

Araştırma Makalesi

DEĞİŞİK PH VE SICAKLIK DEĞERLERİ İLE FARKLI SODYUM  
POLİFOSFAT VE NaCl KONSANTRASYONLARININ *YERSİNİA*  
*ENTEROCOLİTICA*'NIN ÜREMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Özlem ERDOĞRUL\*, Ali AYDIN\*\*, Özer ERGÜN\*\*

Geliş Tarihi : 22.05.2004  
Kabul Tarihi : 23.08.2004

The Effects of Various pH and Temperature Values and Different Sodium  
Polyphosphate and NaCl Concentrations on *Yersinia enterocolitica*

**Summary:** In this study, were examined the effects of various pH and temperature values and different sodium polyphosphate and NaCl concentrations on *Yersinia enterocolitica*. Various amount of sodium polyphosphate, NaCl were added to 50 ml of experimentally prepared meat juice formulation. The pH of the meat juice was adjusted with 85% lactic acid and 0.1N NaOH. Beef gravy formulations were experimentally infected with  $10^8$  cfu/ml *Y. enterocolitica* (O:3P41797) pure culture. The samples were collected at 0, 5, 10, 15, 20, 25<sup>th</sup> minutes of every applied temperature. Presence of *Y. enterocolitica* was tested by using CIN Agar. No growth was observed for all treated samples in the first day incubation. But when the treated samples were kept at 4°C for 7 days presence of *Y. enterocolitica* was observed.

**Key Words:** pH, Temperature, Sodium Polyphosphate, NaCl, *Y. enterocolitica*

**Özet:** Bu çalışmada değişik pH ve sıcaklık değerleri ile farklı sodyum polifosfat ve tuz konsantrasyonlarının *Y. enterocolitica* üzerine etkileri araştırılmıştır. Deneysel olarak hazırlanmış 50 ml et suyu formülasyonu örneklerine, değişik oranlarda NaCl ve sodyum polifosfat ilave edilmiştir. Et suyu formülasyonlarının pH değerlerinin ayarlanması % 85'lik Laktik asit ve 0,1N NaOH kullanılarak yapılmıştır. Hazırlanan et suyu formülasyonlarına  $10^8$  kob/ml düzeyinde *Y. enterocolitica* (O:3 P41797) saf kültürü ilave edilmiş değişik oranlarda NaCl ile fosfat içeren ve değişik değerlerde pH ayarı yapılan örnekler farklı sıcaklık uygulamaları yapılmıştır. Uygulanan her sıcaklık derecesinin 0', 5', 10', 15', 20', 25. dakikasında deneysel materyalden örnekler alınarak Yersinia Selektif Agar (CIN Agar)'da *Y. enterocolitica*'nın gelişimine bakılmıştır. Yapılan ilk gün ekimlerinde üreme tespit edilememiştir. Ancak 4°C'de 7 gün saklanan, değişik sıcaklık ile pH değerleri uygulanan ve farklı NaCl ile sodyum polifosfat değerlerine sahip örneklerin bir kısmında değişen oranlarda *Y. enterocolitica* varlığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** pH, Sıcaklık, Sodyum Polifosfat, NaCl, *Y. enterocolitica*

\* Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş  
\*\* İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı., 34320 Avcılar,  
İstanbul

### Giriş

*Y. enterocolitica* kokobasil görünümünde yaklaşık 1.4x 0.05–1.5µm boyutlarında bir bakteri olup, 25°C'deki kültürlerinde peritrik flagellaları ile hareket edebilmektedir. Kültürden yapılan preparatlarında bazen kapsüllü olarak görülebilirler. Bakteri gram negatif olup, 37°C'de ürediğinde genellikle hareketsizdir. *Yersinia* cinsi bakteriler *Enterobacteriaceae* familyasının tipik bir üyesi olarak kabul edilmektedir. *Yersinia* spp. düşük sıcaklık derecelerinde bile (4°C) gelişebilen mikroorganizmalardır (23). *Yersinia* cinsi içerisinde bulunan türler; *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. ruckeri*, *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* ve *Y. kristensenii*'dir (4). Son olarak *Yersinia mollaretii* ve *Yersinia bercovieri* de bu gruba katılmıştır (23).

Gıda kaynaklı zehirlenmelerde, ana etmen olmamakla birlikte son 10–15 yıldır *Y. enterocolitica* enfeksiyonlarında önemli bir artış olduğu ve bakterinin sıklıkla gıdalardan izole edildiği bildirilmektedir (13). Etken insanlara sindirim yoluyla özellikle süt ve süt ürünleri, iyi pişmemiş deniz ürünleri, çiğ veya iyi pişmemiş et gibi besin maddeleriyle bulaşmaktadır. Amerika'da süttten kaynaklanan üç büyük Yersiniosis olayı bildirilmiş, bunlardan ikisinin çikolatalı süt ve kontamine olmuş pastörize süttten kaynaklandığı rapor edilmiştir (14, 16, 21, 23, 24). Bir araştırmada satışa sunulan 71 dondurma örneğinden 2 tanesinde *Yersinia enterocolitica* varlığı tespit edilmiştir (9). Diğer yandan et ve et ürünlerinde *Y. enterocolitica* 0:3 varlığı araştırılmış ve 33 domuz kıyması örneğinin 10 tanesinde, 24 sığır kıyması örneğinin ise 3 tanesinde bu bakteriye rastlanıldığı belirtilmiştir (1). Başka bir çalışmada da 41 döner kebab örneğinden 2 tanesinde *Y. enterocolitica* izole edildiği bildirilmektedir (8). Bir araştırmada ise piyasalarda satışa sunulmuş 30 salam ve 31 sucuk örneğinden 2 sucuk, 1 salam numunesinde *Yersinia enterocolitica* tespit edilmiştir (7). *Y. enterocolitica*'nın izole edildiği bildirilen diğer gıdalar arasında tofu, tavuk, balık, kabuklu deniz ürünleri, meyve ve sebzeler de bulunmaktadır (11, 12).

