

MİKROBİYOLOJİK NUMUNE HAZIRLAMA

1. ÜRETİM YERLERİNDEN NUMUNE(ÖRNEK) ALMA

Genel anlamda kalite kontrolün esası örnek almaya dayanır. Çünkü analizler o gıdadan belli kurallara göre alınan örnek üzerinde uygulanır. Bu nedenle örnek alma işlemi yapılacak analiz kadar önemlidir. Örnek alma işlemine gereken özen ve titizlik gösterilmediğinde en duyarlı yapılan analiz sonucu bile gerçeği yansıtmaz, pozitif ya da negatif hatalara ve yanlış değerlendirmelere neden olur.

Türk Gıda Kodeksi 2002/25 sayılı tebliğe göre gıda kontrolörü/ gıda denetçisi tarafından alınmalıdır. Gıda teknisyeni ise çalıştığı gıda işletmesinin verdiği talimatlar doğrultusunda işletmenin üretim yerlerinden örnek alabilir.

- Her gıda için mikrobiyolojik kontrol üç aşamada gerçekleşir. Bunlar;
 - Örnek alınması
 - Analiz yöntemlerinin belirlenmesi
 - Elde edilen sonuçların değerlendirilmesidir.
- Mikrobiyolojik örnek almada temel ilke:
 - Kontaminasyona neden olmadan gıdadan yeterli örnek alınması ,
 - Alınan örneğin mikrobiyolojik durumunda enaza değişikliklerle, hatta mikroorganizma yükünde artma veya eksilme olmadan laboratuvar taşınmasıdır.

- Örnek alma aşamaları ise;
 - Örnek miktarının belirlenmesi
 - Örnekleme planının yapılması
 - Örneğin alınması
 - Örneğin laboratuvar uygun koşullarına getirilmesi
 - Örneğin analize hazırlanmasıdır.

1.1. Örnek Alma Kapları ve Özellikleri

Mikrobiyolojik örnek almak için kaşık, burgu, bez, pipet, karıştırıcı, swab ya da deep slayt, kavanoz, erlen, beher; paketleri açmak için de makas, bıçak, konserve açacağı kullanılır. Bu araçların hepsi de önceden sterilize edilmiş olmalıdır.

Cam, metal, plastik kaplar veya tek kullanımlık steril plastik poşetler de kullanılabilir.

Örnek alma kaplarının taşınması gereken özellikler şunlardır;

- Temiz, steril, kuru ve kapaklı olmalıdır.
- Kırık veya çatlağı bulunmamalı, sızdırmaz, nem geçirmez özellikte olmalıdır.
- En az 200 g veya 200 ml örnek alabilecek hacimde ve geniş ağızlı olmalıdır.
- Sterilizasyona dayanıklı olmalıdır.
- Kapağın içi emici olmayan bir materyal ile kaplanmış olmalı olmalıdır.
- Örnek kaplarının kapakları su geçirmeyecek şekilde kapanmalı olmalıdır.
- Soğutulmuş veya dondurulmuş örnekleri taşımak için kullanılacaklar termoslar gibi izoleli olmalı olmalıdır.
- Kapağı olmayan kapları kapamada kullanılan lastik, plastik, mantar tıkaçlar önceden alüminyum folyo veya plastik şerit ile sarılmış olmalıdır.
- Tek kullanımlık plastik poşetler sonra güvenli bir şekilde kapatılmalı, içine konan örneği daha iyi korumak için ikinci bir plastik poşete konmalıdır.





Resim 1. 1: Çeşitli mikrobiyolojik örnek alma kapları



Resim 1.2: Tek kullanımlık steril plastik mikrobiyolojik örnek poşetleri

1.2. Örnek Alma Sırasında Dikkat Edilecek Noktalar

- Alınacak örneğin ambalajı açılmamış olmalıdır.
- Büyük ambalajlı gıdalardan örnek alınacaksa aseptik olarak steril bir malzeme ile temsili örnek alınıp örnek kabına aktarılmalıdır.
 - Ambalajın dış yüzeyi %70'lik alkolle dezenfekte edilmelidir.
 - Ambalaj materyali dayanıklı ise alevden geçirilmeli değilse steril saf su ile silinmelidir.
 - Ambalaj steril bir kesici ile açılmalıdır.
 - Sıvı gıdalar, örnek almadan önce steril bir karıştırıcı ile iyice karıştırılmalıdır.
 - Gıda karıştırılamayacak yapıda ise değişik noktalardan örnek alınmalıdır.
- Eğer bir musluktan örnek alınıyorsa musluk ucu alkollenip alevden geçirilmeli ve bir süre akıtıldıktan sonra örnek alınmalıdır.
- Gıda küçük paketler halinde ise tesadüfi örnek alma ilkesine göre seçim yapılmalıdır.
- Gıda büyük koliler içinde küçük paketler halinde ise tesadüfî örnek alma esasına göre seçilmiş kolilerden yine tesadüfî örnek alma ilkesine göre küçük ambalajlar alınıp bunlardan temsili örnek hazırlanır.
- Yığın hâlindeki gıdalardan hemen her bölgeden örnek alınmalıdır.
- Her partiden ayrı örnek alınır.

- Örnek alındıktan sonra örnekleme raporu tutulup örnekle birlikte laboratuvar gönderilmelidir. Örnekleme raporunda şu bilgiler bulunmalıdır;
 - Örneği alan kişinin isim ve adresi
 - Örneğin alındığı yer, tarih, saat
 - Örnek alma nedeni
 - Örnekleme yöntemi
 - Ürünün parti nu ve kodu, partinin büyüklüğü, parti içindeki birim sayısı
 - Gıdanın yapısı, üretici firma, satıcı veya ithalatçı vb ismi
 - Örnek sayısı ve miktarı
 - Örnek alma sırasında gıdanın bulunduğu ortamın koşulları
 - Örnekte yapılması istenen testlerdir.

Tarih :						
Numune :						
Hat No :						
Saat :						
Miktar :						
pH :						
Açıklama						
Gelişme gözlenen grup	İnkübasyon		PARALEL EKİMLER			Ekilen
					Şahit	Dilüsyon
Toplam Mezofil Aerobik Bakteri	35-37 °C	24-48 Saat				
Küf/Maya	35-37 °C	3-5 Gün				
Laktik Asit Bakterisi	30-41 °C	72 Saat				
Toplam Aerobik Bakteri	35-37 °C	24-72 Saat				
Flat sour bakteri	50-55 °C	24-72 Saat				
Flat sour bakteri	35-37 °C	24-72 Saat				
Clostridium perfringens	44-46 Saat	18-24 Saat				
Staphylococcus aureus	35-37 °C	24-48 Saat				
Bacillus cereus	28-32 °C	24-48 Saat				
	35-37 °C	24 Saat				
Koliform grubu	35-37 °C	24 Saat				
	35-37 °C	24 Saat				
Fekal koliform	44,5-45,5 °C	24 Saat				
		48 Saat				
	35-37 °C	24 Saat				
E.coli	44,5-45,5 °C	48 Saat				
Howard küf sayısı(%)						
DEĞERLENDİRME:						
? NUMUNE TEMİZ						
? EKİM PARALELİ KONTROL EDİLECEK						
? GÖZLEM ALTINA ALINACAK						
? NUMUNE KİRLİ/TÜKETİLMEZ						
? HİJYENİK						
? HİJYEN EĞİTİMİ VERİLDİ/VERİLECEK						
KONTROLÜ YAPAN						

Tablo 1.1: Bir gıda fabrikasına ait mikrobiyolojik analiz raporu formu örneği

1.3. Örnek Miktarını Etkileyen Faktörler

- Analize alınacak örnek sayısı ne kadar fazla olursa gerçek sonuca o kadar çok yaklaşılr. Fakat araç-gereç, besiyeri ve kimyasal madde giderleri, personel yetersizliği, zamanın kullanımı gibi pek çok faktör örnek miktarını kısıtlamaktadır.
- Günlük kontrollerde sadece bir örnek almak yeterlidir. Fakat yasalara göre yapılan kontrollerde 5 örnek ile çalışılması gereklidir.
- Standart bir mikrobiyolojik sayım için 10 g örnek, patojenlerin var/yok testlerinde ise 25 g örnek alınır. Örneğin toplam bakteri, koliform bakteriler, Stafilokok bakterileri, maya ve küfler 10 g, *salmonella* ve *listeria* için yirmi beşer g olmak üzere en az 60 g örneğin laboratuvara getirilmesi gerekir. Analizin tekrarlanabileceği düşünülerek örnek 200–250 g veya ml olmalıdır.
- Hastalar, yaşlılar, hamileler ve çocuklar için hazırlanmış olan gıdalardan daha fazla örnek alınmalıdır.
- Fındık ezmesi gibi analiz sırasında homojenizasyonu zor olan gıdalardan daha fazla sayıda örnek alınmalıdır.
- Ambalaj boyutu küçüldükçe daha fazla sayıda örnek alınmalıdır.
- Çabuk bozulan gıdalardan daha çok örnek alınmalıdır.
- Pasta, dondurma, yumurta içeren *salmonella*, *listeria* gibi patojen bakteri riski yüksek olan gıdalardan daha çok örnek alınmalıdır.
- Üretiminde basit teknoloji uygulayan işletmelerden modern olanlara göre daha çok örnek alınması gerekir.
- Pazar payı yüksek olan gıdalardan daha fazla örnek alınmalıdır.

