

## PATOJEN BAKTERİLERİN DONDURMADA CANLI KALMA SÜRELERİNİN TESPİTİ ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

### A RESEARCH ON THE SURVIVAL OF PATHOGENS IN ICE CREAM

Necati AKBULUT, Özer KINIK, Gökhan KAVAS  
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Bornova-İZMİR

**ÖZET:** Araştırmada patojen olarak bilinen *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* ve *Klebsiella pneumonia* türü mikroorganizmaların dondurmanın depolanması sırasındaki canlı kalma düzeyleri incelenmiştir.

Yukarıda adı geçen patojenlerin ürünün iki aylık depolama periyodunda canlılıklarını devam ettirebildikleri ve özellikle *Klebsiella pneumonia* ile *Yersinia enterocolitica*'nın diğerlerine göre soğuğa karşı dirençli oldukları, buna paralel olarak da mililitredeki sayılarının daha yüksek olduğu saptanmıştır.

**SUMMARY:** In this study "The survival time of *E.coli*, *K.pneumonia*, *Y.enterocolitica*, *S.typhimurium* and *S. aureus* as known pathogen was examined during ice cream storage. At the end of 2 months storage. It is concluded that, *K.pneumonia*, *Y. enterocolitica* were found to be more resistance, and therefore gave highyl more survival counts, compared the others.

### GİRİŞ

Dondurma, teknolojik gelişimi 1900'lü yıllarda soğutma, pastörizasyon gibi bazı modern işlemlerin ortaya çıkması ile önem kazanan, yapımında esas olarak süt ürünleri ile birlikte değişik aroma maddelerinin de kullanıldığı bir süt ürünüdür.

Dondurma bileşiminde bulundurduğu maddelerin zenginliği nedeniyle, yüksek besleyici özelliğinin yanında üretimde ortaya çıkan önemli bir dezavantaj ürünün mikrobiyolojik kontaminasyona uygun olmasıdır. Gerçekten de gerekli hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadan yapılan üründe, her türlü mikroorganizmanın çoğalıp gelişebilmesi mümkün olabilmektedir. Bu amaçla yapılan çok sayıda araştırmada, çeşitli mikroorganizmaların özellikle patojen olanların dondurmada canlılıklarını uzun süre devam ettirebildikleri saptanmıştır. Bununla birlikte söz konusu patojenlerin artış göstererek zehirlenme riskini artırıcı duruma gelmesi de konuya ayrı bir boyut kazandırmaktadır. bu nedenle çalışmamızda da, dondurmalarda çok sık rastlanan ve zaman zaman gıda zehirlenmelerine neden olan *S. aureus* ve *S. typhimurium* ile dondurmaların mikrobiyolojik kalite kontrolünde en iyi indikatör mikroorganizma olduğuna inanılan *E.coli*, ayrıca yine insanlarda özellikle sindirim sistemi rahatsızlıklarına neden olan *Y.enterocolitica* ve *K.pneumonia*'nın 2 aylık bir depolama büreci içerisinde canlı kalma düzeyleri araştırılmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Çalışmanın materyalini oluşturan çiğ süt Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Sığırcılık İşletmesi'nden, yağsız süt tozu Pınar Süt Mamülleri A.Ş'den, şeker, emülsifiyer ve stabilizer maddeler farklı firma ve piyasadan, bunun yanında çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarından *Escherichia coli* ATTC-11230 ve *Klebsiella pneumonia* CCM 2318 E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından, *Salmonella typhimurium* NRRLB-4420 ve koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* 6538 P Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi bilim dalından, *Yersinia enterocolitica* serotip 0:9 Pasteur Enstitüsünden sağlanmıştır.

#### Yöntemler

**İnokulum Hazırlanması:** Stok kültürlerden öze ile 10 mililitrelik Nutrient broth (NB) sıvı besi yerlerine ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve daha sonra 24 saatlik taze kültürlerden 100 ml

NB sıvı besi yerlerine % 1 düzeyinde aşılama yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Daha sonra bu kültürlerin uygun seyreltikleri hazırlanarak *E.coli* ile *K.pneumonia* 10<sup>6</sup> or/ml diğerleri ise 10<sup>4</sup> or/ml olacak şekilde dondurma miksine inoküle edilmişlerdir.