*Y. enterocolitica*'nın insanlarda neden olduğu sporadik enfeksiyonlar uzun yıllardır bilinmesine rağmen, bakteri, hastalık etkeni olarak son yıllarda gittikçe dikkati çekmeye başlamıştır. *Y. enterocolitica* insanlarda kanlı ve mukuslu olabilen ishal, terminal ileit, ivergen apandisit tablosu, mezenterik lenfadenit, septisemi, artrit, miyokardit, subakut hepatit, organ apseleri, menenjit, üreterit gibi klinik tablolar oluşturabilmektedir (13, 17, 18, 19, 23). Isıya dayanıklı enterotoksin üretiminin; virulent ve virulent olmayan *Y. enterocolitica* tipleri ile diğer patojenik olmayan *Y. kristensenii* gibi *Yersinia* türleri tarafından da üretildiği bildirilmektedir (18, 23). *Y. enterocolitica*'nın insanlara bulaşması ev ve kesim hayvanları, hasta ve taşıyıcılar ile hayvanlar ya da çevreden kontamine besin maddeleri aracılığıyla olmaktadır. İnsanlarda oral dozun 35x10<sup>9</sup> kob/ml olduğu tespit edilmiştir (2).

pH değeri mikrobiyal gelişme ve aktiviteyi etkileyen önemli bir iç faktördür. Her mikroorganizmanın gelişebildiği minimum, maksimum ve optimum pH değerleri vardır. Genel olarak bakterilerin gelişebildiği pH aralığı küf ve mayalara göre daha dardır. Bu yönde en seçici olanlar patojen bakterilerdir. Genelleme yapılacak olursa, bakteriler nötr ortamlarda, mayalar ve küfler ise hafif asidik ortamlarda gelişirler. Uygun olmayan pH

değerlerinde mikroorganizmaların genel olarak hücre geçirgenliği ve enzim aktiviteleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Ortam pH değeri yalnızca gelişmeyi değil aynı zamanda mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürme özelliğini de etkilemektedir. Mikroorganizmaların canlılığını sürdürebildikleri pH değerleri, özellikle gıdaların depolanması, kurutulması ve ısıtılması ile muamelesinde daha önemli olabilmekte ve ön plana çıkmaktadır (22).

Mikroorganizmalar çok değişik sıcaklıklarda gelişme göstermektedir. Doğada -8°C'den 90°C'ye kadar çok uç noktalarda gelişebilen mikroorganizmaların varlığından dahi söz edilebilir. Diğer taraftan mikroorganizmaların gelişebilmeleri için gereksinim duydukları optimum sıcaklık değerleri, çeşitli aktiviteler için gereksinim duyulan optimum sıcaklık değerlerinden daha farklı olabilmektedir. Her mikroorganizma veya mikroorganizma grubu, gelişebildiği bir minimum, optimum ve maksimum sıcaklık değerine sahiptir (22).

Tuzun bakteriler üzerine doğrudan bakterisit etkisi vardır. Bu etki tuz konsantrasyonunun derecesine bağlı olarak değişmektedir (25).

Polifosfatlar pişirme derecesinde kaliteyi yükselterek ısıya dayanıklı bakterilerin ölümüne neden olurlar. Ayrıca polifosfatların konserve edici etkileri de vardır. Aynı zamanda stabilizatör, bağlayıcı, antioksidan, tampon madde, aroma düzeltici ve emülsifiye edici olarak da kullanılırlar (25).

Bu çalışma, değişik pH ve sıcaklık değerleri ile farklı sodyum polifosfat ve tuz (NaCl) konsantrasyonlarının, et suyu ortamında *Y. Enterocolitica*'nın gelişimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

### Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan *Y. enterocolitica* O:3P 41797 Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Fakültesinden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan et formülasyonuna değişik oranlarda NaCl (0.0-0.75-1.5-2.25-3.0 g/50ml), sodyum polifosfat (0.0-0.05-0.075-0.10-0.15 g/50ml) ilave edilmiştir. Ayrıca pH değerlerinin (4.0-5.0-6.0-7.0-8.0) ayarlanması % 85'lik laktik asit ve 0.1 N NaOH ile yapılmıştır.

