

VAKUMLA PAKETLENEN İNEGÖL KÖFTELERİN FARKLI DERECELERDE BUZDOLABINDA SAKLANMASI SIRASINDA BAKTERİ FLORASINDA VE *Listeria monocytogenes* SAYISINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER

CHANGES IN BACTERIAL FLORA AND *Listeria monocytogenes* COUNTS IN VACUUM PACKED İNEGÖL MEATBALLS REFRIGERATED AT DIFFERENT DEGREES

Ece SOYUTEMİZ

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, BURSA

ÖZET: Çalışma, günümüzde hazır olarak satışı yaygınlaşan İnegöl köftenin vakumla paketlenerek farklı derecelerde muhafazası sırasında köftenin bakteri florasını ve *L.monocytogenes*'in gelişimini incelemek amacıyla yapıldı. Birinci grup köftelere 4.0×10^3 kob/g, 9.0×10^3 kob/g ve 2.4×10^4 kob/g düzeylerinde 3 farklı *L.monocytogenes* inokulasyonu uygulanarak, vakumla paketlenme işleminden sonra 7 gün süreyle 0°C 'de muhafaza edildi. İkinci grup köftelere ise, 2.9×10^3 kob/g, 7.0×10^2 kob/g ve 4.3×10^3 kob/g düzeylerinde etken inokule edilerek vakumla pakettendi ve 4°C 'de 7 gün süreyle muhafaza edildi. Ayrıca köfteler mezofil aerob bakteri, psikrofil bakteriler, koliform bakteriler, *E.coli*, stafilocok ve mikrokoklar, koagülaz pozitif stafilocoklar, sülfid indirgeyen anaeroblar, laktobasiller, maya-küf ve enterokoklar bakımından analizlere alındı. Köftelerin ayrıca pH değerleri belirtildi. Analizler depolanmanın 0.,1.,2.,3.,4.,5.,6., ve 7. günlerinde yapıldı.

İnegöl köftelerin, vakumla paketlenerek 0°C 'de ve 4°C 'de muhafaza işlemi *L.monocytogenes*'in çoğalmasını önlese bile etken bu süre içinde varlığını sürdürmeye devam etti. Bu nedenle köfte yapımında hijyen prensiplerinin ve köftelere yeterli izgara işlemi uygulamasının önem kazandığı düşünüldü.

ABSTRACT: This study was performed in order to investigate bacteria flora and *L.monocytogenes* growth in vacuum packed and refrigerated at different degrees of İnegöl meatballs which were sold widespread as ready made nowadays.

The first group meatballs were inoculated with three different *L.monocytogenes* levels were 4.0×10^3 cfu/g, 9.0×10^3 cfu/g and 2.4×10^4 cfu/g and then vacuum packed and refrigerated at 0°C for 7 days. The second group meatballs were also inoculated with three different levels were 2.9×10^3 cfu/g, 7.0×10^2 cfu/g and 4.3×10^3 cfu/g and then vacuum packed and refrigerated at 4°C for 7 days. And also both of the groups were analyzed for mesophyl aerob bacteria, psychrophilic bacteria, coliform bacteria, *E.coli*, staphylococcus and micrococcus and coagulase pozitive staphylococcus, sulphite reducing bacteria, lactobacilli, yeast and molds and enterococcus. pH values also determined during the storage. All the analysis were done on days 0,1,2,3,4,5,6 and 7 day of the storage.

Vacuum packaging and refrigerating processes of İnegöl meatballs at 0°C and 4°C for 7 days prevented to the growth of *L.monocytogenes* but bacteria kept the levels in the meatballs during the storage. Therefore, it was concluded that hygiene principles were important in made of İnegöl meatballs and should be applied efficient grilling process in the meatballs.

GİRİŞ

Günümüzde gıda endüstrisi, zamanları kısıtlı tüketicilerin isteklerine hitap etmeye yönelik çalışmalarını sürdürmektedir. Böyle bir eğilim, hazır kırmızı etler, kanatlı etleri ve deniz ürünlerinde satışta büyük artışa neden olmaktadır. Bu soğukta saklanan yemeğe hazır et ürünleri süper marketlerde önemli bir grubu oluşturmaktadır. İnegöl köfte de hazır olarak satışa sunulan ürünler arasında yerini almıştır. Soğutma bu tip gıdalarda gıdaya bağlı patojenleri kontrol etmek için yegane faktör olarak kabul edilir. Ancak bazı psikrofilik patojenler soğutulmuş gıdalarda duyuusal kalitede az veya belli olmayan değişikliklerle çoğalma gösterebilirler(BERRANG ve ark.1989).

L.monocytogenes, son 20 yılda birçok salgına neden olan gram pozitif psikrotrofik bir bakteridir (SCHLECH ve ark.1983). Etken kanatlı eti, kırmızı et, süt ve süt ürünleri, deniz ürünleri ve sebzeleri içeren çeşitli gıdalardan izole edilmiştir(GITTER,1976). SERGELİDİS ve ark.(1997), et işleyen işletmelerdeki 22 buzdolabının %4.5'inde *L.monocytogenes* ve %36.4'ünde *L.innocua* saptamışlardır.

