

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

GIDA TEKNOLOJİSİ

**MİKROBİYOLOJİK NUMUNE
HAZIRLAMA
541GI0066**

Ankara, 2012

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
- **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	ii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. ÜRETİM YERLERİNDEN NUMUNE(ÖRNEK) ALMA	3
1.1. Örnek Alma Kapları ve Özellikleri	4
1.2. Örnek Alma Sırasında Dikkat Edilecek Noktalar	6
1.3. Örnek Miktarını Etkileyen Faktörler.....	8
1.4. Üretim Yerlerinden Örnek Alma Planı	8
1.5. Üretim Yerlerinden Örnek Alma Aşamaları	12
1.6. Alınan Örneklerin Taşınması ve Muhafaza Edilmesi	15
UYGULAMA FAALİYETİ	17
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	20
ÖĞRENME FAALİYETİ-2.....	23
2. ANALİZ ÖRNEĞİ HAZIRLAMA	23
2.1. Çalışma Sırasında Alınacak Önlemler	23
2.2. Örneğin Laboratuvara Kabulü ve Laboratuvar Kayıtları	24
2.3. Ambalajın Açılması	24
2.4. Analiz Örneklerini Tartma	25
2.5. Homojenizasyon İşlemi ve Kullanılan Araçlar	25
2.5.1. Döner Bıçaklı Karıştırıcı (Blender)	27
2.5.2. Peristaltik Tip Karıştırıcı (Stomacher=Masticator)	28
2.5.3. Mikser.....	29
UYGULAMA FAALİYETİ	30
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	34
ÖĞRENME FAALİYETİ-3.....	37
3. DİLÜSYON HAZIRLAMA.....	37
3.1. Dilüsyonla İlgili Terimler	39
3.2. Dilüsyon Hazırlamada Dikkat Edilecek Noktalar	40
3.3. Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama.....	41
3.3.1. Sıvı Gıdadan Tüplerde Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları.....	41
3.3.2. Sıvı Gıdadan Erlenlerde Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları.....	42
3.3.3. Gıda Örneği Tartımı 10 Gram Yapıldığında Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları	43
3.3.4. Gıda Örneği Tartımı 10 Gramdan Farklı Yapıldığında Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları.....	44
UYGULAMA FAALİYETİ	46
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	53
MODÜL DEĞERLENDİRME	56
CEVAP ANAHTARLARI.....	58
KAYNAKÇA	60

AÇIKLAMALAR

KOD	541GI0066
ALAN	Gıda Teknolojisi
DAL/MESLEK	Gıda Kontrol/ Gıda Laboratuvar Teknisyeni
MODÜLÜN ADI	Mikrobiyolojik Numune Hazırlama
MODÜLÜN TANIMI	Bu modül, üretim yerlerinden mikrobiyolojik örnek alma, ön örnekten analiz örneği alma ve analiz örneğinden dilüsyon serileri hazırlama ile ilgili yeterliklerin kazandırıldığı öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖN KOŞUL	“Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlık” ve “Mikrobiyoloji Laboratuvarında Analiz Sonrası İşlemler” modüllerini başarmış olmak
YETERLİK	Alınan numuneyi analize hazırlamak
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Gerekli ortam sağlandığında tekniğine uygun olarak mikrobiyolojik örnek alarak ekime hazırlık işlemlerini yapabileceksiniz. Amaçlar <ol style="list-style-type: none">1. Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olarak üretim yerlerinden mikrobiyolojik numune (örnek) alabileceksiniz.2. Tekniğine uygun olarak ön örnekten analiz örneği hazırlayabileceksiniz.3. Tekniğine uygun olarak analiz numunesinden dilüsyon serileri hazırlayabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Ortam: Mikrobiyoloji laboratuvarı, teknoloji sınıfı, kütüphane, internet Donanım: Steril örnek kapları, bek veya ispirto ocağı, kibrit, steril eküvyon, örnek alma belgesi, kalem, cam yazar, tüpler, erlenler, laboratuvar kayıt fişleri, termometre, blender, stomacher, mikser, terazi, tartım kapları, spatül, pipetler, steril peptonlu veya fizyolojik su.
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modül içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen modül sonunda ölçme aracı (çoktan seçmeli test, doğru-yanlış testi, boşluk doldurma, eşleştirme vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Gıdalar, bozulma nedeni olan saprofit mikroorganizmalar ve hastalık etmeni olan patojen mikroorganizmaların üreme ve gelişmeleri için çok uygun ortamlardır.

Gıdalardan kaynaklanan zehirlenme ve enfeksiyonları önlemek, halk sağlığını korumak, mikroorganizmaların gıdalarda bozulma yapmasını önleyerek gıda kalitesini iyileştirmek amacıyla mikrobiyolojik analizlerin yapılması zorunludur.

Genel anlamda kalite kontrolün esası, örnek almaya dayanır. Analizler 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, hatalara ve yanlış değerlendirmelere neden olur.

Mikrobiyolojik örnek almada temel ilke, alınan örneğin gıdayı temsil etmesi ve örneğin alındığı andaki mikrobiyolojik koşullarında hiçbir değişim olmadan analizin yapılacağı laboratuvara ulaştırılmasıdır. Mikrobiyolojik analizde kullanılacak örneğin, ürünün üretildiği tüm partiyi temsil etmesi gerekmektedir. Aynı zamanda örnekten alınan analiz edilecek kısım da örneği temsil etmelidir.

Örnekler, eğitilmiş yetkili kişilerce aseptik olarak alınmalı, analiz yapılınca kadar yapılarında değişiklik olmamalı ve dış ortamdan gelebilecek kontaminasyon önlenmelidir.

Gıda sektöründe kalite kontrol elemanı olarak görev alacak olan sizler “Mikrobiyolojik Örnek Hazırlama” modülü ile Türk Gıda Kodeksi’ne uygun olarak üretim yerlerinden mikrobiyolojik örnek olarak analiz örneği hazırlayabilecek ve analiz örneğinin seyreltme işlemlerini yapabileceksiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyet sonucunda aldığımız bilgilerle uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olarak üretim yerlerinden mikrobiyolojik numune (örnek) alabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Çevrenizdeki gıda işletmeleri ve varsa araştırma laboratuvarlarına giderek mikrobiyolojik analiz için nasıl numune aldıklarını ve numunelere hangi işlemleri uyguladıklarını araştırınız.
- Numune alma planlarını ve planlamada dikkat ettikleri noktaları inceleyiniz.
- Türk Gıda Kodeksi'nin örnek alma bölümü ile Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi-Mikrobiyolojik Muayeneler İçin Genel Kuralları standartlarını(TS 7894 ISO 7218) inceleyiniz.

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 örnek 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 en az değişiklikle hatta mikroorganizma yükünde artma veya eksilme olmadan laboratuvara 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 olmalıdır.
- Örnek kaplarının kapakları su geçirmeyecek şekilde kapanmalıdır.
- Soğutulmuş veya dondurulmuş örnekleri taşımak için kullanılacak örnek alma kapları termoslar gibi izoleli olmalıdır.
- Kapağı olmayan kapları kapamada kullanılan lastik, plastik, mantar tıkaçlar önceden alüminyum folyo veya plastik şerit ile sarılmış olmalıdır.
- Tek kullanımlık plastik poşetler güvenli bir şekilde kapatılmalı, içine konan örneği daha iyi korunması 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 kaba 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 karıştırılmayacak yapıda ise değişik noktalardan örnek alınmalıdır.
- Eğer bir musluktan örnek almıyorsa musluk ucu alkollenip alevden geçirilmeli ve bir süre akıtıldıktan sonra örnek alınmalıdır.
- Gıda küçük paketler hâlinde ise tesadüfî örnek alma ilkesine göre seçim yapılmalıdır.
- Gıda büyük koliler içinde küçük paketler hâlinde 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.

Tanh :					
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			
Koliform grubu	35-37 °C	24 Saat			
	35-37 °C	24 Saat			
	35-37 °C	24 Saat			
	35-37 °C	24 Saat			
Fekal koliforma	44,5-45,5 °C	24 Saat			
	44,5-45,5 °C	48 Saat			
E.coli	35-37 °C	24 Saat			
Howard küf sayısı(%)	44,5-45,5 °C	48 Saat			
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. Bunların dışında;

- 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 bozulma etkisine,
 - Cinsine
 - Sayısına göre saptanır.

Bunun nedenleri:

- Bazı mikroorganizmaların sadece gıdanın bozulmasına neden olması

- Bazılarının patojen mikroorganizma kontaminasyonu olasılığını göstermesi (indikatör mikroorganizma)
- Bazılarının orta derece önemde hastalığa neden olması,
- Bazılarının orta derece önemde hastalığa neden olması fakat hızla yayılması
- Bazılarının ise doğrudan etkili ve tehlikeli hastalıklara neden olmasıdır.

Sonuç olarak örnekleme planlarının seçimini etkileyen başlıca faktörler;

- Ürünün potansiyel sağlık riski
- Ürünün bozulma 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 mikroorganizmalara 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.)

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 önerilmiştir.

➤ **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;

Partinin tamamen kabul veya reddedilmesine neden olan değerdir.

Örneğin;

n=10 ve c=0 ise
Analiz edilen 10 örnek ünitesinden hiçbirinde istenmeyen mikroorganizma bulunmadığında (örneklerin hiçbiri 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 fazlası 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)

$n=3, c=1, n=5000(5.10^3)$ ve $M=50.000(5.10^4)$ 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'i 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.