#### Et Suyu Formülasyonunun Hazırlanması, Sterilizasyonu

*Y. enterocolitica*'nın incelenmesi için; % 5,0 et ekstraktı, % 0,5 maya ekstraktı, % 1,5 proteoz pepton, % 1,7 nişasta ile 50 ml et suyu örnekleri hazırlanmıştır ve 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

#### Et Suyunun Tuz, Sodyum Polifosfat ve pH Ayarlanması

Steril et suyu formülasyonuna aseptik koşullarda NaCl ve sodyum polifosfat ilave edilmiştir. Ayrıca örneklerin pH değerleri % 85'lik laktik asit ve 0.1 N NaOH ile 4.0-5.0-6.0-7.0 ve 8.0'a ayarlanmıştır (15). Polifosfat ilavesi sonucu pH değeri değişebileceğinden (25), polifosfat ilavesi sonrası örneklerin pH değerleri aseptik

koşullarda yeniden ayarlanmıştır. Tuz, sodyum polifosfat ve pH'sı ayarlanan enfekte et suyu formülasyonları sırasıyla 37.5-40-42.5-45-47.5-50-52.5-55-57.5 ve 60°C' ye ayarlı çalkalamalı inkübatör de 25 dakika süreyle sıcaklık uygulanmıştır (15).

**Y. enterocolitica'nın İnokülasyonu:** Et suyu formülasyonlarının pH değerleri ayarlandıktan sonra otomatik pipet yardımıyla *Y. enterocolitica* süspansiyonu  $10^9$  kob/ml oranında inoküle edilmiştir (15).

#### Sıcaklık Uygulaması ve Örneklem Zamanları

Her bir sıcaklık derecesi için ayrı ayrı 0', 5', 10', 15', 20', 25 dakikalarda ekim yapılarak *Y. enterocolitica* varlığı araştırılmıştır. Enfekte edilen et suyu örnekleri 4 °C'de 7. gün *Y. enterocolitica* varlığı yönünden tekrar incelenmiştir.

#### Sıcaklık Uygulaması Sonrası *Y. enterocolitica*'nın Ekim ve Sayımı

Uygulanan işlemlerin ardından ilk gün ekim ve sayımları için Yersinia Selektif Agar'a (CIN Agar) hazırlanmış enfekte et suyu formülasyonu örneklerinden 0.1 ml alınıp, yüzeysel ekim yapılmış ve 37 °C' de 24 saat inkübatöre bırakılmıştır. Çalışma üç tekrar halinde yapılmıştır. Ekimleri yapılan petri kapları inkübasyon sonunda oluşan şeffaf "dana gözü" diye tabir edilen kolonilere çeşitli doğrulama deneyleri yapılmış (3, 13) ve petri kutuları dilüsyon katsayıları dikkate alınarak, değerlendirilmiştir. Bütün bu uygulamalar ile 4°C'de soğutmalı inkübatörde saklanan, et suyu formülasyonlu örneklerin ekim ve sayımları 7. gün tekrar edilmiştir.

### Bulgular

Çalışmada, deneyler için hazırlanan steril et suyu formülasyonun (meat juice) pH değerleri 4.0-5.0-6.0-7.0-8.0 olarak ayarlanmış, ve içlerine 0.0-0.75-1.5-2.25-3.0 g/50 ml NaCl ilave edilmiş ve ayrıca 0.0-0.05-0.075-0.10-0.15 g/50 ml sodyum polifosfat eklenmiştir. Sonra  $10^9$  kob/ml *Y. enterocolitica* ile enfekte edilmiştir. Enfekte edilmiş et suyu formülasyonun Tablo 1'de görülen kombinasyonları sırasıyla uygulanmıştır. Bu kombinasyonlar 0-5-10-15-20-25 dakika ısı işlemine tabi tutulmuş ve bakterinin gelişimi incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 1'de görüldüğü gibi değişik kombinasyonların çalkalamalı inkübatörde 0, 5, 10, 15, 20, 25 dakika ısı uygulanan örneklerde, birinci gün *Y. enterocolitica* tespit edilmemiştir. Üreme tespit edilmeyen kombinasyonlar 4°C' de 7 gün bekletilmiştir bu sürenin sonunda yapılan ekimlerde *Y. enterocolitica*'nın ürediği saptanmıştır.

Yapılan 7. gün ekimlerde 37.5°C' de, pH 4 değerinde, NaCl (0.0 g/50 ml) ve fosfat bulunmayan (0.0 g/50 ml) 1. örnekte ortalama  $1 \times 10^3$  kob/ml, aynı pH değerinde, 1.5 g/50 ml NaCl bulunan ve fosfat içermeyen 2. örnekte ortalama  $7.0 \times 10^3$  kob/ml *Y. enterocolitica* tespit edilmiştir. Ayrıca 37.5°C' de, pH 8 değerinde, 3.0 g/50 ml NaCl içeren ve fosfat içermeyen 3. örnekte ortalama  $5.0 \times 10^2$  kob/ml, pH 4 değerinde, 0.75 g/50 ml NaCl ve 0.15 g/50 ml fosfat konulan 4. örnekte ortalama  $6.0 \times 10^3$  kob/ml üreme