1.4. Üretim Yerlerinden Örnek Alma Planı

Mikrobiyolojik analizler için örnek alınırken önce örnekleme planı ile alınacak örnek sayısı belirlenir.

Örnekleme planı: Partiyi temsilen seçilen belirli bir örnek grubu içinde istenen mikrobiyal ölçütlere göre tüm partinin kabul veya reddedilmesi için kaç örnekte mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun bulunmasına(pozitif (+) sonuca) izin verileceğini gösteren plandır.

Örnekleme planlarının tolerans sınırları, gıda içindeki mikroorganizmaların;

- Tüketici sağlığına veya gıdada bozulmasına etkisine, cinsine ve sayısına göre saptanır. Bunun nedenleri:
 - Bazı mikroorganizmaların sadece gıdanın bozulmasına neden olması
 - Bazılarının patojen mikroorganizma kontaminasyonu olasılığını göstermesi (indikatör mikroorganizma)
 - Bazılarının orta derece önemde hastalık yapması,
 - Bazılarının orta derece önemde hastalık yapması, fakat hızla yayılması
 - Bazılarının ise doğrudan etkili ve tehlikeli hastalıkla neden olmasıdır.

Sonuç olarak **örnekleme planlarının seçimini etkileyen başlıca faktörler;**

- Ürünün potansiyel sağlık riski
- Ürünün bozunma potansiyeli

- Değişik depolama koşullarında mikroorganizmaların dayanıklılık düzeyi
- Yönetmelik ve standartları yapan resmi kuruluşlarca önerilen gıda örnekleme planlarıdır.

Örnekleme planları:

- Ham madde alım yerleri
- Üretim hattı ve üretim depoları
- Satış depoları ve satış yerleri
- İthalat ve ihracat kabul yerlerinde uygulanır.

Örnekleme planı yapılırken şu noktalara dikkat edilmelidir:

- Gıdada var olan mikroorganizmalar ve sağlığa zararlı olma durumlarına
- Gıdanın çiğ, işlenmiş veya pişirilmiş oluşuna
- Gıdanın pişirilmeden veya pişirildikten sonra tüketilmesine
- Gıdanın hedef tüketici kitlesinin özelliğine (çoğunlukla çocuk, yetişkin, hasta, yaşlı vb. oluşuna)

Gıdalar için **Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar Uluslararası Komisyonu**(ICMSF= The International Commission Microbiological Specifications for Foods) istatistiksel örnekleme planı aşağıdaki unsurları içerir.

(n)	Örnek ünite sayısı
(c)	Örnek grubu içinde izin verilen bozuk birim maksimum sayısı
(m)	Bir gram veya bir ml örnekte izin verilen mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun sayısı
(M)	Standartlara göre bir gram veya bir ml örnekte izin verilen mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun maksimum sayısı

ICMSF mikrobiyolojik kalite kontrolünde iki ve üç sınıflı örnekleme planları önermiştir.

➤ İki Sınıflı Örnekleme Planları

Bir gıdada bulunmasına izin verilmeyen *salmonella* ve *e.coli* gibi patojen mikroorganizmalar sadece var/yok şeklinde belirtilir. Fakat maya- küf ve toplam bakteriler, bir sınıra kadar bulunmasına izin verilen bu amaçla da sayımı yapılan mikroorganizmalardır. İki sınıflı örnekleme planı; partinin tamamen kabul veya reddedilmesi şeklindeki plandır.

(n)	Örnek ünite sayısı
(c)	Örnek grubu içinde izin verilen bozuk birim maksimum sayısı

İki sınıflı örnekleme planlarında bir defa örnekleme ve analiz yapılır. İki sınıflı örnekleme planlarında (c) değeri;

- Ya aranan mikroorganizmanın var/yok oluşuna
- Ya da mikroorganizmaların izin verilen sayının altında veya üstünde olmasına göre
 - o Partinin tamamen kabul veya
 - o Reddedilmesine neden olan değerdir.

Örneğin,

n=10 ve c=0 ise
Analiz edilen 10 örnek ünitesinden hiçbirinde istenmeyen mikroorganizma bulunmadığında (örneklerin hiçbirisi pozitif (+) olmadığında) parti kabul edilir.

n=10 ve c=2 ise
Analiz edilen 10 örnekten 1 veya 2 tanesi pozitif (+) ise parti kabul, 2’den fazla pozitif ise reddedilecek demektir.

n=10, c=2 ve m=10² ise
Analiz edilen 10 örnek ünitesinden 1 veya 2 tanesinde istenmeyen mikroorganizma sayısı en çok 10 ² kob /g(ml) olabilir. Aksi durumda parti reddedilecek demektir

İki sınıflı örnekleme planlarında mikrobiyolojik limitleri en ekonomik şekilde tanımlayabilecek örnek ünite sayısının (c) belirlenmesinde gıda kabul edilebilirlik grafikleri çıkarılır.

En çok kullanılan iki sınıflı örnekleme planları;

- Ham madde analizlerinde **n=3** ve **c=0** planları
- *Salmonella* için **n=15, 20, 30, 60** ve **c=0** olan planlardır.

➤ **Üç Sınıflı Örnekleme Planları**

Bu planda patojen olmayan mikroorganizma ve indikatör mikroorganizmalar için iki limit belirlenir. Bunlar;

m	1 gram veya 1 ml örnekte izin verilen mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun sayısı
M	Standartlara göre 1 gram veya 1 ml örnekte izin verilen mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun maksimum sayısı

Üç sınıflı örnekleme planlarında analize alınan örneklerin hiçbirinde mikroorganizma sayısı **M** değerinden yüksek olmamalıdır.(Şekil 1.1).

Mikrobiyolojik kalite açısından üç sınıflı örnekleme planlarında gıda örnekleri üç sınıfta toplanır.

- Örnek ünitelerinden herhangi biri **m** değerinden az sayıda mikroorganizma içerir ve tamamıyla kabul edilebilir sınırdadır.
- Örnek ünitelerinden herhangi biri **m** ve **M** değerleri arasında mikroorganizma içerir ve sınırlı kabul edilebilir durumdadır.

- Örnek ünitelerinden herhangi biri **M** değerinden çok sayıda mikroorganizma içerir ve tamamıyla kabul edilmeyecek durumdadır(şekil 1.1).

Üç sınıflı plan örnekleri

- Örnek 1: (hijyen indikatörü olan koliformlar için)

