

# GIDA LABORATUVARLARI

2013

REHBERİ



LABORATUVARLAR  
GÜVENİLİR GIDA  
ÜRETİMİNDE DAHA ÇOK  
ROL ALACAK

AB SÜRECİNDE  
TÜRKİYE'DE GIDA  
LABORATUVARLARI

GIDA ANALİZ  
LABORATUVARLARININ  
AKREDİTASYONU

GIDA KONTROL  
LABORATUVARLARI  
YÖNETMELİĞİ



## GIDA ANALİZLERİNDE MİKROBİYOLOJİK FLORANIN ÖNEMİ

**Prof. Dr. Bülent Nazlı**

Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

**G**ıda analizlerini yapmaya yönelik kurulan laboratuvarların gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından taşıdığı önem büyüktür. Bu laboratuvarlarda yapılan analizler ile piyasaya sürülen gıdalardaki uygunsuzluklar kolaylıkla tespit edilebildiği gibi daha önemlisi gıdaların piyasaya arz edilmeden önce hammadde, işleme ve üretim aşamalarında da kontrol edilmeleri sağlanabilmektedir. Özellikle üretimlerinde kalite güvence sistemlerini uygulayan işletmeler için laboratuvar güvenilir ve kaliteli gıdaların elde edilmesinde çok önemli rol oynamaktadır.

Gıda laboratuvarlarında yapılan analizler içerisinde en önemli yeri hiç şüphesiz mikrobiyolojik analizler tutmaktadır. Bunun nedeni, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların çeşitliliği ve çok geniş bir yayılma alanına sahip olmasıdır. Mikroorganizmalar gözle görülemeyen canlılar olduğu için tüketiciler tarafından genellikle soyut bir kavram olarak algılanır. Aslında, mikroorganizmaların gıda güvenliği, halk sağlığı ve gıda teknolojisi açısından taşıdığı önem büyüktür. Gıdalarda arzu edilmeyen mikroorganizmaların bir kısmı gıdaların bozulmasına ve diğer bir kısmı ise insanlarda gıda kökenli mikrobiyel hastalıkların oluşmasına neden olur. Bir kısım mikroorganizmalar ise yararlı etkilerinden dolayı gıda teknolojisinde kullanılır.

Diğer taraftan, arzu edilmeyen mikroorganizmaların gıdaya bulaşması, gıdada uygun ortam bularak üremesi, gelişmesi ve tehlikeli hale gelmesi ile gıda zincirinin her aşamasında gündeme gelebilir. Gıdalarda mikroorganizmaların tespitine yönelik analizler, gıdanın ve mikroorganizmanın türüne göre çeşitlilik arz eder. Burada amaç gıdaya özgün mikrobiyel floranın kalitatif ve kantitatif olarak saptanması ve elde edilen sonuçların gıda kalitesi, gıda güvenliği ve tüketici sağlığı açısından değerlendirilmesidir. Gıdalarda saptanan mikrobiyel floranın değerlendirilmesinde, gıda üretim zincirinde yapılan hijyen hatalarını, dışkı kökenli oluşan bulaşmaları, dolayısıyla gıda güvenliği ve tüketici sağlığı açısından riskleri gösteren "İndikatör mikroorganizmalar" önem taşır. Mikrobiyolojik analizlerin yapılması ve raporlandırılmasında donanımlı bir laboratuvarın yanı sıra, gıda teknolojisi, gıda hijyeni ve gıda mikrobiyoloji konularında bilgili ve

tecrübeli uzmanlara ihtiyaç vardır. Bu derleme çalışması, gıdalarda saptanan mikrobiyolojik floranın gıda kalitesi, gıda güvenliği ve sağlık açısından değerlendirilmesi üzerine bilgi vermek amacıyla yapılmıştır.

### GIDA MİKROBİYOLOJİSİ VE ÖNEMİ

Gıda maddeleri çeşitli kaynaklardan bulaşan veya bilinçli olarak katılan az veya çok sayıda mikroorganizma içerebilir. Bunların çoğu hastalık oluşturma özelliğinde değildir. Gıdalarda hastalık oluşturmeyen mikroorganizmalar daha çok gıda maddelerindeki besin unsurlarına hücum ederek gıdaların bozulmasına neden olurlar. Bazıları ise metabolik aktiviteleri ile fermente sucuk, peynir, yoğurt gibi gıda maddelerinin kendilerine has özelliklerini kazanmasını sağlarlar ve teknolojide starter kültür olarak kullanılırlar. Gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından önem taşıyan mikroorganizmalar hastalık oluşturan patojen ve toksin üreten mikroorganizmalardır. Besin maddeleri intravital olarak bakteriler, viruslar, parazitler ve küf mantarları gibi hastalık etkenlerini taşıyabilir. Tüketicileri ve gıdaları zararlı mikroorganizmalardan korumak için öncelikle gıdalara mikroorganizmaların bulaşmasının önlenmesi, akabinde mevcut mikroorganizmaların uzaklaştırılması, gelişmesinin engellenmesi ve gerektiğinde öldürülmesi için önlemler alınmalıdır.