tespit edilmiştir. pH 4 değerinde, NaCl içermeyen ve 0.075 g/50 ml fosfat konulan 5. örnekte ortalama  $7.0 \times 10^2$  kob/ml, pH 8 değerinde, NaCl içermeyen ve 0.15 g/50 ml oranında fosfat içeren 6. örnekte ortalama  $5.0 \times 10^3$  kob/ml, pH 6 değerinde, 0.75 g/50 ml NaCl ve 0.15 g/50 ml fosfat konulan 7. örnekte ortalama  $7.0 \times 10^2$  kob/ml, pH 8 değerinde, 1.5 g/50 ml NaCl ve 0.075 g/50ml fosfat içeren 8. örnekte ortalama  $7.0 \times 10^4$  kob/ml *Y. enterocolitica* tespit edilmiştir.

Tablo 2'de 37.5°C' deki ekimlerin 0, 5, 10, 15, 20 ve 25 dakikadaki sonuçları ayrı ayrı verilmiştir. Yapılan 7. gün ekimlerde 40°C'de, pH 4 değerinde, NaCl ve fosfat içermeyen 9. örnekte ortalama  $2.0 \times 10^1$  kob/ml; aynı pH değerinde, 1.5 g/50 ml NaCl içeren ve fosfat içermeyen 10. örnekte ortalama  $4.0 \times 10^2$  kob/ml bakteri gözlenmiştir. pH 8 değerinde, 3.0 g/50 ml NaCl bulunan, fosfat bulunmayan 11. örnekte ortalama  $1.0 \times 10^4$  kob/ml, pH 4 değerinde, 0.75 g/50 ml NaCl ve 0.15 g/50 ml fosfat konulan 12. örnekte ortalama  $5.0 \times 10^1$  kob/ml, yine aynı pH değerinde NaCl içermeyen ve 0.075 g/50 ml fosfat konulan 13. örnekte ortalama  $4.0 \times 10^1$  kob/ml, pH 8 değerinde, NaCl bulunmayan, 0.15 g/50 ml fosfat bulunmayan 14. örnekte ortalama  $3.0 \times 10^2$  kob/ml, pH 6 değerinde, 1.5 g/50 ml oranında NaCl ve 0.15 g/50 ml fosfat konulan 15. örnekte ortalama  $1.0 \times 10^1$  kob/ml, pH 8 değerinde, 0.75 g/50 ml NaCl ve 0.075 g/50 ml fosfat konulan 16. örnekte ortalama  $3.0 \times 10^2$  kob/ml oranında *Y. enterocolitica* varlığı tespit edilmiştir.

*Y. enterocolitica* dondurma işlemine oldukça dirençli olduğu, ancak yüksek sıcaklığa dayanıklı olmadığı göz önünde bulundurularak, yapılan çalışmada incelenen *Y. enterocolitica*'nın inokule edildiği (0.0 ile 3.0 g/50ml) NaCl ve (0.0 ile 0.3 g/50ml) sodyum polifosfat 4.0-8.0 arasında değişen aralıklarda (% 85'lik Laktik asit ve 0.1 N NaOH kullanılarak) pH ayarlaması yapılmış et suyu formülasyonlu örnekler sırasıyla 37.5°C, 40.0°C, 42.5°C, 45.0°C, 47.5°C, 50.0°C, 52.5°C, 55°C, 57.5°C, 60°C sıcaklık uygulanmıştır. Uygulanan bu sıcaklıkların tamamına müteakip, yapılan ilk gün ekimlerinde *Y. enterocolitica* gözlenmemiştir. Ancak bu sıcaklık derecelerinde tespit edilemeyen formülasyonlar + 4°C' de 7 gün bekletilmiş ve bu sürenin sonunda tekrar *Y. enterocolitica* varlığı araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucu 37.5°C ve 40.0°C ısı işlemi uygulanan formülasyonlarda üreme tespit edilmiştir.

Tablo 3'te 40°C'deki ekimlerin 0', 5', 10', 15', 20', 25'dakikadaki sonuçları ayrı ayrı verilmiştir.

**Tablo 1.** Değişik pH ve sıcaklık değerleri ile farklı sodyum polifosfat ve NaCl konsantrasyonlarında *Y. enterocolitica* sayıları.

**Table 1.** The effect of different pH and Temperature Values and Sodium Polyphosphate and NaCl Concentrations on the Count of *Y. enterocolitica*