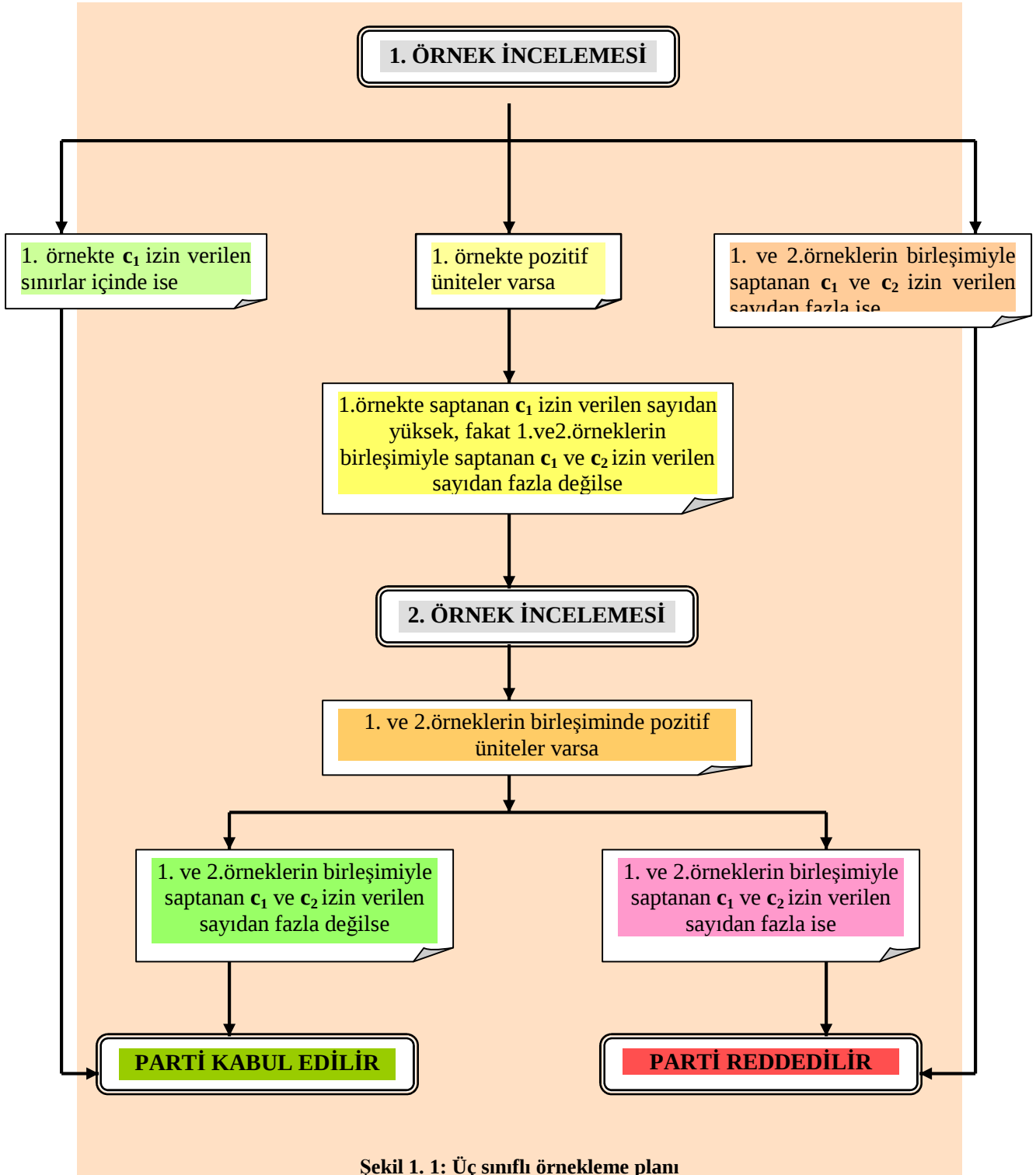
n=3, c=1, n=5000(5.10³) ve M=50.000(5.10⁴) ise;
1. Analiz edilen 3 örnekten sadece birinde istenmeyen mikroorganizma sayısı en fazla 50.000 kob /g (ml) olduğunda parti kabul edilir.
2. Diğer 2 tanesinde ise istenmeyen mikroorganizma sayısı en çok 5.000 kob / g (ml) olabilir.
3. Analiz edilen 10 örnekten sadece birinde istenmeyen mikroorganizma sayısı 50.000 geçerse kob /g (ml) parti reddedilir.
4. Analiz edilen 3 örnekten 3'ünde de istenmeyen mikroorganizma sayısı 5.000 kob /1g (ml) olursa parti yine reddedilir.

- Örnek 2: (hijyen indikatörü olan koliformlar için)

n=6, c=1, n=0 ve M=10 ise;
1- Analiz edilen 6 örnekten sadece birinde istenmeyen mikroorganizma sayısı en fazla 10 kob /g (ml), diğerleri 0 olduğunda parti kabul edilir.
2- Analiz edilen 6 örnekten herhangi biri veya daha fazlasında istenmeyen mikroorganizma sayısı 10 kob /1g (ml)'dan fazla olduğunda ve/veya birden fazla örnekte istenmeyen mikroorganizma sayısı 1-9 arasında olduğunda parti reddedilir.

- Örnek 3: (patojen Salmonella, Listeria ve E. coli için)

n=3, c=0, n=0 ve M=0 ise;
1- Analiz edilen 3 örnekten hiçbirinde istenmeyen mikroorganizma olmamalıdır. 3 örnekten herhangi bir veya daha fazlasında 1kob /g (ml) mikroorganizma bile bulunduğu parti reddedilir.



Şekil 1. 1: Üç sınıflı örnekleme planı

XXXXXXXXXX GIDA SANAYİ VE TİCARET AŞ		PAKETLEME GÜNLÜK MİKROBİYOLOJİK SONUÇ RAPORU				
ÜRÜN CİNSİ: HAMBURGER, ADANA KÖFTE, İNEGÖL KÖFTE				TARİH:...../...../ 2007		
STANDARTLAR	TOPLAM BAKTERİ	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Cl. perfringens</i>	KÜF	<i>Salmonella</i>
HEDEF	100.000	0	0	0	0	0
MAKSİMUM	1.000.000	100	<50	---	100	---
İMALAT TARİHİ:						
ÖRNEK ALMA SAATİ						
ÜRÜN BİLGİSİ						
İMALAT TARİHİ:						
ÖRNEK ALMA SAATİ						
ÜRÜN BİLGİSİ						

LABORANT

LABORATUVAR ŞEFİ

KALİTE DESTEK MÜDÜRÜ

Tablo 1. 2: Bir gıda işletmesine ait mikrobiyolojik örnek ve analiz raporu formu örneği

Not: Paketlenmiş ürünlerde *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, Küf, *Salmonella* bulunmaması, toplam bakteri sayısının(m) en çok 100.000 olması işletmenin hedefidir. Üretimde *Clostridium perfringens* ve *Salmonella* bulunmaması, toplam bakteri sayısının(M) en çok 1.000.000, *E. coli* ve Küf sayısının da en çok 100, *Staphylococcus aureus* sayısının 50'den az olması izin verilen maksimum değerlerdir.

1.5. Üretim Yerlerinden Örnek Alma Aşamaları

Mikrobiyolojik analizler için örneklerin alınması sırasında etkili faktörler;

- Ürünün cinsi
- Parti büyüklüğü
- Analizi yapılacak mikroorganizmanın cinsi
- Ürünün ambalaj şeklidir.

Örnekleme planına göre seçilecek örneklerin tüm partiyi temsil etmesi gerektiğinden;

- Örnek seçiminde tercihlerden kaçınılmalıdır.
- Mümkünse kademeli tesadüfi örnekleme yapılmalıdır (kademeli örneklemede önce ana parti alt partilere ayrılır ve bu alt partilerden yine tesadüfi örnekler alınır).
- İlke olarak her partiden örnek alınmalıdır (Parti, sabit koşullarda hazırlanan belirli bir zaman aralığında üretilen gıda miktarıdır).

Partiden alınan örnekler **ana örneklerdir** (alan örnekleri). Ana örneklerden analiz için kullanılanlarına ise **birim örnekleri** denir. Laboratuvarında herhangi bir kaza ya da hata sonucu analizin tekrar yapılmasını sağlamak için ana örnekler, analizin uygulandığı birim örneklerden birkaç kez daha büyük olmalıdır.

Örnek alma yerlerinde örneklerin alınmasında kullanılan araç ve aletlerin tekrar sterilize edilmesi gerekebilir. Eğer örneğin alındığı yerde otoklav, buhar sterilizatörü veya sıcak hava sterilizatörü yoksa sterilizasyon işlemi alet ve ekipmanın çeşidine göre;

- %70'lik alkole daldırıp yakılarak
- Doğrudan alevden geçirerek
- Bakterisit etkisi 100 ppm klor eş değerinde olan bir dezenfektan içinde 30 sn. bekletildikten sonra steril saf su içine daldırılıp steril bir havlu ile kurularak yapılabilir.

Not: Eğer ortamda patlama ve yangın tehlikesi veya alevde ısıtma alet ve ekipmanlara zarar verme ihtimali varsa alkolle ve çıplak alevle sterilizasyon uygulanmamalıdır.

Ayrıca alkol sadece vegetatif mikroorganizmaları öldürür, bakteri sporlarını yok etmez.

- **Sıvı gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:** Gıda önce karıştırılarak homojen hale getirilir ve uygun steril bir materyal (genellikle pipet) kullanarak olabildiğince hızlı örnek alınır.
- **Katı gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:**
 - Gıda maddesinin boyutları uygunsa gıdanın hepsi (beyaz peynir, ekmek gibi),
 - Aksi durumda ve bir parçasının alınması gerekiyorsa (parça et, tulum peyniri gibi) steril bir kaşık veya bıçak kullanarak örnek alınır,
 - Eğer gıda küçük paket içinde ve taşınabilir nitelikte ise (dondurma gibi) ambalajın hepsi uygun koşullarda laboratuvara taşınır.

