



**ERZURUM PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN  
DONDURMALARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ**

**Selma ÇUBUKÇI**

**Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Meryem AYDEMİR ATASEVER**

**Yüksek Lisans Tezi-2016**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ERZURUM PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN  
DONDURMALARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ**

**Selma ÇUBUKÇI**

**Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Meryem AYDEMİR ATASEVER**

**ERZURUM**

**2016**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ  
ANABİLİM DALI

ERZURUM PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN  
DONDURMALARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ

Selma ÇUBUKÇI

Tez Savunma Tarihi:13.01.2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Meryem AYDEMİR ATASEVER (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mustafa ATASEVER (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Şebnem PAMUK (Afyon Kocatepe Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM  
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM-2016

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>III</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>VI</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Dondurmanın Özellikleri ve Bileşimi.....	4
2.2. Dondurmada Mikrobiyal Kontaminasyon .....	6
2.3. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri .....	8
2.4. Toplam Aerobik Psikorofil Bakteri .....	10
2.5. Enterobacteriaceae.....	11
2.6. Enterekok .....	12
2.7. Escherichia coli.....	12
2.8. Staphylococcus aureus .....	14
2.9. Listeria monocytogenes .....	16
2.10. Salmonella spp.....	18
2.11. Escherichia coli O157:H7.....	19
2.12. Su aktivitesi ve pH.....	21
<b>3. MATERYAL ve METOT</b> .....	<b>23</b>
3.1. Materyal .....	23
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısının Belirlenmesi .....	23
3.2.2. Toplam Aerobik Psikorofil Bakteri Sayısının Belirlenmesi .....	23
3.2.3. Enterobacteriaceae sayımı .....	23
3.2.4. Enterekok sayımı .....	24
3.2.5. E. coli varlığının belirlenmesi.....	24
3.2.6. Koagülaz pozitif Staphylococcus aureus İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	24
3.2.7. Listeria monocytogenes'in İzolasyon ve İdentifikasyonu .....	25
3.2.8. Salmonella spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu .....	26
3.2.9. Escherichia coli O157:H7' nin İzolasyon ve İdentifikasyonu .....	27

3.3. Su Aktivitesi ve pH analizi .....	30
3.4. İstatistiksel Analiz.....	31
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>32</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>36</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>42</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>44</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>52</b>
<b>EK-1 ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>52</b>
<b>EK-2 ETİK KURUL ONAYI.....</b>	<b>53</b>



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren ve her türlü desteği sağlayan Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi hocam Sayın Doç. Dr. Meryem AYDEMİR ATASEVER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Mustafa ATASEVER, çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda görev yapan hocalarım Dr. Arş. Gör. Hayrunnisa ÖZLÜ ve Arş. Gör. Sevda UÇAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Selma ÇUBUKÇI

## ÖZET

### Erzurum Piyasasında Tüketime Sunulan Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitesi

**Amaç:** Bu çalışmada, Erzurum ilinde tüketime sunulan dondurmaların, toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Enterokok*, *S. aureus* ve *E. coli* sayısı ile *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., ve *E. coli* O157:H7 varlığı ve mikroorganizmaların gelişimde etkili olan pH ve su aktivitesi değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Bu amaçla, Erzurum piyasasındaki çeşitli firmalardan temin edilen 25 vanilyalı, 25 çikolatalı ve 25 vişneli olmak üzere toplam 75 adet dondurma örneği materyal olarak kullanıldı. Örneklerin mikrobiyolojik analizleri klasik kültür yöntemine göre yapıldı. *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* varlığı Vitek-2 sistemi ile doğrulandı. Daha sonra numunelerin pH ve su aktivitesi ölçümleri yapıldı.

**Bulgular:** Analizler sonucunda vanilyalı dondurma örneklerinde ortalama toplam aerobik mezofilik, psikrofil, *Enterokok* bakteri ve *Enterobacteriaceae* sayısı sırasıyla; 4.45 log kob/g, 4.89 log kob/g, 3.20 log kob/g ve 2.54 log kob/g olarak bulunmuştur. Ortalama su aktivitesi 0.95 ve ortalama pH 6.39 olarak belirlenmiştir. Kakaolu dondurma numunelerinin analizi sonucunda toplam aerobik mezofilik, psikrofil, *Enterokok* bakteri ve *Enterobacteriaceae* ortalama sırasıyla 2.52 log kob/g, 5.08 log kob/g, 3.64 log kob/g, 2.52 log kob/g olarak bulunmuştur. Bir kakaolu dondurma numunesinde 3.85 log kob/g düzeyinde *S. aureus*'a rastlanmıştır. Ortalama su aktivitesi 0.95, ortalama pH değeri 6.81 olarak saptanmıştır. Vişneli dondurma numunelerinin analizi sonucunda toplam aerobik mezofilik, psikrofil, *Enterokok* bakteri ve *Enterobacteriaceae* ortalama sırasıyla; 4.40 log kob/g, 4.62 log kob/g, 3.56 log kob/g, 2.27 log kob/g olarak bulunmuştur. Ortalama su aktivitesi 0.95, ortalama pH değeri ise 4.80 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada; *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 'ye rastlanmamıştır.

**Sonuç:** Bu çalışma sonucunda dondurma örneklerinin patojen bakteriler yönünden risk taşımayabileceği ancak hijyen kriterleri açısından tehlike oluşturabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Dondurma, mikrobiyolojik kalite, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, pH, su aktivitesi.

## ABSTRACT

### Microbial quality of ice cream sold by retail outlets in Erzurum

**Aim:** This study was conducted to determine the presence and contamination levels of total aerobic mesophilic bacteria, total psychrophilic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. *E. coli* and *E. coli* O157:H7 in samples of ice-cream, which were retailed in the patisserie and sales points of Erzurum.

**Material and Methods:** For this purpose, a total of 75 samples was used which is obtained from various patisserie and sales points of Erzurum. (25 vanilla, 25 chocolate and 25 cherry ice cream). Microbiological analysis of samples was performed according to conventional culture method. The presence of *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. was confirmed by Vitek-2 system. Then the sample pH and water activity were measured.

**Results:** Average numbers of aerobic mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria and *Enterococcus* were 4.45 log cfu/g, 4.89 log cfu/g 3.20 log cfu/g in tested vanilla ice cream, respectively. *Enterobacteriaceae* were found in 32% of samples. Average water activity and pH were found 0.95 and 6.39 respectively. Average numbers of aerobic mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria and *Enterococcus* were 2.52 log cfu/g, 5.08 log cfu/g, 3.64 log cfu/g in tested cocoa ice cream, respectively. *Enterobacteriaceae* was found in 36% of samples. Average water activity 0.95 and average pH 6.81 were found. Average numbers of aerobic mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria and *Enterococcus* were 4.40 log cfu/g, 4.62 log cfu/g, 3.56 log cfu/g in tested chery ice cream, respectively. *Enterobacteriaceae* was found in 28% of samples. Average water activity 0.95 and average pH 4.80 were found. *S. aureus* were found in chocolate ice cream samples as 3.85 log cfu/g. *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* and *E. coli* O157:H7 were not detected in any sample.

**Conclusion:** From the present data it can be concluded that ice cream is not represents a potential hazard for consumers, due to the absence of pathogens bacteria but it can be dangerous in terms of hygiene criteria. Consequently, food manufacturers and specialists should design comprehensive programs as good manufacturing practices (GMP) and implementation of HACCP system to ensure the reliability of such foods from bacteria.

**Key words:** Ice cream, microbiological quality, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, pH, water activity.



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>a<sub>w</sub></b>	: Su aktivitesi
<b>AOAC</b>	: Association of analytical chemists
<b>BAB</b>	: Blood agar base
<b>BLSS</b>	: Brilliance listeria selective supplement
<b>BLDS</b>	: Brilliance listeria differential supplement
<b>BPLSA</b>	: Brilliant green phenol-red lactose sucrose agar
<b>BPM</b>	: Baird parker medium
<b>BSA</b>	: Brilliance listeria agar
<b>BSAB</b>	: Brilliance salmonella agar base
<b>CAMP</b>	: Christie atkins munch-Petersen
<b>Cfu/ml</b>	: Mililitrede koloni oluşturan birim
<b>EMS</b>	: En muhtemel sayı
<b>g/L</b>	: Gram/Litre
<b>IMVIC</b>	: Indol, metil red, voges - proskauer, sitrat
<b>ISO</b>	: International organization for standardization (Uluslar arası standardizasyon teşkilatı)
<b>IU</b>	: International Unit
<b>kob/g</b>	: koloni oluşturan birim/gram
<b>kob/ml</b>	: koloni oluşturan birim/mililitre
<b>L</b>	: Litre
<b>LIA</b>	: Lysine iron agar
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>mm</b>	: Milimetre

<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>MR</b>	: Metil kırmızısı
<b>MUG</b>	: 4-Methylumbelliferyl-β-Glucuronide
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>OBLS</b>	: One broth listeria base
<b>OBLSS</b>	: One broth-listeria selective supplement
<b>OBSB</b>	: One broth-salmonella base
<b>Örn</b>	: Örneğin
<b>PCA</b>	: Plate count agar
<b>RVSB</b>	: Rappaport vassiliadis soy broth
<b>SSS</b>	: Salmonella selective supplement
<b>SCA</b>	: Simmons citrate agar
<b>SMAC</b>	: Sorbitol macconkey agar
<b>TAB</b>	: Toplam aerobik bakteri
<b>TSB</b>	: Tryptone soya broth
<b>TSIA</b>	: Triple sugar iron agar
<b>VP</b>	: Voges-proskauer
<b>XLD</b>	: Xylose lysine deoxycholate
<b>WHO</b>	: World Health Organization

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No

Sayfa No

Şekil 4.1. Dondurma örneklerinin çeşitlerine göre ortalama pH dağılımı..... 34



## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Dondurmanın Bileşimi.....	6
<b>Tablo 2.2</b> Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Dondurma İçin Belirlenen Mikrobiyolojik Kriterler.....	7
<b>Tablo 4.1.</b> Dondurma numunelerinin Mikrobiyolojik Değerleri ile Standart Hataları .....	32
<b>Tablo 4.2.</b> Dondurma numunelerinin pH ve $a_w$ Değerleri ile Standart Hataları .....	34
<b>Tablo 4.3.</b> Dondurma numunelerinden elde edilen verileri arasındaki korelasyon ..	35

# 1. GİRİŞ

"Dondurma; dondurma karışımının pastörizasyon sonrası, tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan üründür".<sup>1</sup> Dondurma, başlıca yağ, sütün yağsız kuru maddesi, şeker, stabilizatör, emülgatör ve bazen de çikolata, vanilya, meyve gibi lezzet ve renk veren maddelerden oluşan karışımın, bileşenlerinden kaynaklanan suda, değişik düzenlerde işlenmesiyle elde edilen karmaşık fiziko-kimyasal sisteme sahip; -5 °C'nin altında tüketilebilen bir besindir. "Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) ile Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın belirlediği kriterlere göre, kuru madde miktarı % 31-41 olan dondurma, % 8-15 süt yağı, % 9-11 yağsız süt, % 15-17 şeker ve % 0,2-1 oranında stabilizatör ve emülgatörlerden oluşması gerekmektedir".<sup>2(s.6-7)</sup>

İlk dondurmanın ne zaman, nerede ve kimler tarafından bulunduğu dair kesin bir bilgi bulunmamasına rağmen, 3000 yıl önce buzun keşfiyle Çinliler tarafından yapıldığı öne sürülmektedir. Çin'deki belgelere göre, gezginler tarafından 13. yüzyılda, önce İtalya'ya daha sonra da Fransa ve İngiltere'ye yayılmıştır. Avrupa'da dondurmacılığın başlangıcı ise yapay buz üretiminin başladığı 16. yüzyıl olarak kabul edilmektedir. İlk ticari dondurma 1769'da İngiltere'de Elizabeth Raffield tarafından üretilerek piyasaya sunulmuş ve üretim reçetesi de aynı yıl bir kadın dergisinde yayımlanmıştır. Dondurma 1777 yılında ABD'ye geçmiş ve 19. yüzyıl ortalarına kadar ticari olarak üretilmeyip, "Ev dondurması" özelliğinde kalmıştır. Fussell Baltimor 1851'de ilk modern dondurma tesisini kurmuş ve modern dondurmacılığın temelini atmıştır.<sup>3,4</sup>

Türkiye'de dondurma yapımına ilişkin ilk belge 1856 yılına ait Ali Eşref Dede'nin "Yemek Risalesi" adlı yazma eseridir. Kitapta dondurma yapımı hakkında bilgiler "Süt Dondurması" başlığı altında verilmektedir. Salepli dondurma ise ilk defa

1920'nin ikinci yarısında Halep'ten gelerek Kahramanmaraş'a yerleşen Hacı Mehmet adındaki kişi tarafından yapılmıştır. Dondurma üretimini gerçekleştiren ilk modern tesis 1957'de üretime açılan Atatürk Orman Çiftliği Pastörize Süt ve Mamülleri Fabrikası'dır.<sup>2 (s.5)</sup> Dünyada kişi başı yıllık dondurma tüketimi ortalama 2.5 L'dir. Yeni Zelanda da kişi başı 28 litre dondurma tüketimiyle ilk sıradadır. Avrupa'da ise İsveç yılda yaklaşık 14 litre dondurma tüketimiyle birinci sıradadır.<sup>3</sup>

Türkiye'de yapılan son araştırmalar, dondurmayı daha çok bir eğlence aracı olarak görüldüğünü ortaya koymaktadır. Kent merkezlerinde 10-35 yaş grubu dondurma tüketicileri arasında yapılan bir araştırmada, dondurmayı bir eğlence unsuru olarak görenlerin oranı % 74 olarak belirlenmiştir. 1990 yılında ülkemizde yıllık 0.4 L olan kişi başı dondurma tüketimi, 1996'da 0.6 L'ye, 2000 yılında 1.0 L'ye, 2005 yılı itibariyle de 1.5 L'ye ulaşmıştır. Türkiye'de 2008'de 160 bin ton, 2009'da 180 bin ton, 2010'da 200 bin ton, 2011'de 240 bin ton, 2012'de ise 300 bin ton dondurma tüketilmiştir. 2008 yılında tüketilen dondurma hacminin, % 96'sı ambalajlı dondurma, kalan bölümü ise pastane dondurması olarak kayıtlara geçmiştir. Aradan geçen 5 yıl içinde yüzde 87.5 artışla 300 bin tona ulaşmıştır. 2013 yılında 300 bin ton dondurmanın satıldığı Türkiye'de, kişi başına ortalama 4 kilograma yakın dondurma tüketilmiştir. 2014 yılında tüketimin % 90'ı Mayıs-Ekim ayları arasında gerçekleşmiştir. Dondurma tüketiminin; % 70'ini anında tüketilen (impulse), % 21'ini evde tüketilen (take-home), % 9'unuda catering dondurmalar oluşturmaktadır.<sup>3, 5-8</sup>

Türkiye'de dondurma piyasaya sunulmuş biçimlerine göre:

- Sade dondurma: Süt ve vanilya aromaları hariç olmak üzere, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri içermeyen dondurma karışımından elde edilen dondurma,
- Meyveli dondurma: Dondurma karışımına meyve, meyve suyu, meyve konsantresi, meyve püresi, meyve ezmesi katılması ile üretilen dondurma,

