

BİR KAYNAK SUYU ŞİŞELEME TESİSİNDE MİKROBİYEL KONTAMİNASYON KAYNAKLARI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

A STUDY ON THE MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION SOURCES IN A BOTTLING PLANT OF SPRING WATER

Kamil BOSTAN, Harun AKSU

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

ÖZET: Bu çalışma, bir kaynak suyu şişeleme tesisinde mikrobiyel kontaminasyon kaynaklarını araştırmak için yapıldı. Araştırmanın gerçekleştirildiği işletmeye gelen kaynak suyunda koliform bakteriler bulunmadı. Ancak, şişelenmiş suda limitlerin çok üzerinde koliform bakteri ve toplam bakteri saptandı. İşletmedeki en önemli kontaminasyon kaynağının kirli gelen ve iyi temizlenemeyen dönüşümlü şişeler olduğu görüldü. Şişelerin yıkandığı suyun sıcaklığı ve pH'sı sabit tutulduğu zaman şişelerdeki mikrobiyel yükün önemli ölçüde azaldığı tespit edildi.

SUMMARY: This study was carried out to investigate the microbiological contamination sources of spring water in a bottling plant. It was not found coliform bacteria in the stored water but it was determined higher coliforms and mesophilic acrob total bacteria counts than the legal limits in the bottled water. The most important contamination sources was the returnable dirty glass bottles which are not cleaned adequately. The microbiological load of the bottles was significantly decreased when the temperature and alkalinity of the washing solution were remained at 70°C and pH 11.

GİRİŞ VE KAYNAK TARAMASI

Su, canlıların temel bir gereksinimidir ve suyun yetersizliği ve kirlenmesi çeşitli sorunları da beraberinde getirmektedir. Yapılan istatistiklerde, özellikle gelişmekte olan ülkelerde hastalıkların yaklaşık % 80'inin su ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Hatta, su kaynaklarının hijyenik olarak yetersiz olması nedeniyle her yıl yaklaşık beş milyon bebeğin öldüğü bilinmektedir (TEBBUTT, 1990).

İçme ve kullanma suyu başlıca doğal veya yapay göl ve barajlardan elde edilir. Ancak, bu su kaynakları, her ne kadar gerekli fenni işlemlerden geçirildikten sonra şebekeye verilse de çeşitli mikrobiyel ve kimyasal kontaminasyonlara maruz kalabilmektedir. Bu nedenle içme suyu olarak şişelenmiş kaynak sularına rağbet artmıştır. Kaynak suları, toprağın derin katmanlarından süzülerek yeryüzüne ulaştığı için genelde mikrobiyel açıdan güvenlidir. Ancak, fekal atıklarla kontamine bölgelerden elde edilen kaynak sularında ve hijyenik olarak yetersiz dolum yapan işletmelerde bu suların da bakteriyel kirlenmesi sözkonusudur. WHO'ya göre şişelenmiş içme sularında mezofilik aerob toplam bakteri sayısı 100/ml'den fazla olmamalı, fekal kirlenme indikatörü mikroorganizmalar bulunmamalıdır (ANONYMOUS, 1984). Gıda Maddeleri Tüzüğü ve Kaynak Suları Yönetmeliğine (ERCOŞKUN, 1987) göre bu suların kaynaklarından alınan numunelerin 1 cm³'ünde 50'den fazla aerob bakteri, 100 cm³'ünde koliform bakteriler ve dışkı ile kirlenmeyi gösteren diğer bakteriler (*Streptococcus fecalis* ve *Clostridium perfringens* gibi) ürememeli ve içinde bulaşma ve kokuşmayı gösterir diğer bakterilerle patojen mikroplar bulunmamalıdır. Ancak, ülkemizde yapılan araştırmalarda da görüldüğü gibi piyasadan temin edilen şişelenmiş kaynak sularında zaman zaman izin verilen limitlerin üzerinde mikroorganizma yüküne rastlanmaktadır. ARAMAN (1962) incelediği 691 kaynak suyu numunesinin % 41,2'sinin; AKDENİZ (1968) 3882 numunenin % 51,4'ünün; GÖKAY ve TOKGÖZ (1969) 100 numunenin % 48,0'ünün, YEŞİLÇİMEN (1972) 112 numunenin % 19,6'sının; YÜCEL ve KURDAL (1988) 86 numunenin % 11,6'sının koliform grubu mikroorganizma içerdiğini bildirmişlerdir. En son yapılan bir çalışmada da (GÖKÇE ve ark., 1994) 27 standart cam şişe su örneğinin % 48'inin, 47 galon şişe su örneğinin % 62'sinin, 49 pet şişe su örneğinin % 41'inin Gıda Maddeleri Tüzüğüne aykırı olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, mevcut mikroorganizmaların kontaminasyon kaynakları tam olarak belirlenmemiştir.