Örnek no	Sıcaklık (°C)	pH	NaCl (g/50ml)	Fosfat (g/50ml)	Mikroorganizma (kob/ml.)	
					1.gün	7.gün
1	37.5	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	1. 10 <sup>1</sup>
2	37.5	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	7. 10 <sup>3</sup>
3	37.5	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	5. 10 <sup>4</sup>
4	37.5	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	6.10 <sup>2</sup>
5	37.5	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	7. 10 <sup>2</sup>
6	37.5	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	5. 10 <sup>3</sup>
7	37.5	6	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	7.10 <sup>2</sup>
8	37.5	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	7.10 <sup>4</sup>
9	40.0	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	2.10 <sup>1</sup>
10	40.0	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	4.10 <sup>2</sup>
11	40.0	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	1.10 <sup>4</sup>
12	40.0	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	5.10 <sup>1</sup>
13	40.0	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	4.10 <sup>1</sup>
14	40.0	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	3.10 <sup>2</sup>
15	40.0	6	1.5	0.15	10 <sup>1</sup> >	1.10 <sup>1</sup>
16	40.0	8	0.75	0.075	10 <sup>1</sup> >	3.10 <sup>2</sup>
17	42.5	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
18	42.5	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
19	42.5	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
20	42.5	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
21	42.5	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
22	42.5	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
23	42.5	6	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
24	42.5	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
25	45.0	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
26	45.0	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
27	45.0	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
28	45.0	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
29	45.0	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
30	45.0	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >

31	45.0	6	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
32	45.0	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
33	47.5	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
34	47.5	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
35	47.5	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
36	47.5	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
37	47.5	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
38	47.5	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
39	47.5	6	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
40	47.5	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
41	50.0	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
42	50.0	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
43	50.0	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
44	50.0	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
45	50.0	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
46	50.0	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
47	50.0	6	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
48	50.0	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
49	52.5	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
50	52.5	4	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
51	52.5	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
52	52.5	4	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
53	52.5	4	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
54	52.5	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
55	52.5	6	0.75	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
56	52.5	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
57	55.0	4	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
58	55.0	4	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
59	55.0	4	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
60	55.0	4	3.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
61	55.0	6	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
62	55.0	8	0.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
63	55.0	8	0.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
64	55.0	8	3.0	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
65	55.0	8	3.0	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
66	57.5	5	0.75	0.05	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >

67	57.5	5	0.75	0.10	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
68	57.5	5	2.25	0.05	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
69	57.5	5	2.25	0.10	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
70	57.5	6	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
71	57.5	7	0.75	0.05	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
72	57.5	7	0.75	0.10	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
73	57.5	7	2.25	0.05	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
74	60.0	4	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
75	60.0	5	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
76	60.0	6	0.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
77	60.0	6	0.75	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
78	60.0	6	1.5	0.00	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
79	60.0	6	1.5	0.05	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
80	60.0	6	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
81	60.0	6	1.5	0.10	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
82	60.0	6	1.5	0.15	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
83	60.0	6	2.25	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
84	60.0	6	3.0	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
85	60.0	7	1.5	0.075	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >
86	60.0	8	1.5	0.075	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >

**Tablo 2.** Et suyu formülasyonlarında 37.5°C'de 0, 5, 10, 15, 20 ve 25 dakika sıcaklık işlemindeki *Y. enterocolitica* sayıları

**Table 2.** The Count of *Y. enterocolitica* in Meat juice Formulations at 37°C for 0, 5, 10, 15, 20 and 25 Minute Heat Treatments

37.5 °C	0.dak (kob/ml)	5.dak (kob/ml)	10.dak (kob/ml)	15.dak (kob/ml)	20.dak (kob/ml)	25.dak (kob/ml)
1.Örnek	6.10 <sup>3</sup>	4.10 <sup>3</sup>	5.10 <sup>2</sup>	4.10 <sup>1</sup>	5.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup>
2.Örnek	1.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>3</sup>	2.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >
3.Örnek	1.10 <sup>5</sup>	21.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>4</sup>	8.10 <sup>2</sup>	4.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup>
4.Örnek	3.10 <sup>3</sup>	6.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>3</sup>	4.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >
5.Örnek	4.10 <sup>3</sup>	4.10 <sup>2</sup>	8.10 <sup>2</sup>	7.10 <sup>1</sup>	3.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >
6.Örnek	2.10 <sup>4</sup>	1.10 <sup>4</sup>	2.10 <sup>3</sup>	2.10 <sup>1</sup>	1.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >
7.Örnek	4.10 <sup>3</sup>	2.10 <sup>2</sup>	3.10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
8.Örnek	4.10 <sup>5</sup>	2.10 <sup>4</sup>	7.10 <sup>3</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >



**Tablo 3.** Et suyu formülasyonlarında 40°C'de 0, 5, 10, 15, 20 ve 25 dakika sıcaklık işlemindeki *Y. enterocolitica* sayıları**Table 3.** The Count of *Y. enterocolitica* in Meat juice Formulations at 40°C for 0, 5, 10, 15, 20 and 25 Minute Heat Treatments

40.0 °C	0.dak (kob/ml)	5.dak (kob/ml)	10.dak (kob/ml)	15.dak (kob/ml)	20.dak (kob/ml)	25.dak (kob/ml)
9.Örnek	1.10 <sup>2</sup>	3.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
10.Örnek	1.10 <sup>3</sup>	1.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
11.Örnek	2.10 <sup>5</sup>	1.10 <sup>4</sup>	1.10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup> >	10 <sup>2</sup> >	10 <sup>1</sup> >
12.Örnek	2.10 <sup>2</sup>	7.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
13.Örnek	2.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
14.Örnek	2.10 <sup>3</sup>	1.10 <sup>2</sup>	3.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
15.Örnek	2.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >
16.Örnek	2.10 <sup>3</sup>	2.10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >	10 <sup>1</sup> >