- Maraş dondurması: Maraş dondurması tekniğine uygun olarak üretilen, süt, şeker, salep ve izin verilen diğer katkı maddelerinden oluşan dondurma,
- Diyetetik dondurma: Kalp ve dolaşım bozukluğu hastaları için sodyum miktarı düşük düzeydeki dondurmalar,
- Diyabetik dondurma: Şeker hastaları için sakkaroz yerine sorbitol veya sakkarin katılarak hazırlanan dondurmalar, olmak üzere dört temel gruba ayrılmaktadır.<sup>2(s.11-15)</sup>

Dondurma dünyada en çok tüketilen ve çeşitliliği fazla olan bir tatlıdır. Dondurma, zevkle tüketilmesi ve kolay sindirilebilir olmasının yanı sıra sağlıklı beslenme için gerekli olan bir çok besin unsurunu, özellikle yüksek kaliteli protein ile bazı mineral madde (örn; kalsiyum, fosfor) ve vitaminleri (örn; A, D, riboflavin) önemli düzeyde içeren değerli bir enerji kaynağıdır.<sup>2(s.13)</sup> Ancak dondurmanın besin maddelerince zengin bir ürün olması, mikroorganizmaların gelişmesi için de uygun bir ortam sağlamaktadır. Dondurmaların mikrobiyolojik kalitesini belirleyen en önemli faktörler kullanılan hammadde ve yardımcı maddelerin mikrobiyolojik kalitesi, uygulanan proses ve işletme hijyenidir. Mikroorganizmaların büyük bir kısmı dondurma yapımında kullanılan hammadde ve ilave edilen katkı maddeleri yoluyla bulaşmaktadırlar. Ancak dondurma yapımı sırasında uygulanan ısı işlem, bakteri sporları hariç bakteri florasının büyük bir kısmının zarar görmesine yol açmaktadır. Patojen mikroorganizmaların bulaşması; alet ve ekipman, kullanma suyu, çevre, çalışan işçiler, ambalaj materyalleri yoluyla olmaktadır.<sup>9, 10</sup> Bu çalışmada; Erzurum ilinde çeşitli pastane ve satış noktalarında açıkta satılan dondurmaların mikrobiyal kalitesinin belirlenerek, halk sağlığı yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Dondurmanın Özellikleri ve Bileşimi

Dondurma içeriğinde; kabaca su, hava ve kuru maddesini oluşturan karışım bileşenleri bulunur. Su, sıvı ve katı halde % 57-70 oranındadır ve sürekli fazı oluşturur. Su; üretimde kullanılan bazı karışım bileşenlerinden (örn; süt ve ürünler (şurup) ve/veya ilave edilen hava, yağ, serum emülsiyonuna dağılmış halde dondurma hacminin % 15-60'ını teşkil eder. Dondurmanın bileşimi ülkeler ve tüketim yörelerine göre bazı değişiklikler gösterirken, yapım metotları oldukça standarttır. "Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) Dünya Sağlık Teşkilatı (DSÖ) dondurmada; türlerine bağlı olarak kuru maddelerin % 31-41, süt yağının % 8-15, yağsız süt kuru maddesinin % 9-15, şekerin (sakkaroz cinsinden) % 15-17, stabilizatör ve emülgatöründe % 0.2-1.0 oranları arasında bulunmasını öngörmektedir". Türkiye'de ise dondurma gruplarının içermesi gereken en az yüzde kuru madde ve yağ miktarları Tablo 2.1.'de verilmiştir.<sup>11</sup> Dondurmada bulunan yağ, başlıca tereyağı ve margarinden; protein ve mineraller başlıca sütün yağsız kuru maddesinden; karbonhidratlar ise başlıca laktoz, sakkaroz ve kısmen stabilizatörlerden kaynaklanır.<sup>2, 4(s.7-15)</sup> Dondurma, fiziko-kimyasal olarak çok karmaşık sisteme sahiptir. Temel yapısını, kısmen donmuş köpük; buz kristalleri; emülsiyon şeklinde yağ; gerçek ve koloidal solüsyonların karışımı olan sıvı faz oluşturur. Tipik bileşimli dondurmanın 1 gramında, 1 m<sup>2</sup> yüzey alana sahip ortalama 1µm çapında, 1.5x10<sup>12</sup> yağ globülü; 0.1 m<sup>2</sup> yüzey alana sahip ortalama 70µm çapında 8x10<sup>6</sup> hava kabarcığı ve 0.1 m<sup>2</sup> yüzey alana sahip ortalama 50µm çapında 8x10<sup>6</sup> buz kristali bulunmaktadır. Yağın önemli bir kısmı fosfolipit ve proteinlerden oluşan bir membranla sarılı globüller halindedir. Dondurmanın besin değeri ve enerji içeriği bileşimindeki maddelere bağlıdır. Ağırlık esas alındığında dondurma süttten 3-4 kat fazla yağ ve karbonhidrat ile % 12-16 daha fazla protein içermektedir. Ayrıca kullanılan



meyve, kuruyemiş, yumurta, çeşitli şeker ve şekerleme ürünleri, stabilizatörler ve emülgatörler besin değerini artıran unsurlardır. Normal bileşimli yaklaşık 70g ağırlığındaki sade dondurma 3 g protein, 100 mg kalsiyum, 70 mg fosfor, 250 IU vitamin A, 120 µg riboflavin, 30 µg tiyamin ve 130 kalori enerji iğerir.<sup>2(s.9-13)</sup>

Dondurma bileşimce zenginleştirilmiş sütün şeker, süt ürünleri, sakkaroz, dekstroz, katı veya sıvı halde mısır şurubu, su, yumurta, aroma maddeleri, satabilizatör, emülgatörlerin oluşturduğu miksin karıştırılması ve soğutulmasıyla elde edilen dondurulmuş bir süt ürünüdür. Dondurmanın kalitesi doğrudan karışımı oluşturan maddelerin kalitesi ve bileşimde dengeli olmalarıyla doğru orantılıdır. Dondurmada toplam kuru maddenin su miktarıyla dengeli olması gerekir. Aksi takdirde yapı ve lezzet kusurları gözlemlenebilir. Örneğin suyun fazla olması, dondurmanın soğuk algılanmasına, buzlaşmaya, yapının gevşek lezzetinin yetersiz olmasına neden olurken; suyun az olması da yapının ıslak, yapışkan, kumlu (laktoz kristalizasyonu) olmasına sebep olur. Karışımı dengeli hazırlanan dondurma çok tatlı ve yağlı değildir, ağızda düzgün hissedilir, bir ölçüde çiğnenebilir özellikte, sıkı fakat tanecikli, hafif ve gevşek olmayan yapı ve görünümüdür, uygun raf ömrüne sahiptir, muhafazası sırasında büzülme ve kumluluk gözlemlenmez. Dondurmanın toplam kuru madde miktarı dondurucu tipine göre farklılık gösterir. Dikey dondurucularda karışıma giren hava oldukça az olduğundan, yüksek kuru madde iğerikli karışımla yapılan dondurma çok sıkı ve yapışkan olur. Dolayısıyla bu tip dondurucular için düşük toplam kuru maddeli karışımlar daha elverişlidir. Diğer taraftan yatay yavaş ve sürekli dondurucularda çok daha fazla havanın karışıma girmesi söz konusu olduğundan, yüksek toplam kuru maddeli karışımlar idealdir.<sup>2(s.11-15)</sup> Tablo 2.1.'de ideal dondurma bileşimi verilmiştir.<sup>1</sup>

**Tablo2.1.** Dondurmanın Bileşimi<sup>1</sup>

Ürün Grupları	Toplam Kuru Madde (Ağırlıkça %)	Süt Yağı (Ağırlıkça %)	Yağsız Kuru Madde (Ağırlıkça %)	Yağsız Süt Kuru Maddesi (Ağırlıkça %)
Yarım Yağlı Dondurma*	31	3	28	10
Yağlı Dondurma*	36	8	28	10
Tam Yağlı Dondurma*	40	12	28	10
Yağlı Maraş Dondurması*	32	4	28	8
Yarım Yağlı Maraş Dondurması*	30	2	28	8
Yağlı Maraş Usulü Dondurma*	32	4	28	8
Yarım Yağlı Maraş Usulü Dondurma*	30	2	28	8

\*:En az

## 2.2. Dondurmada Mikrobiyal Kontaminasyon

Dondurma steril ürün olmamakla birlikte hijyenik koşullarda uygun tekniklerle üretildiğinde zararlı mikroorganizmaların bulunma ihtimali düşüktür. Üretimde homojenizasyon işlemi sonunda miks hemen 0-4 °C ye soğutulur. Soğutma işlemi dondurma yapısını olumlu yönde etkilemekte ve mikroorganizmaların çoğalmasını da önlemektedir. Dondurmanın donmuş bir ürün olması da mikroorganizmanın gelişmesini olumsuz yönde etkiler. Ancak dondurmanın üretim ve muhafazası sırasında hijyenik koşullara dikkat edilmemesi durumunda, mikrobiyal bozulma olmasa bile patojen mikroorganizmaları ve toksinleri içerme riski vardır. Dondurmada toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, genellikle üretim ve muhafaza sırasındaki sanitasyon uygulamalarının bir göstergesi olarak kabul edilebilmektedir. *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* ise genellikle bağırsak kaynaklı kontaminasyon düzeyini göstermektedir. Gıda ürünlerinde varlıkları işletmede uygulanan sanitasyonun ve besin kalitesinin ölçütü olarak değerlendirilmektedir. Çünkü bu bakterilerin ikincil habitatları

iyi temizlenmemiş ekipmanlardır. Buralarda canlılıklarını sürdürebilir ve uygun koşullarda çoğalabilmektedirler. Bu bakımdan gıda ürünlerinde tespit edilmeleri üretim sırasında ya yetersiz ısı işlem ya da kötü hijyen koşullarının uygulandığını veya ısı işleminden sonra kontaminasyonun olduğunu gösterir. Dondurmanın *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi patojen bakteriler ile kontaminasyonu, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Dondurma üretim ve muhafazası sırasında mikrobiyal bulaşmaya elverişli bir üründür. Hijyenik koşullardan yoksun ortamda yapılan dondurmada aerobik mezofilik bakteri, psikrofil bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Enterokok* gelişimi olabilmektedir.<sup>2(s.130-132)12</sup>

"Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre dondurmanın mikrobiyolojik özellikleri Tablo 2.1.'de verilmiştir. Yönetmeliğe göre dondurmanın 25 gramında *Salmonella* ve *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157 bulunmamalıdır. *Enterobacteriaceae* ise  $10^2$  kob/g'ı geçmemelidir".<sup>11</sup> (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2.** Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Dondurma İçin Belirlenen Mikrobiyolojik Kriterler<sup>11</sup>

Mikroorganizma	n	c	m	M
Enterobacteriaceae (kob/g)	5	2	$10^1$	$10^2$
<i>Salmonella</i> (kob/g)	5	0		0/25g-ml
<i>Listeria monocytogenes</i> (kob/g)	5	0		0/25g-ml
<i>E. coli</i> O157	5	0		0/25g-ml

n: deney numune sayısı,

c: m ile M arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla deney numune sayısı, m: (n-c) sayıdaki deney numunesinin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı,

M :c sayıdaki deney numunesinin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı.<sup>13</sup>

### 2.3. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı; dondurmada kalite, işleme ve depolama koşulları, ürün güvenliği ve ürün raf ömrü hakkında bilgi verebilen parametredir. İnsan ve hayvan kaynaklı patojen mikroorganizmaların çoğunluğu mezofilik karakter gösterdiği belirlenmiştir. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, depolama süresine ve sıcaklığına göre değişiklik gösterir. Toplam bakteri sayısı, özellikle aerobik mezofilik bakteriler; o gıdanın hijyenik ve mikrobiyolojik durumu hakkında bilgi vermektedir.<sup>12</sup>

Toplam aerobik mezofilik canlı mikroorganizma sayısının yüksek olması, genellikle gıdanın düşük kalitede olduğunun veya raf ömrünün azalmış olabileceğinin göstergesi olarak kabul edilebilir.<sup>12</sup>

Omurtag ve ark.<sup>14</sup> Denizli’de dondurma örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını ortalama  $4.6 \times 10^7$  kob/g olarak bulmuşlardır.

Özcan,<sup>4</sup> Bursa ilinde satışa sunulan dondurmalarda; toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını vişneli dondurmada  $7.9 \times 10^4$  adet/g olarak saptamıştır.

Leloğlu ve ark.<sup>15</sup> tarafından Aydın’da tüketime sunulan 50 dondurma numunesi üzerinde yapılan araştırmada toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı  $1.7 \times 10^2$ -  $6.0 \times 10^6$  adet/ml olarak tespit edilmiştir.

Yücel ve ark.’nın<sup>16</sup> Ankara’da yaptığı çalışmada dondurma örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının  $2.5 \times 10^2$ - $3.0 \times 10^4$ /ml arasında değiştiği ve ortalama  $1.5 \times 10^3$ /ml düzeyinde saptandığı bildirilmiştir.

Kırdar<sup>17</sup> tarafından Burdur ilinde tüketime sunulan 50 adet dondurma numunesi üzerinde yapılan araştırmada, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı ortalama  $<10 - 3.0 \times 10^5$  adet/g düzeyinde bulunmuştur.

Akarca<sup>3</sup> tarafından yapılan çalışmada, Afyonkarahisar merkezinde bulunan dondurma satış yerlerinden temin edilen 50 adet sade dondurma örneğinde toplam

aerobik mezofilik bakteri sayısı en çok  $1.7 \times 10^6$  adet/g, en az  $<10$  adet/g ve ortalama  $2.6 \times 10^5$  adet/g düzeyinde saptanmıştır.

Or'un<sup>18</sup> yaptığı çalışmada Kahramanmaraş piyasasında satışa sunulan Maraş usulü sade dondurmaların kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik kalitesi incelenmiştir. Araştırma sonucunda dondurma örneklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının  $6,3 \times 10^5$  ile  $1,4 \times 10^5$  kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Çağlayanlar ve ark.'nın<sup>19</sup> yaptığı çalışmada pastanelerde üretilmiş 48 dondurma örneği mikrobiyolojik yönden incelenmiş, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı  $8.1 \times 10^1$  -  $1 \times 10^6$  kob/g düzeyinde tespit edilmiştir.

Aydın'ın<sup>10</sup> Erzurum'da tüketime sunulan ambalajlı ve ambalajsız dondurmalarda yaptığı çalışmada; örneklerin toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları en düşük 2,88 log kob/g, en yüksek 6,11 log kob/g ve ortalama 3,72 log kog/g olarak tespit edilmiştir.

Çınar'ın<sup>20</sup> yaptığı çalışmada Tekirdağ ve Çorlu piyasasında, pastane ve endüstriyel koşullarda üretilerek satışa sunulan dökme dondurmaların bazı mikrobiyolojik özellikleri araştırılmıştır. İncelenen sade dondurma örneklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının  $4,0 \times 10^3$  -  $1,8 \times 10^6$  kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir.

Yurt dışında dondurmaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemeye yönelik yapılmış çalışmalar<sup>21-23</sup> mevcuttur.