Gıdalara mikroorganizmaların bulaşması genellikle yetiştirme koşullarında toprak, su ve hava gibi çevre koşulları ile insan, hayvan ve bitkilerden primer olarak veya elde edilen hammaddelerin depolanması, taşınması, işlenmesi, üretimi, satışı ve tüketime sunulması aşamalarında uygulanan işlemler sırasında sekonder olarak gerçekleşmektedir. Bu nedenle, gıdalara ve hammaddelerine bulaşan mikroorganizmaların minimum seviyede tutulması için yetiştiricilikte iyi tarım uygulamalarına, üretimde ise iyi hijyen ve teknoloji uygulamalarına gereken hassasiyetin gösterilmesi gerekmektedir. Buna rağmen gıdalara bulaşabilen mikroorganizmaların gıdalardan uzaklaştırılması ve gıda içinde üreyerek gelişmelerinin engellenmesi için teknolojik olarak gıdanın pH, su aktivitesi, redoks potansiyeli, besin yapısı gibi iç faktörleri ile sıcaklık, rutubet ve atmosfer yapısı gibi dış faktörlerin dikkate alınması gerekir.



Gıdalarda bulunması arzu edilmeyen mikroorganizmalar için ise düşük ve yüksek ısı uygulamaları, kimyasal maddeler ile dezenfeksiyon, yüksek basınç uygulamaları, çeşitli katkı maddeleri kullanımı ve yararlı bakterilerin antagonist etkileri ile ortamdaki mikroorganizmalar etkisiz hale getirilmektedir.

Gıda endüstrisinde kalite, yapılan kontrollerin önemli bir halkasını oluşturur. Laboratuvar uzmanı kalite sınırlarını tanımalı ve laboratuvar sonuçlarını, yapım teknikleri ve hijyen konusundaki bilgileriyle beraber kalite açısından yorumlamalıdır. Laboratuvarında klasik metotların kullanılması bugün, sonuçların yavaş çıkmasına ve uzun süre gerektirmesi nedeniyle kabul görmemektedir. Bu nedenle, genel tanıdan çok yansıtma değeri olan yeni ve hızlı metotlar sıklıkla gündeme gelmektedir. Laboratuvar uzmanı bunların her birini çok iyi tanımalı ve gerektiğinde uygulanabilecek kurumsal sistemi kuralmalıdır.

### GIDALARDA MİKROBİYOLOJİK FLORANIN BELİRLENMESİ

Mikrobiyolojik analizlerde gıdaya özgü mikrofloranın belirlenmesi ve mikroflorayı oluşturan mikroorganizmaların kalitatif ve kantitatif özelliklerinin tespit edilerek ulusal ve uluslararası mevzuatlarda bildirilen kriterlere uygunluğunun araştırılması gerekir. Mikrobiyolojik analizlerde izolasyon, karışık halde bulunan birçok mikroorganizma içinden tek bir mikroorganizmanın ayrılması veya saf halde elde edilmesi işlemidir. İzolasyon amacıyla sıvı veya katı besiyeri ile genel veya selektif besiyerleri kullanılmaktadır. Numune sıvı ise doğrudan, katı ise mikroorganizmalar sıvıya geçirildikten sonra ve sayım için gerekli dilüsyonlar hazırlanarak uygun metotlar ile besiyerlerine ekim yapılmakta ve belirli süre inkübasyon sonrası tek mikroorganizmadan oluşan koloniler elde edilerek sayılmaktadır. İdentifikasyon ise izole edilmiş bir mikroorganizmanın cins ve türünün (veya serotipinin) belirlenmesi işlemidir. Bu işlemde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve serolojik testler ile faj tiplendirmesi ve genetik analizler ile gerekirse toksin belirleme testleri yer almaktadır.

Gıda sanayinde mikrobiyolojik analiz sonuçlarının hızlı elde edilmesi gıda güvenliği ve halk sağlığı risklerine karşı zamanında önlem almak açısından önemlidir. Bu nedenle, immunoassay, impedimetri, flow sitometri, nukleik asit hibridizasyon ve biyoluminesans gibi klasik kültürel metotlardan farklı olarak birçok alternatif hızlı metot gündeme gelmiştir. Bu metotların validasyonu AOAC ve AFNOR gibi bağımsız organizasyonlar tarafından ISO 16140 standartına göre gerçekleştirilmektedir. Gıdaların mikrobiyolojik analizlerinde metot validasyonu genellikle analiz sürelerini kısaltmak amacıyla geliştirilen analiz metotlarının referans metotlar ile eşdeğer olduğunun teyit edilmesidir. Gıda mikrobiyolojik analizlerine yönelik referans metotlar, ulusal (TSE) ve uluslar arası (ISO, IDF) organizasyonlar tarafından yayınlanan klasik kültürel metotlardır. Kantitatif mikrobiyolojik metotların verifikasyonu amacıyla, doğruluk ve kesinlik gibi iki performans faktörü değerlendirilmektedir. Doğruluk faktörü,

doğru olarak kabul edilen veya deneysel olarak kontamine edilen numunelerden elde edilen sonuçlar ile değerlendirilmektedir. Kesinlik faktörü ise, aynı numuneden elde edilen sonuçlardan birbirine yakın olan sonuçlar ile değerlendirilmektedir. Kalitatif mikrobiyolojik metotların verifikasyonu amacıyla düşük düzeyde kontamine edilen numunelerden elde edilen sonuçlar ile hassasiyet değerlendirilmektedir.

### NUMUNE ALMA VE SAYIM

Standart analizlerde aynı üretim tarihli, aynı seri numarasına sahip olan 5 adet örnek alınır. Bu 5 adet örneğin her biri bağımsız olarak analize alınır ve sonuçlar, uyulması gereken standart yasal değerler ile kıyaslanır. Ulusal analizlerde bu yasal değerler Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan kriterlerdir. İhracatı ilgilendiren uluslararası analizlerde ise alıcı ülkenin yasal kriterleri göz önüne alınarak değerlendirme yapılır.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde 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, 5 numuneden 2'si  $m$  değerinde veya düşük ise ürün mikrobiyolojik kalite açısından uygun kabul edilir. Eğer, 5 numunenin geri kalan 3'ü  $M$  değerinde veya altında ise ürün mikrobiyolojik kalite açısından yeterli kabul edilir. Buna karşılık, 3'den fazla numune  $M$  değerinde veya daha fazla ise parti mikrobiyolojik kalite açısından yetersiz kabul edilir.