Diğer taraftan taze et üzerindeki mikrobiyal gelişme bozulmanın, ekonomik kaybın ve et kalitesindeki düşüşün ilk nedenidir. Et ve et ürünlerinin güvenliği ve raf ömrü başlangıçtaki mikrobiyal kontaminasyona, iyi üretim uygulamalarına(GMP), paketlemeye ve son ürünün depolama ısısına bağlı olarak değişiklik gösterir. Enterobacteriaceae familyasının psikrotrofik bakterileri sık sık taze vakum paketlenmiş etler üzerinde bulunmaktadır. Yüksek pH'daki (6.0 ve üstü) vakum paketlenmiş etler üzerinde fermentatif, gram negatif bakterilerin düşük pH'da vakum paketlenen etlere göre daha yüksek sayılarda bulunduğu tespit edilmiştir(GILL and NEWTON,1978). İnegöl köfte pH değeri yüksek bir et ürünü olup, pH'sı 7.5 civarındadır(SOYUTEMİZ, 1993; SOYUTEMİZ,1998).

Etlerin geniş ölçüde *L.monocytogenes* ile kontamine olduğu ve tüm dünyada insanlardaki hastalık vakalarının çoğuna serotip 4b'nin neden olduğu görülmektedir. Etken hem vakumla paketlenmiş hem de açık havada depolanan sığır etinde gelişme göstermekte olup, vakumla paketlenmiş tavuk göğüs etlerinde daha az gelişme gösterdiği bildirilmektedir(FARBER ve PETERKIN,1991). GILL VE REICHEL(1989), *L.monocytogenes*'in 0,2.5 ve 10°C'de vakum paketlenen etlerde gelişebildiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte %100 CO₂ altında paketlenen yüksek pH'lı sığır etinde organizma 5°C'nin altında çoğalma gösterememiştir. Ayrıca etken az oksijen varlığında gelişme göstermesine rağmen, anaerob modifiye atmosfer altında depolanan çığ kanatlı etlerinde canlılıklarını sürdürememektedir. HENDRICKS VE HOTCHKISS(1997), CO₂ konsantrasyonunun *L.monocytogenes* ve *Pseudomonas fluorescens*'in lag fazını uzattığını ve gelişimlerini önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir. Yaklaşık %20 CO₂ *P.fluorescens*'in ve %80 CO₂ *L.monocytogenes*'in gelişimini önemli derecede azaltmıştır.

JUVEN VE BAREFOOT (1998), 6.3 ile 6.4 log kob/g *L.monocytogenes* inokule ettikleri kıymalarda laktobasil ilavesi olmadığı taktirde sayıları 7.4 log kog/g'a yükseldiğini, diğer taraftan *L.alimentarius* L-2 ilavesinin, *L.monocytogenes*'in sayısını 4.3 log kob/g'a düşürdüğünü bildirmiştir. *L.alimentarius* L-2'nin bakteriozin veya hidrojen peroksit oluşturmaksızın meydana getirdiği antilisterial etkinin, kıymalardaki laktik asit oluşumuna bağlı olduğu ortaya konmuştur. NEMETH ve ark(1989), çeşitli bakterilerin uygun gelişme koşulları altında bakteriozin üretme kabiliyetini incelemişler ve bakteriozinlerin laktik asit bakterileri tarafından üretildiğini ifade etmişlerdir. Nutrient vasat içindeki testler, sıcaklığın düşürülmesi ile bakteriozin aktivitesinin arttığını göstermiş, 2°C'de bakteriozin varlığında üreme meydana gelmediği belirlenmiştir. Çalışma, *Leuconostoc gelidium* ve *Lactobacillus sake* türlerinin hem agar spot hem de well-diffüzyon testlerinde *Listeria* türlerini inhibe edici etkisini göstermiştir. KELLY ve ark(1989), satışa sunulan hazır gıda maddelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinde bakteriozin oluşumunu incelemişlerdir. 41 gıda örneğinin 14'ünden 22 bakteriozin üreten kültür izole edilmiştir. Et ürünlerinden, balık ve deniz ürünlerinden ve süt ürünlerinden bakteriozin oluşturan izolatlar elde etmişler ve bu ürünlerde *Lactobacil* ve *Leuconostoc* türlerinin yaygın olduğunu bildirmişlerdir.

GÜRSEL VE GÜRAKAN(1997), kanatlı ve kırmızı ete soğutma öncesi uygulanan 2.5 kGy irradasyonun, 10³-10⁴ *L.monocytogenes*/g düzeyinde kontamine edilmiş et ürünlerinin prezervasyonu için etkili bir yol olduğunu açıklamışlardır. Ancak irradasyon ile hasara uğratılmış hücrelerin 4°C'de açıkta muhafaza sırasında kendilerini yenileyebileceği ve risk oluşturabileceğini saptamışlardır.

POTHURI ve ark(1995), kerevit etinde *L.monocytogenes*'in gelişimini incelemişler ve 4°C'de 20 gün süreyle depolanması sırasında 4 log kob/g düzeyinde inokule edilen kontrol grubu kerevitlerde etkenin sayısının arttığını bildirmişlerdir. SHELEF (1989) tarafından, 10²-10⁴ kog/g ve 10³-10⁵ kob/g oranında kontamine edilen et ve karaciğer örnekleri 4°C'de ve 25°C'de saklanmıştır.4°C'de muhafaza edilen örneklerde 30 gün sonra *Listeria* türlerinin sabit kaldığı, 25°C'de depolanan örneklerde ilk 24 saat içinde *Listeria* sayısında artış olduğu gözlenmiştir. FARBER VE DALEY(1994), *L.monocytogenes*'in et ürünlerinde 4°C'de uzun süre canlı kalabileceğini, fakat çoğalma gösteremediğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde, *L.monocytogenes* ile inokule edilen etli böreklerde etkenin, 4°C'de 3 haftalık depolama süresince canlılığını sürdürdüğü fakat çoğalmadığı görülmüştür. HAO ve ark (1997), sığır etine yüksek düzeyde (10⁵ kob/g) *L.monocytogenes* inokulasyonu uygulandıktan sonra 5°C'de 14 gün süreyle inkübasyona bırakmışlar ve başlangıçta 4.75 log kob/g düzeyinde olan *L.monocytogenes* sayısı 4.günde 4.69, 8.günde 4.49'a düşmüş ve 14.günde ise 4.70 log kob/g olmuştur. HARMAYANI ve ark(1993), kıymanın 4°C'de saklanması sırasında *L.monocytogenes* sayısında bir artış meydana gelmediğini ancak sodyum laktat ile muamele edilen örneklerde kontrol grubuna göre daha düşük sayılar elde edildiğini bildirmişlerdir. Baş-

