Maya–Küf [1]

Fügen DURLU-ÖZKAYA, Hakan KULEAŞAN
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

01. Genel Bilgiler
02. Analiz

01. Genel Bilgiler

Doğada hava, toprak su ve organik maddeler üzerinde yaygın olarak bulunan fungusların, ökaryotik, heterotrof mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Hücre büyüklüğü, yapı ve metabolik aktiviteleri yönünden önemli farklılıklar göstermektedirler.

Küfler, miselyum oluşturan çok hücreli funguslar olarak tanımlanırken, mayalar tek hücreli ve genellikle miselyum oluşturmayan yapılar olarak tanımlanmaktadır. Küf hücreleri ard arda dizilerek hifleri, hifler ise çeşitli şekillerde dallanma yapmak suretiyle bir araya gelerek hif topluluğunu oluşturmaktadırlar. Bu hif topluluğuna miselyum adı verilmektedir.

Küfler eşeyli ve eşeysiz olmak üzere iki tip spor içermektedirler. Küflerin tanılanması ve ayrımında genellikle eşeysiz sporlar ve bunlarla ilgili yapılardan faydalanılmaktadır. Genellikle küflerin çoğalmasında rol oynayan eşeyli sporlardan ise küflerin sınıflandırılmasında faydalanılmaktadır. Septalı hiflere sahip olan bazı küfler, septaları ortadan ikiye bölünmek suretiyle eşeysiz olarak da çoğalabilmektedirler.

Genellikle yuvarlak, silindirik, oval ya da limon şeklinde hücre morfolojisine sahip olan mayalar tek hücrelidir. Kendilerine özgü bir hücre morfolojisi olan mayaların saf kültürlerinde dahi, üreme koşullarına ve kültür yaşına bağlı olarak farklı şekil ve boyutlara sahip hücrelere rastlanabilmektedir.

Bazı maya türleri ekmek, bira, şarap gibi gıdaların üretiminde büyük ekonomik öneme sahiptir. Bir takım küflerden de peynir yapımı ya da yüksek protein içeriğine sahip biyomas üretiminde faydalanılmaktadır. Ancak oldukça fazla sayıda maya ve küf türünün fermentasyon ve gıda sanayiinde istenmeyen kontaminantlar olduğu bilinmektedir. Bu tür maya ve küfler saprofit özellikte olup, gıdanın bozulmasına, üretimin istenmeyen şekilde sonuçlanmasına yol açmaktadırlar.

Maya ve küfler, oldukça geniş pH aralığında (pH 2-9), depolama sıcaklığında (10-35 ^{o}C) ve su aktivitesinde (0,85 ve üzeri) üreyebilmektedirler. Aynı zamanda yüksek tuz ve şeker konsantrasyonuna sahip ortamlarda kolaylıkla gelişebilmektedirler. Ayrıca pektin ve diğer kompleks karbonhidratları, organik asitleri, proteinleri ve lipitleri de kullanabilmektedirler.

Bozulmaya yol açan maya ve küfler gıdalarda acı tat ve kötü koku oluşumu, gaz oluşturma özellikleri sayesinde, bazı gıdalarda istenmeyen gözenekli yapı oluşumu gibi bir takım bozukluklara neden olabilmektedirler. Bazı küf türleri ise bulaştıkları gıda maddesinde

[1] Kaynak : **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s** 11. Bölüm

gelişerek salgıladıkları toksik metabolitler, mikotoksinler nedeniyle, gıda maddesinin tüketilmesi durumunda ölümle sonuçlanabilen zehirlenmelere yol açabilmektedirler. Bazı maya küflerin ise enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir.

Maya ve küfler pek çok gıda maddesi için sorun teşkil ederken, üründe bulunan maya-küf sayısı, üretim teknolojisi gereği açık hava ile teması fazla olan, yıkama işlemi yapılmaksızın öğütülerek paketlenen, soğutma ya da dondurma gibi işlem gören gıdalar açısından önemli bir kalite kriteri olarak görülmektedir.

Dilüsyon yapılarak ya da doğrudan Petri kutusuna ekim yapmak suretiyle gıdalarda bulunan maya ve küfler saptanarak sayılabilmektedir. Mayaların belirlenmesinde doğrudan Petri kutusuna yapılan ekim, diğer yönteme göre daha etkiliyken küflerin belirlenmesinde daha az etkilidir.

02. Analiz

%0,1 peptonlu su ya da uygun herhangi bir dilüsyon sıvısı kullanılarak 10^{-1} düzeyinde seyreltme yapılarak 30-60 sn süreyle blender yardımı ile örneğin homojenizasyonu sağlanır. Özellikle küf sayımı yapılacak örneklerde homojenizasyon işlemi çok uzun sürmemelidir. Seyreltme işlemine 10^{-6} dilüsyona kadar devam edilir. Maya ve küf hücrelerinin bakterilere oranla daha büyük olmaları nedeniyle dilüsyon sıvısında dibe çökme eğiliminde olduklarından dilüsyon işleminin oldukça kısa bir sürede yapılması gerekmektedir. Kullanılan örneğin mikrobiyolojik yüküne bağlı olarak daha az ya da daha fazla seyreltme yapılabilir.

Maya ve küflerin sayımında, makroskobik incelenmesinde ve kültüre alınmasında kullanılmak üzere pek çok besiyeri geliştirilmiştir. Gelişme istekleri bakterilere göre farklı olan funguslar, genellikle inorganik tuzlarla karbohidrat içeren hafif asidik besiyerlerinde iyi gelişebilmektedir. Maya küf sayımı sırasında, bu mikroorganizmalarla birlikte örnekte bulunabilecek bakterilerin gelişimini engellemek amacıyla ya besiyerinin pH 'sı 3,5-5,4 düzeyine düşürülmekte ya da besiyerine penisilin, streptomisin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin, kloramfenikol gibi antibiyotik veya Rose Bengal gibi bir inhibitör renk maddesi ilave edilmektedir.