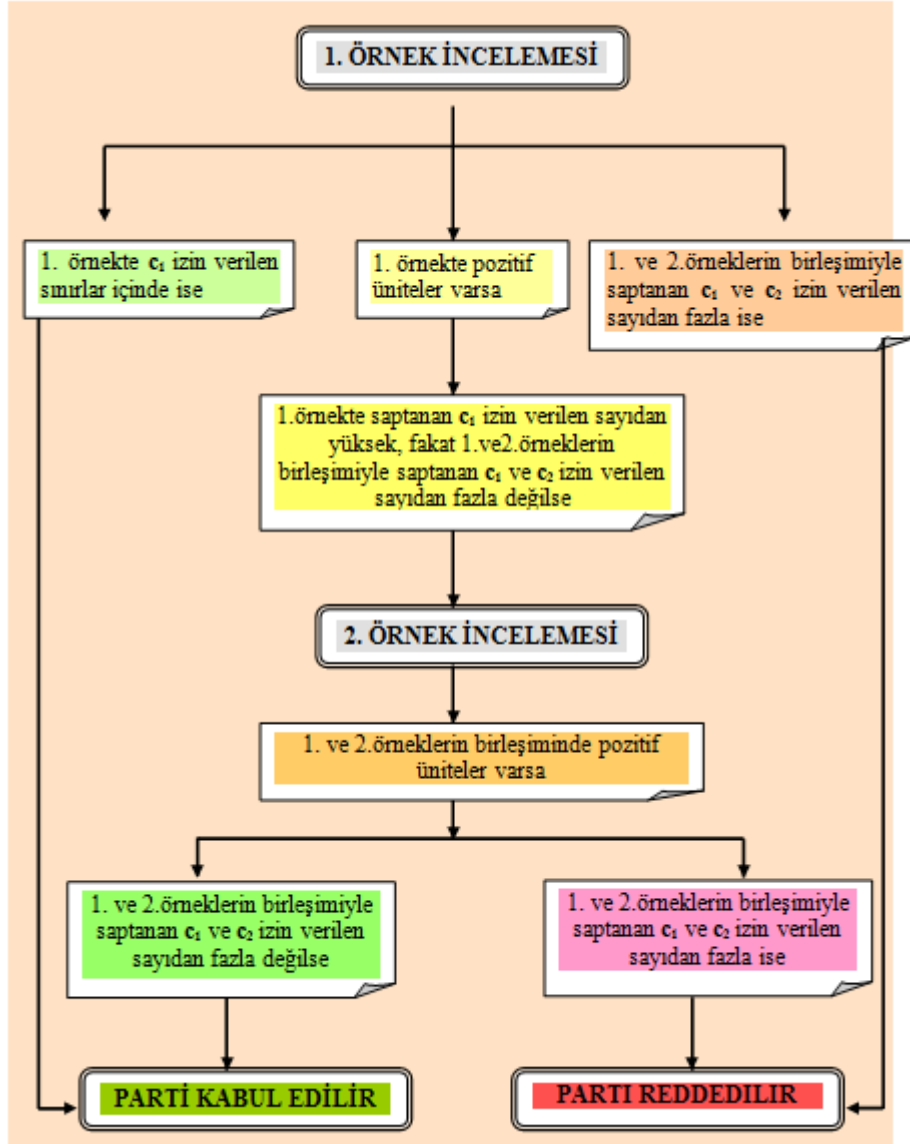
- Örnek 2: (hijyen indikatörü olan koliformlar için)

$n=6, c=1, n=0$ 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 birinde veya daha fazlasında 1kob /g (ml) mikroorganizma bile bulunduğuunda 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:.../.../ 2011						
STANDARTLAR	TOPLA M BAKTE Rİ	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Cl. perfringe ns</i>	KÜF	<i>Salmonella</i>
HEDEF	100.000	0	0	0	0	0
MAKSİMUM	1.000.0 00	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 tesadüfî örnekleme yapılmalıdır (kademeli örneklemede önce ana parti alt partilere ayrılır ve bu alt partilerden yine tesadüfî 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. Laboratuvarda 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.

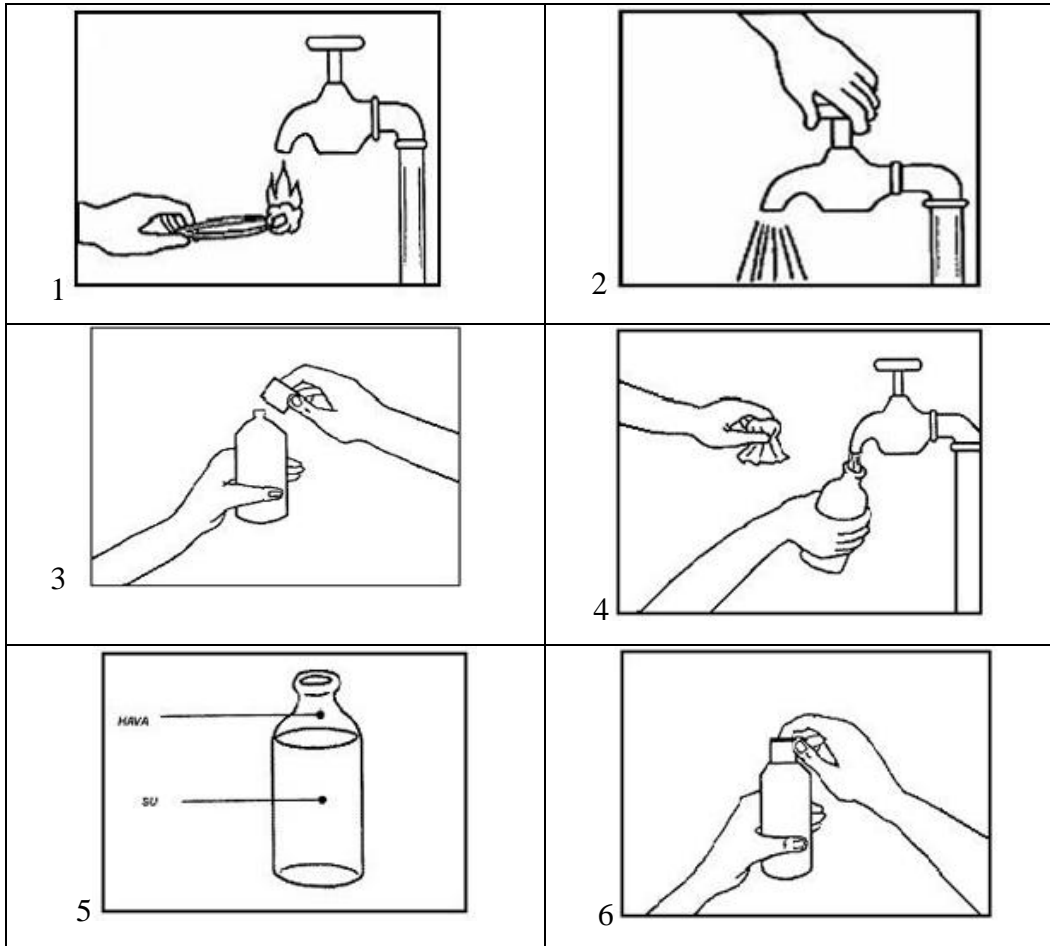
Not: Eğer ortamda patlama ve yangın tehlikesi veya alevde ısıtmanın alet ve ekipmanlara zarar verme ihtimali varsa alkolle ve çıplak alevle sterilizasyon uygulanmamalıdır.

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

- **Sıvı gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:** Gıda önce karıştırılarak homojen hâle getirilir ve uygun steril bir materyal (genellikle pipet) kullanılarak olabildiğince hızlı örnek alınır.
- **Katı gıdalardan mikrobiyolojik örnek alınması:**
 - Gıda maddesinin boyutları uygunsa gıdanın hepsi (beyaz peynir, ekmeğe gibi),
 - Aksi durumda ve bir parçasının alınması gerekiyorsa (parça et, tulum peyniri gibi) steril bir kaşık veya bıçak kullanarak örnek alınır,

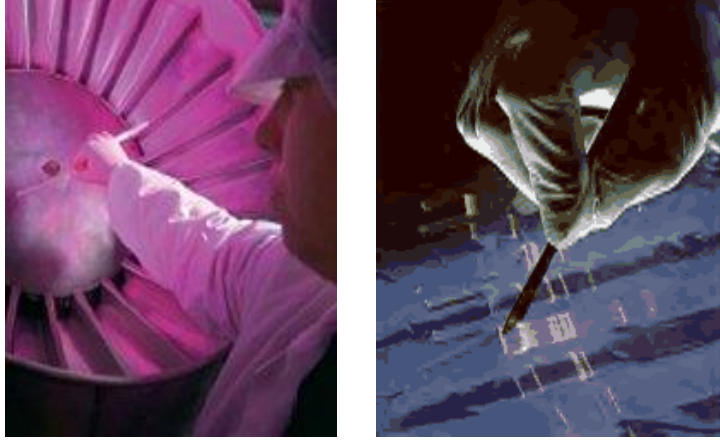
-
- Eğer gıda küçük paket içinde ve taşınabilir nitelikte ise (dondurma gibi) ambalajın hepsi uygun koşullarda laboratuvara taşınır.

- **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. Kapağa el değdirilmeden şişe doldurularak ağzı dikkatle kapatılır.