langıçta 6.52 ile 7.03 log kob/g *L.monocytogenes* içeren örnekler 65°C'de pişirildiğinde 2.11-3.73 log kob/g *L.monocytogenes*'in canlı kaldığı ve 4°C'de 6 gün muhafaza süresince önemli bir artış kaydedilmediği ortaya konmuştur.

RORVIK ve ark(1991), farklı hijyenik kalitedeki dumanlanmış som balığını düşük (6 kob/g) ve yüksek (600 kob/g) düzeylerde *L.monocytogenes*'in üç farklı türü ile inokule etmişler ve vakum paketlenerek 4°C'de 5 hafta süreyle depolamışlardır. *L.monocytogenes* depolama süresince bütün inokulasyon düzeylerinde üreme göstererek, hijyenik kalitesi iyi olan balıklarda üreme biraz daha hızlı olmuştur. Hijyenik kalitesi iyi olan balıklarda 4 hafta sonra üç *L.monocytogenes* türü de bulunurken hijyenik kalitesi kötü olan balıklarda iki tür saptanmıştır. CORTESI ve ark(1997), farklı işletmelerde üretilen ve dilimlenerek vakum paketlenen dumanlanmış som balığında *L.monocytogenes*'in insidensi, sayısı ve davranışını 2°C ve 10°C'de depolama süresince incelemişlerdir. *L.monocytogenes* 2°C'de depolama sırasında 100 paketin 20 tanesinden ve 10°C'de depolama sırasında 65 paketin 12 tanesinden izole edilmiştir. 5 pakette saptanan bakteri sayısı 15, 20, 290, 110 ve >1100 kob/g iken, geri kalan diğer paketlerdeki sayılar <10 kob/g bulunmuş, ayrıca işletmelerden birinde, *L.monocytogenes* sayısının yüksek olmasının dilimleme ve paketlenme işlemlerinde çalışan işçilere bağlı olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışma, marketlerde yaygın olarak satışa sunulan hazır İnegöl köftelerin vakumla paketlenerek farklı muhafaza derecelerindeki gelişimini incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Test Suşu ve Hazırlanması: Çalışmada kullanılan *L.monocytogenes* SLCC 2375 serotip 4b, Dr. Ch. Ja-coquet (Institut Pasteur, Center National de Reference des Listeria, Paris, Fransa)' den sağlanmıştır.

Trypton Soy Agar(TSA)'da, +4°C'de muhafaza edilen stok kültürden bir öze dolusu alınarak Trypton Soy Broth'da 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, TSB'dan Listeria Selective Agar(LSA) üzerine öze ile ekim yapılarak, plaklar 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan tipik bir koloni TSB'a inokule edilerek, 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun 1.,2.,3.,4.,5.,6. saatlerinde % 0.1'lik peptonlu su ile 10⁻⁶ ya kadar hazırlanan dilüsyonlarından LSA'a ekim yapıldı ve *L.monocytogenes* 4b suşunun TSB'un ml'sindeki miktarı tespit edildi. Bu şekilde köftelere inokule edilecek olan *L.monocytogenes* sayısı belirlendi.

İnegöl Köfte Örneklerinin Hazırlanması: Bursa'da İnegöl köfte üreten iki farklı restorandan günlük köfte üretimini takiben, üretimden hemen sonra alınan köfte örnekleri soğuk zincir altında U.Ü.Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi. 1. grup köftelerde 4.0x10³ kob/g(1.grup), 9.0x10³ kob/g(2.grup), ve 2.4x10⁴ kob/g(3.grup) düzeylerinde üç farklı *L.monocytogenes* 4b inokulasyonu gerçekleştirildi ve vakumla paketlenerek 0 C'de 7 gün süreyle muhafazaya alındı. 2. grup köftelerde ise, 2.9x10³ kob/g(1.grup), 7.0x10² kob/g(2.grup), 4.3x10³ kob/g(3.grup) düzeyinde üç farklı inokulasyon uygulanarak vakumla paketlenen köfteler 4°C'de 7 gün muhafazaya alındı Her grup için ayrı ayrı 0.,1.,2.,3.,4.,5.,6., ve 7.günlerde *L.monocytogenes* sayıları belirlendi. Köfteler ayrıca toplam aerob mezofil bakteri, psikrofil bakteri, koliform bakteri, *E.coli*, laktobasiller, stafilkok ve mikrokoklar,koagülaz pozitif stafilkok, enterekoklar, maya ve küf , sülfid indirgeyen anaeroblar ve de pH değerleri bakımından analizlere alındı.