- **Kuru gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:** Çuval ya da büyük plastik torbalar içindeki un, tahıl, hububat gibi gıdalardan tek örnek alınacaksa önce üst kısımlar steril bir kaşıkla uzaklaştırılır ve olabildiğince orta kısımdan örnek alınır. Birden fazla örnek alınacaksa 75 cm uzunluğunda ve steril özel örnek sondaları kullanılarak farklı katmanlardan örnek alınır. Kamyonlardan örnek alınacağı zaman ise yükleme ve boşaltmanın farklı basamaklarından örnek alınır.
- **Dondurulmuş gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:** Dondurulmuş gıda kutu içinde ve büyük boyutlu ise steril bir testere, keski veya matkap ile örnek alınır. Dondurulmuş gıdanın buzunu kısmen çözülmüşse örnek bıçakla alınır.
- **Soğutulmuş gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:** Et, kanatlı hayvan etleri ve balıktan bıçakla veya sürme, kazıma gibi yöntemlerle örnek alınır.
- **Çeşmelerden su örneği alınması:** Çeşmenin musluk çevresi alkol ile iyice silinir ve yakılır. Çeşmeden belirli bir süre kuvvetle su akıtılır. Şişe kapağı ağız kısmına el değdirmenmeden açılır. Şişe dipten tutularak ağzı yeniden alevden geçirilir. Kapağı el değdirilmeden şişe doldurularak ağzı dikkatle kapatılır.



Resim 1. 3:Çeşme suyundan örnek alma

- **Ekipmanlardan mikrobiyolojik örnek alınması:** Steril bir eküvyonla sürme yöntemiyle örnek alınır.



Resim 1.4: Ekipmanlardan mikrobiyolojik örnek alma

1.6. Alınan Örneklerin Taşınması ve Muhafaza Edilmesi

Alınan örneklerin, mikroorganizma sayısında artma veya azalma olmayacak şekilde ve gıdanın yapısına uygun koşullarda hemen laboratuvara getirilmesi ve mümkünse bir saat içinde analiz edilmesi gerekir. Örneğin laboratuvara taşınması, uygun olmayan koşullarda yapılmışsa bu durum analiz raporunda mutlaka belirtilmelidir.

- Nem geçirmeyen, steril cam, metal vb. kabıyla örnek alınmış (tahıllar, un gibi mikrobiyal yönden stabil gıdalar) normal koşullarda laboratuvara taşınır.
- Bozulmuş, ısı işlem görmüş, soğutulmuş gıdalar 0 ile +5 °C arasında soğutmalı koşullarda laboratuvara getirilir.
- Dondurulmuş gıdalar laboratuvara -18 °C'de taşınmalıdır.
- Bombajlı konserve kutuları veya bombaj tehlikesi olan gıdalar patlama olasılığına karşı ayrıca ambalajlandıktan sonra laboratuvara getirilmelidir.
- Dondurulmuş gıdalar analiz yapılıncaya kadar derin dondurucuda -18 °C'de çözünmeden, donmuş durumda muhafaza edilmelidir.
- Kolay bozulabilen süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, taze meyve ve sebzeler gibi gıdalar soğukta 0-4 °C'de en fazla 24 saat saklanmalıdır.
- Daha uzun süre saklama durumu oluştursa gıda 50 g'lık küçük porsiyonlar halinde hemen dondurulup, -20 °C'de saklanmalı ve bu durum analiz raporunda belirtilmelidir (büyük porsiyonların çözünmesi daha uzun sürede gerçekleşeceği için çözünme sırasında psikrofil bakteriler ürer).
- Kurutulmuş ve konserve gıdalar oda sıcaklığında saklanmalı, sıcaklık 45°C' nin üstüne çıkmamalıdır.
- Laboratuvara getirilen örnek analiz, sonuna kadar ürün özellikleri değişmeyecek şekilde saklanmalıdır.
- Mikrobiyolojik olarak stabil gıdalar (konserveler, kuru toz gıdalar vb.) son kullanım tarihinden önce analize alınmalıdır.

2. ANALİZ ÖRNEĞİ HAZIRLAMA

Alınan örneklerin mikroorganizma yükünde herhangi bir değişiklik olmayacak şekilde hemen laboratuvara getirilmesi ve bir saat içinde analiz edilmesi esastır.

Alınan örneklerin laboratuvara getirilmesi, örnek alınan gıdanın yapısına uygun olarak yapılmalıdır.

2.1. Çalışma Sırasında Alınacak Önlemler

- Analiz edilecek örneğin bulunduğu kap veya ambalaj açılırken homojenizasyon işlemi veya aktarma sırasında çevreden örneğe, örnekten de çevreye ve diğer örneklerle kontaminasyon önlenmeli (aseptik koşul), laboratuvarın kapı ve pencereleri kapalı tutularak hava akımı engellenmelidir.
- Ambalaj açılırken kullanılan makas, konserve veya şişe açacakları, bıçak vb önceden kâğıt veya alüminyum folyoya sarılarak sterilize edilmiş olmalıdır.
- Ambalajın alkolle dezenfeksiyonunda dikkat edilecek en önemli nokta; alkolün gıdaya karışmasının önlenmesidir. Aksi durumda alkolün mikroorganizmalar üzerine olumsuz etkisi nedeniyle analiz sonucu hatalı olur.
- Örnekte normal olmayan koku, görünüş vb. varsa kaydedilip şahit örnek, buzdolabında saklanmalıdır.
- Isıl işlem görmüş pastörize, sterilize gıdalar son kullanma tarihinden önce analize alınmalıdır.
- Gıda örneğinin özelliğine göre ambalaj açılmadan önce şu işlemler yapılır. Eğer örnek;
 - Sıvı veya yarı sıvı gıda ise örnek kabı açılmadan önce iyice karıştırılmalıdır.

- Dondurulmuş gıda ise orijinal ambalajında, buzdolabında (0 – 4 °C’de), en çok 18 saatte çözündürülmelidir.
 - Kolayca eriyebilen donmuş gıda örnekleri ise inkübatörde 35 °C’de, 15 dakikada çözündürülmelidir.
 - Pasta gibi birkaç ayrı kattan oluşmuş gıda ise her gıdanın her katından analiz örneği alınmalıdır.
- Analiz amacıyla çözündürülen donmuş gıdalar hemen analiz edilmelidir.
- Elektrik kesintisi gibi bir durumda zorunlu olarak analiz hemen uygulanamayacaksa açılan ambalaj tekrar kapatılmaz. Bu durumda ambalaj içindeki gıda laboratuvardaki steril bir kaba aktarılarak kesinti sonuna kadar saklanmalıdır.

2.2. Örneğin Laboratuvara Kabulü ve Laboratuvar Kayıtları

- Öncelikle örneklerin laboratuvara alındığı gıdanın yapısına uygun olarak taşıyıp taşınmadığı kontrol edilmelidir.
- Mikrobiyolojik örnek alma standartlarına uygun olarak getirilen örnekler kabul edilmeli, aksi bir durum olduğunda kabul formunda örnekle ilgili olumsuzluklar işlenmelidir.
- Dondurulmuş sıvı ürünler, mikrobiyolojik ve somatik hücre sayımı için kabul edilmez
- Aynı örnekte kimyasal test de yapılacaksa öncelikle mikrobiyolojik analiz için analiz ve şahit örnekleri ayrılmalıdır.
- Laboratuvara getirilen ve analiz için kabul edilen örnek etiketlenerek üzerine laboratuvarın özelliğine göre;
- Örneğin laboratuvara kabul tarihi ve saati
 - Örneğin alındığı gıdanın ürün bilgileri:
 - o Üretim tarihi
 - o Ambalaj özellikleri
 - o Parti veya vardiya nu
 - Örneğin alındığı saat
 - Örnek alım sıcaklığı
 - Laboratuvar giriş sıcaklığı vb. bilgiler yazılmalıdır.

2.3. Ambalajın Açılması

- Ambalaj açılmadan önce açılacak olan kısım ve çevresi %70’lik alkolle silinip dezenfekte edilmelidir.
- Eğer ambalaj metal, cam gibi materyalden yapılmış ise alkolden sonra alevden geçirme işlemi de yapılmalıdır.
 - Plastikten veya kâğıttan yapılmış ise alkolden sonra steril su ile silinerek alkol uzaklaştırılmalıdır.
- Konserve kutusu önce deterjan çözeltisi ile temizlenir. Konservenin açılacak olan kapağına kenetlere kadar %70’lik alkol konup bir dakika bekledikten sonra alkol temiz bir havlu ile alınır. Geriye kalan alkol yakılarak uzaklaştırılır. Yakma işlemi, bombajlı kutularında patlamaya neden olabileceğinden kesinlikle uygulanmamalıdır. Bombajlı konserve kutularında açılacak olan kapak 100 ppm klor gücündeki bir dezenfektan ile silinir ve 30 sn. bekletilir ve steril su ile yıkandıktan sonra steril bir açacakla kutu kapağı açılarak örnek alınır.

sayılması ve izolasyonu için blender veya stomacher ile parçalama ve homojenizasyon zorunludur.