Şekil 1.2: Çeşme suyundan örnek alma

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



Resim 1.3: 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 olayı, 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 yapılincaya 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 oluşursa gıda 50 g'lık küçük porsiyonlar hâlinde 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.

UYGULAMA FAALİYETİ-2

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre bir süt işletmesinde çiğ süt tankından tekniğine uygun olarak mikrobiyolojik örnek alınır.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Steril örnek kabı ve gerekli malzemeleri alınız.</p>  <p>Resim 1.4: Gerekli malzemelerin hazırlanması</p>	<p>➤ Örnek kaplarının ağzının sıkıca kapatılıp kapatılmadığını, kabın kırık veya çatlağı olup olmadığını kontrol ediniz.</p> <p>➤ Örnek kapları ve örnek alırken kullanacağımız kaşık, burgu, bez, pipet, karıştırıcı, swab; paketleri açmak için de makas, bıçak, konserve açacağı vb. araç-gereçleri mutlaka önceden sterilize ediniz.</p> <p>➤ Dikkatli ve gözlemci olunuz.</p>
<p>➤ İşletmede önceden belirlenmiş numune alma noktalarına geliniz.</p>	<p>➤ Çevreden kontaminasyonu engelleyecek önlemleri alınız.</p> <p>➤ İş güvenliğine dikkat ediniz.</p>
<p>➤ Örnek alma ortamı oluşturunuz.</p>	<p>➤ Örnek alma yerlerinde örneklerin alınmasında kullanılan araç ve aletleri tekrar sterilize etmeyi unutmayınız.</p> <p>➤ Soğukkanlı, sabırlı ve titiz olunuz.</p> <p>➤ Dikkatli çalışınız.</p>
<p>➤ Üretim yerlerinden örnek alma planına uygun miktarda örnek alınız.</p>	<p>➤ Örnek alma işleminin yapılacak analiz kadar önemli olduğunu unutmayınız.</p> <p>➤ Seçilecek örneklerin tüm partiyi temsil etmesi gerektiğini unutmayınız.</p> <p>➤ Her partiden örnek alınmasını sağlayınız.</p> <p>➤ Örnek seçiminde tercihlerden kaçınınız.</p> <p>➤ Alacağınız örnek sayısının örnekleme planında istenen sayıda olmasına dikkat ediniz.</p> <p>➤ Detaylara özen gösteriniz.</p>
<p>➤ Analiz örneğini laboratuvara getiriniz.</p>	<p>➤ Alınan örnekleri mikroorganizma sayısında artma veya azalma olmayacak şekilde uygun koşullarda hemen laboratuvara getiriniz.</p> <p>➤ Soğutulmuş veya dondurulmuş örneklerin</p>

	<p>laboratuvar izoleli kaplarda taşınmasına özen gösteriniz.</p> <p>➤ Zamanı iyi kullanınız.</p>
<p>➤ Laboratuvara getirilen örnek hemen analize alınamıyorsa 0–4 °C soğukta, en fazla 36 saat muhafaza ediniz.</p>  <p>Resim 1.5: Örneklerin uygun koşullarda muhafazası</p>	<p>➤ Laboratuvar getirilen örneği mümkünse bir saat içinde analiz ediniz.</p> <p>➤ Herhangi zorunlu bir nedenle örneği saklama durumu oluşursa saklama koşullarını yerine getiriniz ve bu durumu da mutlaka analiz raporunda belirtiniz.</p> <p>➤ Örnek alma sırasındaki gibi örneğin saklanması sırasında da çevreden kontaminasyonu engelleyecek önlemleri alınız.</p> <p>➤ Örnek saklama koşullarına uyulmadığında örneğin bozulacağını ve sonuçların hatalı olacağını unutmayınız.</p> <p>➤</p>
<p>➤ Örnek alma belgesini doldurunuz.</p>	<p>➤ Örnek alma raporuna yazdığımız gerekli tüm bilgileri okunaklı bir şekilde yazmaya özen gösteriniz.</p> <p>➤ Yazdığımız bilgilerin doğruluğunu kontrol ediniz.</p>

KONTROL LİSTESİ

Bu faaliyet kapsamında aşağıda listelenen davranışlardan kazandığınız beceriler için **Evet**, kazanamadığınız beceriler için **Hayır** kutucuğuna (X) işareti koyarak kendinizi değerlendiriniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Size verilen örnekleme planına göre kaç örnek alacağınızı tespit ettiniz mi?		
2. Örnek alma kabının kırık veya çatlağı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
3. Örnek alma şişesini önceden sterilize ettiniz mi?		
4. Çeşmenin musluk çevresini alkol ile silip yaktınız mı?		
5. Örnek almadan önce suyu bir süre akıttınız mı?		
6. Örnek şişesinin kapağının ağız kısmını el değdirmeden açtınız mı?		
7. Şişeyi dipten tutarak şişe ağzını alevden geçirdiniz mi?		
8. Su örneğini aldıktan sonra örnek alma kabını sıkıca kapattınız mı?		
9. Örnek alma sırasında çevreden mikroorganizma kontaminasyonunu önlemek için hijyen kurallarına uydunuz mu?		
10. Aldığınız su örneğini soğuk olarak hemen laboratuvara getirdiniz mi?		
11. Örnekleme raporunu kuralına uygun bir şekilde yazdınız mı?		
12. Ana örneğin analiz sonuna kadar saklanmasını sağladınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Değerlendirme sonunda “**Hayır**” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Bütün cevaplarınız “**Evet**” ise “Ölçme ve Değerlendirme”ye geçiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Mikrobiyolojik örnek alma ile ilgili olarak aşağıda verilen bilgilerden hangisi yanlıştır?
A) Çabuk bozulan gıdalardan daha çok örnek alınır.
B) Patojenlerin var/yok testlerinde 10 g örnek alınır.
C) Hamileler ve çocuklar için hazırlanmış olan gıdalardan daha fazla örnek alınır.
D) Ambalaj boyutu küçüldükçe daha fazla sayıda örnek alınır.
E) Pazar payı yüksek olan gıdalardan daha fazla örnek alınır.
2. Üç sınıflı örnekleme planında $n=15$, $c=3$, $n=1000(1.10^3)$ ve $M=10.000(1.10^4)$ ise aşağıda verilenlerden hangisi doğrudur?
A) Analiz edilen 15 örnekten sadece 3'ünde istenmeyen mikroorganizma sayısı en fazla 10.000 adet /g (ml) diğerlerinde 1.000–10.000 adet /g (ml) olduğunda parti kabul edilir.
B) Analiz edilen 15 örneğin 3'ten fazlasında istenmeyen mikroorganizma sayısı 1.000 adet /gr(ml) olursa parti yine reddedilir.
C) Analiz edilen 3 örnekten sadece 1'inde istenmeyen mikroorganizma sayısı en fazla 10000 adet /gr(ml), diğerleri 1000–10.000 adet /g (ml) olduğunda parti kabul edilir.
D) Analiz edilen 15 örnekten hiçbirinde istenmeyen mikroorganizma olmamalıdır. 15 örnekten herhangi biri veya daha fazlasında 1 adet /g (ml) mikroorganizma bile bulunduğu parti reddedilir.
E) Analiz edilen 15 örnek ünitesinden sadece birinde istenmeyen mikroorganizma sayısı 10.000'i geçerse adet /g (ml) parti reddedilir.
3. Aşağıdakilerden hangisi mikrobiyolojik analizler için örneklerin alınmasında etkili faktörlerden biri sayılmaz?
A) Ürünün cinsi
B) Parti büyüklüğü
C) Analizi yapılacak mikroorganizmanın cinsi
D) Örnekleme planının uygulandığı yer
E) Ürünün ambalaj şekli
4. Analiz yapılncaya kadar dondurulmuş gıdalar nasıl muhafaza edilmelidir?
A) Çözündürüldükten sonra buzdolabında
B) Soğukta $0 - 4 ^\circ\text{C}$ 'de
C) Derin dondurucuda, $-20 ^\circ\text{C}$ 'de
D) Oda sıcaklığında
E) %70'lik alkol içinde

5. Ana örnek nedir?
A) Laboratuvarda mikrobiyolojik analizin uygulandığı örneklerdir.
B) Patojenlerin var/yok testlerinde kullanılan örnektir.
C) Kademeli örnekleme ile alınmış örneklerdir.
D) Uygun koşullarda hemen laboratuvara getirilen örnektir.
E) Üretilen partiden alınan örneklerdir.
6. Mikrobiyolojik analiz sonuna kadar saklanması gereken gıda örneği aşağıdakilerden hangisidir?
A) Tesadüfî örnek
B) Şahit örnek
C) Birim örnek
D) Parti örneği
E) Ana örnek
7. Mikrobiyolojik analizler için örnek alma kaplarında bulunması gereken en önemli özellik aşağıdakilerden hangisidir?
A) Sterilizasyona dayanıklı olması
B) Güvenli bir şekilde kapatılması
C) Büyük hacimde ve geniş ağızlı olması
D) Kapağının alüminyum folyo ile sarılmış olması
E) Termos gibi izoleli olması
8. Mikrobiyolojik analizlerde örnekleme planı niçin yapılır?
A) İndikatör mikroorganizmalar olan koliform bakterilerin sayımı için
B) Mikroorganizmaların tüketici sağlığına etkisini belirlemek için
C) Yönetmelik ve standartlara uymak için
D) Mikroorganizmaların depolamaya dayanıklılık düzeyini saptamak için
E) Örnek sayısını belirlemek için
9. Örneğin alınması
2- Örneğin analize hazırlanması
3- Örnek miktarının belirlenmesi
4- Örneğin laboratuvara getirilmesi
Aşağıdakilerden hangisinde bir gıdadan mikrobiyolojik örnek alma aşamaları doğru sıralanmıştır?
A) 1-2-3-4
B) 4-3-2-1
C) 3-1-4-2
D) 1-3-2-4
E) 4-3-2-1

10. Mikrobiyolojik analiz sonucunun gerçeği yansıtması, pozitif ya da negatif hatalara, yanlış değerlendirmelere neden olmaması için _____
Cümledeki boşluğa aşağıdakilerden hangisi gelmelidir?
- A) Analize alınacak örnek sayısı fazla olmalıdır
 - B) Alınan örnekler hemen laboratuvara getirilmelidir.
 - C) Kademeli tesadüfi örnekleme yapılmalıdır.
 - D) Seçilecek örnekler, tüm partiyi temsil etmelidir.
 - E) Örnek alma yerlerinde, örneklerin alınmasında kullanılan araç ve aletler tekrar sterilize edilmelidir.

DEğERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyet sonucunda uygun laboratuvar ortamı sağlandığında tekniğine uygun olarak ön örnekten analiz örneği hazırlayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Çevrenizdeki gıda işletmeleri ve varsa araştırma laboratuvarlarına giderek mikrobiyolojik analiz için aldıkları örnekler hangi işlemleri uyguladıklarını araştırınız.
- Laboratuvar kayıt örneklerini inceleyiniz.
- Araştırma ve incelemelerinizi rapor hâline getirip sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

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 getirilme işlemi 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 örnekler 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 taşınıp 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:
 - Üretim tarihi
 - Ambalaj özellikleri
 - Parti veya vardiya numarası
 - 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.
- Konserveler 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.

2.4. Analiz Örneklerini Tartma

Standart bir mikrobiyolojik sayım analizi için katı gıda örneklerinden 10 g örnek yeterlidir fakat özel homojenizasyon gereksinimleri, sayımdan başka patojen testi için 25 g örnek tartılır.

- Tartımda kullanılan terazi 0.1 g duyarlılıkta olmalıdır.
- Tartım aseptik koşullarda yapılmalıdır. Bu konuda en sağlıklı tartım dikey tip ekim kabini (laminar air flow cihazı) içinde yapılandır.
- Tartım erlen ya da beherde değil, önceden sterilize edilmiş saat camı, petri kutusu veya alüminyum folyoda yapılmalıdır. Çünkü erlen ve beherler ağır olduklarından terazide problem olabilir, fazla konan örneğin geri alınması zordur. Fakat pratikte 50 ml'lik küçük beherler de sıklıkla kullanılmaktadır.
- İstenen ağırlığın kesin olarak tartımını yapmak için kontaminasyon riskini artıracak kadar uğraşılmamalıdır. Et, meyve, sebze gibi katı gıdalardan istenen miktarın tartımında problem olmaması için boyutları uygun şekilde küçültülmelidir.
- Küçültülmüş de olsa et gibi gıdalardan tam olarak 10 g tartılması zor olduğundan tartım hatası seyreltme sıvısı miktarının değiştirilmesiyle standart seyreltme oranı ayarlanır. Fakat % 5'ten daha fazla tartım yapılmamalıdır. Seyreltme sıvısı miktarının hesaplanması şöyle yapılır:
- Standart bir mikrobiyolojik analizde 10g gıda üzerine 90 ml seyreltme sıvısı konur Yani seyreltme oranı, $10/10+90 = 10/100 = 1/10^3$ dur.
- 10 g yerine 10.3 g tartılmışsa fazla tartım $10.3-10 = 0.3$ g'dır.

10 g örnek için 90 ml seyreltme çözeltisi gerekiyorsa

0,3 g örnek için X ml çözelti

$$X = \frac{0,3 \times 90}{10} = \frac{27}{10} = 2,7 \text{ ml seyreltme çözeltisi gerekir.}$$

- Bu durumda seyreltme çözeltisi miktarı $90+2.7 = 92.7$ ml olur. 90 ml steril seyreltme çözeltisine steril bir pipetle 2.7 ml daha seyreltme çözeltisi eklenerek sonuçta $1/10^3$ luk seyreltme oranı korunmuş olur ($10.3/92.7+10.3 = 10.3/103 = 1/10$).
- Tartılan örnek özelliğine göre içinde seyreltme sıvısı bulunan erlene, blendere veya stomacher torbalarına alınmalıdır.

2.5. Homojenizasyon İşlemi ve Kullanılan Araçlar

Süt, ayran, meyve suyu gibi sıvı olan gıdalarla yoğurt, şeker, tuz, süt tozu, dondurma gibi suda kolayca eriyen gıdalar herhangi bir ön hazırlık yapmadan doğrudan manyetik

karıştırıcı ile mikrobiyolojik analize alınır. Fakat diğer gıdalarda mikroorganizmaların 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.

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

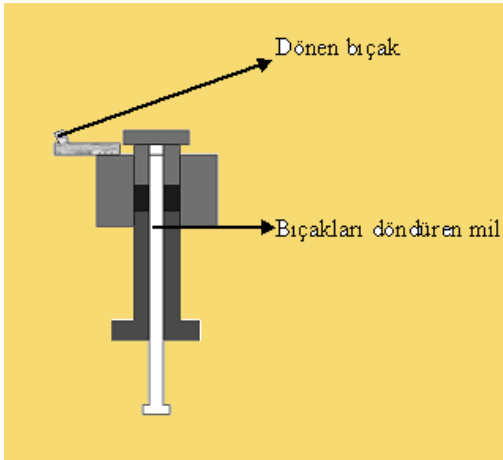
Bu işlemlerden sonra örnekten aseptik koşullarda belli miktar tartılarak (10 veya 25 g) uygun bir kapta belli miktarda hazırlanmış uygun bir steril sıvıya aktarılır ve örnek ile sıvının homojen şekilde dağılımını sağlamak için çeşitli şekillerde karıştırma işlemi yapılır. Bu şekilde örneklerin ilk dilüsyonları 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 çözeltiler 30–32 °C 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. (Şekil 2.1 ve Resim 2.1)

- 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. 1: Laboratuvar blenderi



Resim 2.2: Ultraturax homojenizatör

2.5.2. Peristaltik Tip Karıştırıcı (Stomacher=Masticator)

Özel torbalar içindeki gıdayı pedallarıyla ezerek homojenize eden araçtır (Resim 2. 3).

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

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

- Stomakerle örnekteki mikroorganizmaların dilüsyon sıvısı içinde serbest hâle geçirilmesi sağlanır.
- Kuru yemişler gibi sert, keskin parçalı ve stomakerin özel torbasını delme riski olan gıdaların homojenize edilmesinde bu ekipman kullanılmaz.
- Stomakerle 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 stomaker kullanılmamalıdır.



Resim 2. 3: 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. 4: Manyetik karıştırıcı



Resim 2. 5: Vortex mixer

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre laboratuvara gelen peynir numunesinden stomacher kullanarak analiz örneği hazırlayınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Laboratuvara gelen örneklerin kabul kaydını tutunuz.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Mutlaka laboratuvara gelen gıdanın yapısına uygun olarak taşıyıp taşınmadığını kontrol ediniz.➤ Laboratuvara gelen örneğin uygun şekilde taşınmadığını düşünüyorsanız örnekle ilgili olumsuzlukları kabul formuna işlemeyi unutmayınız.➤ Örnekte kimyasal test de yapılacaksa öncelikle mikrobiyolojik analiz örneklerini ayırınız.➤ Analiz için gerekli araç-gereçlerinizi önceden hazırlayınız.➤ Sorumluluk sahibi ve titiz olunuz.
<p>➤ Örnek alırken sıcaklığı ölçtüğünüz gibi laboratuvara ulaştığında da sıcaklık ölçümü yapınız ve laboratuvar formuna kaydediniz.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Termometreyi kullanmadan önce kontrol ediniz.➤ Sıcaklığı dikkatli okuyunuz.➤ Gözlemlerinizde detaylara özen gösteriniz.
<p>➤ Peynir örneğinden 10 g ve 25 g örnek tartınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvara gelen örnekte analizi istenen mikroorganizma tipine göre tartım yapınız.➤ Tartımın hassas terazide ve aseptik koşullarda yapılmasına dikkat ediniz.➤ Tartım için önceden sterilize edilmiş saat camı, petri kutusu veya alüminyum folyo veya 50 ml'lik küçük beher kullanınız.➤ Tartımı olabildiğince kısa sürede bitiriniz.➤ Tartım bitince teraziyi kapatmayı unutmayınız.

Resim 2. 6: Örneğin tartımı

- Peynir örneğini homojenize ediniz.



Resim 2. 7: Örneğin homojenizasyonu

- İşlem sonunda kullandığınız araç-gereçleri temizleyip sterilize ediniz.

- İçinde örnek bulunan steril torbaları stomachere doğru yerleştirdiğinizi kontrol ediniz.
- Homojenizasyon uygulanırken gıda örneğinin oda sıcaklığında olmasına dikkat ediniz.
- Homojenizasyon süresinin en düşük hızda bile 2.5 dakikayı geçmemesine dikkat ediniz.
- Homojenizasyon bittikten sonra stomacheri kapatmayı unutmayınız.

