

Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi (03)

04. Örneklerin Sağlanması ve Laboratuvara Getirilmesi

A. Kadir Halkman¹

04.01. Giriş

Standart analizlerde 5 adet örnek alınır. Bu örneklerin aynı üretim tarihli, aynı seri numarasına sahip olması gerekir. Bu 5 örneğin her biri bağımsız olarak analize alınır. Sonuçlar, uyulması gereken standart değerler ile kıyaslanır. Yasal analizlerde bu standart değerler Türk Gıda Kodeksidir. Ulusal ticarete bu kodekste verilen sınırların altında değer kullanılamaz. Ulusal ya da uluslararası ticarete bu değerlerden daha yüksek sınırlarda kriterler kullanılabilir. Uluslararası ticarete alıcı ülkenin sınırları Türk Gıda Kodeksi sınırlarının altında ise alıcı ülkenin değerlerine uyulabilir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde belirtilen;
n ; Analize alınacak numune sayısını,
c ; “M” değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısını,
m ; (n - c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değeri,
M ; “c”>sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değeri
ifade eder. Buna göre; örneğin,

Mikroorganizma Grubu	n	c	m	M
Aerobik mezofilik bakteri (kob/g)	5	2	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^6$
<i>E. coli</i> *	5	2	<3	9
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	25 g'da olmayacak	

*EMS tablosuna göre (/g)

şeklindeki bir tablonun açıklaması şu şekildedir:

5 (n) örneğin 2 (c) adedinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı en çok $1,0 \times 10^6$ kob/g (M) olabilir. Aynı zamanda en çok 3 (n-c) üründe bu sayı $1,0 \times 10^4$ olabilir. Buna göre toplam aerobik mezofilik bakteri için;

$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	kabul
$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	ret
$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	ret

şeklinde örnekler verilebilir.

¹ Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: halkman@eng.ankara.edu.tr

Bu örnekte sadece 2 adet numunede *E. coli* için 9 EMS/g değerine izin verilmiştir. Sırası ile <3 ; 3,6 ; 3,6 ; 3,6 ; 3,6 EMS /g olan örnek ret edilir.

Salmonella analizi ise çok daha belirgindir. Analiz edilen 5 örneğin tümünde 25 g'da negatif sonuç alınmalıdır.

Analiz edilen 5 numune aynı parti ve aynı seri numarası taşıdığına göre sonuçlar makul sınırlar içinde birbirine yakın çıkmalıdır.

Bununla beraber, mikrobiyolojik analizlerde -Türk Gıda Kodeksi- örneğinde olduğu gibi aynı partiye ait 5 örneğin 2 adedinde $1,0 \times 10^6$ ve 3 adedinde $1,0 \times 10^4$ kob/g gibi 2 log birimi farklılıklar olabileceği de açıktır. Bu farklılıklar çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir:

a) Üretim sırasında arka arkaya 2 ambalaj arasında farklılık olabilir. Bu durum, üretim sırasında ambalaj materyali değiştirme ve küçük arızalar gibi nedenlerden kaynaklanır. Standart üretimde arka arkaya 2 ambalaj arasındaki mikroorganizma yükü farklılığı önemsenmeyecek kadar azdır. Bununla beraber, karkasın parçalanması, standart Beyaz peynir üretimi vb gibi el ile yapılan üretimlerde söz konusu farklılık genel olarak daha yüksek olur.

b) Aynı ambalajın örnek alınan 2 yeri arasında farklılık olabilir. Bu durum, özellikle bütün piliç, gövde et, Beyaz peynir gibi homojen olmayan örneklerde geçerlidir. Ürünlere göre örnek alma işlemi tanımlanmıştır. Aynı ürünün farklı ambalajlarından aynı yöntemle analiz numunesi alındığında farklılık azalır.