Bu çalışma, bir kaynak suyu işletmesinde, çeşitli noktalarda numuneler alarak hangi safhaların mikrobiyel açıdan risk taşıdığını belirlemek ve koruyucu tedbirlerin neler olduğunu araştırmak için yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Mikrobiyel kontaminasyonu belirlemek için işletmeden numunelerin alımı iki aşamalı olarak gerçekleştirildi. İlk aşamada, işletmedeki mevcut uygulamada bir değişiklik yapmadan farklı tarihlerde depodan, filtrelerden sonra, UV ile muameleden sonra, dolum yapılmış standart ve galon şişelerden, şişe yıkama suyundan, durulama suyundan ve yıkanmış, doluma hazır boş şişelerden farklı sayılarda numuneler alınarak aynı gün soğuk muhafaza altında laboratuvara ulaştırıldı. İkinci aşamada ise yıkama suyunun sıcaklığının 70°C'de ve pH'sının 11'de sabit kalması sağlandı. Boş ve dolu su şişelerinden örnekler alınarak laboratuvarında incelendi. Çalışma Temmuz ve Ağustos ayları içinde gerçekleştirildi.

Sulardaki aerob mezofil toplam mikroorganizma sayısını tespit etmek için, Plate Count Agar'a çift tabaka dökme metodu ile ekim yapıldı. Plaklar 37°'de 48 saat inkübe edildikten sonra bütün koloniler sayıldı (ANONYMOUS, 1985). Koliform grubu mikroorganizmaların sayımı için En Muhtemel Sayı (EMS) tekniği kullanıldı. Sulardan 10, 1 ve 0,1 ml'lik miktarlar halinde içinde durham tüpü bulunan Brilliant Green Bile sıvı besiyerine ekimler yapıldı. 24-48 saat inkübasyondan sonra gaz oluşan tüpler belirlendi. Doğrulama için Violet Red Bile Agar plaklarına öze ile ekim yapıldı (ANONYMOUS, 1978; ANONYMOUS, 1985).

Boş şişelerin mikrobiyolojik muayenesinde, şişelere 20'şer ml % 0,1 peptonlu su ilave edilerek aralıklarla yarım saat çalkalandı. Bu çalkalama suyundan ve bir üst dilüsyondan 1'er ml boş petri kutularına aktarıldı. Üzerlerine PCA ve VRBA döküldü. 37°C'de 24-48 saat bekletildikten sonra üreyen koloniler sayıldı. Tespit edilen bakteri sayısı 20 ile çarpılarak şişedeki toplam bakteri sayısı bulundu (COLLINS ve LYNE, 1985).

Çalışmada, işletme havasından kontaminasyonu belirlemek için, tesisin farklı yerlerine katı besiyeri (PCA) içeren petri kutuları kapakları açık bir şekilde konularak bir saat bekletildi. Suyula ve dış atmosferle temas eden ve meme olarak adlandırılan dolum pompalarının plastik kısımlarından steril swab çubukları ile örnekler alındı ve katı besiyeri (VRBA) içeren plaklara ekim yapıldı (COLLINS ve LYNE, 1985).

ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmanın gerçekleştirildiği kaynak suyu işletmesinde, doğal kaynağından çıkan su ayrı olarak inşa edilen bir depoda toplanmaktadır. Dolum yapılacağı zaman kum ve karbon filtrelerden geçirilen su ana dolum tesisine pompalanmaktadır. Burada UV ile muamele edildikten sonra sisteme verilen su, cam standart ve galon şişelere otomatik olarak doldurulmaktadır. Kullanılan dönüşümlü şişeler yine otomatik olarak kostik madde içeren sıcak suda (70°C) 5 dakika içinde yıkandıktan sonra durulanmaktadır.

Birinci aşama

İşletmedeki normal prosedürün farklı safhalarında alınan su ve şişe örneklerinin mikrobiyel yükü Çizelge 1'de gösterilmiştir. Depo suyundaki toplam bakteri sayısı ortalama 84/ml, koliform grubu bakteri sayısı 0/100 ml olarak bulunmuştur. Filtrasyondan sonra ise toplam bakteri sayısında kısmi bir artış görülmüştür. Ancak, UV ile muameleden sonra suda hiçbir mikroorganizmaya rastlanmamıştır (0/ml). Yıkanmış, durulanmış doluma hazır şişelerde yapılan muayenelerde ise şişe iç yüzeyinde 60-11000 arasında mezofil aerob toplam bakteri, 0-4800 arasında koliform bakteri sayısı tespit edilmiştir. Dolum yapılmış şişelerde ise toplam bakteri sayısı 8-3000/ml, koliform bakterisayısı 0-290/100 ml arasında değişmiştir. Şişelerin yıkandığı sıcak ve kostik madde içeren suda ortalama toplam bakteri sayısı 243/ml, koliform bakteri sayısı 89/100 ml olarak bulunmuştur. Yıkanmış şişelerin durulanmasında kullanılan suda ise ortalama 64/ml toplam bakteri, 1/100 ml koliform bakteri tespit edilmiştir.

İşletmenin havasının kontrol edildiği petri kutularında az sayıda mikroorganizma üremiştir. Dolum pompalarının şişe ile temas eden yüzeyinde ise yoğun koliform grubu bakteri üremesi kaydedilmiştir.

İkinci aşama

İşletmede yıkama suyunun sıcaklığı ve pH'sı kontrol altında tutulduktan sonra alınan su ve şişe örneklerinin en az, en yüksek ve ortalama mikrobiyel yükü Çizelge 1'de gösterilmiştir. Mezofil aerob toplam bakteri sayıları boş standart şişelerde 0-320/şişe, boş galon şişelerde 0-440/şişe, standart şişe suyunda 0-86/ml, galon şişe suyunda 0-144/ml arasında; koliform grubu mikroorganizma sayıları boş standart şişelerde ve boş galon şişelerde 0/100 ml, standart ve galon şişe sularında 0-6/ml olarak saptanmıştır.

Çizelge 1. İki ayrı aşamada işletmeden alınan su ve şişe örneklerindeki mikroorganizma sayıları

| | Örnek sayısı | Mezofil aerob toplam mikroorganizma | | Koliform grubu mikroorganizmalar | |
|-------------------|--------------|-------------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|
| | | en az-en yüksek | Ortalama | en az-en yüksek | Ortalama |
| 1. aşama | | | | | |
| Depo suyu | 3 | 76- 106/ml | 85/ml | 0/ml | 0/ml |
| Filtrasyon sonu | 3 | 88- 220/ml | 127/ml | 0/ml | 0/ml |
| UV ışınlama sonu | 3 | 0/ml | 0/ml | 0/ml | 0/ml |
| Boş standart şişe | 20 | 60-9000/şişe | 2810/şişe | 0-4800/şişe | 720/şişe |
| Boş galon şişe | 8 | 120-11000/şişe | 3015/şişe | 0-1240/şişe | 408/şişe |
| Standart şişe su | 18 | 8- 1900/ml | 344/ml | 0- 290/100 ml | 52/100 ml |
| Galon şişe su | 8 | 15-3000/ml | 440/ml | 0- 93/100 ml | 37/100 ml |
| Yıkama suyu | 3 | 86- 660/ml | 243/ml | 15- 210/100 ml | 89/100 ml |
| Durulama suyu | 3 | 38- 90/ml | 64/ml | 0- 3/100 ml | 1/100 ml |
| 2. aşama | | | | | |
| Boş standart şişe | 12 | 0- 320/şişe | 45/şişe | 0/şişe | 0/şişe |
| Boş galon şişe | 14 | 0- 440/şişe | 69/şişe | 0/şişe | 0/şişe |
| Standart şişe su | 16 | 0- 86/ml | 22/ml | 0- 6/100 ml | 1/100 ml |
| Galon şişe su | 9 | 0- 144/ml | 61/ml | 0- 6/100 ml | 1/100 ml |