***L.monocytogenes* Aranması:** İnegöl köftelerde, *L.monocytogenes* inokulasyonundan önce *L.monocytogenes* varlığını saptayabilmek için, FDA metoduna göre(HITCHINS,1995), 25 g. köfte örneği 225 ml. Tryptone Soya Broth (TSB-Oxoid, CM-129) - Yeast Extract (TSB-YE; %0.6 yeast extract, 15 mg acriflavin hydrochloride/l, 40 mg nalidixic acid/l ve 50 mg cycloheximide/l) içinde 30°C'de 48 saat ön zenginleştirmeye tabi tutulduktan sonra buradan alınan 1 ml homojenizat 9 ml %0.5 KOH solusyonuna aktarılarak hazırlanan dilüsyonlarından 0.1 ml alınarak Listeria Selective Supplement (Oxoid, SR 140) katkılı Listeria Selective Agar (LSA- Oxford Formulation -Oxoid-CM 856) üzerine yayma plak metodu ile ekimleri yapıldı ve 37°C'de 24 saat sonunda üreyen tipik koloniler (1-2 mm çaplı, siyah renkli ve siyah haleli tipik) Tryptone Soy Agar'da (TSA-Oxoid, CM 131) subkültüre edildi. İnkübasyon sonunda her petriden 5 koloni alınarak, Henry İlüminasyon Tekniği, gram boyama, hareket muayanesi, katalaz reaksiyonu, Semi Solid İndol Motility Medium'da(SİM) üreme, oksidaz testleri yapıldı. Listeria özelliği taşıyan kolonilerin, kanlı agarda β hemoliz yapma durumu incelendi ve biyokimyasal analizleri (nitrat

redüksiyon, üre hidroliz, metil-red, voges proskauer ve karbonhidrat fermentasyon testleri "maltoz, ramnoz, ksiloz, mannitol, dekstroz"uygulandı ve CAMP testi yapıldı.

L.monocytogenes Sayımı: İnokulasyon işleminden sonra, İnegöl köfte örneklerinde *L.monocytogenes*'in sayısının tespiti için Food and Drug Administration (FDA) tarafından bildirilen direk plak ekim metodundan yararlanıldı. Bu amaçla 25 gram köfte örneğinden, 225 ml. Phosphate Buffered Saline (PBS) içinde hazırlanan 1:10'luk dilüsyondan LSA(Oxford Agar) üzerine yayma plak yöntemi ile ekimler gerçekleştirildi. 37°C'de 48 saat inkübasyon sonunda üreyen tipik kolonilerden FDA'nın belirlediği identifikasyon testleri yapıldı(HITCHINS,1995).

Diğer Mikrobiyolojik Analizler: Toplam mezofil aerob bakteri(37°C'de 24 saatlik inkübasyon) ve psikrofilik bakteriler(7°C'de 10 günlük inkübasyon) Plate Count Agar (HARRIGAN ve McCANCE, 1976), koliform bakteriler Violet Red Bile Agar(ANONYMOUS,1982a), *E.coli* tesbiti için IMVIC test (HARRIGAN ve McCANCE,1976), toplam stafilokok ve mikrokoklar Baird -Parker Agar ve koagülaz pozitif stafilokoklar, şeffaf zon oluşturan kolonilerden koagülaz testi yapılarak(ANONYMOUS,1983), sülfid indirgeyen anaeroblar Sulphate-Polymxine-Sulphadiazine Agar (HARRIGAN ve McCANCE), maya ve küf Potato Dextrose Agar (ANONYMOUS,1982b), enterokoklar KF Streptococcus Agar Base ve laktobasiller Man Rogosa Sharp Agar (ANONYMOUS,1988) kullanılarak belirlendi.

pH tayini ise Orion Research Model 301 tip pH metre ile yapıldı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 1. Vakumlu İnegöl Köftelerde 0°C'de *L.monocytogenes*'in Gelişimi (kob/g)

Grup	Günler							
	0	1	2	3	4	5	6	7
1	4.0x10 ³	1.2x10 ³	1.0x10 ³	2.0x10 ³	2.5x10 ³	4.2x10 ³	2.2x10 ³	2.0x10 ³
2	9.0x10 ³	2.5x10 ³	3.1x10 ³	4.0x10 ³	3.1x10 ³	1.1x10 ⁴	1.8x10 ⁴	5.0x10 ³
3	2.4x10 ⁴	6.0x10 ³	1.1x10 ⁴	2.3x10 ⁴	1.5x10 ⁴	3.0x10 ⁴	3.2x10 ⁴	1.2x10 ⁴

Çizelge 2. Vakumlu İnegöl Köftelerde 4°C'de *L.monocytogenes*'in Gelişimi (kob/g)

Grup	Günler							
	0	1	2	3	4	5	6	7
1	2.9x10 ³	1.2x10 ³	1.0x10 ³	3.0x10 ³	4.5x10 ³	2.8x10 ³	1.6x10 ³	3.2x10 ³
2	7.0x10 ²	4.2x10 ²	7.0x10 ²	4.0x10 ³	7.0x10 ²	3.5x10 ²	1.6x10 ³	1.0x10 ³
3	4.3x10 ³	1.3x10 ³	1.8x10 ³	2.1x10 ³	4.8x10 ³	2.8x10 ³	3.0x10 ³	4.4x10 ³

L.monocytogenes inokule edilmeden önce, İnegöl köftelerin analiz sonuçları etkeni taşımadıklarını gösterdi. 2.9x10³ kob/g, 7.0x10² kob/g, 4.3x10³ kob/g ve düzeylerinde *L.monocytogenes* inokule edilerek vakumla paketlenen ve 4°C'de muhafaza edilen İnegöl köftelerin *L.monocytogenes* sayısında 7 gün içinde önemli bir değişiklik olmadı. Muhafaza süresi sonunda *L.monocytogenes* sayıları sırasıyla 3.2x10³ kob/g, 1.0x10³ kob/g, 4.4x10³ kob/g olarak belirlendi. Diğer taraftan 4.0x10³ kob/g, 9.0x10³ kob/g ve 2.4x10⁴ kob/g düzeyinde *L.monocytogenes* inokule edilerek vakumla paketlenen köftelerin 0°C'de 7 günlük muhafaza sonunda 2.0x10³ kob/g, 5.0x10³ kob/g ve 1.2x10⁴ kob/g değerlerinde bakteri içerdiği tespit edildi. Bu grup köftelerde *L.monocytogenes* sayısında 0.25-0.3 log kob/g arasında önemsiz bir azalma olduğu saptandı. Görüldüğü gibi her iki köfte grubunda da muhafaza sırasında *L.monocytogenes* köftelerde canlılığını aynı düzeylerde devam ettirdi.

