

F2. Çiğ Sütte Metilen Mavisi ile Hızlı Mikrobiyolojik Analiz

1. Genel Bilgi

Süt fabrikalarına gelen çiğ sütün hızlı bir şekilde mikrobiyolojik yükünün belirlenmesi gereklidir. Direk mikroskopik sayım ile bu analiz yapılabilirse de canlı ve ölü mikroorganizma sayısı anlaşılabilir. Basit olarak sütün içine ilave edilecek metilen mavisi çözeltisinin rengi, mikrobiyel aktivite sonunda indirgenerek açılır. Sütte canlı mikroorganizma sayısı ne kadar yüksek ise bu süre o denli kısa olacaktır.

Gıdaların hızlı yöntemlerle mikrobiyolojik analizi üzerinde çok yoğun çalışılmaktadır. Metabolizmaya dayalı yöntemler, özellikle yüksek sayılarda mikroorganizma varlığının kısa sürede saptanması için kullanılmaktadır. Mikroorganizma faaliyeti sonunda çeşitli metabolik ürünler ortama salınır. Bunların saptanma süresi ne kadar kısa ise, ortamda o denli yüksek sayıda mikroorganizma vardır. Süt fabrikalarında metilen mavisi ve resazurin indirgeme testleri ile sütün mikrobiyel yükü hakkında kısa sürede (2–6 saat) bilgi alınabilir. Empedansa dayalı analizler uluslararası standartlarda yer almıştır. CO₂ çıkışının izlenmesi üzerine kurulu teknikler de vardır.

Süt fabrikalarında metilen mavisi ve resazurin indirgeme testleri kullanılarak yapılan analizde en büyük engel, sütün antibiyotik içermesidir. Antibiyotik içeren sütte mikroorganizma gelişmesi olmayacak ya da çok yavaş gelişme sonunda aslında yüksek sayıda mikroorganizma içeren süt, hatalı olarak "temiz" olarak değerlendirilecektir.

Amaç, bu bağlantıyı verecek grafiğin elde edilmesidir.

2. Analiz ve Değerlendirme

Analizi yapılacak sütün 10 mL'si steril bir tüpe alınıp, üzerine filtre ile sterilize edilmiş 50 ppm metilen mavisi çözeltisinden 1 mL ilave edilecek ve su banyosunda 37°C'da inkübasyona bırakılacaktır. Sütte bulunan bakterilerin gelişmesi sonunda mavi renkli boya indirgenip, sütün kendi rengini aldığı süre belirlenecektir.

Paralel olarak standart mikrobiyolojik analiz ile çiğ sütte toplam bakteri analizi de yapılacaktır. Toplam bakteri analizi için kullanılacak besiyeri, Skim Milk + Plate Count Agardır (SM + PCA) ve inkübasyon parametresi 28°–30 °C; 48 saattir.

Her uygulamada 3 ayrı süt kullanılacaktır. Sütler, Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi laboratuvarı tarafından önceden az, orta ve çok sayıda mikroorganizma yükü içermesi sağlanarak kontamine edilecektir.

3. Sonuçların Verilmesi

Her uygulamada 3 grup oluşturulacaktır. Her grup bağımsız olarak 3 ayrı sütte metilen mavisi indirgeme süresi (dakika) ile sütteki bakteri sayısını (log kob/ml) tablo haline getirip Excel tablosuna taşıyacak ve ortalamanın doğrusal grafiği üzerinden "y = a + bx" eşitliğinden hesaplayarak tek rapor verecektir. SM + PCA besiyerinde elde edilecek koloni sayılarına göre sütteki bakteri sayısının hesaplanma formülü, F1; Gıdalarda Toplam *Enterobacteriaceae* Sayımı bölümünde verilmiştir.

ÖRNEK	Grup 1	Grup 2	Grup 3
A Örneği Süre (dk)	8	15	6
A Örneği sayı (log kob/ml)	6,15	6,15	6,15
B Örneği Süre (dk)			
B Örneği sayı (log kob/ml)			
C Örneği Süre (dk)			
C Örneği sayı (log kob/ml)			

Kaynaklar

www.mikrobiyoloji.org sitesi

Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (Ankara Üniversitesi Yayını)

Gıda Mikrobiyolojisi (Ege Üniversitesi Yayını)