TARTIŞMA

İçme suyunun hijyenik kalitesi onun mezofilik bakteri ve fekal kirlenmenin iyi bir indikatörü olan koliform içeriği ile tayin edilir (PTAK ve GINSHURG, 1979). Araştırmamızın birinci aşamasında muayene edilen şişe suyu örneklerinin % 77'si mikroorganizma içeriği bakımından Gıda Maddeleri Tüzüğü'ne uygun bulunmamıştır. Ancak ikinci aşamada ise uygun olmayan örnek oranı % 16'ya kadar düşmüştür. Ülkemizdeki kaynak suları üzerinde yapılan araştırmalarda da yüksek sayılabilecek oranlarda koliformlarla kontamine oldukları tespit edilmiştir (ARAMAN, 1962; AKDENİZ, 1968; GÖKAY ve TOKGÖZ, 1969; YEŞİLÇİMEN, 1972; YÜCEL ve KURDAL, 1988; GÖKÇE ve ark., 1994).

İçme sularının dezenfeksiyonunda en yaygın kullanılan teknikler klor ve klor derivatlarının (kloramin, klor dioksit, kalsiyum hipoklorit) ilavesi, ozonlama ve Ultraviyole ışınlamadır. 200-300 nm. arasındaki UV dalgaları maksimum dezenfeksiyon sağlar. Ancak, rezidual bir etkisi bulunmayan bu teknik ile iyi sonuç alabilmek için suyun berrak, tortusuz ve renksiz, demir, kolloid ve planktonlardan yoksun olması gerekir (RICHARD, 1987). Kaynak suları kimyasal değil, sadece filtrasyon, ozonlama ve ultraviyole gibi fiziksel metodlarla muamele edilebilmektedir. Çalışmamızın birinci aşamasında, depodan alınan su örneklerinde ortalama 85/ml, filtrasyondan sonra alınan örneklerde ortalama 127/ml potansiyelinde toplam bakteri tespit edilmiş olmasına rağmen Ultraviyole ile muameleden sonra hiçbir mikroorganizmaya rastlanmamıştır. Bu bulgu suyun UV sisteminden geçirilmesinin, kaynak suyu işletmelerinde mikrobiyel yükün azaltılmasında güvenilir bir yöntem olduğunu göstermiştir. Filtrasyon işleminden sonra bakteri sayısında görülen artış, sudaki kaba partikülleri tutan filtrelerin periyodik olarak kontrolden geçirilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Şişelenmiş sularda yüksek sayılarda koliformlar tespit edilmişken, şişeleme öncesi safhalarda bu mikroorganizmalara rastlanmamıştır.

SADDIK ve SAWSAN (1992) tarafından yapılan çalışmada kum, seramik ve karbon filtrelerden geçirildikten ve Ultra Viyole ile muamele edildikten sonra dolun yapılan şişelenmiş kaynak sularında mezofil aerob bakteri sayısı yazın $4,2 \times 10^4$ /ml, kışın $2,9 \times 10^4$ /ml; koliformların sayısı yazın 22,6/100 ml, kışın 86,6/100 ml olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, birinci aşamada elde ettiğimiz ortalama toplam mikroorganizma sayıları (standart şişe suyunda 344/ml, galon şişe suyunda 440/ml), bahsedilen araştırmadaki bulgulardan düşük; koliform grubu mikroorganizma sayıları ise (standart şişe suyunda 52/100 ml, galon şişe suyunda 37/100 ml) yakın bulunmuştur. İkinci aşamada elde edilen bulgular ise oldukça düşüktür.