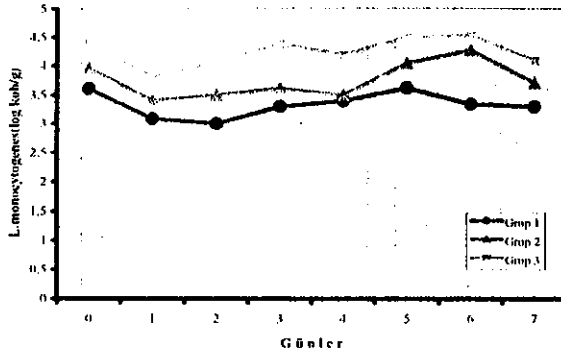
Çizelge 3. Vakumlu İnegöl Köftelerin 0°C'deki Bakteri Florası (kob/g)

Bakteriler	Günler							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Toplam Mezofil Aerob Bakteri	1.9×10^7	6.9×10^6	1.7×10^6	3.0×10^6	2.0×10^5	1.0×10^5	1.9×10^5	3.0×10^5
Psikrofil Bakteri	6.5×10^7	6.5×10^7	2.0×10^7	5.6×10^7	2.1×10^6	2.1×10^8	2.4×10^8	8.5×10^8
Koliform Bakteriler	7.6×10^4	2.5×10^4	1.3×10^2	3.5×10^3	3.2×10^4	2.2×10^3	1.6×10^3	7.0×10^2
Stafilokok ve Mikrokoklar	8.9×10^4	8.9×10^4	1.9×10^5	2.4×10^5	2.7×10^5	1.0×10^5	1.0×10^5	1.4×10^4
Laktobasiller	1.9×10^6	1.9×10^6	2.6×10^6	2.7×10^6	9.7×10^6	4.8×10^6	7.5×10^6	1.8×10^7
Maya ve Küf	5.5×10^4	3.6×10^4	2.2×10^4	5.1×10^4	4.8×10^4	2.8×10^4	4.4×10^4	3.7×10^4
Enterokoklar	1.6×10^3	4.2×10^3	1.5×10^3	2.5×10^3	3.3×10^3	1.0×10^3	2.5×10^3	3.2×10^3

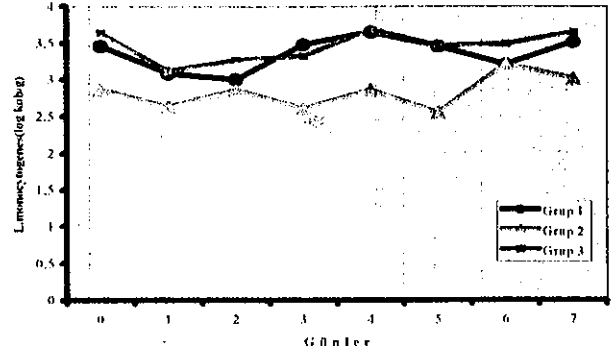
Çizelge 4. Vakumlu İnegöl Köftelerin 4°C'deki Bakteri Florası (kob/g)

Bakteriler	Günler							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Toplam Mezofil Aerob Bakteri	3.2×10^7	5.0×10^5	2.0×10^5	1.2×10^5	1.8×10^5	4.5×10^6	1.2×10^5	7.0×10^5
Psikrofil Bakteri	1.0×10^6	5.2×10^6	2.9×10^7	1.5×10^7	4.7×10^5	6.0×10^7	2.1×10^8	3.9×10^8
Koliform Bakteriler	3.6×10^2	4.8×10^2	5.0×10^2	5.0×10^2	3.0×10^2	1.3×10^2	8.0×10^2	7.0×10
Stafilokok ve Mikrokoklar	5.0×10^4	2.4×10^4	5.1×10^4	2.4×10^4	3.0×10^4	2.0×10^4	2.1×10^4	4.0×10^3
Laktobasiller	1.6×10^5	1.4×10^5	2.1×10^6	1.5×10^6	5.2×10^6	2.4×10^6	5.9×10^6	2.2×10^7
Maya ve Küf	1.1×10^4	3.6×10^3	1.0×10^4	2.1×10^4	1.1×10^4	2.1×10^4	3.0×10^4	1.5×10^4
Enterokoklar	1.2×10^3	4.0×10^3	1.2×10^3	2.3×10^3	3.0×10^3	8.0×10^2	2.2×10^3	3.0×10^3