Homojenizasyon: Genellikle katı ve yarı katı gıdaların bir seyreltme çözeltisi içinde eşit dağılımını sağlayan bir işlemdir.

- Gıdan maddesinin özelliğine göre uygulanan homojenizasyon işlemi ile gıda;
 - Küçük parçalara ya da dilimlere ayrılabilir.
 - Ezilebilir.
 - Ufalanabilir, değirmenden geçirilerek toz haline getirilebilir.
 - Kıyma makinesinden geçirilerek kıyılabilir.

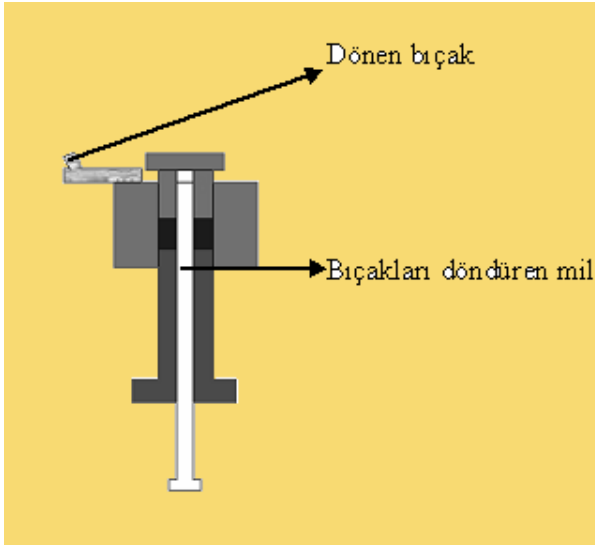
Bu işlemlerden sonra örnekten aseptik koşullarda belli miktar tartılarak (10 veya 25 g)uygun bir kapta belli miktarda hazırlanmış uygun bir steril sıvıya aktarılır ve örnek ile sıvının homojen şekilde dağılımını sağlamak için çeşitli şekillerde karıştırma işlemi yapılır. Bu şekilde örneklerin ilk dilüsyonları da hazırlanmış olur.

- Homojenizasyonda parçalayıcı veya karıştırıcının hızı ve karıştırma süresi çok iyi ayarlanmalıdır.
 - Uzun süreli parçalanma veya yüksek hızda mikroorganizma hücreleri merkezkaç kuvvetinin etkisiyle mekaniksel olarak ve ısınma nedeniyle zarar görür, hatalı sayıma neden olur.
 - Yetersiz parçalanma veya düşük hızda gıdadaki tüm mikroorganizmalar sıvı faza geçemezler.
- Homojenizasyon uygulanırken gıda örneği oda sıcaklığında olmalıdır. Çünkü;
 - Homojenizasyon sırasında sıcaklık biraz artar. Buzdolabından çıkartılıp çıkartılmaz homojenizasyon uygulanırsa sıcaklık farkı nedeniyle ısıya duyarlı (termolabil) mikroorganizmalar zarar görür.
 - Gıdanın oda sıcaklığına gelme süresini kısaltmak için dışarıdan ısı verilmemeli ayrıca mikroorganizma sayısının yükseleceği kadar uzun süre oda sıcaklığında beklenilmemelidir.
- Özellikle Gram (–) bakterileri osmotik şoktan korumak için kuru gıdalarda kademeli homojenizasyon uygulanmalıdır. Bunun için;
 - Steril bir erlene 10 g örnek ve üzerine 10 ml seyreltme çözeltisi konulur
 - Karıştırılarak örneğin ıslanması sağlanır
 - Daha sonra gerekli seyreltme çözeltisinin kalan kısmı eklenir.
- Clostridium gibi anaerob bakterilerin aranması ve sayımı için kullanılacak örneğin homojenizasyonunda blender kullanılmamalıdır. Çünkü bıçakların dönüşü ve merkezkaç kuvvetinin etkisi ile oluşan anafor anaerob bakterilerin hava oksijeni ile temas etmesine neden olarak öldürücü etki yaptığından sonuç hatalı bulunur. Bu durumda laboratuvar tipi rende, havan veya değirmenler kullanılmalıdır.
- Tereyağı homojenizasyonunda kullanılan çözelti 30–32 °Cda olmalı, pipetleme yaparken tereyağının pipet içinde katılaşmasını önlemek için pipet alevden birkaç kez geçirilerek ısıtılmalıdır.

2.5.1.Döner Bıçaklı Karıştırıcı (Blender):

Döner bıçakları ile katı gıdayı kıyarak homojenize eder. (Resim 2.1. ve Resim 2.2)

- Blenderin gövdesi ve kapağı önceden sterilize edilmelidir. Bu amaçla paslanmaz çelik gövde ve kapaklı blender kullanılmalıdır.
- Mutfak tipi blender kullanılması pek önerilmez. Ancak kullanılması zorunlu ise gövde ve kapağın sterilizasyonunda alkol veya uygun dezenfektan çözeltisi kullanılmalıdır. Sterilizasyondan sonra steril saf su ile yeterince çalkalama yapılmalıdır. Çünkü dezenfektan çözeltisi veya alkol gıdadaki mikroflorayı olumsuz etkileyebilir.
- Bisküvi, makarna gibi kuru gıdalar, sert peynirler blenderde homojenize edilebilir. Mutfak tipi blenderler ise yumuşak peynir, meyve gibi kolaylıkla homojenize edilebilecek gıdalar için kullanılabilir.
- Blender başlangıçta düşük hızda çalıştırılmalı, daha sonra hız artırılarak 2 dakika maksimum hızda parçalama yapılmalıdır. Daha sonra 2–3 dakika oluşan köpüğün dağılması beklenmelidir.
- Blender dakikada 1500–2000 devir hızla çalıştırılmalı, homojenizasyon süresi en düşük hızda bile 2.5 dakikayı geçmemelidir.
- Örnek ve gerekli seyreltme çözeltisinin bir kısmı blenderle homojenize edildikten sonra 250 ml’lik boş ve steril bir erlene aktarılmalı, seyreltme sıvısının geri kalan kısmı ile blender çalkalanıp erlene ilave edilmelidir.



Şekil 2. 1:Blenderin çalışma ilkesi



Resim 2. 2: Bir laboratuvar blenderi



Resim 2.3: Ultraturax homojenizatör

2.5.2. Peristaltik Tip Karıştırıcı (Stomacher=Masticator)

Özel torbalar içindeki gıdayı, pedallarıyla ezerek homojenize eden araçtır (Resim 2.4).

- Mikrobiyolojik analizi yapılacak örnek içinde dilüsyon sıvısı bulunan steril bir torbaya aktarılır
- Torba aygıttaki yerine yerleştirilir
- Stomacherin iki pedalı, kuvvetli şekilde özel torbayı döverek içindeki örneği ezer.
- Stomacherde 2 dakikada homojenizasyon sağlanır.

Stomacher özel torbaları; plastik, tek kullanımlık(disposable), 40–400 ml hacimli, otoklavda sterilize edilebilir özellikte torbalardır.

- Stomacherle örnekteki mikroorganizmaların dilüsyon sıvısı içinde serbest hâle geçirilmesi sağlanır.
- Kuru yemişler gibi sert, keskin parçalı ve stomacherin özel torbasını delme riski olan gıdaların homojenize edilmesinde bu ekipman kullanılmaz.
- Stomacherle homojenizasyonun blenderde homojenizasyona göre avantajları şunlardır;
 - Blenderdeki gibi ısınma problemi olmaz.
 - Her örnek için ayrı temizlik ve dezenfeksiyon gerektirmediğinden homojenizasyon işlemi kısa sürede yapılır.
 - Steril özel torbalar kullanıldığından blenderdeki gibi önceden sterilizasyona gerek yoktur.
 - Etlerin renk indirgenme testlerinde homojenizasyonda blender kullanıldığında ette bulunan indirgen bazı maddeler dilüsyon sıvısına daha fazla geçer ve test sonuçlarında hataya neden olur. Bunun için etlerin renk indirgenme testlerinde homojenizasyon için stomacher kullanılmamalıdır.



Resim 2. 4: Farklı stomaker çeşitleri

2.5.3. Mikser:

Yoğurt, şeker, tuz, süt tozu, dondurma, ketçap gibi seyreltme sıvısında kolayca eriyen gıdaların homojenizasyonunda ve dilüsyon hazırlanırken manyetik karıştırıcılar kullanılır. Süt, ayran, meyve suyu gibi sıvı olan gıdalarla tüplerdeki sıvıların iyice karışmasını sağlayan araçlara **vorteks (vortex mixer)** denir.



