

Rop Sporu ¹

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

01. Genel Bilgiler
02. Rop Sporları Sayımı
03. *B. subtilis* 'in Tanımlanması

01. Genel Bilgiler

Fırın ürünleri, dondurulmuş ve/veya kurutulmuş meyve ve sebze ürünleri gibi bazı gıdalar, bakteri sporlarının imhasına yönelik son bir işlem geçirmemelerine rağmen, genellikle spor oluşturan mezofilik aerobik bakteriler tarafından kolayca bozulabilen riskli gıdalar değildir. Bununla birlikte, gerek üretim gerekse tüketim sırasında meydana gelen yanlış uygulamalar bu tür gıdaları riskli hale getirmektedir.

Rop, toprak kökenli olan *Bacillus subtilis* suşlarının gelişmesi ile ekmeklerde görülen bir bozukluktur. Gram pozitif, spor oluşturan çubuk şeklinde bir bakteri olan *B. subtilis* 'in mukoz oluşturan suşları daha önce *B. mesentericus* olarak adlandırılmıştır. Bu bakterinin sporları özellikle büyük somun ekmeklerin orta noktalarında pişirme sıcaklığına dayanabilmekte ve ekmekler soğutulduğu zaman çimlenerek 0,95 su aktivitesi düzeyinde kolayca gelişebilmektedir. Ekmeklerde sünme olarak da adlandırılan bu bozulma sırasında ekmek hücreleri parçalanır ve yapışkan viskoz bir yapı ortaya çıkar. Rop bozukluğu genellikle sıcak ve nemli koşullarda ve yılın çeşitli zamanlarında ortaya çıkabilir.

Bu bakterinin bulaşma kaynağı ekmek yapımında kullanılan un, maya gibi katkı maddeleri ve yetersiz hijyen koşullarıdır.

Rop bozulmasına karşı ekmeğin raf ömrünü uzatmak amacıyla belirli miktarlarda kalsiyum propiyonat, sodyum diasetat ve sirke kullanılmaktadır. İşletmede rop kontaminasyonu olduğu zaman ise özel kimyasallar veya buhar uygulaması ile üretim yerinin temizlenmesi gereklidir.

Yeterli sanitasyon koşulları, modern fırıncılık uygulamaları ve koruyucuların kullanılması ile rop hastalığı kontrol altında tutulmakta, ancak son yıllarda fırın ürünlerinde kullanılan koruyucuların azaltılmasına yönelik eğilimler bu tip potansiyel bozulma riskini artırmaktadır. Buna karşın son yıllarda yapılan çalışmalar, temiz ve modern fırınlarda bile nadiren de olsa ekmeklerde sünme problemi olduğunu göstermektedir. Rop bozulması özellikle son zamanlarda marketlerde sıklıkla rastlanan bazlama tipi ürünlerde daha sıklıkla görülmektedir. Bu ürünlerde kullanılan ekşi hamur *B. subtilis* sporlarının temel kaynağıdır. Rop sporlarına sadece buğday unundan yapılan ekmeklerde değil, patates unlarında ve dolayısı ile patates unu ile hazırlanan ürünlerde de rastlanılmaktadır.

¹ Kaynak : Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 28. Bölüm

02. Rop Sporları Sayımı

Rop sporları sayımında 50 g örnek 450 ml %0,1 'lik peptonlu su çözeltisi içinde homojenize edilir. Daha önceden 250 ml'lik erlenlerde sterilize edilerek hazırlanmış ve 45 °C 'da su banyosunda tutulan 100 'er ml Dextrose Tryptone Agar besiyerlerine bu homojenizattan 10 ve 1 'er ml ekim yapılır. Erlenler kaynar su banyosuna konulur ve arada bir karıştırılarak iç sıcaklık 5 dakikada 94 °C 'a getirildikten sonra 15 dakika daha aynı derecede ısı işlem uygulanır. Bu süre sonunda erlenler hızla soğutulur ve 5 'er adet petri kutusuna yaklaşık eşit hacimlerde olacak şekilde dağıtılır ve 35 °C 'da 48 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda gri-beyaz mekik şeklinde, yüzeydeki ve besiyeri içindeki koloniler sayılır. 10 ml örnek inoküle edilen erlenden yapılan petri kutularındaki toplam koloni sayısı örneğin bir gramındaki rop oluşturan spor sayısı, 1 ml örnek inoküle edilen erlenden yapılan petri kutularındaki toplam koloni sayısı ise 10 ile çarpılarak gramdaki spor sayısı tespit edilmektedir. Bu yöntemle 1-15000 adet spor/g düzeyinde sayım yapılabilmektedir. Dextrose Tryptone Agar besiyerinin bileşimi tryptone (ya da typticase 10,0 g ; dextrose 5,0 g ; agar 15,0 g ; destile su 1 litre şeklindedir. Ayrıca besiyeri ticari olarak elde edilebilmektedir.

Bu yöntemin dışında rop sporları standart EMS yöntemi ile de sayılabilmektedir. Bu amaçla rop sporu içeren örnekten hazırlanan seyreltilerden nutrient broth tüplerine aşılınmakta ve 80 °C 'da 5 dakika tutularak vejetatif hücreler öldürülmekte daha sonra ise 37 °C 'da 48 saat inkübe edilmektedir. İnkübasyon sonrası yüzeyde zar oluşumu rop sporu varlığını göstermektedir. Bu yöntem ile sayılan kuşkusuz doğrudan *B. subtilis* değildir. Pastörizasyon işlemi sonunda vejetatif hücreler öldürüldükten sonra aerobik ve mezofilik koşulda yapılan inkübasyon sonunda zar oluşturarak gelişen bakterinin sünme bozukluğuna neden olan bakteri olduğu kabul edilmektedir.

İster katı besiyeri ister EMS yönteminde olsun ekme analizlerinde ilk seyreltinin standart 1:9 şeklinde yapılması mümkünse de unlarda bu oranda yapılan seyreltme sonunda yoğun bir seyrelti elde edilmesi nedeni ile ilk seyreltmenin 1:19 oranında yapılması ve sayım sonunda bu seyreltinin dikkate alınması gerekmektedir.

03. *B. subtilis* 'in Tanımlanması

Bacillus subtilis tanımlamada; katalaz, aseton oluşumu, nitrat indirgeme, sitrat kullanımı, % 7 NaCl 'de gelişme, glukoz, arabinoz, ksiloz ve mannitolden asit oluşumu, pH 5,7 'de gelişme, nişasta, kazein ve jelatin hidrolizi testleri kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten mikroorganizmalar mikroskopik olarak da incelenmeli; Gram ve spor boyama yapılarak hücrenin Gram reaksiyonu ve sporun hücre içindeki konumu tespit edilebilmektedir. *B. subtilis* 'in yukarıda bahsedilen biyokimyasal test sonuçları çizelge 1.' de verilmiştir.

Çizelge 1. *B. subtilis* 'in karakteristik özellikleri.

Biyokimyasal testler	<i>B. subtilis</i>	Biyokimyasal testler	<i>B. subtilis</i>
Katalaz	+	Mannitol	+
Sitrat	+	Glukozdan gaz	-
%7 NaCl	+	Nişasta	+
Nitrat indirgeme	+	Kazein	+
Glukoz	+	Jelatin	+
Arabinoz	+	pH 5,7	+
Ksiloz	+		