Aşağıda, çeşitli gıdalarda maya ve küflerin sayımında kullanılan bazı besiyerlerine örnekler verilmiştir.

- Malt Ekstrakt Agar (MEA), genellikle pH 'sı düşürülerek hazırlanan besiyeri, maya ve küf sayımı ile izolasyonunda kullanılmaktadır. Meyve suyu, yoğurt gibi küf sayısının düşük olduğu ürünlerde kullanılmaktadır.
- %0,5 asetik asit eklenmiş MEA, kükürt dioksit, sorbik asit, benzoik asit gibi koruyucuları içeren ürünlerde, bu maddelere dirençli olan mayaların sayımı için kullanılır.
- Potato Dekstroz Agar (PDA), %10 'luk laktik asit ya da tartarik asit ile pH 'sı 3,5 'e düşürülmek suretiyle hazırlanan besiyeri maya ve küflerin sayımı ve izolasyonu amacıyla kullanılmaktadır.
- Czapek-Doks Agar (CzA), azot kaynağı olarak sodyum nitratı kullanabilen maya ve küflerin sayımında kullanılan genel bir besiyeridir.
- Rose Bengal Agar, çok yüksek bakteri yüküne sahip olan örneklerden maya küf sayımı ve izolasyonu amacıyla kullanılmaktadır. Bakteri gelişimini engellemek amacıyla besiyerine

Rose Bengal'in yanı sıra klortetrasiklin, streptomisin ya da kloramfenikol de eklenebilmektedir. Rose Bengal, maya ve küf kolonilerinin besiyeri yüzeyinde aşırı gelişimi ve yayılmasını da sınırlayarak izolasyon ve sayımı kolaylaştırmaktadır.

- Wort Agar, pH'sı 4,8 olan besiyeri, mayaların sayımında kullanılmaktadır.

- Portakal Serum Agar, asitli ürünlerde bulunan maya ve küfü saymak amacıyla kullanılan, 5,5 pH'ya sahip bir besiyeridir.

- Sabouraud's Dekstroz Agar, özellikle patojen olan maya ve küflerin izolasyon ve ayrımında kullanılmaktadır.

- Dichloran %18 Gliserol Agar (DG 18), fındık, un, baharat gibi ürünlerde kserofil maya küflerin sayımında kullanılmaktadır.

- Dichloran Rose Bengal Kloramfenikol Agar (DRBC), maya küf içeriği yüksek olan gıdalarda kullanılmakta olan genel amaçlı bir besiyeridir. Ayrıca DG 18 gibi kuru fasulye, fındık, baharat, kahve, kakao çekirdeği gibi ürünlerde de kullanılmaktadır.

- Oksitetrasiklin Glukoz Yeast Ekstrakt Agar(OGY), her tür örnekde maya küf sayımı ve belirlenmesi amacıyla kullanılan bir besiyeridir.

- Osmofilik Agar, yüksek şeker konsantrasyonuna sahip ürünlerde hakim flora olan ozmofilik ve ozmotolerant mayaların sayımında kullanılan bir besiyeridir. Wort agar besiyerine yüksek konsantrasyonda sakaroz ve glikoz ilave edilerek hazırlanmaktadır. İçerdiği yüksek konsantrasyondaki şeker nedeniyle 108 ^{o}C 'da 20 dakika otoklavlanarak sterilize edilmektedir.

Türk Standartları Enstitüsü, süt ve süt ürünlerinde maya küf sayımı için Oksitetrasiklin Dekstroz Yeast Ekstrakt Agar ve Kloramfenikol Dekstroz Yeast Ekstrakt Agar 'ı önermektedir. Kloramfenikol Dekstroz Yeast Ekstrakt Agar 'ı aynı zamanda tüm gıdalarda maya küf sayımı için kullanılabileceği belirtilmektedir. FDA ise DG 18 Agar ve DRBC Agar'ı önermektedir.

Bu besiyerlerinin hemen hemen hepsi ticari olarak üretilmekte ve kullanımları üretici firma tarafından hazırlanarak besiyeri prospektüslerinde belirtilmektedir. Laktik asit, tartarik asit, Rose Bengal, antibiyotik gibi maddelerin besiyerine ilavesinde belirtilen kurallara dikkatle uyulması gerekmektedir.

Maya ve küflerin sayımı amacıyla yapılacak ekimde yayma ve dökme kültürel sayım yöntemi kullanılabilmektedir. Ancak yayma kültürel sayım yöntemi kullanılmasının, besiyeri yüzeyinde maya ve küflerin daha hızlı üremesi, düzgün ve standart koloni oluşumu, sayım sonrası izolasyon identifikasyon kolaylığı nedeniyle daha avantajlı olduğu belirtilmektedir.

Yapılan ekim işleminin ardından Petri kutuları 22-25 ^{o}C 'da 4-5 gün süre ile inkübasyona bırakılmaktadır. Aşırı küf miseli gelişmesi neticesinde sayım güçlüğü olacağından, sayım sonuçları 3. günün sonundan itibaren alınabilmektedir. Aksine 5. günün sonunda maya ve küf gelişimi gözlenmemişse inkübasyona 48 saat daha devam edilmelidir.

Sayım 10 ila 150 kolonin oluştuğu Petri kutularında yapılmalıdır. Eğer örnekte hakim flora maya ise 150 kolonin oluştuğu Petri plakları kolaylıkla sayılabilmektedir. Ancak küf sayısı fazla ise, küfün cinsine bağlı olarak Petri kutusunda sayılabilecek koloni sayısı 10 'a kadar düşmektedir.