c) Aynı partiye ait ürünlerden bir kısmı depolama aşamasında farklı koşullara (nem, sıcaklık vb.) maruz kalmış olabilir. İşletmede, ürün belirli bir sıcaklığa soğutulduktan sonra soğuk depoya gidiyorsa arka arkaya 2 ambalajdaki mikrobiyolojik farklılık az olur. Ancak, ürünler soğuk depoya gönderilip orada soğutuluyorsa arka arkaya dahi olsa paletin alt ve üst sırasında yer alma, diğer paletin yerleştirilmesi için bekleme süresi, soğuk odada üfleycilere yakın ya da uzak olma, depoya önce ya da sonra girme gibi nedenlerle ürünün soğuması için geçen süre farklı ve dolayısı ile mikroorganizma sayısı farklı olabilir. Fındık gibi ürünlerde doğal kurutma uygulamasında yığının altında kalan danelerde yeterli kuruma olmayacak ve küflenme/ aflatoksin oluşumu daha fazla olacaktır. Dolayısı ile aynı üretim tarih ve seri numarasına sahip 2 paket arasında aflatoksin oluşmuş dane varlığı açısından farklı değerler elde edilebilir.

d) Aynı partiye ait ürünlerden bir kısmı laboratuvara taşıma sırasında farklı koşullara (nem, sıcaklık vb.) maruz kalmış olabilir. Özellikle kamu kuruluşları ve özel gıda analiz laboratuvarları tarafından yapılan denetlemeler sırasında görülen bir durumdur. Seyyar tip buzluklarda yarım güne yaklaşan örnek toplama işlemi sırasında gıdaların, kabın dış çeperlerine yakın olanlarında sıcaklık yükselmesi ve dolayısı ile mikroorganizma sayı artışı olması beklenebilir.

e) Aynı partiye ait ürünlerden bir kısmı laboratuvarında analiz için beklerken farklı koşullara (nem, sıcaklık vb.) maruz kalmış olabilir. Laboratuvarında iş yoğunluğu, soğutucu kapasitesi vb. nedenlerle örnekler, analiz için izin verilen süreden daha uzun süre ile laboratuvar sıcaklığında beklerse analizi ilk yapılan örnek ile analizi son yapılan örnek arasında farklılıklar olması beklenir.

f) Başka laboratuvar hataları da söz konusudur. Aynı partiye ait örneklerin analizinde, farklı tarihlerde hazırlanmış agarlı besiyerleri arasında yüzey kuruma

farklılığı, iş yoğunluğuna bağlı olarak Drigalski spatüllerinin alkol ortamında yeterli beklememesi vb. gibi pek çok laboratuvar hatası söz konusudur.

g) Aynı homojenizattan 2 paralel ekim arasında farklılıklar olabilir. Mikrobiyolojik analizlerde paralel ekim yapılmış 2 Petri kutusu arasındaki elde edilen sayım sonuçları arasında %10 kadar sapma olması kabul edilebilir. Belirsizlik hesapları ile bu kabul ya da ret ediliş istatistik ölçütlerle yapılır.

Yukarıda kısaca örnekleri verildiği gibi pek çok nedene bağlı olarak aynı üretim tarihi ve parti numarasına ait numunelerde farklı sonuçlar alınması beklenebilir. Temel amaç, doğru analiz yapmak ve sonuçları doğru yorumlamaktır.

Elde edilen sonuçlar arasında rahatsızlık verici farklılıklar varsa bunların nedenleri üzerinde düşünülmesi gerekir. Bir diğer deyiş ile 5 örneğe ait sonuçların hepsi bireysel olarak doğru olsa da sonuçlar bütün olarak değerlendirilmelidir. Örneğin, 5 adet pastörize içme sütü numunesinde toplam bakteri sayıları 150 ; 280 ; 9500 ; 250 ; 340 kob/g şeklinde ise bu örneğe ait 5 sonucun her biri kendi içinde doğru olabilir ancak bütün olarak ele alındığında analizlerde ve/ veya örneklemede bir sorun olduğu düşünülmelidir.

Aşağıda çeşitli gıda grupları için örneklerin alınması ve laboratuvara taşınması konusunda dikkat edilmesi gereken kurallar belirtilmiştir.

04.02. Soğutulmuş ve Dondurulmuş Ürünler

Örnek alınması ve laboratuvara taşınması en kritik olan gıda grubudur. Örnek alındıktan sonra sıcaklığı korunarak laboratuvara getirilmelidir. Bu amaçla ürün sıcaklığını koruyacak izolasyonlu, yeterli büyüklükte ve buz torbaları ile desteklenen taşıma kapları kullanılmalı, ayrıca olabildiğince hızlı hareket edilmelidir.

