

# HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN GIDA ANALİZLERİNİN ÖNEMİ

Fadime Gül<sup>1</sup>, Doç. Dr. Ayşe Emel Önal<sup>2</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

<sup>2</sup> İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İSTANBUL

## ÖZET

Gıdaların neden olduğu sağlık sorunları arasında en sık gıda intoksikasyonları akut sorunlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda gıdalar yoluyla insan vücuduna giren ve kronik sağlık sorunları açısından tehdit oluşturan maddelerin, gıdalara bilerek katılan kimyasalların (gıda katkı maddeleri) ve üretim sırasında istenmeden bulaşan kimyasalların

(kontaminanlar, tarımsal kalıntılar) gıda güvenliğini olumsuz yönde etkilediği görülmektedir.

Bu yazıda, halk sağlığı açısından önemli olan gıdaların mikrobiyolojik ve kimyasal analizi incelenmektedir.

• **Anahtar Kelimeler:** Gıda güvenliği, gıdaların mikrobiyolojik analizi, gıdaların kimyasal analizi, gıda intoksikasyonları. **Nobel Med 2008; 4(3): 7-14**

## ABSTRACT

### THE SIGNIFICANCE OF FOOD ANALYSIS IN PUBLIC HEALTH

Food poisoning is the most commonly seen acute problem among the health problems caused by foods.

In recent years, ingredients which enter the human body as food and cause chronic health problems

(chemicals added to food on purpose) (food additives) and chemicals that infect food accidentally during production (contaminants, agricultural remnants) are important problems originated by food. In this article, the microbiologic analysis and chemical analysis of food which is important for public health is studied.

• **Key Words:** Food safety, microbiologic analysis of food, chemical analysis of food, food intoxication. **Nobel Med 2008; 4(3): 7-14**

## GİRİŞ

Gıda güvenliği, insan sağlığı için öncelikli konuların başında gelir. Gıdaların neden olduğu sağlık sorunları içinde ön sırayı, gıdalardaki mikrobiyolojik kirlenme almaktadır. Bunun ardından ikinci sırada, gıdalardaki kontrol edilmeyen kimyasal kirlilikler bulunmaktadır. Sonuçta önemli ekonomik kayıplar ve kısa-uzun vadeli sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır.<sup>1</sup>

Günümüzde bu sorunların giderilmesinde kabul edilen en etkin yaklaşım HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) yani Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları sistemidir. Sistemin prensibi, ürünle ilgili tehlikelerin belirlenmesi ve kontrol altında tutulabilmeleri için gerekli önlemlerin alınmasıdır. HACCP uygulamalarında üretimin belli basamaklarında fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizlere gereksinim duyulmaktadır.<sup>2</sup> 27.5.2004 tarihinde kabul edilen Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun'un, (Kanun No: 5179) amacı, gıda maddeleri ile ilgili hizmetlere dair esas ve usulleri belirlemektir.<sup>3</sup>

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe girmiştir. Bu yönetmelik gıdaların kalite ve hijyenle ilgili özelliklerini, katkı maddelerini, aroma maddelerini, pestisit ve veteriner ilaç kalıntılarını, gıda bulaşanlarını, ambalaj ve işaretleme, depolama ve taşıma kurallarını, numune alma ve analiz metodlarını kapsar.<sup>4</sup> Bu yazıda bazı gıda intoksikasyonları ile gıdaların mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri üzerinde durmayı amaçladık.

## GIDALARDA MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER

### A- Toplam Canlı Mikroorganizma Sayısının Belirlenmesi

Toplam canlı mikroorganizma sayısı, ürünün raf ömrü ve ortam koşullarının patojen bakteri gelişmesi için uygun olup olmadığının bir göstergesidir. Bu amaçla aerobik mezofilik bakteri sayımı yapılır. Zehirlemeye neden olan gıdalarda mezofilik bakteri sayısı nadiren  $10^5/g$ 'ın altında olup, genellikle  $10^6$ - $10^7/g$  düzeyindedir.

### Koloni Sayım Yöntemleri

**Dökme Plak Yöntemi:** Steril petrilere  $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, \dots$  seyreltimlerden paralelli veya üçlü olarak 1'er ml inokulum aktarılır. Agarlı kültür ortamı su banyosunda veya mikrodalga fırında eritilir,  $44-46^\circ C$ 'ye soğutulduktan sonra, petrilere 10-15 ml dökülür. İnokulum ve agarlı besiyeri, petrilere ileri-geri ve dairesel hareketler

uygulayarak 10-15 saniye karıştırılır. Sterilite kontrolü için orijinal besiyeri ve seyreltim sıvısı ile aynı işlemler tekrarlanılarak, inkübasyona tabii tutulur. Besiyerleri katılaştıktan sonra petri kutuları ters çevrilerek, önerilen sıcaklıkta ve sürede inkübe edilir. İnkübasyon bitiminde 25 ila 250 (veya 30-300) arasında koloni içeren seyreltimlerin petrilere seçilir ve sayılır. Aritmetik ortalamaları alınarak seyreltim faktörü ile çarpılır, örneğin gram veya mililitresindeki mikroorganizma sayısı (kob/g: koloni oluşturan birim/gram) olarak belirlenir.

**Yayma Plak Yöntemi:** Agarlı besi ortamı (10-15 ml) steril petrilere dökülür, katılaşması ve yüzeyin kuruması sağlanır. Yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan seyreltimlerden 0,1'er ml petrilere ekim yapılır. İnkübasyon ve sayım, dökme plak yönteminde olduğu gibi yapılır.