Resim 2. 5: Manyetik karıştırıcı



Resim 2. 6: Vortex mixer

3. DİLÜSYON HAZIRLAMA

Mikrobiyolojik sayım analizlerinde;

- Dökme ve yayma ekim yöntemi ile ekim yapılmış petri kutularında 30–300 koloni
- Damla kültür yöntemiyle ekimde ise her damlada 10–30 koloni bulunması istenir.

Bir gramında 10^6 (1.000.000) adet canlı bakteri bulunan bir gıdadan doğrudan ekim yapıldığında petri kutusunda 10^6 bakteri oluşur ve bu koşulla da sayım imkânsızdır. Bu nedenle gıdanın mikroorganizma yüküne ve mikrobiyolojik analiz yöntemine göre seyreltme yapılması gerekir.

Seyreltme işlemi genellikle:

- Katı besiyerinde koloni sayımı ve
- EMS(en muhtemel sayı) yöntemi ile sayımı gibi mikrobiyolojik analizlerde uygulanır.

Sıvı gıdadan petri kutularında sayılabilecek kadar koloni oluşması bekleniyorsa (UHT süt gibi) seyreltme yapılmadan doğrudan ekim yapılabilir. Fakat mikroorganizma yükü yüksek olan gıdalarda seyreltme zorunludur.

3.1. Dilüsyonla İlgili Terimler

- **Dilüsyon (seyreltme):** Mikrobiyolojik açıdan incelenecek gıda örneği içindeki mikroorganizma sayısını belli oranlarda sulandırarak daha aza indirilmesi işlemidir.
- **Dilüsyon oranı:** Dilüsyondaki mikroorganizma sayısının orijinal gıdaya göre kaç defa seyrelmiş olduğunu belirten orandır. 10^{-1} (mikroorganizma sayısı orijinal gıdaya göre 10 defa seyreltiğini ve tüpün her ml'sinde 0.1 mikroorganizma bulunduğunu belirtir)
- **Dilüsyon sıvısı (dilüent=seyreltme çözeltisi):** Dilüsyon hazırlamada kullanılan sıvılardır. Saf su, fizyolojik tuzlu su=FTS (serum fizyolojik), 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisi, %0.1'lik peptonlu su, tamponlanmış peptonlu su, **seyreltme çözeltisi** olarak kullanılır.
 - **Saf su:** Göl, baraj ve deniz suyundan mikrobiyolojik analiz yapılacağı zaman kullanılan seyreltme çözeltisidir. Saf su besin öğelerince zengin gıdaların homojenizasyonunda ve dilüsyonlarında kullanılmamalıdır.
 - **Fizyolojik tuzlu su=fts (serum fizyolojik):** % 0.85–0.90'luk tuzlu su çözeltisidir. Osmotik basıncı mikroorganizmaların osmotik basıncına eşdeğer yani izotoniktir (=eş basınçlı). Çok kullanılan genel amaçlı seyreltme çözeltisidir. (Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlık modülünü hatırlayınız.).

TS 6235 ISO 6887'ye göre FTS yerine 1 litresinde 8.5 g tuz (NaCl) ve 1 g pepton bulunan **Maximum Recovery Diluents** seyreltme çözeltisi kullanılması belirtilmektedir.

- **1/4 Kuvvetinde ringer çözeltisi:** Süt ve ürünlerinin mikrobiyolojik analizlerinde kullanılan seyreltme çözeltisidir.
- **% 0.1'lik peptonlu su:** TS 6235 ISO 6887'e uygun genel amaçlı seyreltme çözeltisidir.
- **% 2'lik sodyum sitrat çözeltisi:** TS 6235 ISO 6887'e göre peynirlerin homojenizasyonunda kullanılan seyreltme çözeltisidir.
- **%15'lik sodyum klorür çözeltisi:** Tuza dayanıklı(halofilik) mikroorganizmaların analizinde kullanılan seyreltme çözeltisidir.
- **Tamponlanmış peptonlu su:** *Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, toplam mezofil aerob bakteri analizlerinde kullanılan seyreltme çözeltisidir.

- **Tween 80**: Krema gibi yağ oranı yüksek gıdaların seyreltilmesinde kullanılan çözeltilerin içine sterilizasyon öncesi % 1 oranında katılır.
 - **% 20'lik glikoz çözeltisi**: Meyve suyu konsantresi gibi yüksek osmotik basınca dayanıklı (osmofilik) mayaların analizinde kullanılan seyreltme çözeltisidir. Mikroorganizmaları osmotik şoktan korur ve negatif hata yapılmasını önler.
 - **Özel seyreltme çözeltileri**: Zorunlu anaerob (yalnızca O₂'siz ortamda yaşayabilen) bakterilerin analizinde kullanılan bileşiminde ortamdaki O₂'i bağlayan maddeler bulunan seyreltme çözeltisidir.
- **Dilüsyon faktörü**: Ekim sonunda petri kutusunda sayılan koloni miktarından gıdanın 1 ml'sinde bulunan mikroorganizma miktarı saptanmasını sağlayan faktördür. Örneğin; 10⁻³'lük dilüsyondan yapılmış ekimde dilüsyondaki mikroorganizma sayısı orijinal gıdaya göre 1000 defa seyreltiğinden dilüsyon faktörü 1000'dir ve kutusunda sayılan koloni miktarı 1000 ile çarpılarak orijinal gıdanın 1 ml'sinde bulunan mikroorganizma miktarı bulunur.

- **Dilüsyonun amacı**: Bir materyaldeki hücre sayısını bir seri seyreltme yaparak kademeli bir şekilde azaltmak ve petri kutusunda fazla koloni oluşturmadan mikroorganizma sayımını kolaylaştırmaktır.

3.2. Dilüsyon Hazırlamada Dikkat Edilecek Noktalar

- Dilüsyon sıvıları, ekim öncesinde hazırlanmalı ve sterilize edilmelidir.
- Dilüsyon işlemleri ile ekim arasında geçen süre kısa olmalı, işlemler 15 dakika içinde bitirilmelidir. Homojenizasyonla ekim arası en çok 30 dakika olmalıdır. Çünkü süre uzarsa koliform bakterilerin sayıları artar.
- Seyreltme oranı standart olarak 1/10 oranında yapılır. EMS yönteminde 1/10 oranında seyreltme yapılması zorunludur. Seyreltme faktörü dikkatli şekilde hesaplanmak şartıyla katı besiyerindeki sayımlarda 1/2, 1/4 oranında seyreltme yapılabilir.
- Seyreltme çözeltisi, gıdanın mikrobiyal yükünde bir değişikliğe neden olmamalıdır. Seyreltme çözeltisi analiz edilecek gıdaya ve mikroorganizma kültürüne göre seçilmezse dilüsyon serileri hazırlama sırasında mikroorganizmalar canlılıklarını kaybedebilir. Bu da hatalı sonuç bulunmasına neden olur. Dilüsyon hazırlamada kullanılan seyreltme çözeltisinin osmotik basıncı incelenen gıdanın osmotik basıncına eş değer veya çok yakın olmalıdır.
- Seyreltme çözeltileri, 6 ayda bir madde varlığı açısından kontrol edilmelidir.

- Kuru gıdalarla, hardal, fındık ezmesi, krema gibi zor eriyen gıdalarda erimeyi kolaylaştırmak için ilk seyreltmenin yapılacağı erlene sterilizasyon öncesi cam boncuk atılmalıdır.