### Tartışma

*Yersinia enterocolitica*'nın dondurma işlemine oldukça dirençli olduğu dondurulmuş gıdalarda uzun süre canlılığını koruduğu, yüksek sıcaklığa dayanıklı olmadığı bildirilmiştir (22). Bu doğrultuda yapılan çalışmada, *Yersinia enterocolitica*'nın inoküle edildiği; (0.0 ile 3.0 g/50ml) NaCl ve (0.0 ile 0.3 g/50ml) sodyum polifosfat ile 4.0-8.0 arasında değişen aralıklarda pH ayarlanmış (%85'lik Laktik asit ve 0,1 N NaOH kullanılarak) et suyu formülasyonlu örneklerde sırasıyla 37.5°C, 40.0°C, 42.5°C, 45.0°C, 47.5°C, 50.0°C, 52.5°C, 55°C, 57.5°C, 60°C sıcaklık uygulanmış, uygulamayı takiben yapılan ilk gün ekimlerde *Y. enterocolitica*'ya rastlanmamış, ancak +4°C'de 7 gün inkübasyon sonucu 37.5 ve 40.0°C sıcaklık uygulanan örneklerde etken tespit edilmiştir.

Çakıroğlu (6), 2001 yılında yapmış olduğu bir çalışmada *Y. enterocolitica* ile enfekte ettiği kıymayı mikrodalga fırında değişik sıcaklıklarda pişirmiş ve daha sonra bu bakterinin uygulanan sıcaklıklarda varlığı ve gelişimini araştırmıştır. Araştırma sonunda 35 ve 54°C'de üreme tespit edilmiş, ancak 67, 80 ve 97°C'de üreme tespit edilememiştir. Sıcaklık uygulanan örnekler daha sonra selektif besi ortamında 4°C'de 7, 14 ve 21 gün bekletilmiş ve bu sürelerin sonunda 35 ve 54°C sıcaklık uygulanan örneklerde *Y. enterocolitica*'nın çok fazla çoğaldığı gözlenmiştir (6). Bu çalışmada da benzer sonuçların elde edilmesiyle birlikte, farklı pH değerleri ve ilave edilen NaCl ve özellikle sodyum polifosfatın, *Y. enterocolitica*'nın direncini kırdığı tespit edilmiştir.

*Y. enterocolitica*'nın hücrelerinin gelişebildiği pH aralığı 4,0-10,0 olup optimum pH değeri 7,0-8,0'dir (22). Bu çalışmada, *Yersinia enterocolitica*'nın 37,5°C ve 40°C sıcaklıkta, (0,0-3,0 g/50ml) NaCl ve (0,00-0,15 g/50ml) fosfat içeren örnekler içerisinde, en iyi 4,0-6,0 ve 8,0 pH aralıklarında gelişebildiği gözlenmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada etkenin tuz içeren ortamlardaki gelişimi tespit edilmek istenmiştir. 37,5°C'de 3,0 ile 1,5 g/50ml NaCl konulan örneklerde, 7. günde diğer örneklerdeki oranlara nazaran etkenin daha fazla ürettiği gözlenerek sırasıyla  $5 \times 10^4$ ,  $7 \times 10^4$  kob/ml *Y. enterocolitica* tespit edilmiştir. 40°C'de ise 1,5 ile 3,0 g/50ml NaCl karıştırılan örneklerde 7. günün sonunda diğer tuz oranlarına göre etkenin daha fazla ürettiği gözlenerek sırasıyla  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^2$  kob/ml mikroorganizmanın canlı kaldığı sonucuna varılmıştır (22).

Shenoy ve Murano (20) 1996 yılında yaptıkları bir çalışmada domuz kıymasına inoküle ettikleri *Yersinia enterocolitica* bakterisini 45°C 60 dakika ısı stresine maruz bırakarak başlangıçta bakteri sayısında azalma tespit etmelerine rağmen bakterinin 2. günde 25°C'de depolamada  $10^9$  kob/ml seviyesine ulaştığını, 4°C'de depolamada ise 9. gün  $10^8$  kob/ml seviyesine ulaştığını tespit etmişlerdir. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar, bu çalışmada sıcaklık uygulamalarında elde edilen sonuçları desteklemektedir.

Bolton ve ark. (5), 2000 yılında yapmış oldukları bir çalışmada salamura olarak hazırlanmış kıyma ve 50 gramlık et örneklerine *L. monocytogenes* ve *Y. enterocolitica* inoküle etmişler ve 50, 55 ve 60°C sıcaklıkta su banyolarında bekletmişlerdir. Çalışma sonunda selektif ortamlarda bu bakterilerin yeniden çoğalabildiklerini belirtmişlerdir.