**Spiral Plak Yöntemi:** Besiyeri içeren petri kutularına spiral şeklinde (Archimedes spirali), konsantrasyon merkezden kenarlara doğru seyrececek şekilde ekim yapılmaktadır. Bu yöntemde agarlı besi ortamının her bölmesine bırakılan sıvı miktarı bellidir. İnkübasyonu takiben sayım, sisteme ait bir şablon kullanılarak gözle veya lazerle çalışan elektronik sayıcılarla yapılır. Aynı petride oldukça geniş aralıktaki seyreltim sonuçlarını bir arada görmek mümkündür. Avantajları; mikrobiyolojik analizlerde ekim işlemlerinin kolaylaştırılması, tekrar sayısının azalması, kültür ortam tüketiminin %61, petri sarfiyatının %83 oranında azalması olarak sıralanmaktadır.

**Membran Filtrasyon Tekniği:** Bu yöntemde, örnekte mikroorganizma yükünün çok düşük düzeylerde olması durumunda da mikroorganizma sayısının saptanabilmesi mümkün olur. Membran filtrelerin gözenek büyüklükleri 10 nm ile 8  $\mu m$  arasındadır. Örnek doğrudan veya seyreltilerek membran filtreden vakum altında süzülür, membranın yüzeyinde kalan bakteriler membrana uygun bir besiyeri veya besiyeri emdirilmiş absorban ped üzerinde inkübe edilerek saptanmaktadır. Su, içecekler, şeker çözeltileri ve havanın rutin mikrobiyolojik analizlerinde kullanılmaktadır.

**En Muhtemel Sayı Yöntemi:** Gıda maddesi 1:10 oranında %0,1'lik peptonlu su ile homojenize edilir ( $10^{-1}$ ) ve aynı şekilde ileri seyreltimleri yapılır ( $10^{-2}, 10^{-3}, \dots$ ). Her bir seyreltimden, içinde sıvı kültür ortam bulunan üçer/dörder/beşer/onar tüpe, 1'er ml inoküle edilir. İnoküle edilen tüp sayısı arttıkça, analizin hassasiyeti artmaktadır. Ancak uygulamada yaygın olarak üçlü tüp yöntemi uygulanmaktadır. Araştırılmakta olan mikroorganizma için tipik gelişme gözlenen (bulanıklık, gaz oluşumu, renk değişimi vb.) tüplerin sayısı kaydedilir. Seyreltim oranları →

dikkate alınarak, En Muhtemel Sayı (EMS) (Most Probable Number=MPN) çizelgelerinden örnekteki mikroorganizma sayısı bulunur.

**Hızlı Analiz Yöntemleri:** Yeni geliştirilen besiyeri formülasyonları (MUG (4-methylumbelliferyl-glucuronide), kromojenik agarlar vb.), daha kısa süreler içinde sonuç alınmasına olanak tanımaktadır.

## B- Diğer Analiz Yöntemleri ve Kullanım Amaçları

**İndikatör Mikroorganizma Sayısının Belirlenmesi:** İndikatör mikroorganizmalardan koliform ve diğer Enterobacteriaceae grubu bakteriler, ürünlerin yetersiz hijyen koşullarında işlendiğini göstermektedir. *Escherichia coli* ve diğer fekal koliformlar doğrudan, patojen bakteri indikatörleridir.

**Gıda Bozulma Etkeni Mikroorganizmaların Belirlenmesi:** Bozulmanın varlığını veya olasılığını, dolayısıyla ürünün ticari kalitesini göstermektedir. Gıdalarda mikroorganizma sayısı  $10^6$ - $10^8$ /g'ın üzerine çıktığında, bozulma görsel olarak da izlenebilmektedir. Mayalar, bazı *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* ve *Lactobacillus* türleri gıda bozulmalarına neden olan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır.

**Patojen ve Toksik Mikroorganizmaların Belirlenmesi:** Patojen ve toksik mikroorganizmalar, enfeksiyon ve intoksikasyon etkeni organizmalardan oluşmaktadır. Virüslerin hepsi patojen olmakla birlikte, bazıları insanlarda hastalıklara neden olurlar. Zehirlenme etkeni mikroorganizmaların enfeksiyon dozları mikroorganizma ve kişiye bağlı olarak değişmekle birlikte, genel olarak  $10^5$ /g ve üzerindeki düzeydedir. Bebekler, yaşlılar ve hastalar gibi riskli gruplarda çok düşük kontaminasyon seviyelerinde de (10/g) sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir.

**Mikrobiyal Metabolitlerin Analizi:** Mikroorganizma gelişmesi sonucunda ortamda oluşan toksinler, laktik asit, diasetil, uçucu yağ asitleri, etanol, merkaptanlar,  $H_2S$ , serbest amino asitler, asetik asit, amonyak, histamin, tiobarbütirik asit, trimetilamin vb. bileşikler belirlenerek ürünün kalitesi konusunda bilgi sahibi olunabilmektedir. Hızlı yöntemler, bu metabolik ürünler dikkate alınarak geliştirilmektedir.<sup>5</sup>

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ve RPLA (reversed passive latex agglutination) yöntemleriyle bakteriyel toksinler belirlenebilir. Gıdalardan toksin ekstraksiyonu şu şekilde yapılır: 10 g örnek üzerine 10 ml %0,85'lik NaCl çözeltisi eklenir, karıştırılır ve homojenize edilir. Soğutmalı santrifüjde 900g'de 30 dakika 4°C'de karışım santrifüj edilir. Süpernatant, 0,2-0,45 µm gözenekli filtreden süzülür. Elde edilen