Sayımın temel yöntemi, 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. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde, laboratuvar uzmanı, gıda maddesinde tespit edilen mikroorganizmaların sağlık, teknoloji ve kalite açısından taşıdığı öneme göre karar vermeli ve raporunu yazmalıdır.

### MİKROBİYOLOJİK FLORANIN DEĞERLENDİRİLMESİ

#### 1-Total mikroorganizma

Toplam canlı mikroorganizma sayısı, ürünün raf ömrü, hijyen kalitesi ve ortam koşullarının patojen bakteri gelişmesi için uygun olup olmadığını bir göstergesidir. Bu amaçla aerobik mezofilik bakteri sayımı yapılır ve 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup>/g düzeyinde üremeler genellikle riskli ve ticari kalitesi düşük olarak kabul edilir. Bu değerlerin üzerinde üründe bozulma belirtileri görsel olarak izlenebilir. Mayalar ile bazı Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Alcaligenes ve Lactobacillus türleri gıda bozulmalarına neden olan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır.

Ürünün başlangıç normal florasının veya imalat sürecinin bilinmesi, değerlendirme hatalarını önler. Aranan diğer floralarda artış olmadığı halde total aerob floranın aşırı artması, başlangıçta iyi kalitede olan ürünün soğuk zincir izlemesinde bir eksiklik olduğunu gösterir. Ürünün başlangıç kalitesinin kötü olması patojen floranın varlığını gündeme getirir. Banal denilen floranın önemli miktarda bulunması, spesifik



olmayan besi yerinde patojen jermeleri engelleyip maskeleyebilir. Bu durumda, patojen türlerinde dikkatlice aranması gerekebilir. Diğer taraftan, önemli miktarda mikrobiyel enzim üretimi tüketicide memnuniyetsizlik veya saklama sırasında ürünün organoleptik kalitesinde düşüş meydana getirebilir.

Gıda konservelelerinde, Bacillus veya Clostridium türü sporlu jermelerin bulunması, sterilizasyonun zaman veya sıcaklık ile ilgili yetersizliğini, olağan mezofil flora (mikrokok, stafilokok, streptokok vb) varlığı ise lehim yerlerinde, depolama sırasında havadaki jermelerin geçişine izin veren kaçakların olduğuna işaret eder. Sıcaklık artışı ile bakteri florası yok olan bozuk etlerin pişmiş ürünlerde kullanılıp kullanılmadığı toplam uçucu bazik azot (T.V.B.N) ve trimetil amin (T.M.A) tespiti ile belirlenebilir. TKG, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, aerobik koloni sayısı kıymalar ile mekanik olarak ayrılmış kırmızı et ve kanatlı etinde 5 numunenin 2'sinde  $5 \times 10^5 - 5 \times 10^6$  olarak bildirilmektedir.

## 2-Laktik flora

Genellikle teknolojiye yararlı bir floradır ve bu grup bakterilerin asit üretimi, ortamın pH'ını düşürür ve patojen jermelerin gelişmesini sınırlandırır. Laktik floranın gelişmesine dayanan fermente sucuk üretimi, geleneksel sayım metodlarında çelişki oluşturabilir. Bu durumda, protein bozunmalarını yansıtan, toplam uçucu bazik azot (T.V.B.N) ve trimetil amin (T.M.A) belirlenmesi ile fermente sucuğun kalitesi ortaya konabilir. Bu bakterilerin araştırılması kurutma ve olgunlaştırma işlemi uygulanmış şarküteri ürünlerin de oluşan anormalliklerin anlaşılmasını sağlar. Diğer taraftan, yoğurt üretiminin temeli, bozuk ürünlerdeki inkübasyon hatalarını ortaya çıkarmak için, gıda uzmanı tarafından, laboratuvarında saflığı ve canlılığı kontrol edilen bazı maya ve starter kültürlerin araştırılmasına dayanır. Sütte laktik streptokokların bulunması, bu hammaddelerin kullanıldığı ürünlerde total laktik floranın artışını açıklar.

## 3-Psikrofil flora

Aerob psikrofil jermelerin önemli miktarda bulunuşu soğukta uzun süreli depolamayı gösterir ve bu jermeler görünüş ve pazarlama bozukluklarına yol açan renk ve anormal koku oluşumuna neden olabilirler. Kıyma üretiminde uygulanan yasalar, taze etin kullanımını kesimden itibaren 6 gün ile sınırlandırmıştır. Diğer taraftan, çiftlikte sütün tanklarda hızlı soğutulması psikrofil floranın mezofil ve patojen floralar karşısında gelişmesini kolaylaştırır. Ancak, bu durumda peynircilikte bozulmalara yol açan enzim üretimini artırabilir. Oldukça düşük sıcaklıklarda (5-80C) üreyen psikrofil floranın gelişmesi, toplam uçucu bazik azot (T.V.B.N) ve tri metil aminlerin (T.M.A) oranındaki artış ile birlikte olur. Bu durumda, aerob mezofil jerm sayısı düşük olduğu halde T.V.B.N oranı yüksek olabilir ve bu nedenle ürünün bakteriyolojik kalitesinin yeterli olduğu sonucuna varmak yanlış olacağı için kısa sürede yapılabilen T.V.B.N tespiti yarar sağlar. Gıda konservelelerinde, anaerob psikrofil floranın bulunması, kutuların soğutulması sırasında oluşan su kökenli bir bulaşmayı gösterir;