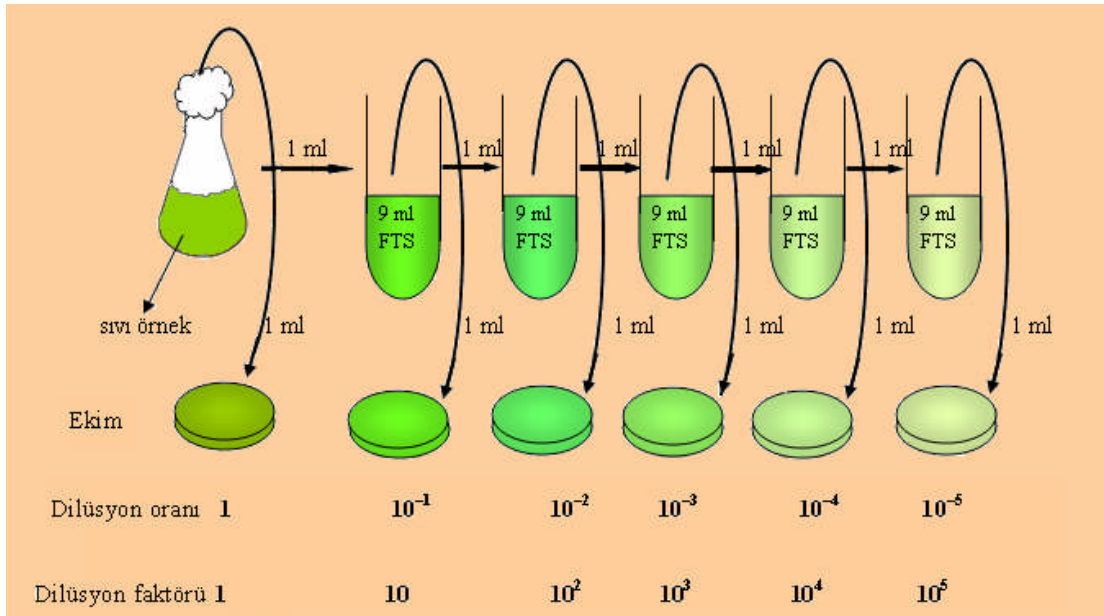
3.3. Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama

Sayımda hesaplama kolaylığı sağladığından en çok kullanılan standart dilüsyon serisidir. Çünkü petri kutusunda sayılan koloni miktarı (10, 100,1000 gibi) seyrelme faktörü ile çarpılarak mikroorganizma miktarı saptanmış olur.

$1/10(10^{-1})$; $1/100(10^{-2})$; $1/1000(10^{-3})$; $1/10000(10^{-4})$;..... $1/10^n=(10^{-n})$
şeklindeki dilüsyon serisine desimal(=ondalıklı) dilüsyon serisi denir.

3.3.1. Sıvı Gıdadan Tüplerde Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları

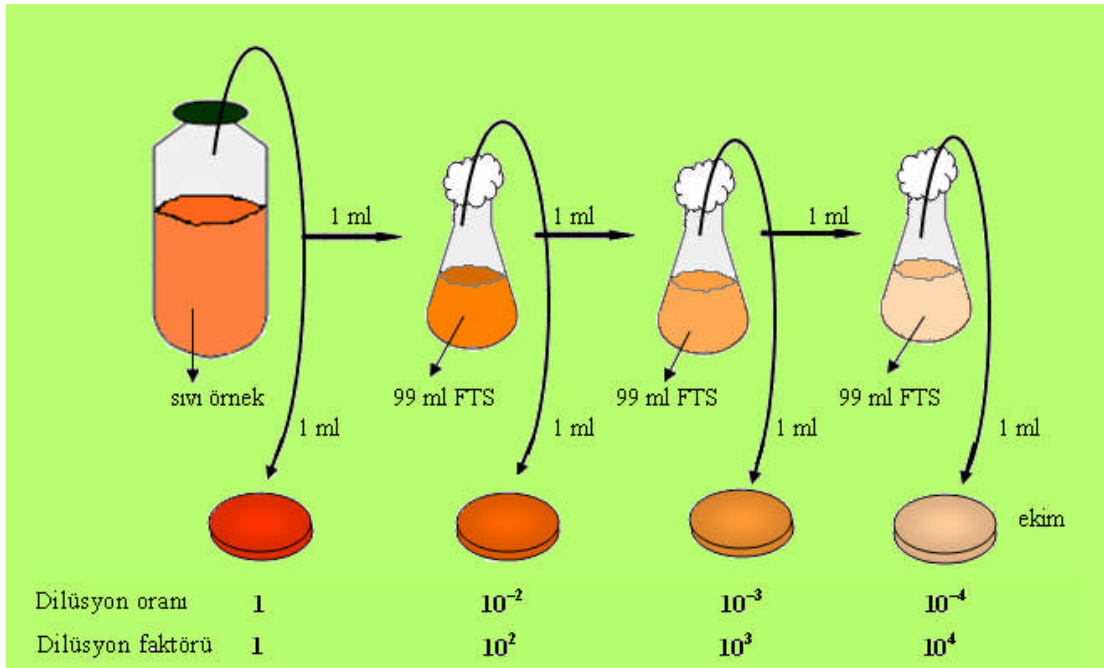
- Erlendeki sıvı gıda iyice karıştırılarak homojenize edilir. Sıvı gıdadan 1 ml alınıp ekim yapılırsa doğrudan 1 ml gıdadaki mikroorganizma miktarı bulunacağından dilüsyon faktörü **1** olur.
- Erlendeki sıvı gıdadan 1ml alınıp içinde 9 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan bir tüpe aktarıldığında tüpteki mikroorganizma sayısı orijinal gıdaya göre 10 defa seyrelmiş olur ve tüpün her ml'sinde 0,1 mikroorganizma bulunur. Tüpteki çözelti erlendeki orijinal sıvı örneğe göre 10 defa seyreltiğinden ve **10^{-1}** olarak ifade edilir. Bu 1. dilüsyondur.
- 1. tüpteki çözeltiden 1ml alınıp içinde 9 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan başka bir tüpe aktarıldığında 2. tüpteki mikroorganizma sayısı erlendeki sıvı gıdaya göre 100 defa seyrelmiş olur. 2. tüpün her ml'sinde 0.01 mikroorganizma bulunur. 2. tüpteki çözelti erlendeki orijinal örneğe göre 100 defa seyreltiğinden ve **10^{-2}** olarak ifade edilir. Bu 2. dilüsyondur.
- 2. tüpteki çözeltiden 1ml alınıp içinde 9 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan 3. tüpe aktarıldığında 3. tüpteki mikroorganizma sayısı erlendeki sıvı gıdaya göre 1000 defa seyrelmiş olur. 3.tüpün her ml'sinde 0,001 mikroorganizma bulunur. 3. tüpteki çözelti erlendeki orijinal sıvı örneğe göre 1000 defa seyreltiğinden ve **10^{-3}** olarak ifade edilir. Bu 3. dilüsyondur.
- 3. dilüsyondan 1 ml alınıp petri kutusuna ekim yapıldığında orijinal örnekteki mikroorganizma sayısından $1/10^{-3}=1/1000$ oranında daha az mikroorganizma sayılacaktır.
- Bu işleme istenen seyreltme oranına kadar devam edilir.



Şekil 3. 1: Sıvı örnekten desimal dilüsyon serisi, dilüsyon oranı, dilüsyon faktörü

3.3.2. Sıvı Gıdadan Erlende Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları

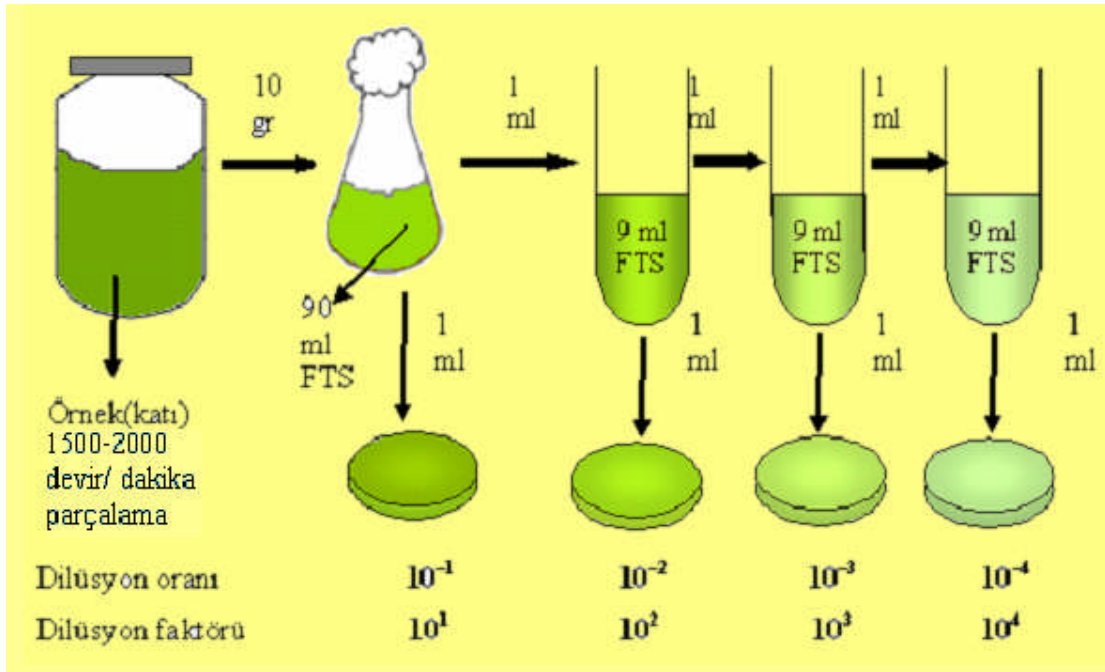
- Ambalaj ya da örnek alma şişesindeki sıvı gıda iyice karıştırılarak homojenize edilir. Sıvı gıdadan 1 ml alınıp ekim yapılırsa doğrudan 1 ml gıdadaki mikroorganizma miktarı bulunacağından dilüsyon faktörü 1 olur.
- Şişedeki sıvı gıdadan 1ml alınıp içinde 99 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan bir erlene aktarıldığında erlendeki mikroorganizma sayısı orijinal sıvı gıdaya göre 100 defa seyrelmiş olur ve erlenin her ml'sinde 0,01 mikroorganizma bulunur. Erendeki çözelti, şişedeki orijinal sıvı örneğe göre 100 defa seyreltiğinden ve 10^{-2} olarak ifade edilir. Bu 2. dilüsyondur.
- 1. erlendeki çözeltiden 1ml alınıp içinde 99 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan başka bir erlene aktarıldığında 2. erlendeki mikroorganizma sayısı şişedeki sıvı gıdaya göre 10000 defa seyrelmiş olur. 2. erlenin her ml'sinde 0,0001 mikroorganizma bulunur. 2. erlendeki çözelti şişedeki orijinal örneğe göre 10000 defa seyreltiğinden ve 10^{-4} olarak ifade edilir. Bu 4. dilüsyondur.
- 2. erlendeki çözeltiden 1ml alınıp içinde 9 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan 3. erlene aktarıldığında 3. erlendeki mikroorganizma sayısı şişedeki sıvı gıdaya göre 100000 defa seyrelmiş olur. 3. erlenin her ml'sinde 0,00001 mikroorganizma bulunur. 3. erlendeki çözelti, erlene orijinal sıvı örneğe göre 100000 defa seyreltiğinden ve 10^{-5} olarak ifade edilir. Bu 5. dilüsyondur.
- 3. dilüsyondan 1 ml alınıp petri kutusuna ekim yapıldığında orijinal örnekteki mikroorganizma sayısından $1/10^{-3}=1/1000$ oranında daha az mikroorganizma sayılacaktır.