Gıda	Mikroorganizma
Doğal maden suları	Koliform, enterokok, anaerobik sülfid indirgeyen bakteri sporları
Peynir	Koliform, fekal koliform, patojen stafilokok, <i>Salmonella</i> spp
Süt tozu	Aerobik mezofilik, koliform
Dondurma	Aerobik mezofilik, koliform, fekal koliform, <i>S.aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp
Kıyma	Aerobik mezofilik, fekal koliform, <i>S.aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp., anaerobik sülfid indirgeyenler
Tavuk eti	Aerobik mezofilik, fekal koliform, <i>S.aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp., anaerobik sülfid indirgeyenler
Balık filetosu	Aerobik mezofilik, fekal koliform, <i>S.aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp., anaerobik sülfid indirgeyenler
Kabuklu su ürünleri	Fekal koliform, fekal streptokok, <i>Salmonella</i> spp
Derin dondurulmuş sebzeler	Aerobik bakteri, koliform, fekal koliform, anaerobik sülfid indirgeyenler, <i>S.aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp., maya, küf
Hazır yemekler	Aerobik mezofilik, koliform, fekal koliform, <i>Salmonella</i> spp., anaerobik sülfid indirgeyenler, <i>S.aureus</i>

filtrat toksin analizinde kullanılır.

Kültürden toksin ekstraksiyonu şu şekilde yapılır: Tryptone Soya Broth'a inokülasyon yapılır. Tercihen çalkalanarak, 18-24 saat 37°C'de inkübe edilir. Üreme gözlendikten sonra örnek 900g'de 20 dakika santrifüj edilir veya 0,2-0,45 µm gözenekli düşük protein-bağlayan membran filtreden süzülür. Elde edilen filtrat, toksin analizinde kullanılır.

**Mikroskopik Sayımlar:** Genelde dezavantajları olsa da bazı yöntemler kullanılmaktadır. Breed yöntemi, çiğ sütteki bakteri sayısını belirlemede kullanılır. Canlı ve ölü bakteriler beraber sayılır. Howard lamı ile başta domates ve ürünleri olmak üzere, küf miselleri incelenir. Thoma lamı ise maya sayım yöntemidir. Canlı ve ölü bakteriler beraber sayılır.<sup>6</sup>

Gıdalarda bulunabilen patojen mikroorganizmalar Tablo 1'de görülmektedir. Bazı mikroorganizmalara bağlı zehirlenmeler önemli bir halk sağlığı sorunudur. Klinik belirtileri farklı seyreden bu zehirlenmelerde mikroorganizmaların analiz yöntemleri de farklıdır.

## C- Patojen Mikroorganizmaların Neden Olduğu Zehirlenmeler ve Analiz Yöntemleri

### Enterobacteriaceae Grubu

Enterobacteriaceae grubu koliform bakteriler (fekal koliformlar: *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Serratia*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Yersinia*), *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, →

Plesiomonas'tır. Toplam Enterobacteriaceae sayısı ile fekal kontaminasyon arasında yakın bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Enterobacteriaceae ve koliform grubu bakteri analizleri ile, gıdaların hijyenik koşullarda işlenip işlenmediği konusunda değerlendirme yapılabilmektedir. Isıl işlem görmüş gıdalarda bu grup organizmaların bulunmaları:

- a-** Başlangıç bakteri sayısının yüksek olması nedeniyle, ısı işlem uygulamasının yetersiz kaldığını,
- b-** Isıl işlem sonrası ortam koşullarının, bakteri sayısının tekrar artmasına uygun olduğunu,
- c-** Isıl işlem sonrası kontaminasyon oluşumunu ifade etmektedir.<sup>5</sup>

Bu mikroorganizmalar kirli gıdalarla vücuda girerler. Salmonella, Shigella ve Yersinia gibi patojenler, genelde ağır ishal vakaları olarak kendilerini belli ederler. *E. coli* ve Klebsiella gibi fırsatçı patojenlerin sağlıklı bir konağı hasta edecek özellikleri yoktur. Bağışıklığı yetersiz olan bir konakta ise enfeksiyona yol açarlar. Septisemi, solunum yolu, idrar yolu enfeksiyonları veya abdominal enfeksiyonlara neden olabilirler.<sup>7</sup> Toplam enterobacteriaceae sayım yöntemi uygulanırken ekimde Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) kullanılır. Koliform bakteriler, çevrelerinde mor renkli zon bulunan tipik koloniler oluştururlar.

**Salmonella spp. Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** Sıklıkla *S. typhimurium* ve *S. enteridis* izole edilir. Et ve sakatatta, özellikle tavuklarda yaygın olarak, bazen yumurtanın dış yüzeyinde ve içinde bulunabilmektedir. Gıdalara haşere ile, insanlar vasıtasıyla ve kontamine hammadde ile bulaşabilmektedir. Zehirlenmelerde infektif doz yaklaşık  $10^6$  olarak belirtilmektedir. Zehirlenmesinde karın ağrısı, diyare, kusma, baş ağrısı ve ateş gibi belirtiler görülmektedir. Hastalık 1-8 gün (bazen 14 gün) sürebilmektedir. Bebek, çocuk, yaşlı ve hasta bireyler riskli gruptur.