Rodriguez ve ark.<sup>21</sup> tarafından İspanya'da 150 adet dondurma numunesi üzerinde yapılan bir çalışmada; toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı örneklerin % 47'sinde  $\geq 1.0 \times 10^5$  -  $< 10^6$  cfu/g arasında tespit edilmiştir.

Warke ve ark.<sup>22</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, 15 adet paketli ve 15 adet açık olmak üzere toplam 30 adet dondurma numunesi incelenmiş ve toplam aerobik

mezofilik bakteri sayısı, paketlenmiş olanlarda  $2.3 \times 10^4$ - $4.5 \times 10^5$  cfu/ml, açıkta satılanlarda ise  $1.32 \times 10^5$ -  $8 \times 10^6$  cfu/ml arasında olduğu tespit edilmiştir.

Baraheem ve ark.'nın<sup>23</sup> Mısırdaki üretilen dondurmaların mikrobiyal kaliteleri üzerine yaptıkları çalışmada 47'si paket 33'ü açık 80 dondurma örneği incelenmiştir. Dondurma örneklerinde aerobik mezofilik bakteri sayısı, 36 (% 45) tanesinde 10 MPN/g' (most probability numbers) üzerinde tespit edilmiştir.

#### **2.4. Toplam Aerobik Psikrofil Bakteri**

Bu grupta yer alan mikroorganizmalar 20 °C'nin altında geliştiklerinden genel olarak soğuk seven mikroorganizmalar olarak değerlendirilir. Psikrofilik mikroorganizmaların geliştikleri sıcaklık dereceleri; minimum 0 °C, optimum 15 °C ve maksimum 20 °C'dir. Bu organizmalar düşük sıcaklıklarda 7-14 günde gözle görülebilir koloni oluştururlar. Bu grubun üyeleri yüksek sıcaklıklara son derece duyarlı olup, sıcaklık 20 °C'nin üzerinde gelişemezler. Psikrofilik mikroorganizmalar daha çok soğuk bölgelerde ve sularda bulunur. Psikrofil mikroorganizmalar üremeleri sırasında fermentatif olarak karbonhidrat, yağ ve proteinleri parçalamakta ve bu parçalanma protein içeren gıda ürünlerinin tat ve kokularında değişmeye yol açmaktadırlar. Ayrıca oluşturdukları proteolitik aktiviteleri sonucu bu ürünlerde bozulmalara neden olmaktadır.<sup>24 (s.51), 25, 26</sup>

Psikrofil mikroorganizmalar yiyeceklerde yaygın şekilde bulunmaktadırlar. Bu organizmaların kaynağı su, toprak ve bazı durumlarda da besinin kendisidir (örneğin, süt, et ürünleri, deniz balıkları ve sebzeler). Son zamanlarda dondurulmuş ve özellikle soğutulmuş gıdaların aşırı şekilde tüketilmesi bu gıdaların üretim ve tüketim zamanları arasındaki geçen sürenin uzun olması, psikrofil bakterilerin gıda endüstrisi alanındaki önemini artırmaktadır.<sup>27</sup>

Türkiye dondurma örneklerinde psikrofil mikroorganizma varlığının araştırıldığı çalışmalar<sup>3, 16</sup> mevcuttur.

Yücel ve ark.'nın<sup>16</sup> Ankara'da yaptıkları çalışmada incelenen dondurma örneklerinde psikrofil mikroorganizma sayısını  $1.5 \times 10^2 - 3.0 \times 10^4$ /ml olarak saptamışlardır.

Akarca<sup>3</sup> Afyonkarahisar merkezinde satışa sunulan dondurma örneklerinde psikrofil bakteri sayısını 1 gram dondurma numunesinde en çok  $2.9 \times 10^6$  adet/g, en az  $<10$  adet/g ve ortalama  $4.0 \times 10^5$  adet/g olarak saptamıştır.

## **2.5. Enterobacteriaceae**

*Enterobacteriaceae*, *Salmonella* ve *E. coli* gibi hastalık etkenlerini de içeren büyük bir bakteri ailesidir. Doğada ve nemli ortamlarda yaygın olarak bulunurlar.<sup>28(s.500)</sup>

*Enterobacteriaceae* hem aerob hem de anaerob koşullarda üreyebildiği için fakültatif anaerob olarak tanımlanmaktadır. Gram negatif, spor oluşturmeyen, 35 °C'de laktozu 48 saat içerisinde fermente eden, gaz oluşturan mikroorganizmalardır.<sup>24(s.387)</sup>

*Enterobacteriaceae*'ların gıdalarda üremesi için gereken minimal  $a_w$  değeri 0.94-0.95 arasında değişir. Özellikle atık su sisteminin direkt ya da indirekt olarak temas ettiği gıdalarda her zaman *Enterobacteriaceae* familyasına bağlı türlere rastlanabilmektedir. Söz konusu tehlike, içme suyuna atık su karışması halinde daha büyük boyut kazanır. Bu tür kombinasyonlar başta tifo olmak üzere şiddetli epidemilere yol açar. Bu soruna özellikle, su temin ve arıtma sistemi olmayan gıda işletmelerinde rastlanmaktadır. Gıda işletmelerinde temizlik işleminden sonra alet ve makineler üzerinde oluşan su damlacıkları da potansiyel risk oluşturmaktadır.<sup>29(s.20-26)</sup>

Çınar'ın<sup>20</sup> yaptığı çalışmada, pastane ve endüstriyel koşullarda üretilerek satışa sunulan dökme dondurmaların bazı mikrobiyolojik özellikleri araştırılmıştır. 30 adet sade 30 adet çilekli dondurma numunesi incelenmiştir. Sade dondurma örneklerinde

*Enterobacteriaceae* sayısı  $<1-7,0 \times 10^5$  kob/g arasında bulunmuştur. Çilekli dondurma örneklerinde ise, *Enterobacteriaceae* sayısı  $<1-4,5 \times 10^5$  kob/g arasında belirlenmiştir.

## 2.6. Enterekok

Enterekoklar gram pozitif, spor oluşturmayan, hareketsiz, kok veya kokobasil şeklinde, katalaz negatif ve fakültatif anaerobik bakterilerdir. Enterokoklar, 10 ile 45 °C arasında, % 6.5 NaCl ve % 40 sofr tuzu varlığında ve pH 9.6' da üreyebilirler. Enterokoklar, fekal kaynaklı olmaları yanında toprak ve bitkilerde de bol miktarda bulunur.<sup>24(s.388-389)</sup>

Süt ürünlerinde ve diğer gıdalarda da yüksek oranlarda bulunabilen bu bakterilerin, bakteriyosin üretimi, probiyotik karakteri, süt endüstrisinde kullanılabilirlikleri gibi önemli biyoteknolojik özellikleri olduğu halde, onların gıda ile birlikte; *E. faecalis*'in endokarditis oluşumuna katıldıkları belirtilmektedir. Enterokoklar gıda endüstrisinde kullanılan ısıtma, kurutma, dondurma gibi işlemler ile temizlik ve dezenfeksiyon maddelerine karşı nispeten dirençlidir. Bu nedenle işlem görmüş gıdalar özellikle dondurulmuş gıdalar için koliform bakterilere kıyasla daha iyi bir sanitasyon ve fekal kontaminasyon indikatörü olma özelliğine sahiptir.<sup>30, 31</sup>

Omurtag ve ark.'ın<sup>14</sup> Denizli'de 20 adet dondurma örneği üzerinde yaptıkları çalışmada *Enterokok* sayısını  $3,3 \times 10^4$  kob/g düzeyinde bulmuşlardır.

Aydın'ın<sup>10</sup> Erzurumda ambalajlı ve ambalajsız dondurmalarda yaptığı çalışmada; *Enterokok* sayısı  $<2,00-3,58$  log kob/g olarak tespit edilmiştir.

## 2.7. *Escherichia coli*

Gıda kaynaklı hastalık etmeni olan birçok bakteri gibi *E.coli*'de *Enterobacteriaceae* familyasında yer alır. Gram-negatif, kısa çubuk yapısında, fakültatif anaerob, sporsuz, katalaz pozitif ve oksidaz negatif bir bakteri olan *E.coli*, peritrik



flagellaları ile hareketlidir. Fakat bazı suşları hareketsizdir. Mezofilik bir bakteri olan *E.coli*, 7-45 °C'ler arasında üreme gösterir. Optimum olarak 37 °C'de üreyen bakterinin ETEC (enterotoksijenik *E. coli*) suşları 4 °C'de üreyebilir. *E.coli*'nin optimum pH değeri nötre yakın olmakla birlikte diğer parametreler uygun olduğunda asidik koşullarda da üreyebilir. Bakterinin üreme gösterdiği minimum su aktivitesi ( $a_w$ ) değeri 0.95'tir. *E.coli* suşlarının çoğu normal bağırsak florasında patojen olmamasına karşın bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde gastrointestinal bariyeri aştığında enfeksiyon etmeni olabilir. Enteropatojenik ve enterotoksijenik *E.coli* suşları gıda kaynaklı toksikoenfeksiyon yaparken diğer gruplar yayılma enfeksiyon etmenidirler.<sup>24(s.134)</sup> *E. coli*, insanlarda safra ve idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, sepsisemi, arteriosklerosis, hemolitik üremik sendrom (HUS), yara enfeksiyonları, çeşitli immünolojik hastalıklar ve karaciğer apsesi oluşturur. İnsanlarda nadiren sepsisemi yapar. Süt çocuklarında epidemik gastroenteritise neden olur.<sup>32</sup>

Yücel ve ark.'nın<sup>16</sup> yaptığı çalışmada koliform izole edilen 16 örneğin 13'ünden (% 43.33) *E.coli* izole edilmiştir.

Or'un<sup>18</sup> yaptığı çalışmada Maraş usulü sade dondurmalarda *E. coli* sayısı 3-13 EMS/g (En Muhtemel Sayı/gram) arasında tespit edilmiştir.

Çınar'ın<sup>20</sup> yaptığı çalışmada pastane ve endüstriyel koşullarda üretilerek satışa sunulan 30 sade 30 çilekli dökme dondurmada *E. coli* aranmıştır. Sade dondurma örneklerinin 5 tanesinde *E. coli*'ye rastlanmış ve söz konusu etkenin 3,2–7,0 EMS/g arasında, çilekli dondurma örneklerinin ise 3 tanesinde *E. coli*'ye rastlanmış, düzeyinin 4,6–9,4 EMS/g arasında olduğu belirlenmiştir.

Panagiotidou ve ark.'nın<sup>33</sup> yaptığı çalışmada Yunanistan'da tüketilen dondurmaların bakteriyolojik kaliteleri üzerine yapılan bir araştırmada farklı tipte küçük

ve büyük fabrikalardan temin edilen toplam 107 örnek incelemeye alınmıştır. Örneklerin % 6,4'ünde *E.coli* bulunduğu belirlenmiştir.

Baraheem ve ark.<sup>23</sup> Mısırdaki, 47'si paket 33'ü açık 80 donduma örneğinin % 42 sinde *E. coli* tespit etmişlerdir.

Aidara ve ark.<sup>34</sup> tarafından Senegalde sokakta satılan dondurmalar mikrobiyolojik olarak incelenmiştir. 170 sokak satıcısından temin edilen 313 dondurma örneğinin % 10.6'sında *E. coli* tespit edilmiştir.

## **2.8. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcaceae* familyasında yer alan *S. aureus* Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, katalaz pozitif, fakültatif anaerob gelişim gösteren, mezofil karakterli bir bakteridir. Sıvı besi yerlerinden yapılan mikroskopik incelemede üzüm salkımı formunda, 0.5-1.5 µm çapında bakterilerdir. Mannitol ve çeşitli şekerleri fermente ederek gaz oluşturmadan asit oluştururlar. Stafilocokların optimum üreme sıcaklığı 35-37 °C olmakla beraber, 6.7-45.6 °C'ler arasında üreme, 10-46 °C'ler arasında toksin oluşumu söz konusudur. Toksin oluşumu 40-45 °C'lerde optimum düzeyde olmakla beraber 25-30 °C'ler de toksin oluşumu gözlenmektedir.<sup>29(s.135-137)</sup>

Stafilokokal intoksikasyonlar; ısıtılmış işlem görmüş gıdaların yeniden kontaminasyonunun ardından ortam sıcaklığında birkaç saat bekletildikten sonra tüketilmesiyle oluştuğu bildirilmektedir. Bu intoksikasyonun en önemli oluşum nedenleri arasında yetersiz pişirme, soğutma ve personel hijyeni yer almaktadır. Protein zengin ve işlem görmüş et (örn., sığır, domuz, kanatlı eti) ve et ürünleri (örn., sucuk, pastırma), salatalar (örn. salamlı, tavuklu, patatesli) süt ve süt ürünleri, kremalı pastacılık ürünleri ve dondurma stafilocokal intoksikasyonların kaynakları olarak ele alınmaktadır. Mastitisli veya subklinik mastitisli hayvanlardan elde edilen sütün normal sütle karıştırılması, pastörizasyon öncesi ve sonrası kontaminasyon ile muhafaza

sıcaklığı ve süresine bağlı olarak toksin oluşmakta ve toksin içeren gıdaların tüketimi sonucu da zehirlenme meydana gelmektedir.<sup>12</sup>

*S. aureus* 'lar çeşitli yollarla gıdaları kontamine edebilirler. Sağlıklı insanların % 30-50'sinin nazal pasajlarında *S. aureus*'un bulunduğu bildirilmiştir. Gıda işletmelerinde çalışan bireylerin önemli bir kısmının burun mukozalarında bu bakteriyi taşıdıkları saptanmıştır. Ayrıca el, deri ve apseli yaralar önemli kontaminasyon kaynaklarını oluşturmaktadır. *S. aureus*'un neden olduğu hastalıkların başında mastitis gelmektedir.<sup>29(s.141),35</sup>

*S. aureus* dünya genelinde en sık rastlanan besin zehirlenmelerinin etkeni olarak bilinmektedir. Stafilokok besin zehirlenmesinin asıl kaynağı ise hayvansal besinlerdir. Süt özellikle mastitisli hayvanlardan elde edildiğinde, bulaşmada önemli rol oynayabilmektedir. *S. aureus* sağlıklı kişilerin % 50'sinden fazlasında ağız ve burun boşlukları saç ve derilerde mevcuttur. İntoksikasyonun oluşması için gerekli toksin miktarı 100 ng ile 1 µg arasında değişmektedir. Stafilokok besin zehirlenmesi, tüketimin ardından 1-6 saat sonra, genellikle 6-24 saat süren kusma, mide krampları, ishal, karın ağrısı, baş ağrısı, adale tutulmaları ve ateş nöbetleri gözlenebilmektedir.<sup>2(s.141-142)</sup>

*S. aureus* 'un yaklaşık % 50'sinin toksin üretme yeteneğinde olduğu saptanmıştır. *S.aureus*'un neden olduğu gıda zehirlenmeleri, dünya çapında en yaygın gastroenteritislere birisidir. Gıdalardaki sayısı  $10^2$  kob/g'ın üzerine çıktığında toksin üretme riski oluşmaktadır.<sup>36, 37</sup>

Özcan<sup>4</sup> Bursa ilinde satışa sunulan dondurma örneklerinde *S. aureus* sayısını limonlu, vişneli, çilekli çeşitlerde sırasıyla;  $10.11 \times 10^3$  adet/g,  $8.01 \times 10^3$  adet/g,  $11.46 \times 10^3$  adet/g olarak bulmuştur. Leloglu ve ark.<sup>15</sup> tarafından yapılan çalışmada Aydın'da üretilen 50 dondurma numunesinde *S. aureus* sayısının  $0-4.0 \times 10^4$  adet/ml arasında olduğu belirlenmiştir. Yücel ve ark.'nın<sup>16</sup> yaptığı çalışmada Ankara'da

tüketime sunulan 30 adet dondurma örneğinde *S. aureus* incelendiğinde örneklerin % 36.6'sında en düşük ve en yüksek koloni sayısı  $1.0 \times 10^2$ - $3.0 \times 10^3$ /ml, ortalaması da  $3.0 \times 10^2$ /ml olarak tespit edilmiştir. Akarca<sup>3</sup> Afyonkarahisar merkezinde bulunan dondurma satış yerlerinden alınan 50 adet sade dondurma örneğinde *S. aureus* sayısının en çok  $4.4 \times 10^2$  kob/g ve ortalama  $1.6 \times 10^2$  adet/g olduğunu saptamıştır.