Taşımanın yapıldığı aşamadaki dış ortam sıcaklığı ve taşıma süresinin analiz doğruluğu açısından en önemli 2 faktör olduğu unutulmamalıdır.

Farklı sıcaklıklarda soğutulmuş ve dondurulmuş gıdaların beraberce laboratuvara getirilmesi ya da aynı sıcaklıkta korunan gıdaların tek grup olarak laboratuvara taşınması tercihinde her iki uygulamanın da birbirine göre üstün tarafları vardır. Taşıma koşulları ve laboratuvar olanaklarına göre her iki program da uygulanabilir. Soğutulmuş gıdada *Cl. perfringens* analizi yapılacaksa taşıma sırasında sıcaklığının düşmemesine ve özellikle donmamasına özen gösterilmelidir. Aksi halde *Cl. perfringens* bu sıcaklıklarda zarar görür ve olduğundan daha düşük sayım sonucu ya da var/yok testlerinde sahte negatif sonuç alınabilir.

Dondurulmuş olan gıdalar, soğutulmuşlara göre analiz alınan yerden laboratuvara taşıma aşamasında daha stabil kalırlar. Kuşkusuz, ambalaj büyüklüğü ve şekli, dondurulmuş gıdanın sıcaklığı gibi faktörler, bu stabilitede önemlidir.

Soğutulmuş gıdalarda en büyük sorun, örnek alındıktan sonra laboratuvara getirilinceye kadar geçen süre içinde sıcaklık artmasına bağlı olarak sayımı yapılacak mikroorganizma grubundaki sayı artışıdır. Kamu tarafından yapılan yasal denetimlerde ve özel gıda analiz laboratuvarlarında bu sorun ortaya çıkabilmektedir.

Analizlerini dış laboratuvarında yaptırmak isteyen gıda sanayisi kuruluşları da taşıma kurallarına uymalıdır.

Laboratuvar iş yoğunluğuna bağlı olarak örneklerin analizinde sorun çıkabilmekte olduğuna yukarıda değinilmiştir. Buna göre, laboratuvarında mutlak olarak yeterli kapasitede soğutucu ve/veya dondurucu bulunmalı, laboratuvara yığın halinde gelen örnekler, önceden belirlenen bir analiz programı uyarınca soğutucuya ya da dondurucuya konulmalıdır.

Prencip olarak soğutucudan çıkarılmış bir örneğin analizi 30 dakika içinde tümüyle bitirilmiş olmalıdır. Bu süreye homojenizasyon/ seyreltme ve ekim dâhildir. Yeteri ölçüde deneyimli bir laboratuvar personeli 30 dakika içinde 5 örneğin komple mikrobiyolojik analizini tamamlayabilir. Bunun için homojenizasyon/ seyreltme için gereken kavanoz/ erlen/ tüplerin ve ekim yapılacak Petri kutuları ile tüplerin yazımı önceden tamamlanmış olmalıdır.

Buna göre soğutucudan 5 örneğin beraberce çıkarılması, sırası ile homojenizasyon/ seyreltme işlemlerinin yapılması, sonra aynı sıra ile tüplere ve/ veya Petri kutularına ekim yapılması önerilir. Bununla beraber, 1 örneğin homojenizasyon/ seyreltme işleminin yapılması, sonra tüplere ve/ veya Petri kutularına ekim yapılması, daha sonra 2. örneğe geçilmesi de bir uygulama şeklidir ve personelin tercihi geçerlidir.

04.03. Soğutulmamış Gıdalar

Yemek fabrikaları/ otel mutfakları/ lokantalar vb. birimlerde servise sunulan ya da hazırlanan yemeklerin mikrobiyolojik analizi üretimden hemen sonra yapılmak istenirse bu analizlerin sadece ilgili birim laboratuvarında yapılabileceği açıktır.

Bu gibi işletmelerin çok azında yeterli kalite ve kapasitede laboratuvar vardır. Eğer analiz, işletme laboratuvarında yapılacak ise çok hızlı hareket edilmesi gereği açıktır. Ayrıca bu analizlerde 5 değil, 1 örnek analizi genellikle yeterlidir. Bu durum ayrı bir zorluk çıkarır çünkü yemek çeşitlerine göre farklı bir mikrobiyolojik analiz planı gerekir. Ancak, o gün hangi yemeğin analizinin yapılacağı önceden bilinirse analiz buna göre planlanabilir.