**Mikrobiyolojik Analizler:** Dondurma örnekleri 37°C'de eridikten sonra *E.coli* sayımı FISHBEIN ve ark. (1976), *K.pneumonia* sayımı ANONYMOUS (1985), *Y.enterocolitica* sayımı WAUTERS (1973), *Sal.typhimurium* sayımı ÖNÖZ ve HOFFMANN (1978) ve *S.aureus* sayımı ANONYMOUS (1985)'e göre yapılmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Ülkemizde özellikle yaz aylarında severek tüketilen bir süt ürünü olan dondurmada *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*'un -25 ± 2°C'de canlı kalma düzeyleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Optimum gelişme sıcaklığı 37°C olan *Escherichia coli* insan sağlığını dolaylı şekilde etkileyebilen fekal bulaşmanın bir göstergesidir. Araştırmada adı geçen indikatör mikroorganizmanın 0,9x10<sup>6</sup> or/ml seviyesinde olan değeri 7. günde hızlı bir artış göstererek 3,7x10<sup>6</sup> or/ml'ye ulaşmış ve 15. günden itibaren azalarak depolamanın 2. ayında 4,1x10<sup>3</sup> or/ml'ye düşmüş, ancak canlılığını sürdürdüğü gözlenmiştir.

25°C'de 37°C'ye göre daha iyi, buna karşın +4°C'de yavaşta olsa üreyebilme özelliğinde olan *Yersinia enterocolitica*'nın çalışmamızın 0. ve 7. günlerinde yapılan analizlerinde hemen hemen aynı seviyede kaldığı, buna karşın 15. günde 4,6x10<sup>5</sup> or/ml ile en yüksek seviyesine ulaştığı tespit edilmiştir. Adı geçen mikroorganizmanın depolamanın ilerleyen günlerindeki sayısı ise hızlı bir düşüş göstererek 2,1x10<sup>3</sup> or/ml seviyesine inmiştir.

İnsan ve hayvan bağırsağı ile üst solunum yollarında bulunabilen *Klebsiella* türlerinden *K.pneumonia*'nın ise, depolamanın 7. ve 15. günlerinde artış gösterdiği belirlenmiş ve örneklerin sırasıyla 2,9x10<sup>5</sup> or/ml ile 4,3x10<sup>5</sup> or/ml canlı organizma içerdiği tespit edilmiştir. Depolamanın ilerleyen günlerinde sayımda önemli oranda bir düşüş gözlenmiş ve depolamanın ikinci ayında *K.pneumonia* sayısı 6,8x10<sup>3</sup> or/ml olarak tespit edilmiştir.

Araştırmada depolamanın ilk ayındaki *K.pneumonia* sayısının diğer 4 organizmadan daha yüksek olması dondurma örneklerinin mikrobiyolojik kalite kontrolünde indikatör organizmalardan biri olarak *K.pneumonia*'nın ele alınmasının gerekliliği açıkça ortaya koymaktadır.

Öte yandan MEREY ve ADAM (1979) 2,0x10<sup>3</sup> or/ml düzeyinde *E.coli* ve 6,0x10<sup>3</sup> or/ml düzeyinde *Enterobacter cloacae* inoküle edilerek 28°C'de 3 yıl süreyle depolanan dondurma örneklerinde yaptıkları analizlerde, depolama döneminin sonunda bile 0,3x10<sup>3</sup> or/ml ve 2,2x10<sup>3</sup> or/ml canlı mikroorganizma bulunduğunu saptamışlardır. Diğer taraftan DIMEV ve GRIGORIADIS (1988) ve VILLAPLANA ve Ark. (1989), yaptıkları çalışmalarda dondurma örneklerinin yaklaşık % 91,0'ında *E.coli* hücrelerine rastladıklarını belirterek, özellikle üretimde uygun hijyenik koşullar sağlanmadığı takdirde fekal orjinli *Enterobacter*'lerin daima potansiyel risk kaynağı oluşturabileceğini ortaya koymuşlardır.

*Salmonella typhimurium* sayısı başlangıçta 2,9x10<sup>5</sup> or/ml olarak belirlenmiş ve depolamanın 7. gününde 4,0x10<sup>5</sup> or/ml ile en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Depolamanın ilerleyen günlerdeki sayımlarda *E.coli*'ye benzer şekilde azalmalar meydana gelmiş ve 2.ay sonunda 4,5x10<sup>3</sup> or/ml düzeyinde *S.typhimurium* kolonisi tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Depolama Peryodu Boyunca Patogen Mikroorganizmaların Dondurmada Canlı Kalma Düzeyleri (or/ml)