Keskin ve ark.<sup>38</sup> 55 satış noktasından alınan sade dondurma örneklerinin % 12.7'sinde *S. aureus*'a rastlanmıştır.

Aydın'ın<sup>10</sup> Erzurumda ambalajlı ve ambalajsız dondurmalarda yaptığı çalışmada; *S. aureus* sadece bir örnekte 2,29 log kob/g seviyesinde bulunmuştur.

Çınar'ın<sup>20</sup> yaptığı çalışmada 30 sade 30 çilekli dondurma numunesi incelenmiştir. Sade dondurma örneklerinde *S. aureus* sayısı  $1 \times 10^4$ - $2,1 \times 10^4$  kob/g arasında bulunmuştur. Kruy ve ark.<sup>39</sup> Kamboçya'da 105 sokak satıcısından temin edilen 210 numunenin % 12,2'sinde *S. aureus* tespit edildiğini bildirmiştir.

## **2.9. *Listeria monocytogenes***

*L. monocytogenes* doğada yaygın olarak bulunan, Gram pozitif, sporsuz, kapsülsüz, peritrik flagellaları ile hareketli, psikrotrof özellikte, kısa çubuk formunda, fakültatif intraselüler, patojen bir bakteridir. Bakteri 0-45 °C aralığında üreyebilmektedir ve 20-25 °C'ler arasında kuvvetli hareketlidir. Etken aerob, anaerob veya mikroaerofilik ortamlarda, geniş pH aralıklarında (4.3-9.6), 0.92 a<sub>w</sub> değerinde ve yüksek tuz konsantrasyonlarında (% 10) üreyebilmektedir.<sup>12</sup>

Dünya Sağlık Teşkilatının bir çalışma grubu *L. monocytogenes*'in donmuş gıdalarda % 0-5.5'inde bulunduğunu ve düzeyinde <15kob/g olduğunu belirlemiştir. Pastörizasyonda uygulanan ısı işlemleriyle (63 °C'de 30 dk; 72 °C'de 15 sn) tahrip olurlar. Ancak besinlerde pH >4.8 de ve a<sub>w</sub> >0.8'de gelişirler. *L. monocytogenes*'in dondurmada -18 °C'de üç ay canlılığını koruduğu belirtilmekte, bu duruma laktoz ile

sakkarozun karışımının donma noktasını düşürmesi ve diğer süt bileşenlerinin ve kıvamlı yapısının etkili olduğu tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* son yıllarda vaka sayısında artış görülen listeriozis'e neden olmaktadır. Birçok ülkede *L. monocytogenes*'in hazır yiyeceklerde belirlenmesi, çocuk ve bağışıklık sistemi zayıf kişilerin enfeksiyona duyarlı olması, rutubetli soğuk (3 °C) yerlerde barınması ve gelişebilmesi, dondurmanın bu bakteriyle kontaminasyon olasılığını, diğer besin kaynaklı patojenlere göre artırmaktadır. Dondurmada potansiyel kontaminasyon kaynakları soğutma ünitelerinden yayılan hava, borularda yoğunlaşan su damlaları, temizleme ekipmanları döşeme ve su kanallarıdır.<sup>2(s.136-139),12</sup>

*Listeria* türü mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonların birçoğu süt ile taşınmaktadır. Sütün, söz konusu etkeni mide asidinden koruduğu için bu hastalığın bulaşmasında ve yayılmasında oldukça özel bir etkisi olduğu bilinmektedir.<sup>40</sup>

Türkiye ve dünyada dondurma örneklerinde *L. monocytogenes* varlığının araştırıldığı çalışmalar<sup>41,42, 43</sup> mevcuttur.

Gönülalan ve ark.'nın<sup>41</sup> yaptığı çalışmada Kayseride açıkta satılan 50 dondurma örneği *L. monocytogenes* varlığı yönünden incelenmiştir. Çalışmada elde edilen test sonuçlarına göre alınan 25 sade dondurma örneğinden 6 tanesinin (% 24), 25 meyveli dondurma örneğinden ise 3 tanesinin (% 12) *Listeria* türleri ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Sade dondurma örneklerinin üç tanesinde (% 12) *L. monocytogenes*, iki tanesinde (% 8) *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*, bir tanesinde (% 4) ise *L. ivanovii* ve *L. grayi* tespit edilmiştir. Meyveli dondurma örneklerinin bir tanesinin (% 4) sadece *L. monocytogenes*, bir tanesinin (% 4) *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri*, bir tanesinin ise (% 4) *L. monocytogenes* ve *L. grayi* ile kontamine olduğu sonucuna varılmıştır. Sade dondurma örneklerinin 5'i (% 20) ve meyveli dondurma örneklerinin ise 3'ünün (% 12)

*L. monocytogenes* ile toplamda ise bütün dondurma örneklerinin 8 adedinin (% 16) etken ile kontamine olduğu belirlenmiştir.

Baek ve ark.<sup>42</sup> Korede 122 örneğin % 6.1'inde *L. monocytogenes*'e rastlanmıştır.

Bunun yanında Maifreni ve ark.<sup>43</sup> İtalyada, Çağlayanlar ve ark.<sup>19</sup>, Çınar<sup>20</sup> ve Tekin<sup>44</sup> yaptıkları çalışmalarda *L. monocytogenes*'e rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

## **2.10. *Salmonella* spp.**

*Salmonella Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram negatif, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde bir bakteridir. Genellikle 0,7-1,5x2-5 µm boyutlarında olan bu bakteri katalaz pozitif ve oksidaz negatif özelliktedir. Spor ve kapsül oluşturmazlar. Karbonhidratların birçoğunu fermente ederek gaz üretmelerine rağmen laktoz ve sakkarozu fermente edemezler. Optimum gelişme sıcaklığı 33-37 °C'dir. *Salmonella* spp. için en uygun pH düzeyi ise 6,5-7,4'dir. Bu bakteri için optimal su aktivite değeri 0.99 aw olmasına rağmen *Salmonella* spp.'nin bazı türleri 0.93 aw değerlerinde canlılıklarını sürdürebilmektedirler. *Salmonella* spp., bazı gıdalarda sıklıkla bulunabilmekte ve pek çok gıdada oldukça geniş sıcaklık aralıklarında gelişerek sayılarını artırabilmektedir. *Salmonella* spp. *Campylobacter jejuni*'den sonra gıda kaynaklı hastalık oluşturan en önemli ikinci bakteridir. Tavuk ve domuz etleri *Salmonella* spp.'yi yaygın bir şekilde içerebilmektedir. Bu etken; su, toprak, fabrika ve mutfakların tezgâh yüzeyleri, hayvan dışkıları, çiğ et, çiğ tavuk, çiğ deniz ürünlerinde bulunabilmektedir.<sup>45</sup>

Patojen mikroorganizma olan *Salmonella*'ların primer kaynağı insan ve hayvanlardır. Taşıyıcı insan ve hayvanların dışkısı enfeksiyonun yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Dondurma, süttozu, krema, puding ve diğer süt ürünleri *Salmonella* açısından risk taşıyan gıdalardır. Çeşitli ülkelerde insanlarda meydana gelen salmonellozis olgularının son 30 yıl içinde sürekli artış gösterdiği ve özellikle gelişmiş

ülkelerde en yaygın zoonozlardan biri olduğu belirtilmektedir.<sup>46</sup> *Salmonella* dondurmaya genellikle hayvansal kökenli bileşenleri olan krema, süttozu v.b. ile bulaşır.<sup>2(s.134)</sup>

Dondurmada *Salmonella* taşıyabilmekte ve gıda enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Amerikada bir doğum günü partisinde çocuklarda ishal ve ateş görünmüş, yapılan araştırmada enfeksiyonun ev yapımı dondurmadan bulaşan *Salmonella*'dan kaynaklandığı bildirilmiştir. *Salmonella*'nın dondurmaya bulaşma kaynağının ise dondurmaya katılan çiğ yumurta olduğu tespit edilmiştir.<sup>47</sup> Yine Amerikanın Minoseta Eyaletinde 1994 yılında dondurmadan kaynaklı *Salmonella* salgını görülmüş, ve dört bölgeye yayılmıştır. Hiçbir ölüm rapor edilmemiştir fakat 112 hasta titreme, ateş, kanlı dışkı ve 8 gün süren ishal şikâyetleriyle hastaneye kaldırılmıştır.<sup>48</sup>

Or<sup>18</sup>, Çağlayanlar ve ark.<sup>19</sup> ve Aydın<sup>10</sup> yaptıkları çalışmalarda *Salmonella* spp. identifiye edemediklerini bildirmişlerdir.

Çınar'ın<sup>20</sup> yaptığı çalışmada 30 adet sade dondurma numunesinin 2 adedinde *Salmonella*'ya rastlanırken, 30 adet çilekli dondurma örneğinde söz konusu etkene rastlanmamıştır.

Tamminga ve ark.<sup>49</sup>, Maifreni ve ark.<sup>43</sup>, Panagiotidou ve ark.'nın<sup>33</sup>, Aidara ve ark.<sup>34</sup> yapmış oldukları araştırmalarda *Salmonella*'ya rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Kruy ve ark.<sup>39</sup> Kamboçya'da 105 sokak satıcısından temin ettikleri 210 numunenin % 1.9 düzeyinde *Salmonella* spp'ye rastlandığını bildirmişlerdir.

## **2.11. *Escherichia coli* O157:H7**

*E. coli* suşları arasında serolojik bir bağlantı olduğu ilk kez 1921'de Dodgeon ve arkadaşları tarafından belirtilmiş, sonra 1937'de Lowel *E. coli*'nin kapsül ve somatik olmak üzere 2 çeşit antijeni olduğunu ileri sürmüştü, 1943'de ise Kaufmann flagella

antijenini de göstermiştir. *E. coli* O157:H7 hayvanların özellikle de sığırların taşıyıcı olduğu bakteridir. İnsanlarda hastalık meydana getirmesi için gıda ile birlikte 10-100 hücre alınması yeterlidir. *E. coli* O157:H7 ürettiği invaziv (yayılma) faktörleri ile bağırsak epiteline tutunarak burada verotoksin üretir. Toksinler; dolaşım sistemine geçerek kan hücrelerine, bağırsağa, karaciğere, böbreğe ve beyne zarar verebilir.<sup>24(s.135-136)</sup>

*E. coli* O157:H7 serotipi diğer serotiplerden, 44,5 °C 'de gelişememe, MUG (4-Methylumbelliferyl-β-Glucuronide) negatif olma ve sorbitolü 48 saat içinde fermente edememe gibi farklılıklar gösterir. Bu farklılıkların yanında diğer serotiplere göre aside daha fazla direnç göstermesi bu serotipin önemini artırmaktadır. *E. coli* O157:H7 serotipi de diğer *E. coli* serotipleri gibi optimum olarak 37 °C 'de ve pH 7,2'de gelişir. *E. coli* O157:H7 serotipinin gelişmesi üzerine yapılan çalışmaların çoğu bu serotipin izolasyon çalışmalarına yöneliktir.<sup>50, 51(s.135)</sup>

*E. coli* O157:H7 insanlarda hemorojik kolit (kanlı diyare), hemolitik üremik sendroma (böbrek yetmezliği) neden olup, ilk olarak 1982 yılında ABD'de kanamalı kolit ile seyreden iki salgından izole edilip patojen olarak tanımlanması yapılmıştır.<sup>52</sup> Patojen *E. coli* grupları içinde ciddi hastalıklara neden olan EHEC (enterohemorajik *E. coli*) üç temel sendroma neden olur. Bunlar hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP)'dir.<sup>29(s.32),35</sup> *E. coli* O157:H7'nin optimum  $a_w$  değeri 0.98 olarak belirlenmiştir. Bu değer, 0.95'in altına düştüğünde etkenin üremesinin engellendiği bildirilmiştir.<sup>53</sup>

Türkiye'de ve Dünya'da dondurmalarda *E. coli* O157 H7 varlığını ortaya koymaya yönelik az sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

Yaman ve ark.,<sup>54</sup> Kars'ta açıkta satılan 73 dondurma numunesinde *E. coli* O157 H7 izole edilemediğini vurgulamıştır.



Rahimi ve ark.<sup>55</sup> İran'da PCR yöntemi ile dondurmalarda *E. coli* O157 varlığını araştırmış ve 120 örnekte söz konusu etkene rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Dondurmalarda etkenin izole edilebildiği çalışmalar yetersiz olmakla beraber dondurma tüketiminden kaynaklandığı tespit edilen vakaların bildirildiği sörveyans verileri mevcuttur.<sup>56, 57</sup>

Şöyle ki Ohio eyaletinde ev yapımı dondurma tüketiminin ardından oluşan hastalık tablosuna *E. coli* O157H7 ile enfekte dondurmanın sebep olduğu bildirilmiştir.<sup>56</sup>

Schrijver ve ark.<sup>57</sup> Belçikada bir çiftlikte üretilen dondurmaların tüketildiği doğum günü partisinin ardından hemolitik üremik sendrom ve ishal şikayetleri ile hastaneye başvuran çocuklara ait dışkı örneklerinde ve geri kalan dondurma numunelerinde *Escherichia coli* O145 ve *E. coli* O26 suşlarının izole edildiğini bildirmişlerdir.