Gıdalardan izolasyonu için önce selektif olmayan zenginleştirme ile örnek tamponlanmış peptonlu su içine alınıp inkübe edilir. Sonra selektif besiyerinde zenginleştirme ile ön zenginleştirme ortamından alınıp, Selenite cystine besiyeri ve Rappaport Vassiliadis-RV besiyerine ekim yapılır ve inkübe edilir. Selektif katı kültür ortamına ekim aşamasında, her zenginleştirme ortamından alınıp Brilliant Green Phenol Red agar (BGPR) ve Taylor's Xylose Lysine Desoxycholate agara ekim yapıp inkübe edilir. Biyokimyasal analizler için triple Sugar Iron (TSI) agar, Urea agar, Lysine Decarboxylase ortamları kullanılmakta; beta-galaktozidaz, VP ve indol testlerinden yararlanılmaktadır.

Serolojik testler polyvalent O (somatik), polyvalent

H (flagellar) ve vi antijenleri ile serolojik testler uygulanarak, doğrulama testleri gerçekleştirilir. Hızlı test yöntemi olarak oxiid Salmonella Rapid Test'i kullanılmaktadır. Bu test su, süt, peynir, margarin, tereyağı, yoğurt, soğutulmuş tatlılar, hayvansal ve bitkisel kökenli gıda ham maddeleri, kuru gıdalar, balık ve balık ürünleri, bazı dondurulmuş gıdalarda ve hayvan yemlerinde 42 saatte Salmonella'ları saptar. İyi ışık alan bir ortamda kap içindeki tüplerin üst kısmındaki indikatör bölümleri, renk değişikliği yönünden kontrol edilir.

**E. coli Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** *E. coli*'nin bazı alt türleri patojendir. *E. coli*'lerin bulaşma yolları, yeterince pişirilmemiş et ve et ürünleridir.<sup>5</sup> *E. coli* türleri akut yada kronik diyare, kolit, basilli dizanteri gibi değişik klinik tablolara yol açmaktadır.<sup>5, 7</sup> Enfeksiyon dozunun düşük olması, laboratuvar çalışanları için de bir tehlike kaynağıdır. Analizlerde koloni sayım yöntemi ile MacConkey Agar kullanılabilir. Doğrulama için, lateks aglütinasyon prensibiyle çalışan kitler vardır.

**S. aureus Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** *S. aureus* ısıya dayanıklı toksin oluşturur. Toksin  $100^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika aktivitesini koruyabilmektedir. Gıdalarda *S. aureus* sayısı  $10^5/\text{g}$ 'ın üzerine çıktığında toksin riski oluşmaktadır. Gıdalara genellikle çalışan personel vasıtasıyla (eller, öksürme, hapşırma vb. yollarla) geçebilmektedir. Gıda zehirlenmesine neden olan soğuk etler ve diğer et yemekleri, sütlü tatlılar, kekler, krema ilk sıralarda yer almakta, çiğ etlerin de %38'inde saptandığı belirtilmektedir. *S. aureus* kusma, mide krampları, diyare ve karın ağrısı şeklindeki zehirlenme semptomları 2-6 saat arasında ortaya çıkmakta, 6-24 saat sürmektedir. Analiz yöntemleri, bakteri sayısının tespiti ve enterotoksin analizi olmak üzere başlıca iki gruptur. Baird-Parker seçici besiyeri, hasar görmüş hücreler de dahil olmak üzere *S. aureus*'un gıdalardan doğrudan izolasyonuna olanak tanıyan bir ortamdır. Doğrulama için koagülaz ve termonükleaz testleri yapılmaktadır.

### Sülfite İndirgeyen Anaerobik Bakteriler

Gıdalarda hijyenik kalite belirlenmesinde, kontaminasyon indikatörleri olarak değerlendirilirler. Bu gruptaki bakterilerden gıda kaynaklı zehirlenme etkeni olarak, başlıca *C. perfringens* ve *C. botulinum* yer almaktadır. Zehirlenme, ısı işlemi takiben uygun koşullarda soğutulmayan gıdalardan kaynaklanmaktadır. En sık bozuk konservelerin yenmesi ile görülür. Et ve et ürünleri risklidir.

Enterotoksin A, C ve D tipi, *C. perfringens* türlerinden izole edilmektedir. A tipi daha hafif seyreden klasik →

gıda zehirlenmesine neden olurken, C tipi nekrotik enteritis olarak adlandırılan önemli sağlık sorunlarına neden olabilen zehirlenme etkenidir. Gıdalardan düşük düzeylerde *C. perfringens* izole edilmesi, her zaman gıda zehirlenme riskini göstermez. Ancak yüksek miktarlarda varlığı, tehlikeyi ifade etmektedir. Bu nedenle sayım önemlidir. Tryptose Sulphite Iron Citrate Cyloserine (TSC) agar veya neomycin içeren kanlı agar kullanılarak 35-37°C'de 20-24 saat anaerobik koşullarda inkübasyon ile izole edilebilmektedir. Enterotoksin analizi, zehirlenme tanısında önemli rol oynamaktadır. Doğrulaması hareketlilik (-), nitrat indirgeme (+), laktoz fermentasyonu (+) ve jelatin eritme (+) testleri ile yapılır.

### Diğer Aerob ve Anaerob Bakteriler

**B. cereus Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** Genellikle 10<sup>7</sup>/g düzeylerinde intoksikasyon etkenidir.<sup>5</sup> *B. cereus*'un diğer ekzotoksinlerine ek olarak biri ısıya dirençli, diğeri ise ısıya duyarlı olan iki enterotoksini bulunmaktadır. Isıya dirençli enterotoksin emetik formda, ısıya duyarlı enterotoksin ise ishal formunda besin zehirlenmesi tablolarından sorumludur.<sup>8</sup> Et, süt, sebze ve balık gibi gıdalarda ishal tipi gıda zehirlenmesiyle ilişkilidir. Kusma tipi salgınlar, genellikle pirinç ürünleri ile görülmekte olup bununla beraber patates, makarna ve peynir ürünleri gibi kontamine olan nişastalı gıdalar da bu tip salgınlarla ilgilidir.<sup>9</sup>

İzolasyonunda Mannitol Egg-yolk Phenol Red Polymixin (MYP) Agar gibi selektif ortamların kullanımı önerilmektedir. Homojenizasyon, ileri seyreltimler ve ekim yapıp inkübe edilir. Sonra tipik koloniler sayılır. Enterotoksini, Reversed Passive Latex Agglutinasyon kitleri ile doğrudan saptanabilmektedir.