## 4-Enterobacteriaceae Grubu bakteriler

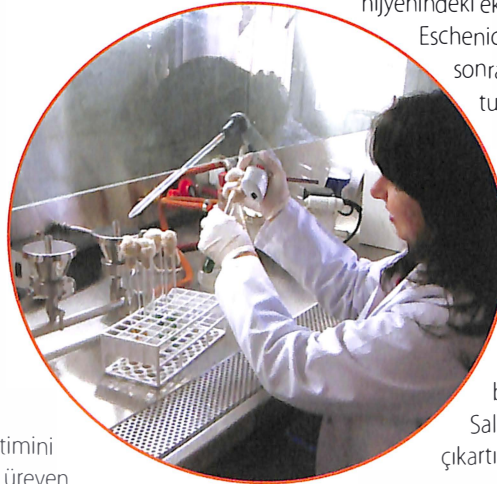
Enterobacteriaceae grubu bakteriler, ürünlerin yetersiz hijyen koşullarında işlendiğini gösteren indikatör mikroorganizmalardır. Toplam Enterobacteriaceae sayısı ile fekal kontaminasyon arasında yakın bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Enterobacteriaceae ve koliform grubu bakteri analizleri ile, gıdaların hijyenik koşullarda işlenip işlenmediği konusunda değerlendirme yapılabilir. Isıl işlem görmüş gıdalarda bu grup organizmaların bulunmaları, başlangıç bakteri sayısının yüksek olması nedeniyle, ısıl işlem uygulamasının yetersiz kaldığını, ısıl işlem sonrası ortam koşullarının bakteri sayısının tekrar artmasına uygun olduğunu ve ısıl işlem sonrası kontaminasyon oluşumunu ifade etmektedir. TKG, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, Enterobacteriaceae türleri pastörize süt ve süttozunda 5 numunenin hiç birinde 101 kob/mL aşmamalı, dondurma ile yumurta ve ürünlerinde 5 numunenin 2'sinde 101-102 kob/mL arasında olmalı ve bebek ile küçük çocuk ek gıdalarında 5 numunenin hepsinde  $< 101$  kob/mL olmalıdır.

## 5-Koliform, Fekal Koliform ve Escherichia Coli

Koliformlar 35-370C üreyen laktoz+gram enterobakteriler olup 440C sığağa dayanabilenleri fekal koliform olarak adlandırılır ve bunların en patojen olanı Eschenichia coli'dir. Gıdalarda bulunan Koliform grubu mikroorganizmaların mevcudiyeti ürüne, insan ve hayvan dışkı veya toprak bulaştığını, yetersiz hijyenik taşıma ve işleme koşulları ile yetersiz ısıl işlemi gösterir. Bu mikroorganizmalar, dondurma işlemine duyarlı olduğundan dondurulmuş ürünlerde bulunmayışı, gıdanın önceden fekal kontaminasyona veya yetersiz hijyen koşullarına maruz kalmadığını göstermez. Gıda işletmelerinde, koliform grubu mikroorganizma oranındaki artış, hammaddenin primer bulaşmasını veya işyeri, personel ve üretim hijyenindeki eksikliği işaret eder. Fekal koliformlar ve

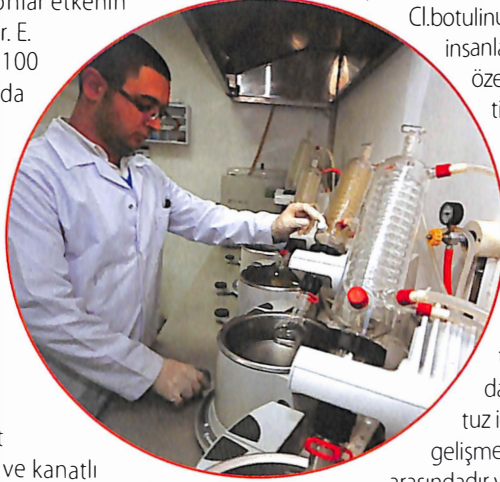
Eschenichia coli'nin varlığı ise tuvalet kullanımı sonrası el yıkama eksikliği veya işyerinin tuvalet ve foseptikler ile bulaşması gibi daha ciddi bir hijyen hatasını gösterir. Fekal koliformların varlığı sınır değerlerin aşılması koşuluyla, tüketici açısından tehlike arz etmese bile ciddi bir uyarı işaretidir. Çünkü, Salmonellaların yakını olan bu flora kültür ortamında onların varlığını gizleyerek besin hijyeninde risk oluşturabilir. Ancak, buradan fekal koliformların bulunmaması Salmonellaların da bulunmadığı anlamı çıkartılmamalıdır.

TKG, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, koliform bakteriler, yufka ve kadayıfda 5 numunenin 2'sinde 102-103 kob/mL arasında, tahıl unları, soya unu ve diğer unlarda 5 numunenin 2'sinde 103-104 kob/mL arasında olmalı, Escherichia coli ise, fermente süt ürünleri ve koyulaştırılmış süt tozunda 5 numunenin hepsinde  $< 3$  kob/mL, eritme peynirlerinde 5 numunenin hepsinde  $< 101$  kob/mL ve tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezelerde 5 numunenin 2'sinde  $< 10 - 101$  kob/mL olmalıdır.