## **2.12. Su aktivitesi ve pH**

Su aktivitesi, gıda maddelerinin üretim ve değerlendirilmesinde pH ile aynı değer taşıyan bir kriterdir. Bu değer gıdalarda bulunan mikroorganizmaların metabolizma ve üreme faaliyetleri için kullanabildiği suyun ölçüsü olarak ifade edilir. Bundan dolayı su aktivitesi gıda maddelerinde mikrobiyolojik yönden stabilite indikatörü olarak kabul edilmekte ve gıda teknolojisinde çok önemli bir yeri olmaktadır. Nemden farklı olarak su aktivitesi, gıda kalitesinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığı belirlemektedir. Gıdaların bozulmalarına en önemli etkenlerden biri suyun kimyasal ve fiziksel özellikleridir. Suyun gıda içerisinde bağlı olup olmaması, başka bir ifade ile su aktivitesi gıda kalitesine doğrudan etki yapmaktadır. Bu bakımdan saklama yöntemleri su aktivitesini kontrol altına alınması prensibine dayanmaktadır.<sup>58, 59</sup>

pH değeri, asitlik derecesini gösteren serbest hidrojen iyonlarını simgeleyen bir ölçüttür. Hidrojen iyonları miktarının çok küçük olması nedeniyle rakamlara kullanım kolaylığı getirmek için serbest hidrojen iyonları miktarının (-) logaritması alınarak buna pH değeri denmiştir. pH değerleri 0-14 arasında değişen bir skala geliştirilmiştir.<sup>60</sup> Mikroorganizmalar ortamın pH değerinden etkilenirken aynı zamanda ortamın pH değerini de etkileyebilir. pH mikroorganizmaların yanı sıra enzim aktiviteleri ve renk reaksiyonlarına da etki eder. Genel olarak bakterilerin gelişebildiği pH aralıkları küf ve mayalara göre daha dardır. Bakteriler daha seçici olmakla birlikte, en seçici olanlar patojen bakterilerdir. Bakterilerin gelişebildiği optimum pH değeri 6.5 –7.5, küflerin 4.5 – 6.8, mayaların ise 4.0 – 6.5’dir.<sup>13</sup>

Dondurmada yapılan çeşitli çalışmalarda belirlenen pH değeri 6.34-6.37’dir. Meyveli dondurmalarda katılan meyvenin özelliğinden dolayı pH değeri düşmektedir.<sup>61</sup>

Andıç’ın<sup>62</sup> 23 dondurmada yaptığı çalışmada;  $a_w$  oranları sade dondurmada 0.62-0.70, çikolatalı dondurmada 0.65-0.68, meyveli dondurmada 0.67-0.74 bulunmuştur. Su aktivitesinin bu değeri, bakterilerin gelişimini engelleyici yeterlilikte fakat küf ve maya gelişimine açık  $a_w$  değerine sahip gıdalar olduğunu göstermektedir.

Or’un<sup>18</sup> yaptığı çalışmada, örneklerinin ortalama pH değerleri 6,42-6,64 arasında değişmiştir.

Aydın’ın<sup>10</sup> yaptığı çalışmada; pH değerleri sırasıyla en düşük, en yüksek ve ortalama değerleri sırasıyla 4,91, 6,96 ve 6,13 tespit edilmiştir.

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışmada, Erzurum bulunan çeşitli pastane ve satış noktalarından temin edilen 25 vanilyalı, 25 kakaolu ve 25 vişneli olmak üzere toplam 75 adet açıkta satılan dondurma örneği materyal olarak kullanıldı. Dondurmaların alındığı yerler ve üretici firma isimleri saklı tutularak protokol numaraları ile belirlendi. Aseptik olarak alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örnekler; toplam aerobik mezofilik bakteri, psikorofil bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Enterokok* bakteri, *E.coli* ve *S.aureus* sayısı; *L.monocytogenes*, *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden analiz edildi.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısının Belirlenmesi**

Plate Count Agar (PCA-Merck 1.05463), besiyerine uygun dilüsyonlardan 0.1ml yayma plak yöntemi ekim yapıldı. 37°C'de standart 48 saat inkübasyonun ardından sayım yapıldı.<sup>63(s.135)</sup>

##### **3.2.2. Toplam Aerobik Psikorofil Bakteri Sayısının Belirlenmesi**

Plate Count Agar (PCA-Merck 1.05463), besiyerine uygun dilüsyonlardan 0.1ml yayma plak yöntemi ekim yapıldı. 8±2°C'de 7 gün inkübasyonun ardından sayım yapıldı.<sup>63(s.136)</sup>

##### **3.2.3. *Enterobacteriaceae* Sayımı**

*Enterobacteriaceae* sayımı, Violet Red Bile Glucose Agar (VRB Oxoid CM 485, Merck (10275) besiyeri kullanılarak, uygun dilüsyonlar kullanılarak dökme ekim yöntemi ile belirlenmiştir. İnkübasyon 37 °C ± 2 °C'de 24-48 saat olarak yapılarak, inkübasyon sonunda, kırmızı ve kırmızı renkte zon oluşturan koloniler değerlendirilmiştir.<sup>63(s.142)</sup>

### 3.2.4. Enterekok sayımı

Enterekok sayımı için Enterokoken Agar (Merck) kullanıldı. Ekim yapılan petri kutuları 35-37 °C’de 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan pembe koloniler sayılmıştır.<sup>63(s.150)</sup>

### 3.2.5. *E. coli* varlığının belirlenmesi

Tryptone Bile X-glucuronide Agar’a (Merck 1.16122) uygun dilüsyonlardan 0.1ml yayma plak yöntemi ekim yapıldı. 44 °C’ de 48 saat inkübe edildi. Mavi –yeşil koloniler değerlendirildi.<sup>63(s.143)</sup>

### 3.2.6. Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* İzolasyon ve İdentifikasyonu Klasik Kültür Yöntemiyle İzolasyon ve İdentifikasyonu

Dondurma örneklerinden 25 g tartılarak, 225 ml Tamponlanmış Peptonlu Su ilave edilerek homojenizatörde (stomacher) homojenize edildi. Bu şekilde 10<sup>-1</sup>’lik dilüsyon hazırlandı. Örneklerin uygun dilüsyonlarından 1ml alınıp, yayma metodu ile ekimleri yapılmış ve 30-300 arasında koloni içeren plaklar değerlendirildi. Daha sonra Egg Yolk–Tellurite Emulsionilave edilen Baird Parker Medium (BPM, Oxoid CM275) besiyerine örneklerin 10<sup>-1</sup>’lik dilüsyonundan steril pipetlerle 0.1 ml aktararak drigalski ile tamamen yayılması sağlandı. Ekim işleminden sonra petri plakları 37 °C’de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etrafında açık renkli zon bulunan siyah ve parlak renkli koloniler *S. aureus* şüpheli olarak değerlendirilerek hazırlanan kanlı agar besiyerine şüpheli kolonilerden alınarak çizme plak yöntemiyle ekim yapıldı. 37 °C’de 24 saat inkübe edildi. Kanlı agardaki kolonilerin çevresinde oluşan açık renkli zon β hemoliz olarak değerlendirildi. Daha sonra kanlı agarda gelişen kolonilere Gram boyama, katalaz, oksidaz ve koagülaz testleri uygulandı. Gram pozitif, katalaz ve koagülaz pozitif, oksidaz negatif koloniler *S. aureus* olarak değerlendirildi. Koagülaz pozitif *S.aureus* sayısının belirlenmesinde Baird Parker Medium’da tipik 5 koloniye

koagülaz testi uygulandı. Koagülaz testte pozitif çıkan koloni sayısı ile *Staphylococcus* mikroorganizmasının sayısı çarpılmış, sonuç pozitif koloni sayısına bölünerek koagülaz pozitif mikroorganizma sayısı belirlendi.<sup>63(s.181)</sup>

### **3.2.7. *Listeria monocytogenes*'in İzolasyon ve İdentifikasyonu**

#### **Klasik Kültür Yöntemiyle İzolasyon ve İdentifikasyon**

Soğuk zincir altında laboratuvara getirilen dondurma örnekleri *L. monocytogenes* varlığı yönünden analiz edildi. Çalışma iki safhada gerçekleştirildi. İlk safhada numunelerden *L. monocytogenes*'in klasik kültür yöntemiyle, ikinci safhada ise Vitek 2 ile izolasyon ve identifikasyon gerçekleştirildi. *L. monocytogenes*'in izolasyonunda klasik yöntemlerde iki aşamalıdır. Bu yöntemde ön zenginleştirme tek aşamaya inmiştir. Zenginleştirme aşamasının ardından kullanılan Brilliance Listeria Agar Base ise *Listeria* türleri tarafından üretilen B-glucosidase aktivitesini mavi koloni oluşumu ile ortaya çıkarır. Bu besiyeri içinde bulunan selektif ajanlar diğer floranın (örn., enterococ) baskılanmasını sağlar.<sup>64</sup>

Dondurma örneklerinden aseptik koşullarda steril stomacher poşetlerine 25 g numune tartıldı. Üzerine 225 ml One Broth Listeria (CM1066, SR0234) eklendi ve stomacherde 30 saniye homojenize edildikten sonra 30 °C'de 24±2 saat inkübasyona bırakılarak ön zenginleştirme işlemi yapıldı. Ardından poşetler hassasiyetle karıştırıldıktan sonra steril bir öze ile 10µl örnek alınarak Brilliance Listeria Agar (CM1080, SR0227, SR0228)'a çizme usulüyle ekim yapıldı. 37 °C de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Her bir plakta üreyen mavi renkli tipik kolonilerden 1-5 adet seçilerek biyokimyasal ve diğer testler yapılmak üzere, Tryptone Soya Yeast Extract Broth (TSB,Merck 1.05459) geçildikten sonra tüpler 30 °C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilere sırası ile; Gram boyama, rhamnoz, ksiloz, oksidaz (Oksidaz test stribi (Bactident Oxidase, Merck), 1.13300)) katalaz (Katalaz test stribi (Bactident Catalase

1.11351.0001)) testleri uygulandı. Gram pozitif, kısa çubuk formu, katalaz pozitif, oksidaz negatif *Listeria* kolonilerinin identifikasyonu amacıyla defibrine koyun kanı ile hazırlanmış % 7'lik kanlı agarda  $\beta$ -hemoliz ve CAMP (Christie Atkins Munch-Petersen) testleri ile şeker fermentasyon testleri yapılarak izolatların identifikasyonu gerçekleştirildi. Buna göre kanlı agarda  $\beta$ -hemoliz oluşturan, CAMP testte *S. aureus* ile sinerjik etki göstererek hemoliz veren, şeker testlerinden L-ramnoz pozitif, D-ksiloz negatif örnekler *L. monocytogenes* olarak identifiye edildi.<sup>63(s.194)</sup>

### **3.2.8. *Salmonella* spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu**

#### **Kültür Yöntemiyle İzolasyon ve İdentifikasyon**

Soğuk zincir altında laboratuvara getirilen dondurma örnekleri *Salmonella* spp. varlığı yönünden analiz edildi. Analiz iki aşamada gerçekleştirildi. Analizin ilk aşamasında numunelerden *Salmonella* spp. klasik ve hızlı kültür tekniği ile, ikinci aşamasında ise Vitek ile izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirildi. *Salmonella* spp.'nin klasik kültür tekniği ile izolasyonunda ISO 6579:2002<sup>65</sup>, hızlı kültür yönteminde ise Fransız Standartları Birliği (Association Française de Normalisation) AFNOR) tarafından ISO 16140:2003<sup>66</sup>'e uygunluğu onaylanan Association of Analytical Chemists (AOAC-RI) *Salmonella* hızlı kültür metodu (AOAC-RI *Salmonella* Rapid Culture method) kullanıldı.<sup>67</sup>

#### **Ön Zenginleştirme**

Her bir dondurma örneğinden aseptik şartlarda steril stomacher poşetlerine 25 g numune tartılıp, üzerine 225'er ml SR242B supplementi eklenmiş One Broth *Salmonella* Base (Oxoid CM1091) ilave edildikten sonra karışım stomacherde 2-3 dakika homojenize edildi. Ön zenginleştirme amacıyla 37 °C'de aerob koşullarda 24 saat inkübe edildi.<sup>63(s.285)</sup>

### **Katı Besi Yerine Ekim**

Selektif zenginleştirme buyyonlarından bir öze dolusu alınarak BPLS Agar'a (Brilliant green phenol-red lactose sucrose agar) (Merck 1.07237) çizme yöntemi ile ekim yapılarak plaklar 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. BPLS agarda üreyen pembe kırmızı renkli, kenarları düzgün, kolonilerden 3-5'i seçilerek biyokimyasal testleri yapıldı.<sup>63(s.288)</sup>

### ***Salmonella* spp.'nin İdentifikasyonu**

#### **Biyokimyasal Testler**

Aerob koşullarda 37 °C'de 24-48 saatlik bir inkübasyon sonucunda BPLS agarda üreyen tipik kolonilerden 3-5'i seçilerek, Nutrient Agara (Merck, 1.05450) geçildi. Burada üreyen kolonilerden biyokimyasal reaksiyonlar için Triple Sugar Iron Agar (TSIA, Oxoid CM0277) ve Lysine Iron Agara (LIA, Oxoid CM0381), Urea Agar Base acc. to Christensen (Merck 1.08492) Simmons Citrate Agar (SCA, Merck 1.02501) ekim yapıldı. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Test sonuçlarına göre TSIA'da besiyerinin dip kısmının sarı (glikozun kullanımı) ve siyah olması (hidrojen sülfür oluşumu), yüzeyin kırmızı olması (laktoz ve sakkarozun kullanılmaması), LIA testinde besiyerinin dip kısmı ve yüzeyin menekşe renkli olması, SSA testinde besiyeri yüzeyinde mavi renk oluşumu pozitif olarak kabul edildi. Ayrıca üreaz testinde üre agarda besiyerinin sarıya dönüşmesi (üre negatif) durumunda koloniler *Salmonella* olarak değerlendirildi.<sup>63(s.291)</sup>

### **3.2.9. *Escherichia coli* O157:H7' nin İzolasyon ve İdentifikasyonu**

*E. coli* O157:H7' nin'in izolasyon ve identifikasyonu ISO 16654:2001<sup>68</sup> ve Halkman<sup>63</sup> tarafından önerilen yöntemle yapıldı. Dondurma numunelerinden steril stomacher poşetlerine 25 g tartıldı. Üzerine 225 ml mTSB-Broth with Novobiocin (Merck. 1.09205) ilave edilerek 3 dakika süreyle stomacher ile homojenize edildi.

37°C'de 16-20 saat inkübasyon yapıldı. Daha sonra bu homojenattan 0.1 ml alınarak, Cefixime Tellurite Selective katkılı (Oxoid, SR 0172 E) Sorbitol Macconkey Agar with BCIG (Oxoid, CM 0981) (CT-SMAC) agara, çizim yöntemiyle ekim yapıldı. Ekim yapılan agar, 42°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda sorbitol negatif (kül-grimsi koloniler) olan kolonilerden Fluorocult VRB Agar (VRB-MUG Agar, Merck, 1.04030) agar besiyerine ekim yapılarak 42 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra UV ışığı altında floresan vermeyenlere doğrulama testleri yapıldı. Bu testlerin yapılması için tipik kolonilerden Nutrient Agar (Merck 1.05450)'a geçildi ve 37 °C'de 24 saat inkübasyon yapıldı. İnkübasyon sonunda gelişen kolonilerde biyokimyasal ve antijen testleri yapıldı.