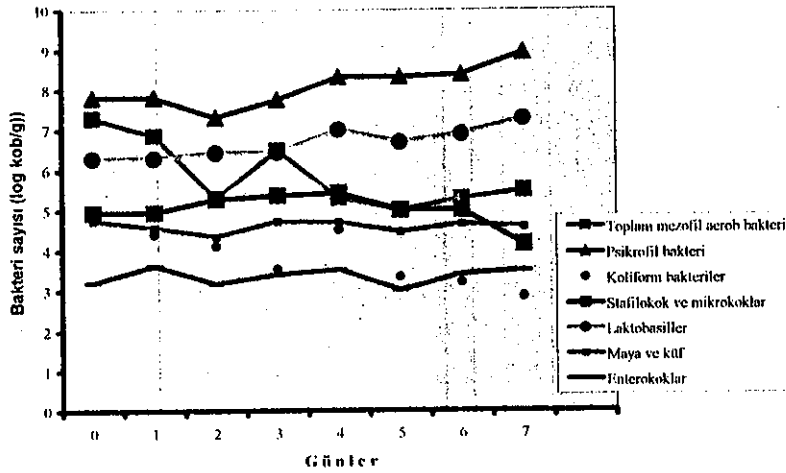
JOHNSON ve ark(1988), sığır kıymalarında 4°C'de 2 hafta süreyle *L.monocytogenes*'in canlılığını incelemişler, tip 1 ve tip 4 ile 5×10^5 ile 7×10^6 kob/g düzeylerinde inokule edilen kıyma örneklerini oksijen geçiren ve geçirmeyen ambalaj materyali içinde vakum paketleyerek 0.,2.,3.,5.,7.,11. ve 14. günlerde analizlere almışlardır. Bu süre içinde kıyma örneklerinde *L.monocytogenes* sayısı sabit kalmış ve muhafaza süresi boyunca etkenin sayısında önemli bir artış veya düşüş olmadan hayatta kalabileceği bildirilmiştir. GLASS VE DOYLE(1989), *L.monocytogenes*'in 5 farklı suşu ile et ürünlerini yüzeysel olarak 105 *L.monocytogenes* hücresi ile inokule etmişler ve vakumla paketleyerek 4.4°C'de depolamaya almışlardır. *L.monocytogenes*'in hayatta kalması ürünler bozuluncaya, depolamanın 12. haftasına kadar devam etmiştir. WIMPFHEIMER ve ark(1990), çiğ piliç kıymasında 4,10 ve 27°C'de *L.monocytogenes* ScottA, serotip 4 ve aerobik plate count sayısındaki gelişmeyi araştırmışlardır. Anaerobik modifiye atmosferin (75:25, CO₂:N₂), hem aerobik plate count hem de *L.monocytogenes*'in bütün ısı derecelerinde gelişimini engellediği, diğer taraftan aerobik modifiye atmosferin (72.5:22.5:5, CO₂:N₂:O₂) çiğ piliçlerde ve muhtemelen diğer etlerde aerobik bozulma florasını inhibe edebileceğini, fakat patojen *L.monocytogenes*'in gelişimini engelleyemeyeceği bildirilmektedir. Araştırmacıların bulguları bulgularımıza benzerlik göstermektedir.



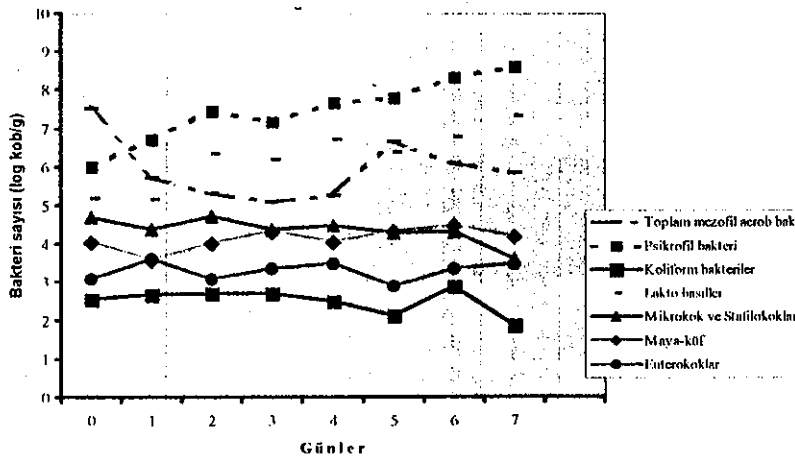
Şekil 1. Vakumlu İnegöl Köfteler 0°C'de *L. monocytogenes*'in Gelişimi



Şekil 2. Vakumlu İnegöl Köfteler 4°C'de *L. monocytogenes*'in Gelişimi



Şekil 3. Vakumlu İnegöl Köftelerin 0°C'deki Bakteri Florası (kob/g)



Şekil 4. Vakumlu İnegöl Köftelerin 4°C'deki Bakteri Florası (kob/g)

rek *L. monocytogenes*'in lag safhasının gerekse generalizasyon süresinin uzaması etkenin gelişmesini geciktirdiği (WALKER ve ark.1990) ve bu grup köftelerin hijyenik kalitesinin de daha kötü oluşuna bağlı olarak rekabetçi

FANG ve ark(1997), kuru kürlenmiş jambonları dilimledikten sonra 10^5 kob/g düzeyinde *L. monocytogenes* inokule ederek vakumla paketledikten sonra 28 gün süreyle 25°C'de ve 2°C'de muhafaza işlemine tabi tutmuşlardır. Depolama süresince, 25°C'de ve 35°C'de inkübe edilen aerobik plate count sayısı artış göstermiş, bu artış 25°C'de 2°C'dekinden daha fazla bulunmuştur. Depolama süresi boyunca *L. monocytogenes* sayısında her iki ısı derecesinde de benzer şekilde azalma tespit edilmiştir. Azalma miktarı jambonların üretim yerlerine göre 2°C'de 0.2 ile 3.4 log kob/g arasında değişiklik göstermektedir.