Kaynak suyu tesisinin değişik noktalarından alınan örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, bu işletmelerde en önemli kontaminasyon kaynağının dönüşümlü şişeler olduğu saptanmıştır. İncelenen yıkanmış, doluma hazır şişelerde toplam bakteri yükü 60-11000, koliform grubu bakteri sayısı 0-4800 arasında değişmiştir. Bu bulgu şişelerin yeterince yıkanmadığını veya mevcut yıkama prosedürünün yeterli olmadığını göstermekte ve aynı zamanda şişelerin kirlilik düzeylerinin birbirlerinden oldukça farklı olduğuna işaret etmektedir. Bu şişelere yapılan dolumlardan sonra gerçekleştirilen muayenelerde de doğal olarak yüksek sayıda bakteri içeriği tespit edilmiştir (8-3000/ml mezofil aerop toplam bakteri, 0-290/100 ml koliform bakteri).

Çalışmanın ikinci aşamasında, yani yıkama suyunun sıcaklığı ve pH'sı kontrol altında tutulduktan sonra yapılan kontrollerde boş ve dolu şişelerdeki mezofilik aerop toplam bakteri ve koliform bakteri sayısında büyük bir düşüş gözlenmiş, boş şişelerin hiçbirinde, dolu şişelerin çoğunda koliformlara rastlanmamıştır.

Dönüşümlü şişeler doldurulmadan önce iyi bir şekilde temizlenmelidir. Şişelerin temizlenmesinde en çok kostik madde içeren sıcak su kullanılmaktadır. Yıkama solüsyonundaki alkali oranı % 3'den az olmamalı, şişeler bu yıkama solüsyonu içinde en az beş dakika bekletilmelidir. Yıkama suyunun sıcaklığı 54°C 'den aşağı düşmemelidir. Yıkanan şişeler içilebilir nitelikteki su ile durulanmalıdır. Durulanan şişelerin steril sıcak hava ile kurutulması da şişelerdeki bakteriyel yükü azaltmada önemli rol oynamaktadır (WOODROOF ve PHILLIPS, 1977).

Günümüzde kaynak sularının plastik veya PVC şişelerde de ambalajlandığı görülmektedir. YURDUSEV ve DUCLUZEAU (1985)'nin yaptığı çalışmada, cam şişelerle karşılaştırıldığında plastik şişelerde depolanan mineral suların daha yüksek bakteri sayısına sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, plastik şişelerin daha pürüzlü bir iç yüzeye sahip olduğu ve bunun da bakterilerin yapışması ve kolonizasyonunu kolaylaştırdığı açıklanmıştır. BISCHOFBERGER ve ark. (1990) da benzer bulgular elde etmişler, ancak cam şişelerdeki temizlik madde kalıntılarının bakteri sayısının daha düşük olmasında önemli rol oynadığını belirtmişlerdir. Bu görüşlerini, çok iyi temizlenmiş şişelerdeki bakteri sayısının arttığını tespit ederek kanıtlamışlardır.

Çalışmamızda, kirli şişelerden sonra dolun makinalarının şişelerle temas eden plastik kısımları da diğer önemli bir kontaminasyon kaynağı olarak dikkati çekmiştir. Bu kısımların mikrobiyolojik muayenesinde yoğun koliform üremesi kaydedilmiştir. Bu nedenle su işletmelerinde özellikle suyla temas eden dış yüzeylerin sık sık dezenfekte edilmesi gerekmektedir. Yıkamış şişelerin durulandığı suda da ihmal edilmeyecek sayılarda mikroorganizmaya rastlanmıştır. Şişeler her ne kadar iyi temizlense de durulama suyu ile sonradan kontaminasyonu mümkün görülmektedir.

