatılarak eritilip, otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve pembe renklidir. Karanlıkta ve buzdolabında olmak kaydı ile 1 hafta depolanabilir. Dichloran kolonilerin yayılmasını engelleyerek sayımı kolaylaştırır. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 12,5 ml/petri hesabı ile 1265 petri hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.09. Dichloran Glycerol (DG 18) Agar (Merck 1.00465)

Özellikle düşük su aktiviteli kuru ve yarı kuru gıdalarda kserofil ve kserotolerant küflerin sayımı içindir. Dehidre besiyeri 31,6 g/litre konsantrasyonda destile su içinde kaynatılarak eritilir, üzerine 175 ml/l olacak şekilde gliserol (Merck 1.04092) ilave edilip, otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri amber renkli ve hafif opalessentir. Karanlıkta ve buzdolabında olmak kaydı ile 1 hafta depolanabilir. Besiyerine %18 gliserol ilavesi su aktivitesini 0,99 'dan 0,95 'e düşürür. Düşük su aktivitesi ve chloramphenicol bakteri gelişmesini engeller. Dichloran kolonilerin yayılmasını engelleyerek sayımı kolaylaştırır. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 12,5 ml/petri hesabı ile 1265 petri hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).