**L. monocytogenes Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** Diğer gıda kaynaklı patojenlerden farklı olarak doğada yaygın olarak bulunur. Düşük pH ve yüksek NaCl konsantrasyonlarına dirençlidir. Mikroaerobik ve psikrotrofikdir. Düşük sıcaklıklarda (2-4°C) gelişme özelliğine sahiptir. Böylece gıda üretim zincirinin her aşamasında ürüne bulaşabilir. Gıdalarda 100 kob/g'ın üzerindeki kontaminasyon düzeylerinde hastalık ortaya çıkabilir. Çiğ ve işlem görmüş gıdalarda yaygın olarak gözlenmektedir. Riskli gıda grupları süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, lahana, salatalık ve patates gibi düşük asitli sebzelerdir. Bazı yumuşak peynir çeşitleri ile et ürünlerinde ve tüketime hazır salatalarda yüksek miktarda saptanabilmektedir. Listeriyozis vakalarının %30'unun ölümle sonuçlandığından, gıdalardaki analizi önemlidir. Hamileler sıklıkla ilk üç ayda etkilenmekte, hastalık ateş ve baş ağrısı ile seyretmekte; ölü doğumlar, düşükler ve menenjit

gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Listeriyozis vakalarında merkezi sinir sistemi etkilenmekte, menenjit ve septisemi sıklıkla gözlenmektedir. Analizlerde kültürel yöntemler ve hızlı testler kullanılabilir. (Kolonisi sayım yöntemi, zenginleştirme yöntemi, doğrulama testleri, hareket (patojenler yuvarlanarak hareket eder), Gram (+), katalaz (+), oksidaz (-), D-glukoz, D-salisin, L-ramnoz, D-ksiloz testleri, nitrat indirgeme, CAMP; hızlı test).

**C. jejuni Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** İnsanlardan elde edilen izolatların %99'undan fazlası *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari*'dir. Hastalık yapma dozu, 500-10.000 hücre arasında değişir. *Campylobacter* pek çok vahşi ve evcil hayvanın özellikle kuşların barsaklarında bulunur. *Campylobacter* ile ilişkili hastalıkların %70'i bu hayvanlardan bulaşmış gıda ve suların tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu gıdalar arasında pastörize edilmemiş süt, et, tavuk, kabuklu deniz hayvanı, meyve ve sebzeler bulunur. Hafif ishal ya da kanlı ishale kadar şiddetli ishale sebep olabilir. İnfeksiyonlar menenjit, pnömoni, düşük ve Guillain-Barré sendromunun şiddetli bir formudur.

Süt ürünleri analizi yapılırken örneğin pH'sı 7,6'ya getirilir. 12.000xg'de 40 dakika santrifüj yapılır. Süpernatant atılır. Çöken kısım 10 ml antibiyotikli Bolton Broth içerisine alınır. 90 ml Bolton Broth içerisinde 35°C'de mikroaerobik koşullarda 4 saat ön zenginleştirme yapılır. 42°C'de mikroaerofilik koşullarda 20-44 saat zenginleştirme için inkübasyonda tutulur.<sup>5</sup>

**V. parahaemolyticus Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri:** Avrupa kıtasında nadiren rastlanmakla birlikte, Japonya gibi deniz ürünlerinin sıklıkla ve iyi pişirilmeden yendiği ülkelerde tüm besin zehirlenmelerinin hemen hemen 2/3'ünden sorumludur. Diğer pek çok bakterinin aksine yüksek tuz konsantrasyonlu ortamlarda yaşarlar. Özellikle yaz aylarında, deniz mevsiminde, yengeç, istiridy ve karides gibi kabuklu deniz hayvanları ve balıkların iyi pişirilmeden yenmesi ile gelişir. İnkübasyon süresi 16-48 saat kadardır.

Bakterinin çoğunlukla kolon mukozasını invaze etmesi sonucunda birden bire başlayan kramp tarzında karın ağrısı, sulu ya da dizanteriform ishal, bulantı, kusma, halsizlik ve ateş başlıca semptomlardır.<sup>8</sup> Analizlerde 25 g katı gıda, 225 ml Alkali pepton besiyeri içinde homojenize edilir. Sıvı gıda doğrudan bu besiyerine eklenir. 35-37°C'de 8 saat inkübasyon yapılır. Süre sonunda TCBS agar besiyerine ekilip, 18-24 saat inkübe edilir. Tipik kolonilere biyokimyasal testler uygulanır. TSI'da renk değiştirir, gaz oluşturamaz. →