Şekil 3. 2: Sıvı örnekten farklı bir desimal dilüsyon serisi, dilüsyon oranı, dilüsyon faktörü

3.3.3. Gıda Örneği Tartımı 10 G Yapıldığında Desimal (Ondalık) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları

- 10 g gıda örneği 90 ml seyreltme çözeltisi ile homojenize edilir. Yukarıda anlatıldığı gibi seyreltme oranı $10/10+90=10/100=1/10$ olur.
- Erlendeki çözelti, orijinal örneğe göre 10 defa seyreltiğinden ve 10^{-1} olarak ifade edilir. Bu 1. dilüsyondur.
- Bu çözeltiden 1ml alınıp 9 ml seyreltme çözeltisi bulunan bir tüpe aktarıldığında tüpteki mikroorganizma sayısı erlene göre 10, orijinal gıdaya göre ise 100 defa seyrelmiş olur ve tüpün her ml'sinde 0.01 mikroorganizma bulunur.
- Tüpteki çözelti orijinal örneğe göre 100 defa seyreltiğinden ve 10^{-2} olarak ifade edilir. Bu 2. dilüsyondur.
- Tüpteki çözeltiden 1ml alınıp 9 ml seyreltme çözeltisi bulunan 2. tüpe aktarıldığında 2. tüpteki mikroorganizma sayısı erlene göre 100, orijinal gıdaya göre ise 1000 defa seyrelmiş olur ve 2.tüpün her ml'sinde 0.001 mikroorganizma bulunur
- 2. tüpteki çözelti orijinal örneğe göre 1000 defa seyreltiğinden ve 10^{-3} olarak ifade edilir. Bu 3. dilüsyondur.
- 3. dilüsyondan 1 ml alınıp petri kutusuna ekim yapıldığında orijinal örnekteki mikroorganizma sayısından $1/10^{-3}=1/1000$ oranında daha az mikroorganizma sayılacaktır.



Şekil 3.3: Katı örnekten desimal dilüsyon serisi, dilüsyon oranı, dilüsyon faktörü

3.3.4. Gıda Örneği Tartımı 10 G'dan Farklı Yapıldığında Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları

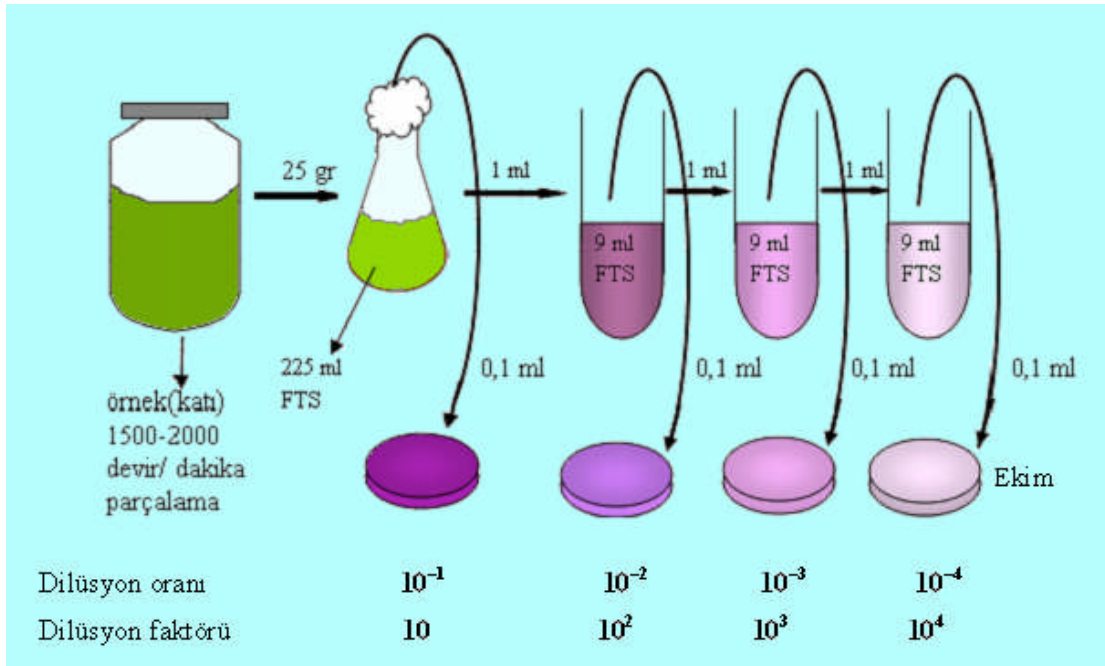
- Gıda örneği 10 g değil de 25 g tartılmışsa ilk $1/10(10^{-1})$ 'lik seyreltme için basit bir orantı ile gereken ilk seyreltme çözeltisi miktarı hesaplanır.

$$\begin{array}{ll} 10 \text{ g örnek için} & 90 \text{ ml seyreltme çözeltisi gerekirse} \\ 25 \text{ g örnek için} & X \text{ ml seyreltme çözeltisi gerekir.} \end{array}$$

$$X = \frac{25 \cdot 90}{10} = \frac{2250}{10} = 225 \text{ ml seyreltme çözeltisi gerekir.}$$

Yani 25 g gıda örneği 225 ml seyreltme çözeltisi ile homojenize edildiğinde seyreltme oranı $1/10 (10^{-1})$ olur. Yukarıda anlatıldığı gibi seyreltme faktörü de $10^{-1}=10$ olur.

- Diğer işlemler, 10 g gıda örneği tartarak dilüsyon hazırlama uygulamasındaki gibidir.



Şekil 3.4: Katı örnekten farklı tartımla desimal dilüsyon serisi, dilüsyon oranı, dilüsyon faktörü

- Seyreltme oranı 10^{-1} olan 1. dilüsyonun dilüsyon faktörü $10^1 = 10$ olur. Bu dilüsyondan ekim yapıldığında petri kutusundaki koloni sayısı bu faktörle çarpılarak 1 g gıdadaki bakteri sayısı bulunur.
- Seyreltme oranı 10^{-2} olan 2. dilüsyonun dilüsyon faktörü $10^2 = 100$ olur. Bu dilüsyondan ekim yapıldığında petri kutusundaki koloni sayısı bu faktörle çarpılarak 1 g gıdadaki bakteri sayısı bulunur.
- Seyreltme oranı 10^{-3} olan 3. dilüsyonun dilüsyon faktörü $10^3 = 1000$ olur. Bu dilüsyondan ekim yapıldığında petri kutusundaki koloni sayısı bu faktörle çarpılarak 1 g gıdadaki bakteri sayısı bulunur.
- Standart bir gıda analizinde genellikle 10^{-3} 'lük seyreltme yeterlidir.