Örneğin homojenizasyonu iyi yapılmazsa daha sonra yapılan ekim sonuçları da gerçeği yansıtmayacaktır!

KONTROL LİSTESİ

Bu faaliyet kapsamında aşağıda listelenen davranışlardan kazandığınız beceriler için **Evet**, kazanamadığınız beceriler için **Hayır** kutucuğuna (X) işareti koyarak kendinizi değerlendiriniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Pastanın laboratuvara uygun olarak taşınıp taşınmadığı kontrol ettiniz mi?		
2. Laboratuvara gelen pasta, uygun şekilde taşınmamışsa örnekle ilgili olumsuzlukları kabul formuna işlediniz mi?		
3. Pasta örneği analiz için kabul edildiğinde etiketleyip üzerine gerekli bilgileri eksiksiz yazdınız mı?		
4. Analiz için gerekli araç-gereçleri hazırladınız mı?		
5. Pastanın kâğıt ambalajının dış yüzeyini %70'lik alkolle temizlediniz mi?		
6. Ambalajı alkolle dezenfekte ederken alkolün pastaya bulaşmamasına dikkat ettiniz mi?		
7. Ambalajı steril bir kesici ile açtınız mı?		
8. Pastanın her katından analiz örneği ayırdınız mı?		
9. Pasta analiz örneğini oda sıcaklığında aldınız mı?		
10. Tartımda önceden sterilize edilmiş saat camı veya alüminyum folyo veya küçük bir beher kullandınız mı?		
11. Analiz örneğinden hassas terazide ve aseptik koşullarda 25 g tarttınız mı?		
12. Homojenizasyon için 225 ml uygun seyreltme çözeltisi hazırladınız mı?		
13. Blenderin çelik gövdesi ve kapağının önceden sterilize edilmiş olduğunu kontrol ettiniz mi?		
14. Örneği blendere aktarip üzerine bir miktar seyreltme çözeltisi eklediniz mi?		
15. Blenderi önce düşük hızda çalıştırdınız mı?		
16. Daha sonra blenderin hızını arttırarak örneği 2 dakika parçalayıp homojenize ettiniz mi?		
17. 2-3 dakika oluşan köpüğün dağılmasını beklediniz mi?		
18. Homojenize edilen pasta örneğini 250 ml'lik boş ve steril bir erlene aktardınız mı?		
19. Seyreltme sıvısının geri kalan kısmı ile blenderi çalkalayip erlene ilave ettiniz mi?		
20. Kullandığınız araç-gereçleri temizleyip sterilize edip kontrollerinizi yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Değerlendirme sonunda “**Hayır**” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Bütün cevaplarınız “**Evet**” ise “Ölçme ve Değerlendirme”ye geçiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

- 1- Mikser 2- Blender 3-Santrifuj 4- Stomacher
Et ve ürünlerinde indirgenme testi yapılacağı zaman alınan örneklerin homojenizasyonunda yukarıdakilerden hangisi ya da hangileri kullanılmalıdır?
A) Yalnız 2
B) Yalnız 4
C) 1 ve 2
D) 1 ve 3
E) 2 ve 4
- Aşağıdaki bakterilerden hangisinin aranması ve sayımı için kullanılacak örneğin homojenize edilmesinde blender kullanılmamalıdır?
A) Anaerob bakteri
B) Lipolitik bakteri
C) Halofilik bakteri
D) Proteolitik bakteri
E) Aerob bakteri
- Aşağıdakilerden hangisi mikrobiyolojik analiz örneğinin stomacherle homojenize edilmesinin avantajlarından biri değildir?
A) Örnekteki mikroorganizmalar, dilüsyon sıvısı içinde serbest hâle geçer.
B) Isınma problemi olmaz, homojenizasyon işlemi kısa sürede yapılır.
C) Et gibi gıdalardaki indirgen bazı maddeler, dilüsyon sıvısına daha fazla geçer.
D) Steril özel torbalar kullanıldığından önceden sterilizasyona gerek yoktur.
E) Her örnek için ayrı temizlik ve dezenfeksiyon gerektirmez.
- 15 g gıda örneğinin homojenizasyonu için 135 ml seyreltme çözeltilisi hazırlanmış fakat tartım 15.6 g yapılmıştır. Seyrelme oranının 1/10 olması için blendere daha kaç ml seyreltme çözeltilisi eklemek gerekir?
A) 1.5 ml
B) 4.5ml
C) 15 ml
D) 5.4 ml
E) 13.5 ml
- Aşağıdaki gıdalardan hangisi mikrobiyolojik ve somatik hücre sayımı yapılacağı zaman laboratuvara kabul edilmez?
A) Bombajlı konserve kutuları
B) Dondurma, ketçap gibi gıdalar
C) Et ve ürünleri
D) Isıl işlem görmüş gıdalar
E) Dondurulmuş sıvı ürünler

6. Homojenizasyon uygulanacak gıdanın sıcaklığı kaç °C olmalıdır?
A) 10–15 °C
B) 20–25 °C
C) 30–35 °C
D) 40–45 °C
E) 60–70 °C
7. Standart bir mikrobiyolojik sayım analizi için katı gıdalardan kaç g tartılması yeterli olur?
A) 10 g
B) 15 g
C) 25 g
D) 40 g
E) 60 g
8. Kuru gıdalarda kademeli homojenizasyon niçin uygulanmalıdır?
A) Gıdanın oda sıcaklığına gelme süresini kısaltmak için
B) Mikrobiyolojik ve somatik hücre sayımı için
C) Gram(–) bakterileri osmotik şoktan korumak için
D) *Salmonella* ve *Listeria* sayımı için
E) Mikrobiyolojik kontaminasyonu en aza indirmek için
9. Bir tüp içindeki sıvı örneğin karıştırılmasında aşağıdakilerden hangisi kullanılır?
A) Blender
B) Stomacher
C) Manyetik karıştırıcı
D) Vorteks mikser
E) Steril bağıt
10. Bombajlı konserve kutularında açılacak olan kapak aşağıdakilerden hangisi ile dezenfekte edilir?
A) Deterjan çözeltisi ile yıkanarak
B) Temiz bir havlu ile silinerek
C) Kapaklara % 70'lik alkol dökülüp yakılarak
D) Steril su ile yıkanarak
E) 100 ppm klor çözeltisi ile silinerek

Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerlere doğru sözcükleri yazınız.

11. Tereyağı homojenizasyonunda kullanılan çözeltiler _____ olmalı.
12. Blender, dakikada _____ çalıştırılmalı.
13. Homojenizasyon için örneğin tartımında _____ kullanılmamalıdır.

14. Ambalaj açılmadan önce açılacak olan kısım ve çevresi _____dezenfekte edilmelidir.
15. Tartım _____koşullarda yapılmalıdır.

%70'lik alkolle	EMS
oda sıcaklığında	stomacher
aseptik	1500–2000 devir
erlen	30–32 °C'da
dilüsyon	<i>E. coli</i>

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

AMAÇ

Bu faaliyet sonucunda uygun laboratuvar ortamı sağlandığında tekniğine uygun olarak analiz numunesinden dilüsyon serileri hazırlayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Çevrenizdeki gıda işletmeleri ve varsa araştırma laboratuvarlarına giderek mikrobiyolojik analiz için aldıkları örnekler için hangi dilüsyonları ve nasıl hazırladıklarını araştırınız.
- TS 6235 ISO 6887 sayılı Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi-Deney Örneklerinin Başlangıç Süspansiyonunun ve Ondalık Seyreltilerinin Hazırlanması İçin Genel Kuralları inceleyiniz.
- Araştırma ve incelemelerinizi rapor hâline getirip, sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

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 sayısının belli oranlarda sulandırılarak 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 bileşimin 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 incelenecek 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.

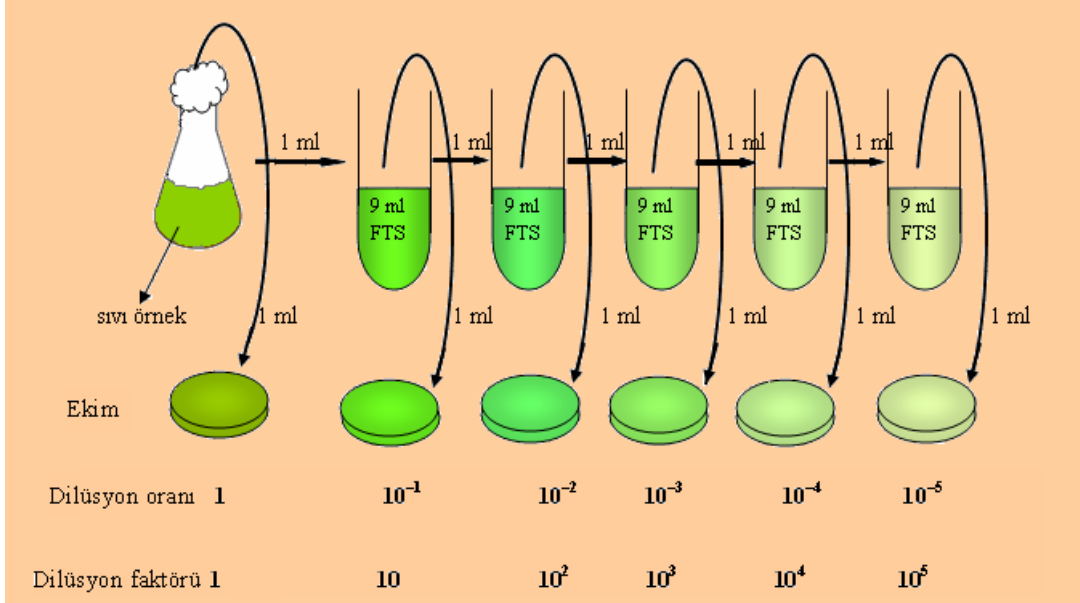
3.3. Desimal (Ondalık) Dilüsyon Serileri Hazırlama

Sayımda hesaplama kolaylığı sağladığından en çok kullanılan standart dilüsyon serisidir. Çünkü petri kutusunda sayılan koloni miktarı (10, 100,1000 gibi) seyreltme 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(=ondalık) dilüsyon serisi denir.