## Küf ve Maya Zehirlenmeleri ve Analiz Yöntemleri

Küfler, gelişimi için uygun olan sıcaklık ve bağıl nem koşullarında sert kabuklu meyvelerde, yağlı tohumlarda, tahıllarda, baklagillerde, sebze-meyvelerde mikotoksin üretirler. Mikotoksin üreten gıda kaynaklı küflerin başlıcaları Fusarium, Penicillium ve Aspergillus'tur. Hayvansal ürünlerin mikotoksinlerle kontaminasyonu ise çoğunlukla kontamine yemlerin tüketilmesinden kaynaklanmaktadır.<sup>5</sup> Mikotoksinlere bağlı zehirlenmelere en sık yol açan gıdalar Tablo 2'de görülmektedir.<sup>10</sup> Mikotoksinlerin akut ve kronik toksik etkileri vardır. Bazıları karaciğer üzerine akut etki yaparken, bazıları böbrek, MSS veya dolaşım sistemini etkilemektedir. Kronik toksisite sonucu oluşan olgulara mikotoksikozis denir, kanser oluşumu ya da immun sistemin bozulmasına yol açabilirler.<sup>11</sup> Farklı mikotoksinler, farklı hastalıklara neden olmaktadır. Aflatoksinler mutajenik, teratojenik, karsinojenik etkiye sahiptir ve karaciğer kanserine sebep olur. Okratoksin A, Balkan Endemik Nefropatisi'ne neden olur ve böbrekleri etkiler. Trikotosenler, Alimentary Toxic Aleukia (ATA) hastalığına sebep olur. Zearalenon ürogenital sistemi, fumonisinler ise böbrek ve özofageal sistemi etkiler.<sup>10, 12, 13</sup>

Analiz için doğrudan ekim yönteminde, tahıl, kuru meyve vb. gıdalar besiyeri üzerine yerleştirilir. 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılır. Seyreltim yönteminde sert kabuklu meyveler, tahıllar gibi sert taneli ürünlerin 30 dakika ila 3 saat suda ıslatılması ve homojenizasyonda blender kullanılması (1 dakika) tavsiye

edilmektedir. Seyreltimler diğer mikrobiyolojik analizlerde olduğu gibi yapılır. Ancak, küf sporları çok kolay dibe çökerler. Bu nedenle ekimin mümkün olduğu kadar kısa sürede, tercihen 1 dakika içinde yapılması önerilmektedir.

Sayımlarda 10-15 ila 150 arasında küf, 30-300 arası maya kolonisi dikkate alınır. Standart inkübasyon koşulları 25°C'de 5 gündür. Küf ve maya sayımlarında genel amaçlı kullanılan başlıca besiyerleri Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) agar ve Dichloran %18 glycerol (DG18) agardır.<sup>5</sup>

Kimyasal yöntemler olarak kromatografi (SPE (Solid Phase Extraction) ve IAC (Immunoaffinity Colon) ile ekstraksiyon), ince tabaka kromatografisi (kalitatif, yarı kantitatif) kullanılmaktadır. HPLC (High Performance Liquid Chromatography) hassas, güvenilir, pahalıdır. GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) hassas, seçici, pahalıdır. İmmünojenik analizlerde ise, ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ve RAI (Radioimmunoassay) gibi yöntemler uygulanmaktadır.<sup>10</sup>

## GIDALARDA KİMYASAL ANALİZLER

Günümüzde karşılaşılan en önemli problemlerden birisi, gittikçe artan dünya nüfusuna yetecek miktarda ve sağlık açısından güvenilir nitelikte gıda maddesi üretilmemesidir. Bu amaçla, tarımsal alanda verim artışı sağlamak ve yetiştirilen ürünlerde hasarları önlemek için kimyasal maddelerin kullanımı her geçen gün artmaktadır.

Bitki yetiştirilmesi, gıda üretiminde uygulanan teknolojik işlemler, katkı maddeleri kullanımı, ambalajlama ve depolama sırasında oluşan mikrobiyolojik ve kimyasal bulaşmalar nedeniyle, gıdanın yapısında önemli ve insan sağlığı açısından sakıncalı değişimler olabilmektedir. Gıdalara çeşitli yollarla bulaşabilecek kimyasal kontaminantların kaynakları ve analiz yöntemleri farklı olabilmektedir.

## Tarımsal Kontaminantlar

**Pestisid Kalıntıları:** Herhangi bir zararlının kontrolü ya da önlenmesinde kullanılan madde ya da madde karışımı olarak ifade edilir. Üretim, depolama, taşıma, dağıtım ve benzeri aşamalarda mücadelede kullanılır. 300 kadar pestisid vardır. Bunlar insektisidler, akarasidler, ovisidler, fungusidler, nematosidler, parazitisidler, molluskusidler, herbisidler, rodentisidler, fasciolisidlerdir. Pestisidler yoluyla önemli üretim artışı sağlanırken, içtiğimiz su ve sebze-meyvelerde kalıntılar oluşarak dolaylı ve dolaysız yoldan insan sağlığı etkilenmektedir. Bu açıdan en önemlileri klorlu hidrokarbon insektisidler →

Gıda maddesi	Mikotoksinler
Hububat ve hububat ürünleri	Aflotoksin-B1, B2, G1, G2, M1; DON, trikotosenler, okratoksin A, zearalenon, fumonisin (mısır)
Kakao ve kakao ürünleri	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1, okratoksin A
Süt ve süt ürünleri	Aflotoksin M1
Kabuklu kuruyemişler, baharatlar	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1, okratoksin A
Şarap ve bira	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1, okratoksin A
Kuru meyveler	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1, okratoksin A
Meyve suları	Patulin, okratoksin A
Bebek mamaları	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1; DON, trikotosenler, patulin, okratoksin A, zearalenon, fumonisin
Kahve	Okratoksin A
Hayvan yemleri	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1; DON, trikotosenler, okratoksin A, zearalenon, fumonisin
Hayvansal ürünler	Aflotoksin B1, B2, G1, G2, M1, patulin

ve organik fosforlu insektisidlerdir. Klorlu hidrokarbon insektisidler oldukça stabildir ve yağda çözümleri nedeniyle yağlı dokularda birikir ve depolanırlar.