Çalışmamızda ,ayrıca farklı işlemlerden elde edilen her iki grup köfteye ait bakteri florasının da farklılık gösterdiği saptandı. 4°C'de bekletilen köftelerin başlangıç florasının, 0°C'de muhafazaya alınan köftelere göre daha iyi bir hijyenik kaliteye sahip olduğu görüldü. 0°C'de muhafaza edilen köftelerde gerek

floranın daha fazla olmasının etkenin gelişimi üzerinde etkili olduğu düşünüldü. Nitekim çeşitli çalışmalar, *L.monocytogenes*'in etlerdeki gelişiminin, etin depolama ısısı ve pH'sına, dokunun özelliğine ve mevcut rekabetçi mikrofloraya bağlı olduğunu göstermektedir. 7°C'de ve altında rekabetçi floranın düşük sayılarda olması durumunda (105 kob/g) ve 25°C'de ise 107 kob/g veya daha yüksek bir rekabetçi flora varlığında *L.monocytogenes*'in gelişim göstermediği bildirilmektedir. Diğer taraftan etken, 4-20°C'lerde depolanan steril sığırlar etlerinde iyi bir gelişme göstermiştir(FARBER ve PETERKIN; 1991 RORVIK ve ark.1991).

Çalışmamızda, 4°C'de saklanan köftelerin pH değerleri depolama süresince daha yüksek değerlerde seyretti. 4°C'de muhafaza edilen köftelerin pH değerleri başlangıçta 7.5 olup 1.gün 7.8'e çıktı, daha sonra gittikçe azalma göstererek muhafaza sonunda pH 6.5 oldu. 0°C'de saklanan köftelerde ise, başlangıç pH değerleri 7.3 olup 1.gün 7.5'e yükseldi ve daha sonra azalma göstererek muhafaza sonunda pH 6.2 olarak tespit edildi. pH değerlerindeki farklılıkların köftelerin farklı işletmelerden elde edilmesine bağlı olduğu düşünüldü.

Toplam mezofil aerob bakteri sayısı 0°C'de muhafaza edilen köftelerde 1.8 log kob/g,, 4°C'de muhafaza edilen köftelerde ise 1.66 log kob/g'lık bir azalma gösterdi. Psikrofil bakteri sayısında 0°C'de (0.79 log kob/g'lık artış) önemli bir değişiklik görülmezken 4°C'de 2.59 log kob/g'lık bir artış tespit edildi. Koliiform bakterilerde, 4°C'de önemli bir değişiklik olmazken(0.71 log kob/g'lık azalma), 0°C'de ise 2.03 log kob/g değerinde bir azalma meydana geldi. Buna karşılık, laktobasillerin sayısı ise 0°C'de 0.98 log kob/g, 4°C'de 2.14 log kob/g'lık bir artış gösterdi. Ancak her iki grupta 7.gün sonunda elde edilen laktobasil sayıları yakın değerler vermiştir. Laktobasil sayılarının(JUVEN ve ark.1998;NEMETH ve ark.1989; KELLY ve ark. 1989; HARRIS ve ark.1989) ve psikrofil bakteri sayılarının (FARRAG ve MARTH,1989) yüksek değerlerde olmasının *L.monocytogenes* gelişimini engellediği düşünülmektedir. Bu arada her iki grupta da maya ve küf, enterokok sayılarında önemli bir değişiklik meydana gelmedi, stafilokok ve mikrokok sayılarında ise önemsiz bir azalma saptandı. Ayrıca bütün köftelerin *E.coli*, koagülaz pozitif stafilokok ve sülfid indirgeyen anaerobları içermediği tespit edildi. PODOLAK ve ark(1996), 4°C'de 14 gün süreyle sığırlar kıymasından yapılan köfteleri vakum paketleyerek saklamışlar ve kontrol grubu köftelerde psikrofil bakterilerin (7°C'de inkübasyonda) 0.gün 3.22 log kob/g iken 7.gün 3.38 log kob/g olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışma, vakumla paketleme işlemi ve 0°C ve 4°C'de muhafaza işleminin İnegöl köftelerde *L.monocytogenes* riskini ortadan kaldıramadığını, bu durumda köftelerin elde edilmesinde hijyen prensiplerinin ve köftelere yeterli ızgara işleminin uygulanmasının önem kazandığını ortaya koydu. Kıymalarda etkenin yaygın olarak bulunduğu göz önüne alındığında, halk sağlığını koruyucu bir önlem olarak, hazır köfteler için çıkartılan köfte standardına *L.monocytogenes* bakımından bir sınırlandırma getirilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS 1983.Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri, Tarım ve Orman Köyişleri Bakanlığı, Yayın No:65, Ankara, 62-105.
- ANONYMOUS. 1982a. ICMSF. Microorganisms in Foods 1, Their Significance and Methods of Enumeration. Univ.Toronto Press, London.
- ANONYMOUS. 1982b. The Oxoid Manuel of Culture Media 15 Oxoid Ltd. Hampshire.
- ANONYMOUS.1988. Merck.Culture Media Handbook. Darmstadt 1, Germany
- BERRANG, M.E., BRACKET, R.E., BEUCHAT, L.R. 1989. Growth of *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under a controlled atmosphere. J.Food Prot.52, 702-705.
- CORTESI, M.L., SARLI, T., SANTORO, A., MURRU, N., PEPE,T. 1997. Distribution and behavior of *Listeria monocytogenes* in three lots of naturally-contaminated vacuum-packed smoked salmon stored at 2 and 10 degrees C. Int.J.Food Microbiol. 37 (2-3), 209-214.
- FANG,W., LANGLOIDS, B.E., MOODY, W.G. 1997. Fate of selected pathogens in vacuum packed dry-cured (country-style) ham slices stored at 2 and 25 C. J.Food Prot. 60(12), 1541-1547.
- FARBER, J.M., PETERKIN, P.I. 1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiol.Rev. 55, 476-511.
- FARBER, J.M., DALEY, E. 1994. Presence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally-contaminated meats. Int.J.Food Microbiol. 22(1),33-42.
- FARRAG, S.A., MARTH, E.H. 1989. Behaviour of *L.monocytogenes* when incubated together with *Pseudomonas* species in Tryptose Broth at 7 and 13 C. J.Food Prot. 52(8), 536-539.