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

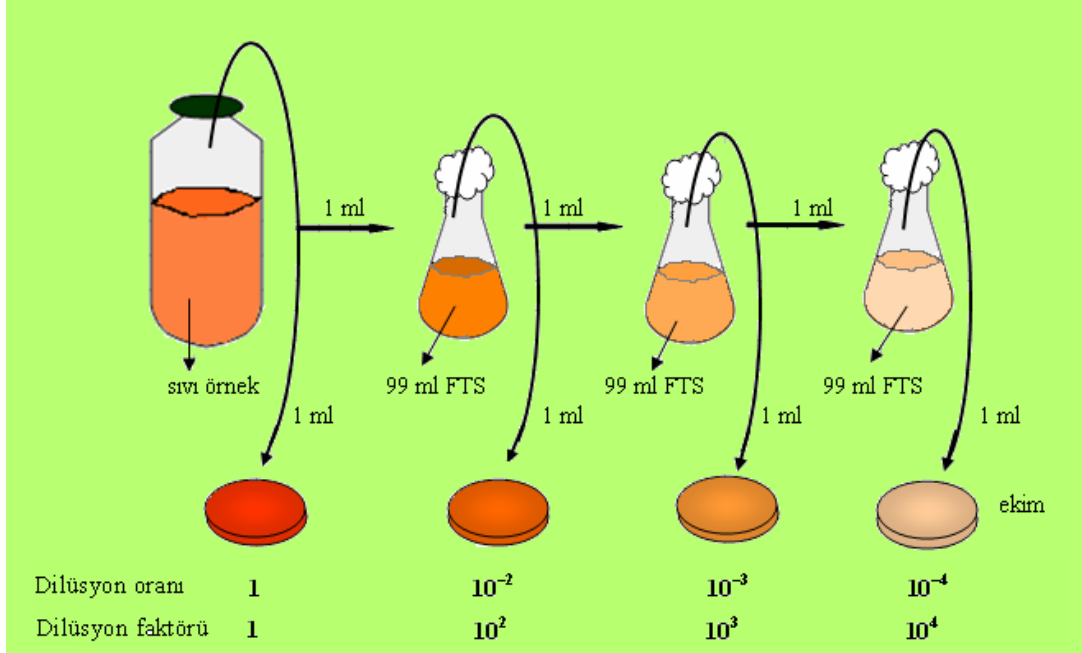
- Erlendeki sıvı gıda iyice karıştırılarak homojenize edilir. Sıvı gıdadan 1 ml alınıp ekim yapılırsa doğrudan 1 ml gıdadaki mikroorganizma miktarı bulunacağından dilüsyon faktörü **1** olur.
- Erlendeki sıvı gıdadan 1ml alınıp içinde 9 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan bir tüpe aktarıldığında tüpteki 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 10^{-1} olarak ifade edilir. Bu 1. dilüsyondur.
- 1. tüpteki çözültiden 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 10^{-2} olarak ifade edilir. Bu 2. dilüsyondur.
- 2. tüpteki çözültiden 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 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

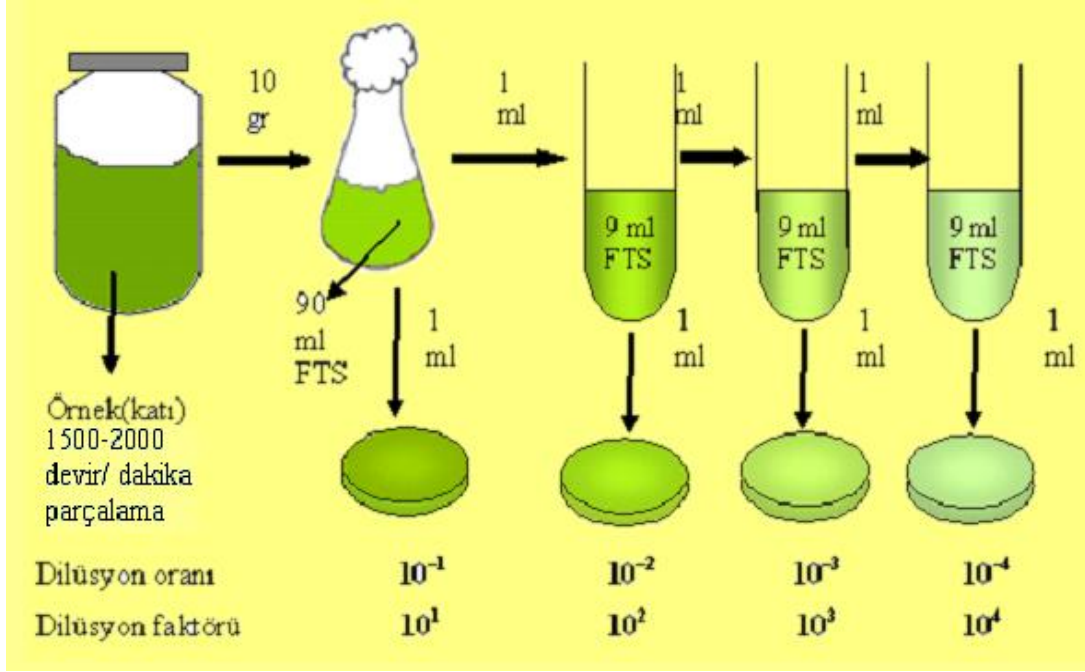
- Ambalaj ya da örnek alma şişesindeki sıvı gıda iyice karıştırılarak homojenize edilir. Sıvı gıdadan 1 ml alınıp ekim yapılırsa doğrudan 1 ml gıdadaki mikroorganizma miktarı bulunacağından dilüsyon faktörü **1** olur.
- Şişedeki sıvı gıdadan 1ml alınıp içinde 99 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan bir erlene aktarıldığında erlendeki mikroorganizma sayısı orijinal sıvı gıdaya göre 10 defa seyrelmiş olur ve erlenin her ml'sinde 0,1 mikroorganizma bulunur. Erendeki çözelti, şişedeki orijinal sıvı örneğe göre 10 defa seyreltiğinden **10^{-1}** olarak ifade edilir. Bu 1. 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 100 defa seyrelmiş olur. 2. erlenin her ml'sinde 0,01 mikroorganizma bulunur. 2. erlendeki çözelti şişedeki orijinal örneğe göre 100 defa seyreltiğinden **10^{-2}** olarak ifade edilir. Bu 2. dilüsyondur.
- 2. erlendeki çözeltiden 1ml alınıp içinde 9 ml steril seyreltme çözeltisi bulunan 3. erlene aktarıldığında 3. erlendeki mikroorganizma sayısı şişedeki sıvı gıdaya göre 1000 defa seyrelmiş olur. 3. erlenin her ml'sinde 0.001 mikroorganizma bulunur. 3. erlendeki çözelti, erlene orijinal sıvı örneğe göre 1000 defa seyreltiğinden **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. 2: Sıvı örnekten farklı bir desimal dilüsyon serisi, dilüsyon oranı, dilüsyon faktörü

3.3.3. Gıda Örneği Tartımı 10 Gram Yapıldığında Desimal (Ondalıklı) 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 1 ml 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

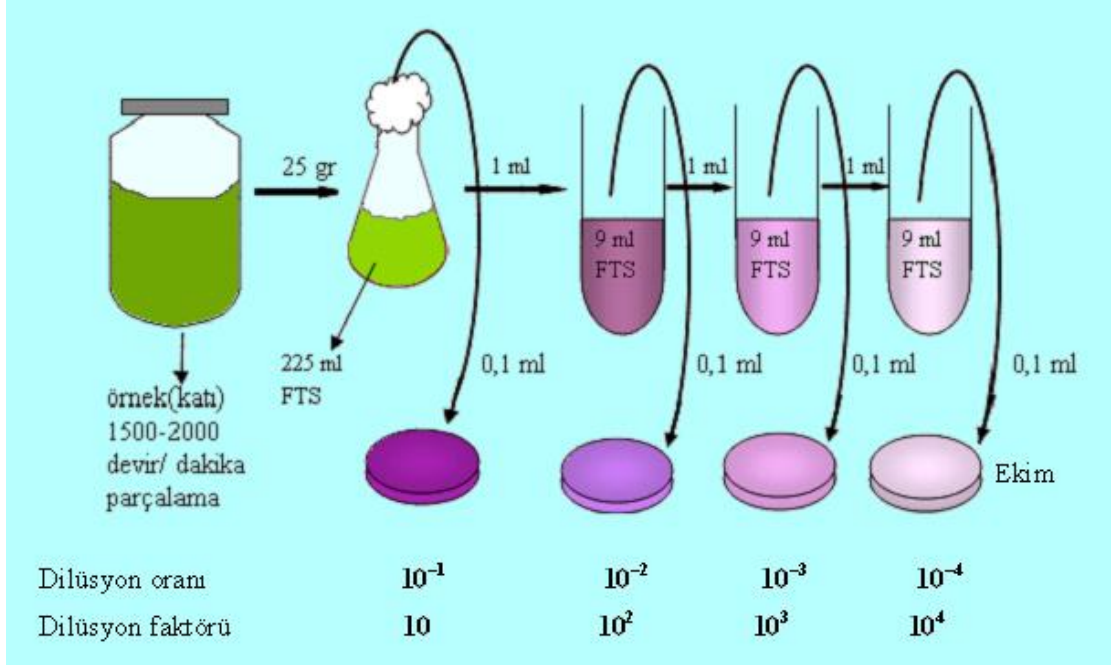
3.3.4. Gıda Örneği Tartımı 10 Gramdan Farklı Yapıldığında Desimal (Ondalıklı) Dilüsyon Serileri Hazırlama Aşamaları

- 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.
10g örnek için 90 ml seyreltme çözeltisi gerekirse
25g örnek için X ml seyreltme çözeltisi gerekir.