### 5-Escherichia coli O157:H7

Bilinen E. coli tipleri içerisinde en önemlisi Enterohemorajik Eschenichia coli (EHEC)'dir ve ölümlü sonuçlanan çoğu gıda kaynaklı infeksiyonlardan sorumlu tutulan O157:H7 serotipini içerir. E. coli O157:H7'nin en önemli özelliklerinden birisi asidik koşullara dirençli olmasıdır. Fermente sucuk ve elma suyu gibi asidik gıdaların tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan infeksiyonlar etkenin aside dirençli olmasından kaynaklanmaktadır. E. coli O157:H7'nin diğer önemli bir özelliği 10-100 arasında bakterinin alınması halinde insanlarda hastalık oluşturabilmesi, yani minimal infeksiyon dozunun çok düşük olmasıdır. E. coli O157:H7 ısıya duyarlı olup, pişirme ve pastörizasyon gibi ısı işlemiyle etkisiz hale gelir. Ancak, soğuk ve donmuş muhafaza koşullarında etken uzun süre canlılığını koruduğundan buzdolabında muhafaza edilen veya dondurulmuş ürünlerde aranmalıdır. TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, Escherichia coli O157:H7, kıyma, çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımları, mekanik olarak ayrılmış kırmızı et ve kanatlı eti, fermente sucuk, çiğ, dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler, tüketime hazır meyve ve sebze sularında 25 g-mL olarak alınan 5 numunenin hiç birinde olmamalıdır.



### 6-Koagulaz Pozitif Stafilkoklar

Staphylococcus aureus ısıya dayanıklı toksin oluştur ve kısa süreli gıda zehirlenmelerinde sık rastlanılır. Gıdalarda S. aureus sayısı 105/g'ın üzerine çıktığında toksin riski oluşmaktadır. Etken pastörizasyon ve pişirme sıcaklıklarına dayanıksız toksinler ise dayanıklıdır. Eğer toksin üretilmiş ise ürünün pişirilmiş olması, gıdanın güvenli olduğunu göstermez. Pişmiş gıdalar, çiğ gıda, personel ve haşereler ile çapraz olarak bulaşabilir. Gıdalara genellikle çalışan personel vasıtasıyla (eller, öksürme, hapşırma vb. yollarla) geçebilmektedir. Etken su aktivitesi 0.83'ün, pH'ı 4.0'ün ve sıcaklığı 30C'nin altında olan ortamlarda üreyemez. Dondurma ve kurutmaya nispeten dayanıklıdır. TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre koagulaz pozitif stafilkoklar, tereyağı, kaymak, süttozu, peynir (eritme peynir hariç) ve mayonezde 5 numunenin 2'sinde 102-103 kob/mL arasında, kürlenmiş ve kurutulmuş (pastırma, vb.) ürünlerde 5 numunenin 2'sinde 102-104 kob/mL arasında, pizza, hamur ve baharatta, 5 numunenin 2'sinde 103-104 kob/mL arasında olmalıdır.

### 7-Sülfid İndirgeyen Anaerob mikroorganizmalar

Gıdalarda hijyenik kalite belirlenmesinde, kontaminasyon indikatörleri olarak değerlendirilir. Sıklıkla sporlu şekilde gıda ürünlerinde görülen bu jermilerin varlığı bir çok sebebe bağlı olabilir. Örneğin, hammadde olan taze ette, hayvanın kesim öncesi beslenmesine dikkat edilmemesi veya iç organların geç veya yanlış çıkartılması gibi nedenler bu türlerin ete bulaşmasında rol oynar. Bu jermilerin sütte mevcudiyeti sağım sırasında fekal içeriğin süte karıştığı anlamına gelir. Hazır yemek üretiminde, kullanılan sebzelerin yetersiz temizlenmesi bulaşmaya neden olabilir. Konservelerde üretim hijyeni eksikliğini veya tekrar oluşan bulaşmaları gösterir. Her zaman kötü olan bu flora insan için patojen olan Cl.botulinum, Cl.perfringens, Cl.Histolyticum, Cl.septicum gibi ticareti

engelleyici glusidolitik veya proteolitik bozunma öğelerini içerebilir.

Cl.perfringens'in gelişme sıcaklığı 10-500C (en ideal 450C) arasındadır ve pH 5.0'in, su aktivitesi 0.93'nin altında gelişemez. Oksijensiz ortamlarda yaşayan etken, sporlu bir basidir. Gıda zehirlenmesini önlemek için pişmiş gıdalar 600C'nin üzerinde muhafaza edilmeli veya 2-3 saat içinde 100C'nin altında soğutulmalıdır.

Cl.botulinum'un, bilinen 7 tipinden, A, B, E ve F tipleri insanlarda sinirsel felç ile karakterize ölümcül özellikte botulismus hastalığına neden olur. Bu tipler proteinleri hidrolize etme özelliğine göre iki gruba ayrılır. A, B ve F tiplerinin proteolitik suşları yüksek ısıya dayanıklı spor oluştururlar ve % 10 tuz içeren ortamlarda gelişemezler. Bu tiplerin gelişme sıcaklığı 10-500C (en ideal 350C) arasındadır ve pH 4.5'in, su aktivitesi 0.93'nin altında gelişemezler. B, E ve F tiplerinin proteolitik olmayan suşları ısıya daha az dayanıklı spor oluştururlar ve % 5 tuz içeren ortamlarda gelişemezler. Bu tiplerin gelişme sıcaklığı 3.5-450C (en ideal 30-350C) arasındadır ve pH 4.5'in, su aktivitesi 0.94'ün altında gelişemezler. Vakumda veya modifiye atmosferde saklanan ürünlerde anaerob flora düzenli olarak izlenmelidir.

TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, sülfid indirgeyen anaerob bakteriler, kürlenmiş ve kurutulmuş (pastırma, vb.) ürünlerde 5 numunenin 2'sinde 102-103 kob/mL arasında olmalıdır.

### 8-Salmonella'lar

Et ve sakatatta, özellikle tavuklarda yaygın olarak, bazen yumurtanın dış yüzeyinde ve içinde bulunabilmektedir. Gıdalara haşereler, insanlar ve kontamine hammadde ile ulaşabilmektedir. Zehirlenmelerde infeksiyöz doz yaklaşık 106 olarak belirtilmektedir. Gıdalara bulaşma, primer olarak hammadde (yumurta, kanatlılar gibi) ve insanlardan (tuvaletlerin kullanımında hijyen kurallarına uymayan jerm portörleri ve hastaları) veya sekonder olarak üretim esnasında işyeri, personel ve kullanılan su ile gerçekleşir. Bir gıda uzmanı, Salmonella'ları hiçbir zaman tehlikesiz olarak algılamamalıdır. Çünkü, üremesi ve gelişmesi için uygun koşullar gıdada Salmonella'ları tüketici açısından patojen hale getirebilir. Salmonella etkenleri, hem oksijenli hem de oksijensiz ortamda gelişebilirler. Üreme ısıları 7-480C (en ideal 370C) arasındadır. pH 4.5-9.5 (en ideal 6.5-7.5) arasında gelişebilirler. Su aktivitesi 0.93 altında ve % 5 tuz içeren ortamlarda gelişemezler. Gıdaların 700C'de en az 10 dakika tutulması ayrıca %1.4'lük asetik asit (pH 4.0) ile 72 saat muamele edilmesi Salmonella'ları öldürür. Ancak dondurulmuş ve kurutulmuş gıdalarda uzun süre hayatta kalabilirler.

TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre Salmonella'lar, krema (pastörize), tereyağı, kaymak, süttozu, peynir (eritme peynir hariç), koyulaştırılmış süt, dondurma, yumurta ve ürünleri, kıyma, çiğ kırmızı et ve kanatlı eti ile hazırlanmış kırmızı et ve kanatlı eti karışımları, mekanik olarak ayrılmış kırmızı et ve kanatlı eti, kürlenmiş ve kurutulmuş ürünler, fermente sucuk, ısı işlem görmüş et ürünleri, kabuklular ve balıklar, et suyu tabletleri, kuru çorbalar, makarna, pizza, hamurlar, çiğ, dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler, baharatlar,

meyve ve sebze suları, tüketime hazır her türlü et ve sebze yemeği, türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler, mayonez, tatlılar, bebek formülleri ve devam formülleri, bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında 25 g-mL olarak alınan 5 numunenin hiç birinde olmamalıdır.

## 9-Maya ve küfler

Teknolojide starter olarak kullanılan maya ve küfler ile ürün kalitesini olumsuz etkileyen ve sağlık için sakıncalı olan türlerin ayırt edilmesi gerekir. Bazı maya türlerinin yoğurt gibi ürünlerde istenmeyen özel tat ve koku oluşumu ile görünüş ve renk değişikliklerine neden olabileceği bilinmelidir. Bu gibi mayaların araştırılması, bazı ürünlerin saklanması ve raf ömürlerinin tespitinde yarar sağlar. Diğer taraftan, bazı maya türleri gıda konservelerinde bombaja neden olan gazlar oluşturulabileceği için bu floranın izlenmesi gerekir. Asidik koşullarda ve yüksek şeker içeren ortamlarda gelişmeye meyillidirler. Hem aerobik hem de anaerobik koşullarda gelişebilirler. Fermantatif mayalar şekerleri parçalayarak CO<sub>2</sub>, alkoller ve asitler üretir. Oksidatif mayalar şekerleri, asitleri ve alkollerini okside eder ve pH değerini yükseltirler. Osmofilik mayalar düşük aw koşullarını tolere edebilirler ve kuru meyva, bal, konsantre meyve suyu gibi gıdalarda bozulma yaparlar. Tuza toleranslı mayalar salamura ve tuzlanmış gıdaların bozulmasına katkıda bulunurlar.

Aynı şekilde peynir ve sucuk üretiminde kullanılan küf türlerinin dışında kalite bozan ve sağlık için sakıncalı toksin üreten küf üremelerinin gıda maddelerinde mevcudiyeti önemlidir. Mikotoksin üreten gıda kaynaklı küflerin başlıcaları Fusarium, Penicillium ve Aspergillus'tur. Hayvansal ürünlerin mikotoksinlerle kontaminasyonu ise çoğunlukla kontamine yemlerin tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Teknolojide starter kültür olarak kullanılan küf türleri ürün kalitesi açısından onları tanımlamak ve gereksiz maya bulaşmalarını ortaya koymak için izlenmelidir. Diğer taraftan, temiz olması gereken ürünlerin üzerinde küf görülmesi, ürünün imalatındaki nem oranının anormalliğini veya kurutma hatalarını gösterir. Küfler sahip oldukları sporlar aracılığıyla kolayca besinlere bulaşır ve süratle üreyerek uygun koşullarda toksin üretirler. Su aktivitesi 0.90-0.80 arası değerler küf gelişimi için ve 0.90-0.85 arası değerler toksin üretimi için uygundur. Su aktivitesi değer 0.65 altında olan ortamlarda küf gelişimi çok yavaştır. Küfler genelde 20-40°C arasında ve en ideal olarak 25-26°C arasında ürerler. Ancak, -15°C'de üreyebilen küf türleri de vardır. Küflerin üreyebildiği pH değerleri 3-8 arasında olup en ideal pH 5.0'dir. Ancak, pH 2'de bile üreyebilen küfler de vardır. Küf gelişimi için oksijen ihtiyacı fazladır ve ortamdaki % 15 karbondioksit mevcudiyeti, küf ve toksin gelişimini önemli ölçüde etkiler. Bu tür ürünlerde, aw (su aktivitesi) veya serbest suyun belirlenmesi, ürünün raf ömrü ve kalitesi hakkında bilgi verebilecektir.

TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, maya ve küf, ekmek, pide, simit, poğaç, makarna, salata ve soslarda, 5 numunenin 2'sinde 102-

103 kob/mL arasında, kurutulmuş veya dondurulmuş meyvelerde 5 numunenin 2'sinde 104-105 kob/mL arasında, sadece küfler için ise reçel, marmelat ve pürelerde 5 numunenin 2'sinde 102-103 kob/mL arasında, yufka, kadayıf, pizza ve hamurlarda 5 numunenin 2'sinde 103-104 kob/mL arasında ve unlarda 5 numunenin 2'sinde 104-105 kob/mL arasında olmalıdır.



## 10- Bacillus cereus

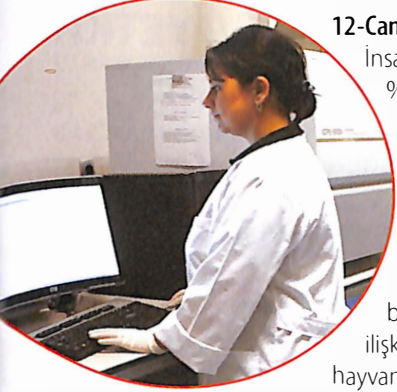
Bacillus cereus, genellikle 107/g düzeylerinde intoksikasyon etkenidir ve biri ısıya dirençli, diğeri ise ısıya duyarlı olan iki enterotoksini bulunmaktadır. Isıya dirençli enterotoksin emetik formda, ısıya duyarlı enterotoksin ise ishal formunda besin zehirlenmesi tablolarından sorumludur. Etkenin gelişme sıcaklığı 5-500C (en ideal 350C ) arasındadır ve pH 4.0'ün, su aktivitesi 0.92'nin altında gelişemez. Oksijenli ve oksijensiz ortamlarda yaşayan etken, sporlu bir basidir. Etkenin sporları pişirme sıcaklıklarına dayanıklıdır ve sporları tahrip etmek için 1150C'de 1 saat ısıtmaya gerek vardır. Etken proteinleri parçalama özelliğine sahip enzimlere sahip olduğundan gıdalarda önemli derecede bozulmalara neden olur.

TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, Bacillus cereus, bebek formülleri ve devam formüllerinde 5 numunenin 2'sinde 5x10<sup>1</sup>-5x10<sup>2</sup> kob/mL arasında, bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ile tüketime hazır her türlü et ve sebze yemeğinde 5 numunenin 2'sinde 102-103 kob/mL arasında ve baharatlarda, 5 numunenin 2'sinde 103-104 kob/mL arasında olmalıdır.

## 11-Listeria monocytogenes

Diğer gıda kaynaklı patojenlerden farklı olarak doğada yaygın olarak bulunur. Böylece gıda üretim zincirinin her aşamasında ürüne bulaşabilir. Gıdalardaki 100 kob/g'ın üzerindeki kontaminasyon düzeylerinde hastalık ortaya çıkabilir. Çiğ ve işlem görmüş gıdalarda yaygın olarak gözlenmektedir. Listeriosis vakalarının %30'unun ölümle sonuçlandığı için gıdalardaki analizi önemlidir. Gelişme sıcaklığı 0.5-430C (en ideal 35-380C ) arasındadır ve düşük sıcaklıklarda (2-4°C) gelişme özelliğine sahip olduğundan buzdolabında muhafaza güvenilir değildir. Oksijenli ve oksijensiz ortamlarda yaşayabilirler ve pH 5.0 altında gelişemezler. Kurutma ve dondurma işlemlerine dayanıklıdır ve % 10-20 tuz içeren ortamlarda yaşayabilir. Gelişim için karbonhidratlara ihtiyaç gösterirler. Ancak, 720C'de 15 dakika pişirmede tahrip olur.

TGK, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre, Listeria monocytogenes, krema (pastörize), kaymak, peynir, eritme peynirler, dondurma, fermente sucuk, ısı işlem görmüş et ürünleri, kabuklu ve balıklar, pizza ve hamurlar, çiğ, dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler, tüketime hazır meyve ve sebze suları, tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler ile bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında 25 g-mL olarak alınan 5 numunenin hiç birinde olmamalıdır. ve bebek formülleri ve devam formüllerinde ise 25 g-mL olarak alınan 10 numunenin hiç birinde olmamalıdır.



### 12-Campylobacter jejuni

İnsanlardan elde edilen izolatların %99'undan fazlası Campylobacter jejuni, Campylobacter coli ve Campylobacter lari'dir. Hastalık yapma dozu, 500-10.000 hücre arasında değişir. Campylobacter pek çok vahşi ve evcil hayvanın özellikle kuşların barsaklarında bulunur. Campylobacter ile ilişkili hastalıkların %70'i bu

hayvanlardan bulaşmış gıda ve suların

tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Etken,

mikro aerofilik özelliktedir yani çok az oksijende bile etkelediğinden gıdaların yüzeyinde üreyemezler. Üreme ısıları 32-450C (en ideal 430C) arasındadır ve pH 5.3 altında gelişemezler. Kurutmaya karşı dayanıksızdırlar ve % 2 tuz içeren ortamlarda gelişemezler. Ancak, dondurulmuş ürünlerde uzun süre canlı kalabilirler.