Mikroorganizmanın Adı	Depolama Süresi (Gün)				
	0. gün	7. gün	15. gün	30. gün	60. gün
<i>Escherichia coli</i>	0,9x10 <sup>6</sup>	3,7x10 <sup>6</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>	5,9x10 <sup>5</sup>	4,1x10 <sup>3</sup>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2,6x10 <sup>5</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>	4,6x10 <sup>5</sup>	8,0x10 <sup>4</sup>	2,1x10 <sup>3</sup>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2,5x10 <sup>5</sup>	2,9x10 <sup>5</sup>	4,3x10 <sup>5</sup>	6,5x10 <sup>4</sup>	6,8x10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella typhimurium</i>	2,9x10 <sup>5</sup>	4,0x10 <sup>5</sup>	9,1x10 <sup>4</sup>	8,0x10 <sup>4</sup>	4,5x10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,4x10 <sup>5</sup>	3,8x10 <sup>5</sup>	6,7x10 <sup>4</sup>	2,2x10 <sup>4</sup>	8,9x10 <sup>3</sup>

Doğada çok çeşitli kaynaklardan ve bu arada insanların solunum sistemleri ile de mamule bulaşarak özellikle birçok faktöre karşı dirençli toksin oluşturarak zehirlenmelere sebep olabilen *S.aureus* sayısı, çalışmamızda depolamanın 7. gününde en yüksek düzeye ulaşmış ve bundan sonra azalmaya başlamıştır. Başlangıçta  $2,4 \times 10^5$  or/ml düzeyinde olan *S.aureus* sayısı 2. ay sonunda yaklaşık 100 kat azalarak  $8,9 \times 10^3$  or/ml düzeyine inmiştir.

HAFEZ ve Ark. 1989, krema ve dondurmada enterotoksijenik Staphylococ'ların canlı kalma olasılıklarını inceledikleri çalışmalarında, ele aldıkları 47 dondurma örneğinde  $16,2 \pm 5,2 \times 10^4$  adet/ml düzeyinde belirledikleri 30 kadar Staphylococ türünden sadece 2 tanesinin enterotoksin üretebilme yisinde olduklarını bap tamışlardır. MEREY ve ADAM (1979, ticari olarak üretilen vanilyalı dondurma örneklerini  $8,0 \times 10^3$  adet/ml düzeyinde *S.typhimurium* ile inoküle ederek  $-28^\circ\text{C}$ 'de 3 ay süreyle depolamışlardır. Araştırmacılar depolama süreci içinde mikroorganizma sayısında düzenli ve göreceli olarak bir azalma meydana gelmesine karşın, bu periyot sonucunda  $0,35 \times 10^3$  or/ml canlı hücre bulunduğunu bildirerek, bu düzeydeki organizma sayısının bile insan sağlığını tehdit ettiğini vurgulamışlardır. Bu bulgular ile bizim sonuçlarımızın uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak halkımızın özellikle yaz aylarında fazla miktarda tükettiği dondurmanın üretimi sırasında gerekli teknolojik ve hijyenik önlemlerin alınması bir zorunluluk olarak ortaya çıkmaktadır.

#### KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1985. United States Pharmacopeia. XXI Chapter Microbiological Limit Tests.
- DİMEV, A.K., S., GRIGORIADIS, 1988. Deltion tes Ellenikes Kteniatrikes Etareias, 39(4)282-287.
- FISHBEIN, M., I.J., MEHLMAN, CNUGG, L., OLSON, C., 1976. Coliform, Fecal Coliform, E.coli and Enteropathogenic E.coli: Mi.Sperk (Ed). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington D.C. 270-290.
- HAFEZ, R.S., S.D., MORGAN, MOHAMED, M.A., 1989. Enterotoxigenic Staphylococci in Cream and Icecream. Assiut Veterinary Medical Journal, 21(41)118-121.
- MEREY, G., W.ADAM, 1979. Archiv Für Lebensmittelhygiene. 30(2)70-72.
- ONOZ, I., K., HOFFMANN, 1978. Erfahrungen. Mit. Einem Neuen Nährboden für die Salmonella Oragnostik Zbl.Bakt.Hyg. I Abt.Orig. A., 240:16.
- VILLAPLANA. A.F., A.T., DURAN, 1989. J.Maestre Amer Boletin Tecnica LABAL, 12(147)38-44.
- WAUTERS, G., 1973. Diognastic Biologie de Infection. A. Yersinia enterocolitica. Med. Malad Infect. 3:437.

GIDA Dergisi 1995 Yılı Reklam Fiyatları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.  
Fiyatlar 1 sayı için olup KDV dahil değildir. Trikrom ofset baskıya uygun filimlerin gönderilmesi gereklidir.

Arka kapak : 5.000.000.- TL

Kapak içleri : 4.000.000.- TL

İç sayfa (1/1): 2.500.000.- TL

Gıda Teknolojisi Derneği  
Yönetim Kurulu