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

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.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre verilen analiz örneğine uygun desimal 10^{-4} lük dilüsyon serilerini hazırlama işlemini yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Gıda örneğine uygun seyreltme çözeltisini hazırlayınız.</p>  <p>Resim 3. 1: Seyreltme çözeltileri</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Analiz yapacağınız ortamı ve araç-gereçlerinizi hazırlayınız.➤ Kullanacağınız seyreltme çözeltisinin osmotik basıncının incelenecek gıdanın osmotik basıncına eş değer veya çok yakın olmasına dikkat ediniz.➤ Hazırladığınız dilüsyon çözeltisini tüplere ve erlenlere boşaltınız. Mutlaka ekim öncesi sterilize ediniz.
<p>➤ Desimal 10^{-4}lük dilüsyon serisi hazırlayınız.</p> <ul style="list-style-type: none">• Sporda üç tane steril tüp koyunuz.  <p>Resim 3. 2: Tüplerin yerleşimi</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Tartımlarda ve hacim ölçümlerinde dikkatli olunuz.➤ Aktarmalarda kullanılan pipetlerin mutlaka steril olmasına dikkat ediniz.➤ Her aktarımda ayrı pipet kullanınız.➤ Aktarmalarda tüplerin pamuklarını elinizin küçük parmaklarıyla avucunuzun içinde tutup aktarmadan sonra hemen tekrar tüpün ağzına kapatınız.➤ Pipetle okumayı göz hizasında ve ay çizgisinin altından yapınız.➤ Pipet boşalırken kesinlikle üflemezsiniz.➤ Aseptik olarak çalışınız.

- Tüplere steril bir pipetle 9'ar ml seyreltme çözeltisi koyunuz.



Resim 3. 2: Tüplere seyreltme çözeltisi ilavesi



Resim 3. 3: Seyreltme çözeltisi konulmuş tüpler

- 1/10 oranında seyreltilmiş 10^{-1} 'lik homojenize örneği alınız.



Resim 3. 4: Homojenize edilmiş örnek

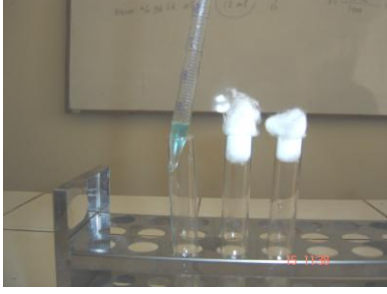
- Steril bir pipetle örnekten 1 ml çekerek ilk tüpe boşaltınız.

- Dikkatli ve titiz olunuz.

- Tüplerin üzerine seyreltme oranlarını cam yazar kalemle yazınız.

- Aktarma sırasında tüplerin ağzlarını ve pipetleri alevden geçirmeyi unutmayınız.

- Kullandığınız pipetleri içinde dezenfektan bulunan bir kaba bırakınız.



Resim 3. 5: Örneğin 1. tüpe boşaltılması

- Tüpleri ellerinizin arasında döndürerek veya tüp karıştırıcı ile örnekle seyreltme çözeltilisinin iyice karışmasını sağlayınız.



Resim 3. 6: Örneğin karıştırılması

- 10^{-2} 'lik dilüsyonunuz hazırdır.



Resim 3. 7: 10^{-2} 'lik dilüsyon

- 10^{-2} 'lik dilüsyonundan yeni steril bir pipetle 1 ml çekerek ikinci tüpe boşaltınız.



Resim 3. 8: Örneğin 2. tüpe boşaltılması



Resim 3. 9: 10^{-3} 'lük dilüsyon

- İkinci tüpü de ellerinizin arasında döndürerek çözeltinin iyice karışmasını sağlayınız.
- 10^{-3} 'lük dilüsyonunuz hazırdır.
- Aynı işlemi üçüncü tüpe de yapınız.



- Dikkatli, seri ve titiz davranınız.
- 15–30 dakika içinde homojenizasyon ve dilüsyon işlemlerini bitirmeniz gerektiğini unutmayınız.
- Çalışma sonrasında ellerinizi yıkayınız.
- Kullandığımız araç-gereçleri ve çalışma ortamını temizleyiniz.
- Laboratuvar önlüğünüzü çıkartıp asınız.
- Laboratuvar son kontrollerinizi yapınız.

Resim 3. 10: 2. tüpten 1 ml alınması



Resim 3. 11: Örneğin 3. tüpe boşaltılması

- 10^{-4} 'lük dilüsyonunuz hazırdır.



Resim 3. 12: 10^{-4} 'lük dilüsyon

KONTROL LİSTESİ

Bu faaliyet kapsamında aşağıda listelenen davranışlardan kazandığınız beceriler için **Evet**, kazanamadığınız beceriler için **Hayır** kutucuğuna (X) işareti koyarak kendinizi değerlendiriniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Konservenin bombajlı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
2. Konservenin açılacak olan kapağına kenetlere kadar % 70'lik alkol döküp bir dakika beklediniz mi?		
3. Daha sonra alkolü temiz bir havlu ile aldınız mı?		
4. Geriye kalan alkolü yakarak uzaklaştırdınız mı?		
5. Konserveyi steril bir konserve açacağı ile açtınız mı?		
6. Tartımda önceden sterilize edilmiş saat camı, alüminyum folyo veya 50 ml'lik küçük beher kullandınız mı?		
7. Ton balığı konservesinden steril bir kaşıkla hassas terazide ve aseptik koşullarda 10 g analiz örneği tarttınız mı?		
8. Analiz örneğini içinde 90 ml dilüsyon sıvısı bulunan steril stomacher torbasına aktardınız mı?		
9. Torbayı yerine yerleştirdiniz mi?		
10. Stomacheri 2 dakika çalıştırıp örneği homojenize ettiniz mi?		
11. Dört tane steril deney tüpü alıp tüplüğe yerleştirdiniz mi?		
12. Tamponlanmış peptonlu su çözeltisini ekim öncesi hazırlayıp sterilize ettiniz mi?		
13. Tüplere steril bir pipetle dokuzar ml tamponlanmış peptonlu su koydunuz mu?		
14. Homojenize edilen örnekten steril bir pipetle 1 ml alıp ilk tüpe boşalttınız mı?		
15. Tüpu elleriniz arasında döndürerek veya tüp karıştırıcı ile iyice karışmasını sağladınız mı?		
16. Yeni bir steril pipetle ilk tüpten 1 ml alıp ikinci tüpe boşalttınız mı?		
17. İkinci tüpu ellerinizin arasında döndürerek veya tüp karıştırıcıda homojen karışmayı sağladınız mı?		
18. Aynı işlemi üçüncü ve dördüncü tüple de yaptınız mı?		
19. Örneklerin homojenizasyonu ile ekim arasındaki sürenin 15–30 dakika arasında olmasına dikkat ettiniz mi?		

DEĞERLENDİRME

Değerlendirme sonunda “**Hayır**” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Bütün cevaplarınız “**Evet**” ise “Ölçme ve Değerlendirme”ye geçiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. 8 g gıda örneğinin $1/10(10^{-1})$ oranında seyrelmesi için homojenizasyonda kaç ml seyreltme çözeltisi gerekir?
A) 80 ml
B) 72 ml
C) 18 ml
D) 8 ml
E) 7,2 ml
2. Ondalık dilüsyon serisi hazırlamak için 15 g örnek tartılmış ise erlene kaç ml seyreltme çözeltisi konulması gerekir?
A) 9ml
B) 90 ml
C) 225 ml
D) 135 ml
E) 150 ml
3. 1-%20'lik glikoz çözeltisi 2-Tamponlanmış peptonlu su
3- Ringer çözeltisi 4-Serum fizyolojik
Yukarıdaki seyreltme çözeltilerinden hangisi ya da hangileri süt ürünlerinin dilüsyonunda kullanılmalıdır?
A) Yalnız 3
B) Yalnız 4
C) 1 ve 2
D) 1 ve 3
E) 2 ve 4
4. 10^{-5} 'lik dilüsyondan yapılan ekim sonucunda petri kutusunda 66 koloni sayılmışsa bu örnekte mikroorganizma sayısı ne kadardır?
A) 50.000 kob/ml
B) 330.000 kob /ml
C) 6.600.000 kob /ml
D) 6.600 kob /ml
E) 13.200.000 kob /ml
5. Tamponlanmış peptonlu su hangi mikroorganizmaların dilüsyonunda kullanılır?
A) Anaerob bakterilerin sayımında
B) Osmofilik mayaların sayımında
C) Halofilik mikroorganizmaların sayımında
D) EMS yöntemi ile sayımda
E) Salmonella sayımında