### **Biyokimyasal Testler**

Mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonunda; indol, metil red (MR), Voges Proskauer (VP), sitrat, oksidaz, lizin dekarboksilaz, hidrojen sülfür, glukoz, laktoz, ve sakkoroz fermentasyonu testlerinden yararlanıldı.<sup>69</sup> İndol testi için, Tryptone Water (Merck 1.10859) sıvı besiyeri kullanıldı. İzole edilen bakterinin taze kültüründen besiyerine inokülasyon yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonuncunda 0.5 ml Kovacs' indol ayıracı (Merck 1. 09293) ilave edildi. Tüplerin üst kısmında kalıcı kırmızı halkanın oluşması pozitif (+), sarı-kahverengi halka ise negatif (-) olarak değerlendirildi.<sup>70</sup>

Metil red (MR) testi için MR/VP Medium (Oxoid CM43) besiyeri kullanıldı. İzole edilen bakterinin taze kültüründen içinde 5 ml sıvı besiyeri bulunan tüplere inokülasyon yapıldı ve 37 °C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben üzerine birkaç damla metil red indikatörü ilave edildi. Besiyerinde belirgin kırmızı renk oluşumu pozitif, sarı-turuncu rengin oluşması ise negatif olarak değerlendirildi.<sup>63(s.168)</sup>



Voges Proskauer (VP) testi için MR/VP Medium (Oxoid CM43) kullanıldı. İzole edilen bakterinin taze kültüründen içinde 5 ml sıvı besiyeri bulunan tüplere inokülasyon yapıldı .37 °C’de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası üzerine 1 ml % 40’lık potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ve 3 ml % 5’lik  $\alpha$ -naftol çözeltisi ilave edildikten sonra iyice karıştırılarak 2-5 dakika içinde pembe rengin oluşması pozitif, sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi.<sup>63(s.168)</sup>

Sitrat testi SCA (Oxoid CM155) besiyerinde yapıldı. Yatık olarak hazırlanan besiyerine şüpheli bakterinin taze kültüründen iğne uçlu öze ile alınan koloniler dibe daldırma ve yüzeye çizme yapılarak 37 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası mavi renk oluşumu pozitif, renk değişiminin olmaması negatif olarak değerlendirildi. Oksidaz testi için, Oksidaz test stribi (Bactident Oxidase, Merck) kullanıldı. Çubuğun N-dimetil-p-fenilendiamin-okzalate, askorbik asit ve  $\alpha$  naftol solüsyonu ile kaplanmış uç kısmı şüpheli koloniye dokundurularak küçük bir hücre kütlesi uç kısma alındı ve 30 saniye içinde mavi-mor renk oluşması pozitif, renk değişikliğinin şekillenmemesi ise negatif olarak değerlendirildi.<sup>63(s.169)</sup>

Triple Sugar Iron Agar testi için, Triple Sugar Iron Agar (TSI, Oxoid CM277) kullanıldı. İğne uçlu öze ile şüpheli bakterinin taze kültüründen yatık agara daldırma ve yüzeye çizme yapılan tüpler 35 °C’de 24-48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda tüpün içindeki besiyerinin tamamen sarıya dönüşmesi (glukoz, laktoz ve sakkarozun kullanımı) siyah renk oluşmaması (hidrojen sülfür oluşmaması), besiyerinde gaz deliklerinin ve/veya yarıkları oluşması ve/veya besiyerinin dip kısmından yukarı doğru itilmesi pozitif olarak değerlendirildi.<sup>63(s.168)</sup> Lisin Dekarboksilaz testi için Lisin Iron Agar (LIA, Oxoid CM277) kullanıldı. İğne uçlu öze ile şüpheli bakterinin taze kültüründen yatık agara daldırma ve yüzeye çizme yapılan tüpler 37°C’ de 24- 48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda tüpün dip kısmında viyole renk oluşumu lizin

dekarboksilaz pozitif, sarı renk oluşumu lizin dekarboksilaz negatif olarak değerlendirildi.<sup>63(s.168)</sup>

IMVIC (Indol, Metil red, Voges - Proskauer ve Sitrat, (Citrat)) testlerinde tipik biyokimyasal özellikleri (+, +, -, -) olan glikoz, laktoz ve sakkarozun kullanımı ve Lizin Dekarboksilaz pozitif olan kültürlerle Wellcolex *E. coli* O157:H7 Rapid latex agglutination testi uygulandı.<sup>69</sup>

### **Vitek 2 ile İdentifikasyon**

Vitek 2 sisteminde *S. aureus*'un identifikasyonu için Baird Parker Medium'da, *L. monocytogenes*'in identifikasyonu için Brilliance Listeria Agar'da, *Salmonella* identifikasyonu için BPLS Agar, Brilliance Salmonella Agar Base (BSAB, Oxoid, CM1092) ve Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar'da gelişen tipik kolonilerden kanlı agara geçilerek 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Üreyen genç kolonilerden alınarak steril fizyolojik tuzlu su içeren tüplerde Mc farland ayarı yapıldı. 0.65-0.85 Mc farland konsantrasyondaki bakteri solüsyon tüpüne Vitek 2 kartları (*S. aureus* ve *L. monocytogenes* için Gram pozitif, *Salmonella* için Gram negatif kart) takıldı. Daha sonra Vitek 2 Compact cihazında bakteri identifikasyonu yapıldı (BioMérieux, 2011).<sup>71</sup>

### **3.3. Su Aktivitesi ve pH analizi**

Dondurma numunelerinin pH değerleri ölçümden önce pH 4 ve pH 7 tampon çözeltileri kullanılarak pH metre standardize edilmiştir. pH metre elektrodu bir beher içerisine alınan dondurma numunesine daldırılmış, pH metrenin ekranındaki değer stabil hale gelinceye kadar beklenmiş ve direkt olarak pH okunmuştur. Su aktivitesi ölçümünde AQUALAB 4TE model su aktivitesi cihazı kullanılmıştır. Standardizasyonu yapılan ölçüm cihazının özel ölçüm kaplarına numune konularak, direkt sonuç okunmuştur.

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Dondurma numunelerinden analizler sonucu elde edilen mikrobiyolojik ve kimyasal sonuçları SPSS paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ortalama değerleri ve standart hataları hesaplanarak analizleri yapılmıştır. Gruplar arasında (vanilyalı, kakaolu, vişneli) farklılığın belirlenmesinde Çoklu Karşılaştırma Testi Duncan kullanılmış ve sonuçlar istatistiksel olarak açıklanmıştır.



## 4. BULGULAR

Bu çalışmada, Erzurum bulunan çeşitli pastane ve satış noktalarından temin edilen 25 vanilyalı, 25 kakaolu ve 25 vişneli olmak üzere toplam 75 adet açıkta satılan dondurma örneğinde; toplam aerobik mezofilik bakteri, psikrofil bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Enterokok* bakteri, *S. aureus* sayısı ile *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* ve *E. Coli*O157:H7 varlığı incelenmiş ve mikroorganizmaların gelişimde etkili olan pH ve su aktivitesi belirlenmiştir.

75 dondurma numunesinde analiz sonucunda *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. *E. coli* ve *E. Coli* O157:H7 'ye rastlanmamıştır.

**Tablo 4.1.** Dondurma numunelerinin Mikrobiyolojik Değerleri ile Standart Hataları (log kob/g)

	Vanilyalı			Kakaolu			Vişneli			F değeri
	Min	Max	Ort.±std.h.	Min	Max	Ort.±std.h.	Min	Max	Ort.±std.h.	
Toplam aerobik mezofilik bakteri	3	7.55	4.45±0.23	3	8	4.96±0.22	2	8	4.40±0.27	1.632
Psikrofil bakteri	3.30	7.17	4.89±0.17	3.70	7.26	5.08±0.20	1.5	6.76	4.62±0.23	1.349
Enterobacteriaceae	1.5	6.76	2.54 ±0.33	1.5	5.46	2.52 ±0.29	1.5	6.78	2.27± 0.28	0.252
Enterokok	2	5	3.20±0.21	2	7	3.64 ±0.27	2	6	3.56 ±0.27	0,872

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi analiz edilen 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 3 log kob/g, maksimum 7.55 log kob/g ve ortalama 4.45 log kob/g, 25 kakaolu dondurma numunesinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 3 log kob/g, maksimum 8 log kob/g ve ortalama 4.96 log kob/g, 25 vişneli dondurma numunesinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı minimum 2 log kob/g, maksimum 8 log kob/g ve ortalama 4.4 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Psikrofil mikroorganizma sayıları; 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum 3.30 log kob/g, maksimum 7.17 log kob/g ve ortalama 4.89 log kob/g, 25 kakaolu dondurma numunesinde 3.70 log kob/g, maksimum 7.26 log kob/g ve ortalama 5.08 log kob/g, 25 vişneli dondurma numunesinde minimum 1.5 log kob/g, maksimum 6.76 log kob/g ve ortalama 4.62 log kob/g olarak belirlenmiştir.

*Enterobacteriaceae* sayısı vanilyalı dondurma numunesinde minimum 1.5 log kob/g, maksimum 6.76 log kob/g, ortalama 2.54 log kob/g; kakaolu dondurma numunesinde minimum 1.5 log kob/g, maksimum 5.46 log kob/g, ortalama 2.52 log kob/g; vişneli dondurma numunesinde minimum 1.5 log kob/g, maksimum 6.78 log kob/g, ortalama 2.27 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Kakaolu dondurma örneklerinde *Enterobacteriaceae* diğer örneklerden daha yüksek bulunsa da Duncan testi sonucunda örnekler arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Analiz edilen 25 vanilyalı dondurma numunesinin % 76'sında, 25 kakaolu dondurma numunesinin % 80'ininde, 25 vişneli dondurma % 80'ininde enterokok izole edilmiştir. Enterokok sayıları; 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum 2 log kob/g, maksimum 5 log kob/g ve ortalama 3.20 log kob/g, 25 kakaolu dondurma numunesinde minimum 2 log kob/g, maksimum 7 log kob/g ve ortalama 3.64 log kob/g, 25 vişneli dondurma numunesinde minimum 2 log kob/g, maksimum 6 log kob/g ve ortalama 3.56 log kob/g olarak bulunmuştur.

Kakaolu dondurma numunesinin bir tanesinde 3.85 log kob/g *S. aureus*'a rastlanmıştır. Vanilyalı ve vişneli dondurma örneklerinde tespit edilmemiştir.

Analiz edilen 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum pH 6.01, maksimum pH 6.81, ortalama pH değeri ise 6.39; 25 kakaolu dondurma numunesinde minimum pH 5.74, maksimum pH 7.36, ortalama pH değeri ise 6.81; 25

vişneli dondurma numunesinde minimum pH 3.47, maksimum pH 6.92 ortalama pH değeri ise 4.80 olarak tespit edilmiştir.

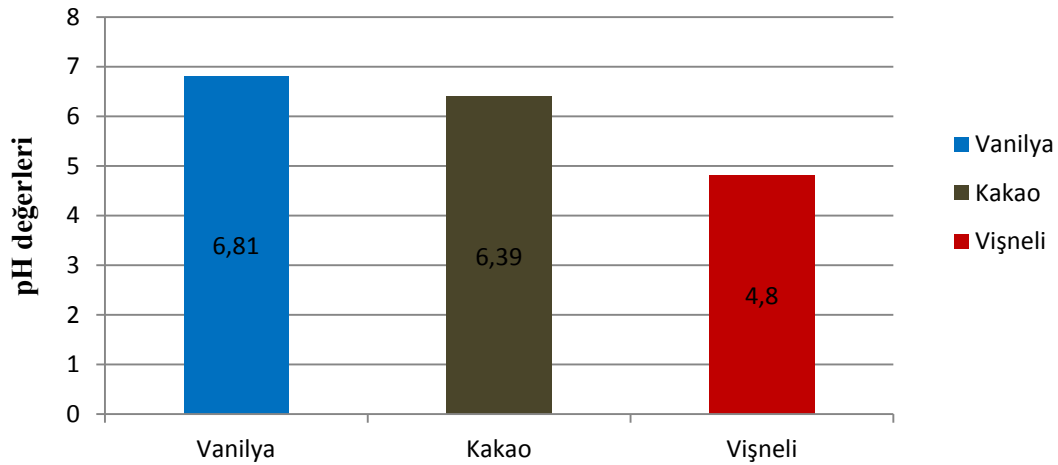
Su aktivitesi sonuçları 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum 0.91 maksimum 0.99, ortalama  $a_w$  sonuçları 0.95; 25 kakaolu dondurma numunesinde minimum 0.87, maksimum 0.99, ortalama  $a_w$  sonuçları 0.95; 25 vişneli dondurma numunesinde minimum 0.90, maksimum 0.99, ortalama  $a_w$  sonuçları 0.95 olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.2.** Dondurma Numunelerinin pH ve  $a_w$  Değerleri ile Standart Hataları (kob/g)

	Vanilyalı			Kakaolu			Vişneli			F değeri
	Min	Max	Ort.±std.h	Min	Max	Ort.±std.h	Min	Max	Ort.±std.h	
pH	6.01	6.81	6.39±0.17b	5.74	7.36	6.81±0.41a	3.47	6.92	4.80±0.94c	77.85
$a_w$	0.9100	0.9900	0.9516±0.21	0.8700	0.9900	0.9480±0.33	0.9000	0.9900	0.9536±0.25	0.31

a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfler arasında istatistiki açıdan önemli fark vardır.

Tablo 4.2. incelendiğinde dondurma çeşitleri arasında pH değerleri bakımından istatistiki fark bulunmuştur ( $pH < 0.01$ ). Ancak çeşitler arasında su aktivitesi değerleri açısından istatistiki fark belirlenememiştir ( $p > 0.05$ ).



**Şekil 4.1.** Dondurma örneklerinin çeşitlerine göre ortalama pH dağılımı

Vanilyalı ve kakaolu dondurma örneklerinin ortalama pH' ları arasında önemli bir fark olmamasına rağmen, vişneli dondurma örneklerinin ortalama pH değeri daha düşük tespit edilmiştir. (Şekil 4.1)

**Tablo 4.3.** Dondurma Numunelerinden Elde Edilen Veriler Arasındaki Korelasyon

	pH	aw	Enterokok	Enterobacteriaceae	Toplam aerobik mezofilik	Psikrofil bakteri
pH	1					
aw	-,179	1				
Enterokok	,027	-,198	1			
Enterobacteriaceae	,121	-,052	,161	1		
Toplam aerobik mezofilik bakteri	,139	-,040	,374**	,450**	1	
Psikrofil bakteri	,069	,263*	-,222	,245*	,293*	1

\*(p<0.05); \*\*(p<0.01).

Yapılan korelasyon analizi sonucunda toplam aerobik mezofilik ile psikrofil bakteri sayısı arasında pozitif (p<0.05), su aktivitesi ile psikrofil bakteri sayısı arasında pozitif (p<0.05), enterokok sayısı ile toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı arasında pozitif (p<0.01), *Enterobacteriaceae* ile toplam aerobik mezofilik bakteri arasında pozitif (p<0.01), *Enterobacteriaceae* ile psikrofil bakteri sayısı arasında pozitif (p<0.05) korelasyon saptandı.