- GILL, C.O., NEWTON, K.G. 1978. The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperature. *Meat Sci.* 2, 207-217.
- GILL, C.O., REICHEL, M.P. 1989. Growth of the cold tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high pH-beef packed under vacuum or carbon dioxide. *Food Microbiol.* 6, 223-230.
- GITTER, M. 1976. *Listeria monocytogenes* in "oven-ready" poultry. *Vet.Rec.* 99,336.
- GLASS, K.A., DOYLE, M.P. 1989. Fate of *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(6),1565-1569.
- GÜRSEL, B., GÜRAKAN, G.C. 1997. Effects of gamma irradiation on the survival of *Listeria monocytogenes* and on its growth at refrigeration temperature in poultry and red meat. *Poult.Sci.* 76(12), 1661-1664.
- HAO, Y.Y., BRACKETT, R.E., DOYLE, M.P. 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef. *J.Food Prot.* 61(3),307-312.
- HARMAYANI, E., SOFOS, J.N., SCHMIDT, G.R. 1993. Fate of *Listeria monocytogenes* in raw and cooked ground beef with meat processing additives. *Int.J.Food Microbiol.* 18(3), 223-232.
- HARRIGAN, W.C., M.C CANCE, M.E. 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*, Whitstable, Kent.
- HARRIS L.J., DAESCHEL, M.A., STILES, M.E., KLAENHAMMER, T.R. 1989. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *J.Food Prot.* 52(6), 3784-3787.
- HENDRICKS, M.T., HOTCHKISS, J.H. 1997. Effect of carbon dioxide on the growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria monocytogenes* in aerobic atmospheres. *J.Food Prot.* 60(12), 1548-1552.
- HITCHINS, A.D. 1995. *Listeria monocytogenes*. FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, 10.01- 10.13.
- JOHNSON, J.L., DOYLE, M.P., CASSENS, R.G. 1988. Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef. *Int.J.Food Microbiol.* 6(3), 243-247.
- JUVEN, B.J., BAREFOOT, S.F., PIERSON, M.D., McCASKILL, L.H., SMITH, B. 1998. Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed ground beef inoculated with *Lactobacillus alimentarius* Flora Carn L-2. *J.Food Prot.* 61(5), 551-556.
- KELLY, W.J., ASMUNDSON, R.V., HUANG, C.M. 1989. Isolation and characterization of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from ready-to-eat food products. *Int.J.Food Microbiol.* 33(2-3), 209-218 NEMETH, A., GASPARIK-REICHARDT, J., FARKAS, J., BALOGH, I., ANDRASSY, E. 1989. Identification and characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Fleischwirts.* 76(9), 911-916.
- PODOLAK, R.K., ZAYAS, J.F., KASTNER, C.L., FUNG, Y.C. 1996. Reduction of bacteriological populations on vacuum-packed ground beef patties with fumaric and lactic acids. *J.Food Prot.* 59(10),1037-1040.
- POTHURI, P., MARSHALL, D.L., McMILLIN, K.W. 1995. Combined effects of packaging atmosphere and lactic acid on growth and survival of *Listeria monocytogenes* in crayfish tail meat at 4 C. *J.food Prot.* 59(3), 253-256.
- RORVIK, L.M., YNDESTAD, M., SKJERVE, E. 1991. Growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed, smoked salmon, during storage at 4 degrees C. *Int. J. Food Microbiol.* 14(2), 111-117.
- SCHLECH, W.F., LAVIGNE, P.M., BORTOLUSSI, R.A., ALLEN, A.C., HALDANE, E.V., WORT, A.J., HIGHTOWER, A.W., JOHNSON, S.E., KING, S.H., NICHOLAS, E.S., BROOME, C.V. 1983. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *N.Engl.J.Med.* 308,203-206.
- SERGELIDIS, D., ABRAHIM, A., SARIMVEI, A., PANOULIS, C., KARAIOANNOGIU, P., GENIGEORGIS, C. 1997. Temperature distribution and prevalence of *Listeria spp* in domestic, retail and industrial refrigerators in Greece. *Int.J.Food Microbiol.* 34(2), 171-177.
- SHELEF, L.A. 1989. Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef or liver during storage at 4 and 25 C. *J.Food Prot.* 52(6),379-383.
- SOYUTEMİZ, E. 1993. İnegöl köftenin hazırlanışı ve 7 gün süreyle buzdolabında saklanması sırasında pH değerinde meydana gelen değişiklikler, *U.Ü.Vet.Fak..Derg.*, 12(3),1-6.
- SOYUTEMİZ, E. 1998. Hygienic quality of different readymade meatballs consumed in Bursa, *Mac.Vet.Rev.* 27(1-2), 119-127.
- WALKER, S.J., ARCHER, P., BANKS, J.G. 1990. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J.Appl.Bacteriol.* 68, 157-162.
- WIMPFHEIMER, L., ALTMAN, N.S., HOTCHKISS, J.H. 1990. Growth of *Listeria monocytogenes* ScottA, serotype 4 and competitive spoilage organisms in raw chicken packed under modified atmospheres and in air. *Int.J.Food Microbiol.* 11,3-4.