6. Ondalık dilüsyon serisi ile hazırlanan seyreltme üç tüple yapılmış ise üçüncü tüpte mikroorganizma sayısı ne kadar seyreltilmiş olur?
A) 1/10 oranında
B) 1/100 oranında
C) 1/1000 oranında
D) 1/10000 oranında
E) 1/100000 oranında
7. Standart bir mikrobiyolojik analizde hangi oranda seyreltme yapılması yeterlidir?
A) 10^{-1} 'lik
B) 10^{-3} 'lük
C) 10^{-10} 'lük
D) 10^{-5} 'lik
E) 1/4' lük
8. Mikrobiyolojik açıdan incelenecek gıda örneği içindeki mikroorganizma sayısının belli oranlarda sulandırılarak daha aza indirilmesi işlemine ne denir?
A) Homojenizasyon
B) Dilüsyon
C) Örnek hazırlama
D) İndirgeme
E) Mikrobiyolojik analiz
9. TS 6235 ISO 6887'e uygun genel amaçlı seyreltme çözeltileri aşağıdakilerden hangisidir?
A) 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltileri
B) % 15'lik sodyum klorür çözeltileri
C) % 0.1'lik peptonlu su
D) 20'lik glikoz çözeltileri
E) Fizyolojik tuzlu su
10. Dilüsyon faktörü 100000 olan dilüsyonun seyreltme oranı aşağıdakilerden hangisidir?
A) 10^{-1}
B) 10^{-3}
C) 1
D) 10^{-5}
E) 1/5

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

11. Dilüsyonun amacı, bir materyaldeki hücre sayısını bir seri seyreltme yaparak kademeli bir şekilde azaltmak ve mikroorganizma _____ kolaylaştırmaktır.
12. Desimal dilüsyon serisi hazırlanırken tüplere _____ seyreltme çözeltileri konur.

13. Dilüsyon işlemleri ve ekim arasında geçen süre kısa olmalı _____ bitirilmelidir.
14. _____ yönteminde 1/9 oranında seyreltme yapılması zorunludur.
15. %15'lik sodyum klorür çözeltisi, _____ mikroorganizmaların analizinde kullanılan seyreltme çözeltisidir.
16. Mikrobiyolojik sayım analizlerinde petri kutularında _____ bulunması istenir.

15 dakika	60 dakika
%0.1'lik peptonlu su	Halofilik
Osmofilik	9 ml
10⁻³'lük	Sayımı
30-300 koloni	EMS

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

KONTROL LİSTESİ

Bu faaliyet kapsamında aşağıda listelenen davranışlardan kazandığınız beceriler için **Evet**, kazanamadığınız beceriler için **Hayır** kutucuğuna (X) işareti koyarak kendinizi değerlendiriniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
Üretim yerlerinden mikrobiyolojik örnek alma ile ilgili yeterlilikler		
1. Size verilen örnekleme planına göre kaç örnek alacağınızı tespit ettiniz mi?		
2. Örnek alma kabının kırık veya çatlağı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
3. Örnek alma kabının ağzının sıkıca kapatılıp kapatılmadığını kontrol ettiniz mi?		
4. Örnek alma kabını önceden sterilize ettiniz mi?		
5. Örnek alırken kullanacağınız kaşık bıçak vb. araçları önceden sterilize ettiniz mi?		
6. Her partiden örnek aldınız mı?		
7. Örnek seçiminde tercihlerden kaçındınız mı?		
8. Tesadüfî örnekleme ile örnek almaya dikkat ettiniz mi?		
9. Örnek alma sırasında çevreden mikroorganizma kontaminasyonunu önlemek için hijyen kurallarını uyguladınız mı?		
10. Örnekleri aldıktan sonra örnek alma kabını sıkıca kapattınız mı?		
11. Seçtiğiniz örneklerin tüm partiyi temsil etmesine dikkat ettiniz mi?		
12. Örneğin alınması ve örnek kabına aktarılması işlemini alev çatısı oluşturarak yaptınız mı?		
13. Örnekleme raporunuzu kuralına uygun bir şekilde yazdınız mı?		
14. Aldığınız örneği hemen laboratuvara getirdiniz mi?		
Ön örnekten analiz örneği alma ile ilgili yeterlilikler		
15. Peynir örneklerini laboratuvara uygun şekilde taşıdınız mı?		
16. Peynir örneklerini laboratuvara uygun koşullarda getiremediyseniz örnekle ilgili olumsuzlukları kabul formuna işlediniz mi?		
17. Peynir örneklerini etiketleyip üzerine gerekli bilgileri eksiksiz yazdınız mı?		
18. Peynir örneklerini analize kadar buzdolabında saklandınız mı?		
19. Ana örnekten analiz örneği kadar şahit örnek ayırıp analiz sonuna kadar saklanmasını sağladınız mı?		
20. Tartımda önceden sterilize edilmiş saat camı veya alüminyum folyo veya 50 ml'lik küçük beher kullandınız mı?		

21. Analiz örneğinden hassas terazide ve aseptik koşullarda 25 g tarttınız mı?		
22. Homojenizasyon için 225 g seyreltme çözeltisi hazırladınız mı?		
23. Blenderin çelik gövdesi ve kapağını önceden sterilize ettiniz mi?		
24. Peynirden alınan analiz örneğinin oda sıcaklığında olmasına dikkat ettiniz mi?		
25. Örneği blendera aktarıp üzerine bir miktar seyreltme çözeltisi eklediniz mi?		
26. Blenderi düşük hızda çalıştırdınız mı?		
27. Daha sonra blenderin hızını arttırarak örneği 2 dakika parçalayıp homojenize edilmesini sağladınız mı?		
28. 2–3 dakika oluşan köpüğün dağılmasını beklediniz mi?		
29. Homojenize edilen peynir örneğini 250 ml'lik boş ve steril bir erlene aktardınız mı?		
30. Seyreltme sıvısının geri kalan kısmı ile blenderi çalkalayıp erlene ilave ettiniz mi?		
31. Kullandığınız araç-gereci temizleyip sterilize ettiniz mi?		
Analiz örneğine göre dilüsyon serisi hazırlama ile ilgili yeterlikler		
32. Üç tane steril deney tüpü alıp tüplüğe yerleştirdiniz mi?		
33. Ekim öncesi 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisini hazırladınız mı?		
34. Tüplere bir pipetle dokuzar ml 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisi koydunuz mu?		
35. İçinde Ringer çözeltisi bulunan tüpleri önceden sterilize ettiniz mi?		
36. Homojenize edilen örnekten steril bir pipetle 1ml alıp ilk tüpe boşalttınız mı?		
37. Tüpü ellerinizin arasında döndürerek veya tüp karıştırıcı ile karıştırdınız mı?		
38. Yeni bir steril pipetle ilk tüpten 1ml alıp ikinci tüpe boşalttınız mı?		
39. İkinci tüpü ellerinizin arasında döndürerek veya tüp karıştırıcıda homojen karışmayı sağladınız mı?		
40. Aynı işlemi üçüncü tüple de yaptınız mı?		
41. Peynir örneklerinin homojenizasyonu ile ekim arası geçen sürenin 15–30 dakika arasında olmasına dikkat ettiniz mi?		

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ -1'İN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	B
3	D
4	C
5	E
6	B
7	A
8	E
9	C
10	D

ÖĞRENME FAALİYETİ-2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	A
3	C
4	D
5	E
6	B
7	A
8	C
9	D
10	E
11	30–32 °C'da
12	1500–2000 devir
13	erlen
14	%70'lik alkol
15	Aseptik

ÖĞRENME FAALİYETİ -3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	D
3	A
4	C
5	E
6	C
7	B
8	B
9	C
10	D
11	Sayımı
12	9 ml
13	15 dakika
14	EMS
15	Halofilik
16	30–300 koloni

KAYNAKÇA

- DOKUZLU Canan, **Gıda Analizleri**, Marmara Kitabevi, Bursa, 2004.
- GÜRGÜN Veliddin, Kadir HALKMAN, **Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri** Gıda Teknolojisi Derneği Yayın Nu.:7, Ankara, 1988.
- HALKMAN A.Kadir, Mustafa AKÇELİK, **Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları**, 1. baskı, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd Şti, Ankara, 2005.
- HALKMAN A.Kadir, Hilal B. DOĞAN, **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları**, Genişletilmiş 2. Baskı, **Gıda Mikrobiyoloji Laboratuvarı; Genel Bilgiler**, s. 185–201, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 2000.
- HALKMAN A.Kadir, Mustafa AKÇELİK, **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları**, Genişletilmiş 2. Baskı, **Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi 1, Temel İlkeler**, s. 203–228, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 2000.
- HALKMAN A.Kadir, Mustafa AKÇELİK, **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları**, Genişletilmiş 2. Baskı, **Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi 2, Mikroorganizma Sayımı**, s. 229–254, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 2000.
- KARAPINAR Mehmet, **Gıdaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü**, Ege Üniversitesi Yayın Nu.:6, İzmir, 1990.
- TEMİZ Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2000.