## 5. TARTIŞMA

Türk Gıda kodeksi<sup>1</sup>'nde dondurma karışımı: " İçerisinde tat ve çeşidine göre, süt ve/veya süt ürünlerini, içme suyu, şeker ve izin verilen katkı maddelerini bulunduran, istenildiğinde salep, yumurta ve/veya yumurta ürünleri, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri içeren, henüz dondurulmamış haldeki karışım ürünü olarak tanımlanmıştır". Dondurma ise "dondurma karışımının pastörizasyon sonrası, tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan ürünü ifade etmektedir". Dondurma karışımına çeşni maddesi olarak fındık, fıstık, antep fıstığı, badem, ceviz gibi sert kabuklu meyveler, meyve, meyve suyu, meyve konsantresi, meyve püresi, meyve ezmesi, bal, kahve, kakao, çikolata, vanilya gibi yenilebilir ürünleri ilave edilebilmektedir. Dondurmaya katılan süt ve diğer katkı maddelerinden dolayı mikrobiyal bulaşma olacağı gibi, paketlenme, ortam ve personelden dolayı bulaşma olabilmektedir. Bunun yanında dondurmalar ambalajsız olarak muhafaza edilmesi ve satışa sunulması durumunda mikrobiyal kontaminasyona açıktır. Nitekim Aydın<sup>10</sup>'ın yaptığı çalışmada ambalajlı dondurmaların mikrobiyal kalitesi ambalajsız olarak satılan dondurmalarından daha iyi olduğu belirlenmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü; çağdaş dünyada en yaygın sağlık sorunlarından birinin bulaşmış gıdalardan kaynaklanan hastalıklar olduğunu bildirmekte ve hatta bu sorunların bazen bebek ve yaşlılarda ölümlerle sonuçlandığını açıklamaktadır.<sup>70</sup>

Bu çalışmada Erzurum il merkezinde pastane ve satış noktalarında açıkta satılan 25 vanilyalı, 25 kakaolu, 25 vişneli olmak üzere toplam 75 dondurma numunesinde toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam psikorofil bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Enterokok*, *S. aureus* sayısı ile *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* ve *E. Coli*



O157:H7 varlığı incelenmiş ve mikroorganizmaların gelişimde etkili olan pH ve  $a_w$  değerleri belirlenmiştir.

Buna göre analiz edilen vanilyalı, kakaolu ve vişneli dondurma numunelerinde ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı sırasıyla 4.45 log kob/g, 4.90 log kob/g, ve 4.3 log kob/g olarak belirlenmiştir. Yüksek toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı, genellikle gıdanın düşük kalitede olduğunun veya raf ömrünün azalmış olabileceğinin göstergesi olduğu kabul edilir.<sup>12</sup> Bu çalışmada belirlenen toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının; Baraheem ve ark.<sup>23</sup>, Özcan<sup>4</sup>, Or<sup>18</sup>, Leloglu ve ark.<sup>15</sup> Akarca<sup>3</sup>, Çağlayanlar ve ark.'nın<sup>19</sup> çalışmalarında tespit ettikleri değerlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Fakat elde edilen sonuçlar; Yücel ve ark.<sup>16</sup> ve Aydın'ın<sup>10</sup> elde ettiği ortalama değerlerden daha yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada; vanilyalı, kakaolu ve vişneli dondurma numunelerinde ortalama psikrofil sayısı sırasıyla; 4.89 log kob/g, 5.08 log kob/g, ve 4.62 log kob/g olarak belirlenmiştir. Akarca'nın<sup>3</sup> yaptığı çalışmada belirlenen psikrofil mikroorganizma sayısı, bu çalışmada belirlenen düzeyden daha yüksektir. Psikrofil mikroorganizmalar düşük sıcaklıklarda da faaliyet gösterdikleri için dondurma için de önemli bir hijyen kriteri olarak değerlendirilir.

Ortalama *enterokok* bakteri sayıları; vanilyalı, kakaolu ve vişneli dondurma numunelerinde sırasıyla; 3.20 log kob/g, 3.56 log kob/g, ve 3.56 log kob/g olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar Aydın'ın<sup>10</sup> bulunduğu <2,00–3,58 log kob/g' dan daha yüksek, Kırdar<sup>17</sup>,ın elde ettiği 4.51 log kob/g'dan ise daha düşüktür.

Bu çalışmada ortalama *Enterobacteriaceae* sayısı vanilyalı, kakaolu ve vişneli dondurma numunelerinde sırasıyla; 2.54 log kob/g; 2.52 log kob/g; ve 2.27 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Çınar'ın<sup>20</sup> elde ettiği <5.64 log kob/g sonuçtan daha düşüktür. Dondurma örneklerinde tespit edilen *Enterobacteriaceae* sayısının

yüksek olduğu görülmektedir. Genel olarak gıdalarda yüksek *Enterobacteriaceae* sayısı işletmede uygulanan sanitasyonun yetersiz olduğuna veya gıdanın uygun olmayan koşullarda depolandığına işaret eder.<sup>72</sup> Söz konusu etken gıdaya üretim ve muhafaza sırasında personelden, hammaddeden, alet ekipmandan bulaşabilir.

Yapılan bu çalışmada toplam 75 dondurma numunesinde *E.coli*'ye rastlanmamıştır. Ancak daha önce yapılmış araştırmalarda<sup>16, 23, 33, 34</sup> dondurma örneklerinde değişik oranlarda *E. coli* varlığı ortaya konmuştur. Şöyle ki; Yücel ve ark.<sup>16</sup> tarafından yapılan çalışmada % 43 oranında *E.coli* izole edildiği bildirilmiştir. Benzer şekilde *E.coli* prevalansı Panagiotidou ve ark.<sup>33</sup> tarafından 107 örnekte % 6,4, Aidara-Kane ve ark.<sup>34</sup> 313 dondurma numunesinde % 10.6, Baraheem ve ark.<sup>23</sup> 80 numunede % 42 olarak bildirilmiştir. Gözlemlenen bu farklılığın, dondurma üretim ve muhafaza aşamalarında uygulanan hijyen koşulları, kullanılan hammaddelerin bakteri yükü, işletme çalışanlarının temizlik anlayışından kaynaklanabileceği gibi ayrıca analiz edilen numune sayısı, kullanılan yöntemlerin farklılığında bu duruma sebebiyet verebileceği düşünülmektedir. Ayrıca son yıllarda modern dondurma işletmelerinde pastörizasyonun kullanılmasının ısıya duyarlı etkenlerin inaktive edilmesinde etkili olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada bir adet kakaolu dondurma numunesinin 3.85 log kob/g düzeyinde (% 1.3) *S. aureus*'a rastlanmıştır. *S. aureus* izole edilen numunede toplam aerobik mezofilik bakteri (7.70 log kob/g), enterekok (5.41 log kob/g), psikrofil (6.23 log kob/g) sayılarının ve pH değerinin ortalama (pH 7.03) değerlerden yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Vanilyalı vişneli dondurma örneklerinde *S. aureus* tespit edilememiştir.

Belirlenen bu sonuç, Kruy ve ark.<sup>39</sup>., Yücel ve ark.<sup>16</sup>, Çınar<sup>20</sup>, Omurtag ve ark.<sup>14</sup> Keskin ve ark.<sup>38</sup> Leloğlu ve ark.<sup>15</sup> tarafından elde edilen *S. aureus* düzeyinden düşüktür. Gözlemlenen bu farklılığın dondurma üretim ve muhafaza koşullarının farklılığından

kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada saptanan düşük ve negatif *S. aureus* bulguları; numunelerinde *S. aureus* saptayamadıklarını bildiren literatürlerle<sup>19, 43</sup> uyumluluk göstermektedir. Doğada yaygın olarak bulunabilen söz konusu etken, mastitisli hayvanlardan elde edilen sütlerden, işletme çalışanlarının ağız ve burun boşluklarından, saç ve derilerinden gıdalara bulaşabilmektedir. Öte yandan *S. aureus*'un % 50'sinin toksin üretebilme yeteneği olduğu dikkate alındığında gıdalarda bu etkenin varlığının sebep olabileceği sağlık riskleri dikkate değerdir. Ayrıca *S. aureus*'un ısıya ve kötü yaşam koşullarına dayanıksız olması riski ortadan kaldırmamaktadır. Çünkü *S. aureus* tarafından oluşturulan birçok toksik madde (enterotoksinler, alfa, beta hemolizinler, fibrinozinler, eksfoliatin, lökosidin, koagülaz) ısıya dayanıklıdır. Bu toksinleri içeren gıdaların tüketimi insanlarda intoksikasyon tablolarının ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. Zira bu bakterinin gıdadaki yokluğu stafilokokal besin zehirlenme riskini ortadan kaldırmamaktadır. Bu bakterinin gıdalardaki sayısı  $10^6$  kob/g'in üzerine çıktığında toksin üretme riski oluşmaktadır.<sup>36</sup> Dolayısıyla gıdaların uygun koşullarda muhafaza edilmesi önem arz etmektedir.

Listeriozis özellikle son yıllarda bazı ülkelerde gıdalardan kaynaklanan ve ölümlerle sonuçlanan çok sayıda enfeksiyon vakasına yol açması nedeniyle halk sağlığını yakından ilgilendiren önemli bir sorun haline gelmiştir. *L. monocytogenes* soğukta üreyebilme yeteneğine sahip bir mikroorganizmadır. Bu yüzden soğukta depo edilen besin maddelerinde (örn., sucuk, salam, kıyma, yoğurt, peynir, dondurma) bile canlılığını sürdürebildiği için besin endüstrisi bakımından çok önemli bir problem olabilmektedir.<sup>12</sup> Bu bakterinin soğuk ortamlarda barınabilmesi, dondurmanın diğer besin kaynaklı bakteriyel patojenlere göre kontaminasyon olasılığını artırmaktadır. Birçok ülkede *L. monocytogenes*'in hazır gıdalarda belirlenmesi çocuk ve immunsupresif bireylerin

enfeksiyona duyarlı olması bu etkenin önemini artırmaktadır. Bu nedenle bu bakterinin dondurmalarda bulunmaması resmi otoritelerce öngörülmektedir.<sup>11</sup>

Bu çalışmada *L. monocytogenes* varlığı saptanamamıştır. Bu bulgu dondurma örneklerinde değişik oranlarda söz konusu etkenin izole edildiğini bildiren literatürlerle çelişmektedir. Zira Gönülalan ve ark.'nın<sup>41</sup> açıkta satılan 50 dondurma örneğinde *L. monocytogenes* prevalansını % 16, Baek ve ark.<sup>42</sup> ise Kore'de 122 örnekte % 6 olarak vermişlerdir. Bu farklılığın dondurmaların açıkta satılıyor olmasından, numune sayısının, izolasyon metodunun farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer şekilde Maifreni ve ark.<sup>43</sup> İtalyada, Çağlayanlar ve ark.<sup>19</sup>, Çınar<sup>20</sup> ve Tekin<sup>44</sup> yaptıkları çalışmalarda *L. monocytogenes*'e rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

*Salmonella*'lardan kaynaklanan gıda infeksiyonları çoğu ülkede tüm gıda infeksiyon ve intoksikasyonları içerisinde genellikle ilk sırada ya da ikinci sırada yer almaktadır. *Salmonella*'ların gıda infeksiyonlarında ilk sıralarda yer almasının en önemli nedenlerinden birisi, etkenin çevresel koşullara olan yüksek dirençliliğinden ve gıdalarda uzun süre canlılığını koruyabilmesinden kaynaklanmaktadır.<sup>29(s.60)</sup> Bu çalışmada dondurma numunelerinde *Salmonella* spp. izole edilememiştir. Benzer şekilde Tamminga ve ark.<sup>49</sup> 30 dondurma numunesinde *Salmonella* spp'ye rastlanmadığını bildirmişlerdir. Kruy ve ark.<sup>39</sup> ise 210 numunede çalışmada *Salmonella* spp. varlığını % 1.9 olarak saptamışlardır.

*E.coli* O157H7 varlığının belirlenemediği bu çalışmada analiz edilen 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum pH 6.01, maksimum pH 6.81, ortalama pH değeri ise 6.39; 25 kakaolu dondurma numunesinde minimum pH 5.74, maksimum pH 7.36, ortalama pH değeri ise 6.81; 25 vişneli dondurma numunesinde minimum pH 3.47, maksimum pH 6.92 ortalama pH değeri ise 4.80 olarak tespit edilmiştir.

Mikroorganizmaların gelişimini ve aktivitesini belirleyen önemli faktörlerden biri pH'dır. Bazı mikroorganizmalar pH 4.0' ün altında gelişmekle birlikte büyük bir kısmı en iyi pH 7.0 (6.6-7.5) civarında gelişmektedir. Patojen bakteriler başta olmak üzere bakteriler, pH bakımından küf ve mayalara göre daha seçicidirler.

*L. monocytogenes* pH 4.1, *Salmonella* spp. pH 4.05'de optimum aktiviteye sahiptirler<sup>51(s.140)</sup>. Dondurma çeşitlerinde pH en düşük 3.47, en yüksek 6.81 bulunduğu göre mikroorganizmaların gelişebileceği geniş bir pH aralığı olduğu söylenebilir. Dondurma çeşitlerinin Çoklu Karşılaştırma Testi Duncan kullanılarak yapılan pH karşılaştırmasının sonucunda gruplar arasında fark olduğu ( $p < 0.001$ ) tespit edilmiştir. Bunun en önemli sebebi vişneli dondurmaya ilave edilen vişne ya da vişne aromasının dondurma pH'sını düşürmesidir.

Su aktivitesi sonuçları 25 vanilyalı dondurma numunesinde minimum 0.91 maksimum 0.99, ortalama  $a_w$  sonuçları 0.95; 25 kakaolu dondurma numunesinde minimum 0.87, maksimum 0.99, ortalama  $a_w$  sonuçları 0.95; 25 vişneli dondurma numunesinde minimum 0.90, maksimum 0.99, ortalama  $a_w$  sonuçları 0.95 olarak bulunmuştur.

Bozulma yapan bakteriler için gerekli minimum  $a_w$  0.90, *E. coli* için 0.96, *S. aureus* için 0.86 *L. monocytogenes* için 0.94 olduğu bildirilmiştir. Aerobik mikroorganizmalar oksijen kaynağının bol olduğu koşullarda daha düşük su aktivitesi değerlerinde gelişebilirler.<sup>51(s.141)</sup> Dondurma çeşitlerinin  $a_w$  sonuçları ortalama 0.95 olduğu göz önünde tutulursa, bozulma yapan mikroorganizmaların gelişebileceği bir değer olduğu sonucuna varılabilir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dondurma kalitesi, büyük ölçüde iş yeri ve görevlilerinin hijyeniyle yakından ilgilidir. Zira dondurmanın mikrobiyal kalitesi, içerdiği bakteri sayısı ile ilişkilidir. Dondurmadaki bakteri varlığı karışım bileşenlerinden, dondurma karışımına ve dondurmaya çevreden bulaşan bakterilerden kaynaklanır; sayıları da çoğalma hızları ile büyüme ve çoğalmaları için geçen süreye bağlıdır. Mikroorganizmalar dondurmanın bazı üretim aşamalarında elverişli koşullarda (5-45 °C) çoğalabilir. Bu bağlamda üretim yerlerinde başlıca;

- Karışım bileşenlerinin, karışımın ve üretim aşamalarında da dondurmanın bakterilerle kontaminasyonun önlenmesi ve
- Karışımında bulunan ve/veya sonradan bulaşan bakterilerin gelişmelerinin sınırlandırılması için gerekli bir dizi önlemlerin alınması gerekir.

Üretim sırasında, özellikle karışıma uygulanan ısıtma işleminden sonra, karışım ve dondurmanın steril olmayan ekipmanlar ve personelle temasından kaçınılmalıdır.