Bu çalışma sonucunda, kaynak suyu işletmelerinde dönüşümlü boş şişelerin en önemli kontaminasyon kaynağı olduğu görüldü. Şişelerin yıkanmasında kullanılan klasik usulün (kostik madde içeren sıcak su) dikkatli bir şekilde uygulandığı takdirde etkili olduğu belirlendi. Ancak, şişelerin çok kirliliği olduğu hallerde yöntem yeterince güvenilir olamayacağından tek kullanımlık dönüşümsüz şişelere dolun yapılması daha uygun olacaktır. Ayrıca, kaynak suyu işletmelerinin hijyenik ve teknolojik açıdan geliştirilmesi, çalışanların daha bilgili ve daha duyarlı olmaları halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- AKDENİZ, S. 1968. İstanbul memba sularının bugünkü durumu. Mikrobiyoloji derg. 21(1-2) 23-38.
- ANONYMOUS, 1978. Microorganisms in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration. 2nd ed. ICMSF, London. 129 s.
- ANONYMOUS, 1984. Guidelines for drinking-water quality. Volume 2, Health criteria and other supporting information. WHO, Geneva. 335 s.
- ANONYMOUS, 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th ed. APHA, Washington, 880 s.
- ARAMAN, K. 1962. İstanbul memba sularının 1959-60 senelerinde kirlenme faktörlerinin araştırılması. Mikrobiyoloji Derg. 15(3-5) 59-67.
- BISCHOFBERGER, T., CHA, S.K., SCHMITT, R., KONIG, B., SCHMIDT-LORENZ, W. 1990. The bacterial flora of non-carbonated, natural mineral water from the springs to reservoir and glass and plastic bottles. Int. J. Food Microbiol. 11 52-72.
- COLLINS, C.H. LYNE, P.M. 1985. Microbiological Methods. 5th ed. Butterworths, London. 243 s.
- ERCOŞKUN, A. 1987. Halk Sağlığı, Çevre Sağlığı ve Gıda Maddeleri Mevzuatı. Fon Matbaası, Ankara.
- GÖKAY, F., TOKGÖZ, M. 1969. İzmir ili kapalı şişe memba sularının bakteriyolojik durumları üzerine bir araştırma. Ege Üniv. Tıp Fak. Mec. 13 (2) 209-214.
- GÖKÇE, R., CİVAN, E., ERGÜN, Ö. 1994. İstanbul piyasasında satışı sunulan şişe ve galon sularının bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal kalite kriterleri yönünden incelenmesi. Yayında. Türk Hij. Den. Mikrobiol. Derg.
- PTAK, D.J., GINSHURG, W. 1979. Bacterial indicators of drinking water quality. "in, Bacterial indicators/Hazard associated with water, Eds A.W. Hoadley ve B.J. Dutka", American Society for testing and Materials, Philadelphia. 218 s.
- RICHARD, Y. 1987. Disinfection in the treatment of drinking water. "in, Developing World Water", Grosvenor Press Int., Hong Kong. 215-217 s.
- SADDIK, F.M., SAWSAN, M.E. 1992. Microbiological profile of bottled water in Egypt as affected by seasonal variation. 3rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications. Proceedings Vol. 1. Berlin. 285-290 s.
- TEBBUTT, T.H.Y. 1990. Basic Water and Wastewater Treatment. Butterworth, London. 10 s.
- WOODPROOF, J.G., PHILLIPS, G.F. 1977. The Beverage Industry. "in, Elements of Food Technology, Ed N.W. desrosier" AVI Pub Co. Westport Connecticut. 662 s.
- YEŞİLÇİMEN, M. 1972. Ankara'da satılan şişelenmiş memba sularının koliform bakteriler yönünden incelenmesi. Uzmanlık tezi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara.
- YÜCEL, A., KURDAL, E. 1988. Bursa yöresinde içme, kuyu ve deniz sularının mikrobiyolojik kirliliği üzerine bir araştırma. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg. 7 (1,2,3) 11-18.
- YURDUSEV, N., DECLUZEA, R. 1985. Qualitative and quantitative development of the bacterial flora of Vittel mineral water in glass or plastic bottles. Sciences des Aliments 5 231-238.

GIDA Dergisi 1996 yılı Abone Ücreti 6 sayı için 600.000.-TL olarak belirlenmiştir. Fiyata KDV ve normal Posta ücreti dahildir.

Gıda Teknolojisi Derneği

Yönetim Kurulu