Pestisidler akut ve kronik zehirlenmelere neden olmalarının yanı sıra kanserojen ve teratonejik etkiye de sahiptirler. Akut zehirlenme bulguları bulantı, kusma, karın ağrısı, diyare, akut pankreatittir.<sup>11</sup>

Analiz için etkili ve seçici bir çözügen kullanılarak, örnekten kalıntının ekstraksiyonu yapılır. Ekstrakt girişim yapıcı maddelerden temizlenir, saflaştırılır (adsorbsiyon teknikleri, kolon kromatografisi (KC) ve ince tabaka kromatografisi (TLC) veya partisyona dayalı teknikler ile destilasyon yöntemleri gibi teknikler). Sonra kalıntı miktarının tayini yapılır (En çok gaz kromatografisi (GC) ve yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılır). Kalıntının tayininde kullanılan yöntemden farklı olan bir yöntem kullanılarak elde edilen sonuçların karşılaştırılmasına dayanan kanıtlama testi yapılır.<sup>14</sup>

**Hormon Kalıntıları:** Hormon preparatları, verim artışı sağlamak amacıyla günümüzde kullanılmaktadır. Dietilstilboestrol vb. bileşikler hayvansal dokularda birikerek gelişmeye etki eder. Ağırılık artışı, antitiroid preparatların kullanımı ile sağlanmaktadır. Çeşitli hayvan hastalıklarının tedavisinde kortikosteroid ve diğer hormonal preparatlar kullanılmaktadır. Sonuç olarak hayvansal proteinli gıdalarda hormon kalıntılara rastlanmaktadır. Söz konusu preparatların direkt toksik, karsinojenik, allerjik, mikroorganizma ve ilaç direncine kadar uzanan etkileri olduğu saptanmıştır.

Hormon kalıntılarının tayini için fizikokimyasal yöntemler, biyoanaliz ve radioimmünoassay teknikleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde ekstraksiyon, ayırma ve saflaştırma amacıyla GC, HPLC gibi tekniklerle miktar tayinleri yapılmaktadır.

**Antibiyotik Kalıntıları:** Gıda sanayiinde koruyucu amaçlı kullanılmaktadır. Özellikle et, tavuk ve balıklarda tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin gibi geniş spektrumlu antibiyotikler, doğrudan sprey ya da daldırma yöntemleriyle uygulanmaktadır. Taze meyve ve sebzelerde yumuşamaya, diğer bozulmalara sebep olan bakteri ve küflere karşı oksitetrasiklin, streptomisin, neomisin, polimisin, nystatin, pimarcin gibi antibiyotikler kullanılmaktadır.

### **Çevresel Faktörler Nedeniyle veya İşlemler Sırasında Oluşan Kontaminantlar**

**Metalik Kalıntılar:** Mineraller hormon, enzim ve vitaminlerle ilişkili olarak beslenmede önemli fonksiyonları yerine getirirler. İnsan vücudunun yaklaşık %4'ü

minerallerden oluşur (Ca, P, Na, K, Cl, Mg, Mn, S, Fe, Cu, I, Zn). Ca ve P dışındaki elementlerin vücutta bulunma miktarları son derece düşüktür ve bunlara "İz Elementler" denir. Çeşitli faktörlere bağlı olarak gıdalara bulaşan iz metaller, gıdalarda çok düşük sınırlarda (genellikle %0,01'in altında) bulunan elementlerdir.

Gıda ürünü hasattan başlayarak tüketime kadar, pek çok endüstriyel ve çevresel kontaminasyona maruz kalır. Çevresel ve endüstriyel kontaminasyona örnek olarak Hg ve Pb bulaşması verilebilir. Gıda işlemede meydana gelen kontaminasyon ise kullanılan alet ve ekipmanlar ile gıdaların ambalajlanmasında kullanılan kaplar yoluyla olmaktadır ve buna örnek olarak Sn ve Pb gösterilebilir.

Analizlerinde en sık atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) kullanılır. Bunun yanı sıra gravimetrik, volumetrik, kolorimetrik metodlar da kullanılır. Yağ yakma ya da kuru yakma ile örnek kül edildikten sonra, girişim yapıcı maddeler uzaklaştırılır. Metalin renkli kompleksi oluşturulduktan sonra kalibrasyon grafiği hazırlanır ve örneğin absorpsiyon değerleri, kalibrasyon grafiğindeki değerlerle karşılaştırılıp hesaplanır.

**Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) Kalıntıları:** Dış kaynaklar (baca, egsoz) veya fırında pişirme, ızgara yapma, tütüleme gibi ısı işlemler gıdada PAH kontaminasyonuna neden olabilir. Bunlardan en önemlisi benzopirendir. PAH tayinlerinde indikatör madde olarak kabul edilir. En fazla kanserojen etkiye sahip olan PAH'dır, tüm deney hayvanlarında tümör oluşturur.

Analiz için gıda maddesi uygun bir çözültide ekstrakte edilir ve ekstrakt alkollü potasyum hidroksitte çözülür. Dimetil sülfoksit ve alifatik hidrokarbon çözügenleri arasında partiyon uygulanır. Çözelti CK, kağıt kromatografisi ya da TLC ile saflaştırılır. Saf çözelti GC'de alev iyonizasyon dedektörü ile analiz edilir.