### 13-Yersinia enterocolitica

Doğada yaygın olarak bulunan Y. enterocolitica su, süt, süt ürünleri, et, sebzeler gibi yiyecek ve içecekler ile insanlara bulaşır. Gelişme sıcaklığı 0-440C(en ideal 250C ) arasındadır ve pH 4.6 altında gelişemez. Oksijenli ve oksijensiz ortamlarda yaşayabilirler. Pastörizasyon ve pişirme sıcaklıklarında tahrip olur ve %7 tuz içeren ortamlarda yaşayamazlar. Buzdolabında muhafaza güvenilir değildir.

### 14-Vibrio parahaemolyticus

Bulaşık deniz ürünlerinin tüketimi ile insanlarda gastroenteritise neden olur. Hastalığın oluşması için gıdada 105-106/gram bulunması gerekir. Gelişme sıcaklığı 4-430C ve pH 5-11 arasındadır. Su aktivitesi 0.94'ün altında ve % 2 tuz içeren ortamlarda gelişemezler. Oksijenli ve oksijensiz ortamlarda yaşayabilirler. Sorumlu gıdanın 600C'de 15 dakika veya 1000C'de 1 dakika etkeni öldürmek için yeterlidir.

### SONUÇ

Biyolojik bilimler, matematik bilimleri kadar kesin değildir ve her zaman yorum gerektirir. Özellikle, gıda mikrobiyolojisi konusu, çevre, insan, hayvan ve bitki döngüsü içerisinde mikroorganizmaların gıda maddesine bulaşması, yaşamını sürdürmesi ve gerek gıda maddesi, gerekse tüketiciler için zararlı veya yararlı hale gelmesi için gereken olayların yeterince karmaşık ve gıda ile mikroorganizma çeşitliliğinin çok geniş kapsamlı olması nedeni ile daha fazla dikkat ve yorum gerektirir. Bu nedenle, ciddi bir laboratuvarın, mikrobiyolojik analizlerin doğru bir şekilde yapılması ve sonuçların güvenilir bir şekilde değerlendirilmesi için işinde yeterince deneyimli, gıda mikrobiyolojisi, hijyeni, teknoloji ile gıda mevzuatı konusunda yeterli bilgiye sahip yetkin bir gıda uzmanına her zaman ihtiyacı vardır.

İdeal bir laboratuvar uzmanı, ISO 17025 Standardı'na göre ideal laboratuvar uygulamalarını tanımalı ve öncelikle analiz için gerekli olan metotları seçebilmeli ve geçerli kılabilir. Benzer şekilde, laboratuvarında bulunan bütün cihazların kullanım öncesi kalibrasyonunu yaptırmalı ve ölçüm belirsizliklerini tayin edebilmelidir. Son olarak, numune alma ve hazırlamayı bilmeli, klasik veya modern metotlar ile analiz yapabilmeli ve elde edilen

sonuçları doğru değerlendirerek tüm bilgileri içeren bir rapor hazırlayabilmelidir. İdeal bir analiz programı, numune alma ve hazırlama, metot ve cihazlarının seçilmesi, kalibrasyonunun yapılması, kullanılması, kontrolü ve bakımı ile ölçme belirsizliğinin tayini ve ölçümlerin izlenebilirliği için gerekli olan bütün dökümanları ve prosedürleri içermelidir.

Analiz raporlarında yer alan görüş, bildirme ve yorumlamadan sorumlu uzman, yapılan analizle ilgili olarak, eğitim, deneyim ve tatmin edici bilgiye sahip olmasının yanı sıra, analizi yapılan ürünün imalat teknolojisi ve kullanım şekilleri ile amaçlanan kullanım alanları ve bunların kullanımı sırasında oluşabilecek hatalar veya bozulmalar hakkında gereken bilgiye, yönetmelik ve standartlarda belirtilen genel şartlar hakkında bilgiye ve tespit edilen sapmaların, söz konusu olan malzeme, ürün ve benzerlerinin normal kullanımlarındaki önemi hakkında bilgiye sahip olmalıdır.

### KAYNAKLAR

- » Anonim (2012) : Gıda Kontrol Laboratuvarlarının kuruluş, görev, yetki ve sorumlulukları ile çalışma usul ve esaslarının belirlenmesine dair Yönetmelik (Yetki Kanunu 5996, Yayınlandığı R.G. 29.12.2012-28157), Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.
- » Anonim (2012) : Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (Yetki Kanunu 5996, Yayınlandığı R.G. 29.12.2012-28157), Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.
- » AOAC (2006) : Presidential task force on best practices for microbiological methodology, International BPMM Task Force Final report 8-7-06, 2006,
- » Halkman, A.K (2005) : Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Merck, 1.Baskı, ISBN : 975-00373-0-8, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd.Şti., Ankara.
- » ISO/TS 19036 ( 2006) : Microbiology of food and animal feeding stuffs- Guidelines for the estimation for measurement uncertainty for quantitative determinations. International Organization for Standardization copyright Office Case postale 56 .CH-1211 Geneva 20. Switzerland
- » Jay, J.M., Loessner, M.J. and Golden, D.A. (2005) : Modern Food Microbiology, Seventh Edition, Springer Science and Business Media Inc., New York, NY 10013, USA.
- » TS EN ISO/IEC 17025 (2005) : Deneş ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar, Türk Standardları Enstitüsü, Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA
- » Uğur, M., Nazlı, B. ve Bostan, K. (2008) : Besin Hijyeni Ders Notları, İ.Ü.Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Avcılar, İstanbul.