Bu çalışmada dondurma örneklerinde *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *E.coli* O157H7 gibi patojen mikroorganizmaya rastlanmaması, sadece tek numunede *S. aureus*'un izole edilmesi dondurmaların patojen bakteriler yönünden potansiyel bir risk taşımayabileceği anlamına gelmektedir. Ancak belirlenen toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Enterokok* düzeyleri dikkate alındığında dondurmanın hijyenik açıdan risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Üretimde kullanılan süt ve dondurma katkı maddelerinin hijyenik kalitesi, pastörizasyon, pastörizasyon sonrası kontaminasyon, soğutma işlemindeki hatalar, alet-ekipman ve personel hijyeninin yetersiz olması dondurmanın mikrobiyolojik kalitesini düşürmektedir. Bu bakımdan bakteriyolojik açıdan iyi kalitede dondurmanın elde

edilmesi, işletmede her aşamada tüm hijyen kurallarının en üst düzeyde uygulanmasına bağlıdır.

Dondurma; üretim-tüketim zincirindeki aşamalarda çeşitli kontaminasyonlara maruz kalabilir. Bu nedenle, dondurma üretimi yapan işyerlerinde gerekli özenin gösterilmesiyle gıda kaynaklı hastalıkların azaltılabilmesi mümkündür. Bu bağlamda alet-ekipman ve personel hijyenine önem verilmeli, işletmede uygun temizlik ve dezenfeksiyon programı hazırlanmalıdır. Personelin bazı uygun olmayan alışkanlıkları (örn., yere tükürme, burun karıştırma) sağlıksız dondurma üretimine yol açabilir. Personel hijyen ve sanitasyon konusunda eğitilmeli, düzenli olarak sağlık kontrolleri yaptırılarak hasta ya da taşıyıcı durumunda olanlar üretim birimlerinde çalıştırılmamalıdır.

Özellikle patojen mikroorganizmaların dondurmaya bulaşmasında süt önemli bir kaynaktır. Bu nedenle dondurmanın ana maddesi olan sütün hijyenik kalitesine, pastörizasyon uygulamasına dikkat edilmelidir. Yapılan çalışmalar<sup>54</sup> dondurmadaki *Salmonella* varlığının dondurma üretiminde kullanılan çiğ yumurtadan kaynaklandığını göstermektedir. Dolayısıyla; üretimde etkin pastörizasyon işlemi oldukça önem arz etmektedir. Etkin bir kontrol sistemi olan HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point- Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları) programı kapsamında üretim zincirinin her aşamasında kritik kontrol noktaları belirlenmeli, bu noktalarda mikrobiyal bulaşmayı önleyici tedbirler alınmalıdır.

Dondurmanın depolanması, taşınması ve satış noktalarında soğuk zincire dikkat edilmesi gerekmektedir. Dondurma tüketiminin çocuklarda daha yaygın olması ve söz konusu gıdanın tüketime hazır bir besin maddesi olmasından dolayı yasal otoritelerin etkin kontrol uygulamalarını yerine getirmesi halka sağlığının korunması açısından önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Dondurma Tebliği. T.C. Resmi Gazete, sayı: 25699, 13 Mayıs 2005.
2. Tekinşen C, Tekinşen KK. *Dondurma*, 1. Baskı. Konya, Selçuk Üniversitesi Basımevi, 2008.
3. Akarca G. Afyonkarahisar İlinde Satılan Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerinde Çalışmalar. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Afyon: Kocatepe Üniversitesi, 2006.
4. Özcan T. Bursa İli Merkezinde Açıkta Satılan Meyveli Dondurmaların Kimyasal ve Mikrobiyolojik Nitelikleri Üzerine Araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Bursa: Uludağ Üniversitesi, 1994.
5. Karagözlü C, Yerlikaya O. En çok sevilen süt ürünü: dondurma. <http://akademikgida.com/?syf=p11&id=103>. 03 Ocak 2015.
6. Sağdıç O, Tülüoğlu DD, Özçelik S, Şimşek B. Isparta piyasasında tüketime sunulan dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2002, 33:441-446.
7. İstanbul Ticaret Odası. Dondurma Sektörü. <http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-29.pdf>. 20 Haziran 2013.
8. Ulaştırın T. Türkiyede dondurma sektörünün rekabet analizi. <http://www.pazarlamaturkiye.com/turkiyede-dondurma-sektorunun-rekabet-analizi/>. 19 Haziran 2014.
9. Ağaoğlu S, Alemdar S. Van'da tüketime sunulan dondurmalarda bazı patojen varlığının araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2004, 15: 59-64.



10. Aydın N. Erzurum İlinde Satılan Ambalajlı ve Ambalajsız Dondurmaların Bazı Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2010.
11. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete, sayı: 28157, 29 Aralık 2011.
12. Atasever M. Kıymalarda Bazı Patojenlerin İzolasyon ve İdentifikasyon. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı. Doktora tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2011.
13. Gürsoy A. Mikroorganizmaların beslenmesi ve gelişimi. [http://www.agri.ankara.edu.tr/sut/1334\\_mikroorganizma\\_beslenme.pdf](http://www.agri.ankara.edu.tr/sut/1334_mikroorganizma_beslenme.pdf). 03 Şubat 2015.
14. Omurtag C, Ceran G, Akın A. Denizli ilinde satılan kaymaklı dondurmaların hijyenik kaliteleri üzerinde araştırmalar. *Türk Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 1977, 47: 40-47.
15. Leloglu N, Kaya O, Arıkan S. Aydın'da üretilen dondurmaların hijyenik kalitesinin incelenmesi. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1998, 23: 121-128.
16. Yücel N, Çıtak S. Dondurma örneklerinde bazı mikroorganizmaların varlığı üzerine bir araştırma. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2000, 57:165-170.
17. Kırdar, S. Burdur ilinde satılan dondurmaların bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. *Gıda Dergisi*, 2003, 28: 175 -181.
18. Or F. Kahramanmaraşta Üretilen Maraş Usulü Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisan Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2009.

19. Çağlayanlar GE, Kunduhoğlu B, Çoksöyler N. Comparison of the microbiological quality of packed and unpacked ice creams sold in Bursa, Turkey. *Journal of Arts and Sciences*, 2009, 12: 93-102.
20. Çınar E. Tekirdağ İlinde Satışa Sunulan Sade ve Çilekli Dondurmaların Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2010.
21. Rodriguez Alvarez C, Hardisson A , Alvarez R, Arias A, Sierra A. Hygienic-sanitary indicators for ice cream sold at the retail sale. *Acta Alimentaria Journal*, 1995, 24: 69- 80.
22. Warke R, Kamat A, Kamat, M, Thomas P. Indicence of pathogenic psychrotrophs in ice cream sold in some retail outlets in mumbai. *Food Control*, 2000, 11: 77- 83.
23. Baraheem OH, El-Shamy AH, Bakr NM. Bacteriological quality of some dairy products (kariesh cheese and ice cream) in Alexandria. *Egypt Public Health Assoc Journal*, 2007, 82:5-8.
24. Erkmén O. *Gıda Mikrobiyolojisi*, 2. Baskı. Ankara, Efil Yayınevi, 2010.
25. Karamanlı N, Çıtak S. Farklı sıcaklık ortamında bekletilen kıyma örneklerinde gram negatif psikrofil mikroorganizmaların dağılımı ve proteolitik aktiviteleri. *Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 2010, 30:241-251.
26. Üzümcü Z. Pseudomonas sp. Suşlarında Cold Shock Protein İzolasyonu ve SDS-PAGE Analizi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2009.
27. Karapınar M, Aktuğ Gönül S. *Gıda Kaynaklı Mikrobiyel Hastalıklar*. 1. Baskı. İzmir, Tan Basımevi, 1998: 605.

28. Tunail N. *Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, 2. Baskı. Ankara, Sim Matbaası, 2000.
29. Erol İ. *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*, 3. Baskı. Ankara, Pozitif Matbaacılık, 2007.
30. Güven K. Genel Mikrobiyoloji, 3. Baskı. Eskişehir, Anadolu Üniversitesi Yayınları, 2011.
31. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae>. 30 Ocak 2015.
32. Karagözlü N. *Gıda Kaynaklı Toksikoenfeksiyonlar*, 3.Baskı. Ankara, Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık, 2010: 552
33. Panagiotidou MV, Kritsepi KM. Bacteriological quality of the ice cream consumed in serres and kilis. *Ministry of Agriculture, Serres (Greece) Veterinary Laboratory Journal*, 1984, 36: 10-17.
34. Aidara-Kane A, Ranaivo A, Spiegel A, Catteau MJ. Microbiological quality of street-vendor ice cream in Dakar. *Dakar Medical*, 2000, 45: 20-4.
35. Noveir MRA, Halkman KA. Study on selective broths and agar media for the isolation of Escherichia coli O157:H7 serotype. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, 2000, 24: 459-464.
36. Ös FB, Karaboz İ. İzmir'de Piyasada açıkta satışa sunulan bazı gıdaların Staphylococcus aureus ve enterotoksinleri bakımından incelenmesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2005, 3: 6-9.
37. Zhang S, Iandolo JJ, Stewart GC. The enterotoxin d plasmid of Staphylococcus aureus encodes a second enterotoxin determinant (sej). *Fems Microbiology Letters*, 1998, 168: 227-233.
38. Keskin Y, Başkaya R, Özyaral O, Kıyan P. Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 2007, 1: 51-58.

39. Kruey SL , Soares JL, Ping S, Sainte-Marie EF, Microbiological quality of food sold as "ice/ice cream/sorbet" on the streets of Phnom Penh. *Bulletin De La Societe De Pathologie Exotique* , 2001, 94: 411-414.
40. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig F, Bresee JS, Shapiro C, Griffin P, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 2009, 5: 607-625.
41. Gönülalan S, Gönülalan Z. Kayseri ilinde satışa sunulan dondurmaların *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden incelenmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*, 2010, 19: 191-195.
42. Baek SY, Lim SY, Lee DH, Min KH, Kim CM. Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* from domestic and imported foods in Korea. *Journal of Food Protection*, 2000, 63: 186-189.
43. Maifreni MF ,Civilin M Domenis C, Manzano M, Di Prima R, and Comi, G. Microbiological quality of artisanal ice cream. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 1993, 194: 553-570.
44. Tekin A. Dondurmalardan *Listeria spp.*' lerin İzolasyonu ve Tanımlanması Üzerine Bir Araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2010.
45. Halkman AK, Doğan HB, Noveir MR. *Gıda Maddelerinde Salmonella ile E. coli Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması*, 5. Baskı. Ankara, Armoni Matbaacılık, 1994: 93
46. Akkaya L, Alişarlı M. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella spp.* varlığının belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2006, 17: 87-91.

47. Dodhia H KJ, Warburton F. A Birthday party, home-made ice cream and an outbreak of salmonella enteritidis phage type 6 infection. *Commun Dis Public Health*, 1998, 1: 31-4.
48. Hennessy TW, Hedberg CW, Slutsker L, White KE, Besser-Wiek JM, Moen ME, Feldman J, Coleman WW, Edmonson LM, MacDonald KL, Osterholm MT. A National outbreak of salmonella enteritidis infections from ice cream. *The New England Journal of Medicine*, 1996, 334: 1281-1286.
49. Tamminga SK, Beumer RR, Kampelmacher EH. bacteriological examination of ice-cream in the Netherlands: comparative studies on methods. *Journal of Applied Bacteriology*, 1980, 49: 239-253.
50. Akkus F. Hazır Sığır Kıymalarında Verotoksin Olusturan *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. Ank. Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 1996.
51. Çakır İ. *Escherichia coli* O157:H7. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, 2. Baskı. Ankara, Sim Matbaası, 2000.
52. Akkaya L, Alişarlı M, Kara R, Telli R. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan çiğ süt ve peynirlerde E. coli O157:H7 varlığının belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2007, 18: 1-5.
53. Dominguez C, Gomez I, Zumalacarregui J. Prevalence of salmonella and campylobacter in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, 72: 165-168.
54. Yaman H, Elmalı M, Ulukanlı Z, Tuzcu M, Genctav K. Microbial quality of ice cream sold openly by retail outlets in Turkey. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2006, 157: 457-462.

55. Rahimi E, Chaleshtori SS, Parsaei P. Prevalence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from traditional cheese, ice cream and yoghurt in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 2011, 5:3706-3710.
56. <http://www.outbreakdatabase.com/about>. 02 Eylül 2015.
57. Schrijver K, Buvens G, Possé B, Van den Branden D, Osterlynck O , Zutter L, Eilers K, Piérard D, Dierick K, Van Damme-Lombaerts R, Lauwers C, Jacobs R. Out break of verocytotoxin-producing *E. coli* O 145 and O 26 infections associated with the consumption of ice cream produced at a farm. *Eurosurveillance*, 2008, 13: 1-3.
58. Pala M, Saygı B. Su aktivitesi ve gıda işletmelerindeki önemi. *Gıda Dergisi*, 1983, 1: 33-40.
59. Özay G, Pala M, Saygı B. Bazı gıdaların su aktivitesi yönünden incelenmesi. *Gıda dergisi*, 1993, 18: 377-383.
60. Güven S. *Laboratuvar Tekniği*, 1. Baskı. Yalova, TAV Yayınları, 1999: 21.
61. Saltan Evrensel S, Güneş E. Bursada tüketilen dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. *Gıda dergisi*, 1998, 23: 261-265.
62. Andıç S. Van İlinde Üretilen Dondurmaların Duyusal Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 1992.
63. Halkman K. Merck Mikrobiyoloji El Kitabı, 1. Baskı. Ankara, Başak Matbaacılık, 2005.
64. [http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0469](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0469). 16 Eylül 2013.

65. ISO 6579:2002. The International Organization for Standardization Microbiology of Food And Animal Feeding Stuffs . Horizontal Method For The Detection of Salmonella spp.
66. ISO 16140:2003. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Protocol for the Validation of Alternative Methods.
67. <http://www.oxid.com/UK/blue/lp/Salmonella-Rapid-Culture-Method.asp>. 16 Eylül 2013.
68. ISO 16654:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Escherichia coli O157.
69. <http://www.aoac.org/testkits/testedmethods.html> (Remel Wellcolex E. coli O157:H7 Kit >). 16 Eylül 2013.
70. FAO/WHO. The role of food safety in health and development. Report of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Safety. World Health Organ Tech Rep Ser 1984: 705.
71. Vitek 2 Product Information bioMérieux. Durham, North Carolina 27704-0969/ USA.<http://www.biomerieux.com>. 18 Ekim 2013.
72. Ünlütürk A, Turantaş F. *Gıda Mikrobiyolojisi*, 3. Baskı. İzmir, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 2003: 22-250.

## EKLER

### EK-I. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı Soyadı :</b> Selma ÇUBUKÇI</p> <p><b>Doğum Tarihi :</b> 07.10.1984</p> <p><b>Doğum yeri :</b> Bolu</p> <p><b>Medeni hali :</b> Evli</p> <p><b>Uyruğu :</b> T.C.</p> <p><b>Adres :</b> Ömer Nasuhi Bilmen Mah. Poyraz Sitesi A blok. Erzurum</p> <p><b>Telefon :</b> 05418978807</p> <p><b>E-mail :</b> selma.cubukci@gmail.com</p>
Eğitim
<p><b>Lise :</b> Bolu Zübeyde Hanım Kız Meslek Lisesi (2001)</p> <p><b>Lisans :</b> Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (2001-2005)</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>Gıda Mühendisleri Odası</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>Tarih, spor.</p>