Her şeye rağmen, bu gibi planlamalar her zaman ve her koşulda uygulanamaz. Buna göre, analizler işletme laboratuvarında yapılacak ise makul kapasitede bir soğutucu bulundurulması ve analiz yoğunluğuna göre yemeklerin soğutucuya alınması önerilir.

Dış laboratuvarında yaptırılacak analizler için mutlak olarak soğutma gereklidir. Ayrıca dış laboratuvarın analiz ettirilecek yemek çeşidi ve istenen mikrobiyolojik analizi hakkında önceden bilgilendirilmesi yararlı olacaktır.

Bu gibi işletmelerde hazırlanan ve dondurulmuş olarak servise sunulan yemekler, dış laboratuvarında analiz ettirilecekse aynı sıcaklıkta laboratuvara taşınmalıdır. Eğer işletme laboratuvarında analiz yapılacaksa, bu gibi dondurulmuş gıdaların çözündürme kuralları, talimatlara mutlak surette kaydedilmelidir.

04.04. Düşük Su Aktivitesine Sahip Gıdalar

Mikrobiyolojik analizlerde; laboratuvara taşınması ve analize alınıncaya kadar laboratuvarda bekleme süresi, soğutulmuş/ dondurulmuş gıdalarla hiçbir şekilde kıyaslanamayacak kadar önemsiz olmakla beraber düşük su aktivitesine sahip gıdalar bu önem bakımından ikinci sıradadır.

Sağlam, yıpranmamış ve orijinal ambalajındaki makarna gibi gıdalar tümüyle stabil sayılır. Burada değinilecek olanlar; yarı kurutulmuş domates ve nem koruması olmayan ambalajda pazarlanan kurutulmuş meyveler gibi gıdalardır.

Bu gibi gıdalarda sadece aşırı dış ortam nemi olan mevsimlerde ve/ veya bölgelerde analiz öncesi uzun süreli beklemelerde küçük sorunlar çıkabilir. Sorun, genellikle küf sayımında görülür. Örneğin, özellikle sahil bölgelerinde 10-20 km gibi kısa sayılabilecek uzaklıklarda ekolojik olarak nem çok değişken olabilmektedir. Gıdanın pazarlandığı yer ile analizin yapıldığı laboratuvarın dış ortam nemi mikroorganizma gelişmesi açısından çok farklı olabilir.

Bunların dışında, fiziki yerleşim açısından hatalı olarak agarlı besiyeri eritmek için kullanılan kaynar su banyoları, yıkama işlemleri, buharı dış ortama veren eski tip otoklavların bulunduğu ıslak alanlar ile analizlerin yapıldığı kuru alanların iç içe bulunduğu laboratuvarlara sıklıkla rastlanmaktadır. Böylesi bir fiziksel laboratuvar ortamında, genellikle stabil olarak kabul edilen düşük su aktiviteli ve nem geçirmez ambalajı olmayan gıdalar 24 saat ve daha uzun süre depolanırsa başta küf analizi olmak üzere mikrobiyolojik analizlerde laboratuvara getirilmiş örnek ile analiz edilen örnek arasında farklı sonuçlar alınabilir.

04.05. Stabil Gıdalar

Orijinal ambalajında korunmak kaydı ile sterilize edilmiş sebze konserveleri, UHT süt, makarna, bisküvi, reçeller, meyve suları ve gazlı meşrubat gibi pastörize edilmiş düşük asitli (< 4,5 pH) gıdalar, turşular, kahvaltılık çerezler, çeşitli unlar vb. gibi pazarlama birimlerinin soğutmalı olmayan raflarında pazarlanan gıdalar mikrobiyolojik olarak stabil kabul edilir.

Bu gibi gıdaların satış birimlerinden laboratuvara taşınması ve/ veya laboratuvar ortamında analiz için beklerken özel bir uygulamaya gerek yoktur. Bununla beraber, bu gibi gıdalarında doğrudan güneş almayacak şekilde tercihen serin ve kuru bir alanda depolanması gerekir.