

## 08. Yıkama <sup>1</sup>

Günlük gıda analizinde kullanılan ilk seyreltme (homojenizasyon) ve diğer seyreltmelerde kullanılan cam malzeme, seyreltme çözeltileri ve pipetler ekimden hemen sonra doğrudan yıkanabilir. Bu işlemde önemli olan nokta, ekim öncesi işlemlerde kullanılan bu malzemenin ne zaman yıkandığıdır. Eğer ekim işleri bitirilip, bu malzeme 2 saat içinde yıkanırsa sorun yoktur. Daha uzun sürede özellikle seyreltme çözeltileri içinde mikroorganizma gelişmesi olacağı için, artık bunlar "mikroorganizma gelişmiş malzeme" olarak değerlendirilir ve otoklavda sterilize edildikten sonra yıkanır.

Patojen bakteri olduğundan endişe edilen ve patojen tehlikesi olmasa bile bozulmuş gıdaların analizinde kullanılan istisnasız tüm malzeme sterilize edilip, daha sonra yıkanmalıdır.

İçinde mikroorganizma gelişmesi olmuş tüm kültürler mikroorganizmanın patojen, saprofit, yararlı olduğuna bakılmaksızın otoklavlandıktan sonra yıkanır.

Yıkama öncesi sterilizasyon, mikrobiyolojik analizlerde en önemli hususlardan birisidir. Bu aşamada uygulanan otoklavlama işlemi standart besiyeri sterilizasyonundan daha yüksektir. Sıcaklık yine 121 °C iken, süre 30 dakika olarak uygulanır. Bunun nedeni, çok yoğun sayıda mikroorganizma olmasıdır.

Otoklav normundaki yükseklik ve daha önemli olarak laboratuvar kuralları çerçevesinde yıkama öncesi sterilize edilecek malzeme ile hazırlanan besiyerlerinin sterilizasyonu aynı otoklavlama işleminde yapılmaz. İdeal olarak bu amaçla 2 ayrı otoklav kullanılmalıdır.

Ancak burada dikkate alınması gereken konu, otoklav eskidiği için yeni bir otoklav alındığında eski otoklavın yıkama öncesi sterilizasyon için ayrılmasıdır. Eski otoklavın bu amaçla kullanıldığı uygulamanın yıkamadan sorumlu personelin sağlığını ciddi bir şekilde riske sokacağı unutulmamalıdır.

Biyokimyasal test uygulanmış tüplerin yıkama öncesi otoklavlanması, kimyasal buharları açısından mümkün olmayabilir. Örneğin, indol testi uygulamasından sonra amil alkol ve HCl buharları sağlığa ve otoklava zarar verir. Bu durumda kimyasal maddeler ile dezenfeksiyon yoluna gidilmelidir. Dezenfektan seçimi ve başta süre olmak üzere uygulama koşulları, kimyasal madde dezenfeksiyonunda dikkate alınmalıdır. İndol testinde kullanılan Kovacs' ayırıcının içindeki amil alkol ve HCl zaten dezenfektan gibi davranıp, mevcut mikroorganizmaları öldürür. Bu testin yapıldıktan sonra tüplerin oda sıcaklığında 1 gece beklemesi yeterlidir.

Yıkamadan sonra iyi bir durulama son derece önemlidir. Son durulama mutlaka damıtık ya da deiyonize su ile yapılmalıdır. Cam malzemede kalabilecek deterjan kalıntıları mikroorganizma gelişmesini engelleyebilir. Pipetler henüz ıslak iken üzerlerine %0,04 bromtimol mavisi (bromothymol blue; Merck 1.03026) damlatılarak test edilir. Eğer koyu yeşilden açık maviye renk oluşmaz ise deterjan kalmış demektir; tekrar çalkalanıp, test edilmesi gerekir.

---

<sup>1</sup> www.mikrobiyoloji.org ana sayfasında görülen Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları; "Anonymous, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358 sayfa." adlı kitabın 08. bölümüdür.

Plastik (tek kullanımlık; disposal) malzeme özel otoklav poşetleri içinde sterilize edildikten sonra atılır.

Cam malzemelerde kalan, çözünmesi zor kalıntıları temizlemek için gerekirse yıkama çözeltisi hazırlanabilir. Bu çözelti için 5 g  $K_2Cr_2O_7$  (Merck 1.04952) 5 mL saf suda çözülür, üzerine yavaşça 100 mL teknik sülfürik asit katılır. Sıcaklık bu sırada 70–80 °C'a ulaşır. Karışım, oda sıcaklığına soğuduğunda cam kapaklı bir şişeye alınarak saklanır. Bu çözelti ilk hazırlandığında turuncu renktedir. Rengi yeşile döndüğünde artık kullanılamaz, yenisi hazırlanır.