*Y. enterocolitica* hücrelerinin gelişebildikleri pH aralığı 4,0-10,0 olup optimum pH değeri 7,0-8,0'dir (22). Bu çalışmada, *Yersinia enterocolitica*'nın 37,5°C ve 40°C sıcaklıkta, (0,0-3,0 g/50ml) NaCl ve (0,00-0,15 g/50ml) fosfat içeren örneklerde en iyi 4,0-6,0 ve 8,0 pH değerlerinde gelişebildiği gözlenmiştir. Ortamın pH değeri sadece gelişmeyi değil aynı zamanda mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürebilme özelliğini de etkilemektedir. Bu çalışma ile *Y. enterocolitica*'nın pH 4-8 değerleri arasında ve 37,5-40°C'de üreyebildiği tespit edilmiştir. Et ürünlerine sirke asidi katılması ile, fermentasyon veya şekerin laktobasiller tarafından parçalanması sonucu asidik ortam sağlanmakta ve üretim yapılmaktadır (25). Dolayısıyla bu bakterinin özellikle asidik ortamlarda ürettiği göz ardı edilmemelidir. Erdoğan ve ark. (10), 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada *Y. enterocolitica*'nın farklı ısı işlemleri kullanılarak üretilen yoğurtlarda varlığını ve gelişimini incelemişlerdir. Yoğurdun pH değerleri başlangıçta 6,4 iken, 7. gün sonunda sırasıyla 4,1-4,0-4,1 değerlerine düşmüş ve *Y. enterocolitica* tespit edememişlerdir.

Juneja ve Eblen (15) yaptıkları bir çalışmada *L. monocytogenes* üzerine değişik oranlarda sıcaklık, pH, NaCl ve sodyum polifosfat uygulandığında, tuzun mikroorganizmayı ısıya karşı koruyucu etkisinin olduğu, sodyum polifosfat ve düşük pH'nın ise ısıya karşı hassasiyeti artırdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da 0,15g/50ml sodyum polifosfat konulan örneklerde üremenin azaldığı gözlenerek başlangıçta  $10^9$  kob/ml olan *Y. enterocolitica* sayısı  $1,0 \times 10^1$  kob/ml'ye kadar düşmüştür.

Özellikle üretim safhasında fosfat kullanılarak elde edilen gıda maddeleri için bu sonuç önem taşımaktadır. Fosfatların konserve edici etkilerinin (özellikle *Staphylococcus aureus* üzerinde) *Y. enterocolitica* üzerine de olduğu bu çalışma ile tespit edilmiştir (25).

Et suyu formülasyonunda +4°C' de 7 gün süresince bekletilen örneklerde dahi *Y. enterocolitica*' nin varlığı tespit edilmiş ve 37.5°C' de 3.0 ile 1.5 g/50ml NaCl konulan örneklerde 7. günde diğer oranlara nazaran daha fazla ürettiği gözlenerek sırasıyla  $5 \times 10^4$ ,  $7 \times 10^4$  kob/ml *Y. enterocolitica* varlığı tespit edilmiştir, 40°C' de ise 1.5 ile 3.0 g/50ml NaCl karıştırılan örneklerde 7. günün sonunda diğer tuz oranlarına göre daha fazla ürettiği gözlenerek sırasıyla  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^2$  kob/ml mikroorganizmanın canlı kaldığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak ilk gün sıcaklık, pH, NaCl ve sodyum polifosfat değerleri uygulanarak etkilenen *Y. enterocolitica*' nin +4°C' de 7 gün süreyle bekletilmesi sonucu yapılan ekimlerde bakterinin kendini onarıp çoğaldığı ve bu yüzden 37.5°C ve 40°C' de denenilen pH, tuz ve sodyum polifosfat oranlarının bakteriyi tamamen yok edemediği tespit edilmiştir. Bu bağlamda hijyenik koşullara dikkat edilmeden hazırlanan gıdaların, düşük sıcaklıkta pişirilmesi insan sağlığını tehdit edebilir. Ayrıca normal sıcaklıklarda pişirme işlemi yapılsa da başlangıçta *Y. enterocolitica* yükü fazla olan gıda maddelerin soğukta depolamada bile bakterinin kendisini rahatlıkla onarabildiği anlaşılmaktadır. *Y. enterocolitica* ile kontamine olmuş gıdaların, düşük sıcaklıkta pişirilmesi dahi bakterinin gelişimi üzerine tam etkili değildir. Gıdaların pişirildikten sonra buzdolabında uzun süre saklanmaları da bakteri üzerine yeterince etki göstermemektedir.

### Teşekkür

Bu çalışma 2000/6-11 numara ile KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Emel Çakıroğlu'na teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

1. Anderson, J.K., Sorensen, R., Glensbjerg, M.: Aspects of the Epidemiology of *Yersinia enterocolitica* : A Review. Int. J. Food Microbiol., 1991; 13: 231-238.
2. Aulisio, C.C.G., Mehlman, I.J., Saundern, A.C.: Use of Alkali for Rapid Recovery of *Yersinia enterocolitica* from foods. Ab. Ann. Meeting. American Soc. Microbiol., 1979; 7: 218.
3. Barrow, G.I., Feltham, R.K.A.: Cowan and Stell's Manual for the identification of medical bacteria , third edition, Printed in Great Britain at the Universty Press, Cambridge, 1993, 331.