**Poliklorlanmış Bifenil (PCB) Kalıntıları:** Toksik etkili kimyasaldır. Endüstride ismi Aroclor'dur. PCB'lerin endüstride çok yaygın ve fazla miktarda kullanım alanı olduğundan, çevre kirliliği ve gıdalarda kontaminasyona neden olmaktadır. Yağda çözündüklerinden, yağlı dokularda birikim yaparlar. Analizlerinde saflaştırma ve tanımlama için Kağıt C, TLC, CK kullanılır. Kantitatif tayinler için HPLC, GC kullanılır.

**Radyonüklit Kalıntıları:** Işın enerjisi, tüm canlı dokularda hasara neden olan bir enerji türüdür. Nükleer silah denemeleri, radyoaktif atıkların çevreye boşaltılması ve nükleer santraller gibi yüksek →

enerjili birimlerde meydana gelen kazalar, çevresel kontaminasyona sebep olur. Bu şekilde gıdalar, özellikle süt ve mamülleri kontamine olur. Radyonüklitlerin vücutta meydana getirdikleri etkiler yayılma şekilleri, birikim özellikleri ve biyolojik yarı ömürleriyle ilgilidir. Örneğin Sezyum-137 vücutta homojen olarak dağılır. İyot-131 tiroid bezinde, stronsiyum-90 ise kemik dokusunda birikir. Akut veya kronik toksisiteye sahip oldukları bilinmektedir.

**Amyant (Asbest) Kalıntıları:** Sanayideki geniş kullanımı dolayısıyla, çevre kirliliğine neden olur. Amyantın sıvı örneklerde analizi, filtrasyon ve mikroskopik tekniklerle yapılmaktadır.

### **Katkı Maddeleri Yoluyla Oluşan Kontaminasyon**

Gıdalarda kullanılan bazı katkı maddeleri, içerdikleri safsızlıklar ya da gıda bileşenleri ile reaksiyonları sonucu kontaminasyon oluşturabilmektedir. Et işleme-

de koruyucu, renk ve lezzet verme amacıyla kullanılan nitrit ve nitratlar, etin yapısındaki aminlerle nitrozamin denen, kanserojen ve mutajen maddeyi oluşturur. Özellikle kür edilmiş etlerde, peynir ve balıkta nitrozamin oluşumunun yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır.

Nitrozamin tayininde kullanılan analiz teknikleri örneğin hazırlanması, ekstraksiyon, izolasyon, KC ile temizleme, saflaştırma ve deriştirme, TLC, GC, HPLC ile kalitatif ve kantitatif tayinler olmak üzere genellikle 4 basamaktan oluşur.

### **Ambalaj Maddeleri Yoluyla Oluşan Kontaminasyon**

Ambalaj maddesi istenilen fonksiyonları yerine getirirken, içine konan gıda maddesi ile etkileşim göstermemeli ve kullanılan ambalaj materyali sağlığa zararlı olmamalıdır. Analizlerinde GC, Gaz likit kromatografi (GLC), TLC gibi teknikler kullanılmaktadır.<sup>11</sup>

	<b>İLETİŞİM İÇİN: Doç. Dr. Emel Önal</b> , İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Çapa/İSTANBUL <a href="mailto:onale@istanbul.edu.tr">onale@istanbul.edu.tr</a>
	<b>GÖNDERİLDİĞİ TARİH:</b> 20 / 02 / 2008 • <b>KABUL TARİHİ:</b> 16 / 05 / 2008

### **KAYNAKLAR**

- 1 Karakaya AE. Türk Toksikoloji Derneği, Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontaminantları, [www.turktox.org.tr/gida/](http://www.turktox.org.tr/gida/)
- 2 U.S. Food and Drug Administration, Hazard Analysis and Critical Control Point, <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/haccp.html>
- 3 Gıdalarn Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değıştirilerek Kabulü Hakkında Kanun, Kanun No.5179, Kabul Tarihi: 27.5.2004
- 4 Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı Resmi Gazete
- 5 Mikrobiyolojik Analizler ve Gıda Güvenliği Açısından Deđerlendirilmeleri, <http://www.hemakim.com.tr/img/makaleler/MikrobiyolojideYeniYaklasimlar.pdf>
- 6 Halkrman AK. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, <http://www.orlab.net/mikrobiyoloji/MGM.pdf>
- 7 Bozkaya E (Ed.). Tıbbi Mikrobiyoloji 2. s: 51-72. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve klinik Bilimler Ders kitapları Nobel Tıp Kitabevleri, 2005.
- 8 Pahsa A, Besin zehirlenmelerine yaklaşımlar, [http://www.gata.edu.tr/dahilbilimler/infeksiyon/Ders\\_Notları/besin\\_zeh.htm](http://www.gata.edu.tr/dahilbilimler/infeksiyon/Ders_Notları/besin_zeh.htm)
- 9 U.S. Food and Drug Administration, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap12.html>
- 10 Gıda Güvenliđinde Mikotoksinler, <http://www.hemakim.com.tr/img/makaleler/GıdaGuvenligindeMikotoksinler.pdf>
- 11 Altuđ T, Ova G, Demirađ K, Kurtcan Ü. Gıda Kalite Kontrolü. S:108-137. Ege Üniversitesi, İzmir, 1994
- 12 Cornell University, Toxic agents in plants, <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/trichothece.html>
- 13 Gilbert J. Mycotoxins in food. <http://www.atal.tubitak.gov.tr/faaliyet/JGilbert-MYCOTOXINS-IN-FOOD.pdf>
- 14 Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, [http://www.taek.gov.tr/sanaem/html/analitik\\_olcme\\_analiz\\_birimi.html](http://www.taek.gov.tr/sanaem/html/analitik_olcme_analiz_birimi.html)