4. **Bercovier, H., Mollaret, H.H.:** *Yersinia* in Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology Vol.1, Eds N. K. Krieg ve J. G. Holt Williams and Wilkins, Baltimore,1984, 1268.
5. **Bolton, D.J., McMahon, C.M., Doherty, A.M., Sheridan, J.J., McDowell, D.A., Blair, I.S., Harrington, D.:** Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in minced beef under sterile conditions and in sous-vide prepared minced and solid beef cooked in a commercial retort. *Journal of Applied Microbiol.*, 2000; 88: 626-632.
6. **Çakıroğlu, E.:** Mikrodalga fırında pişirilen kıymadaki *Yersinia enterocolitica*'nın gelişiminin incelenmesi, KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Haziran, 2001, 30 sayfa.
7. **Erdoğan, Ö. T.:** Kahramanmaraş İlinde Tüketime Sunulan Salam ve Sucukta *Yersinia enterocolitica* Varlığı, *Biyoteknoloji Dergisi*, 2000; 24 (1): 75-79.
8. **Erdoğan, Ö.T., Çakıroğlu, E.:** Döner Kebaplarda *Yersinia enterocolitica* izolasyonu ve tanımlanması ve patojenitelerinin belirlenmesi, XII Biyoteknoloji Kongresi, Balıkesir. 17-21 Eylül, Bildiriler kitabı, 2001: 55-57.
9. **Erdoğan, Ö.T.:** A study on isolation, identification and potential pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* in plain ice-cream. *Milchwissen.*, 2002, 57(3): 147-149.
10. **Erdoğan, Ö.T., Çolak, H., Ergün, Ö.:** *Yersinia enterocolitica*'nın farklı ısı işlemleri kullanılarak üretilen Türk tipi yoğurtlarda varlığı ve gelişimi, İ.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 2002; 28(2): 277-280.
11. **Falcao, D. P.:** Occurrence of *Yersinia* spp. in Foods in Brazil. *Int. Food. Microbiol.*, 1991; 14: 179-182.
12. **Farrag, S.A., Marth, E.H.:** *Escherichia coli* O157:H7 *Yersinia enterocolitica* and Their Control in Milk by the Lactoperoxidase System: A Review. *Lebens. Wiss. Technol.*, 1992; 25: 201-211.
13. **Gilmour, A., Walker, S.J.:** Isolation and Identification of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like Bacteria. *J. App. Bacteriol.*, Symposium Supp., 1988, 213-236.
14. **Greenwood, M.H., Hoper, W.L., Rodhose, J.C.:** The Source of *Yersinia* spp. in Pasteurized Milk: An Investigation at a Dairy. *Epidemi. Infect.*, 1990; 104: 351-360.
15. **Juneja, K.V., Eblen, S.B.:** Predictive Thermal Inactivation Model for *L. monocytogenes* with Temperature, pH, NaCl, and Sodium Pyrophosphate as Controlling Factors. *J. Food Protect.*, 1999; 62 (9): 986-993.
16. **Özbaş, Z.Y., Aytaç, S.A.:** *Yersinia enterocolitica*: Gıda kaynaklı bir patojen. *Gıda*, 1994; 19(4): 229-235.

17. **Özsan, K.:** *Yersinia enterocolitica*'nın Bakteri Sistematikindeki Yeri, Morfolojik ve Kültürel Özellikleri "Alınmıştır.*Yersinia enterocolitica* .Ed. E. Tümbay", Türk Mikrobiyoloji Derneği Yay. No:2. Bilgehan Matb., İzmir,1982, 103.
18. **Prpic, J.K., Robins-Browne, R.M., Davey, R.B.:** Differentiation Between Virulent and avirulent *Yersinia enterocolitica* Isolates by Using Congo Red Agar. J. Clin. Microbiol., 1983; 18: 486-490.
19. **Prpic, J.K., Robins-Browne, R.M., Davey, R.B.:** In Vitro Assesment of Virulance in and Related Species. J. Clin. Microbiol., 1985; 22: 105-110.
20. **Shenoy, K., Murano, E.A.:** Effect of Storage Conditions on Growth of Heat-Stressed *Yersinia enterocolitica* in ground pork. J. Food Protect., 1996; 59(4): 365-369.
21. **Tacket, C.O., Narain, J.P., Saatin, R., Lofgen, J.P., Konigsberg, C., Rendtorff, R.C., Rauja, A., Davis, B.R., Cohen, N.L.:** Multistate Outbreak of Infections caused by *Yersinia enterocolitica* Transmitted by Pasteurized Milk. J. American Med. Ass., 1984; 251: 483-486.
22. **Ünlütürk, A., Turantaş, F.:** Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, İzmir, 1999,130-132.
23. **Varnam, A.H., Evans, M.G.:** Foodborne Pathogens, Wolfe Pub. Ltd., BPCC Hazell Books, Aylesbury, England, 1991, 557.
24. **Walker, S. J., Archer, P., Banks, J. G.:** Growth of *Yersinia enterocolitica* at Chill Temperatures in Milk and Other Media. Milchwissen, 1990; 45: 503-506.
25. **Yıldırım, Y.:** Et Endüstrisi. Yıldırım Basımevi, Ankara, 1992, 711.