İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SICAK GIDALARDA SOĞUTMA HIZININ MİKROBİYOLOJİK GELİŞİM ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cihan Kaan COŞKUN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

MAYIS 2019

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SICAK GIDALARDA SOĞUTMA HIZININ MİKROBİYOLOJİK GELİŞİM ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cihan Kaan COŞKUN
(506161528)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK

MAYIS 2019

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506161528 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Cihan Kaan COŞKUN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "SICAK GIDALARDA SOĞUTMA HIZININ MİKROBİYOLOJİK GELİŞİM ÜZERİNE ETKİSİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :	**Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
Jüri Üyeleri :	**Doç. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
	Dr. Öğr. Üyesi Esra DOĞU BAYKUT İstanbul Medeniyet Üniversitesi	.....

Teslim Tarihi : Mayıs 2019
Savunma Tarihi : Haziran 2019

Aileme,

ÖNSÖZ

"Sıcak Gıdalarda Soğutma Hızının Mikrobiyolojik Gelişim ve Gıda Kalitesi Üzerine Etkisi" adlı tez çalışmam boyunca değerli görüşlerini benimle paylaşan ve beni yönlendiren Sn. Dr. Aylin MET ÖZYURT'a ve tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK'a yürekten teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımı yapmamı finansal, alt yapısal ve zamansal olarak destekleyen ARÇELİK A.Ş. ailesine teşekkürlerimi sunarım. Hem fikirleri hem de farklı konulardaki destekleri ile bana çok şey katan ve her zaman yanımda olan Sn. Gönül ÇAVUŞOĞLU KAPLAN'a, Sn. Esen AK'a, Sn. Elif OLFAZ HEZER'e, Sn. Deryanur KALKAVAN'a ve Sn. Sibel HIZ'a teşekkür ederim. Birlikte çalıştığımız süre boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Sn. Buse BOZ ve Sn. Tuğçe USTA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Mikrobiyolojik analizlerim boyunca bana çok yardımları dokunan Abdullah SERT, Yasemin ÖZKAN ve Emine Füsun KÖSE'ye teşekkür ederim.

Her an yanımda olan ve beni destekleyen aileme sevgilerimi sunarım.

Mayıs 2019 Cihan Kaan COŞKUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **ix**
KISALTMALAR ..... **xi**
SEMBOLLER ..... **xiii**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xv**
ÖZET ..... **xix**
SUMMARY ..... **xxi**
1.GİRİŞ **1**
2.LİTERATÜR ARAŞTIRMASI **5**
2.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar ve Nedenleri 5
2.2. *C. perfringens* 8
2.3. *C. perfringens* Toksisitesi 10
2.4. *C. perfringens* Enterotoksini ve Gıda Zehirlenmesi 13
2.5. Gıdalarda Soğutma Hızının *C. perfringens* Gelişimine Etkisi 17
2.6. Sıcak Gıdaların Hızlı Soğutulmasına Dair Yapılan Çalışmalar 18
3.MATERYAL-METOT **25**
3.1. Materyal 25
3.1.1. Yemeklerin hazırlanması için kullanılan materyaller 25
3.1.2. Yemeklerin soğutulması için kullanılan ekipmanlar 25
3.1.3. Mikrobiyolojik analizler için kullanılan materyaller 26
3.2. Metot 26
3.2.1. Etli kuru fasulye yemeğinin hazırlanışı 26
3.2.2. Kıymalı bezelye yemeğinin hazırlanışı 27
3.2.3. Tavuklu patates yemeğinin hazırlanışı 27
3.2.4. Yemeklerin soğutulması ve numune alımı 27
3.2.5. *C. perfringens* sayısının belirlenmesi 29
3.2.6. İstatistiksel Analiz 30
4.BULGULAR VE TARTIŞMA **31**
4.1. Sıcaklık Ölçüm Sonuçları 31
4.2. *C. perfringens* Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları 33
4.2.1. Etli kuru fasulye *C. perfringens* mikrobiyolojik analiz sonuçları 33
4.2.2. Kıymalı bezelye *C. perfringens* mikrobiyolojik analiz sonuçları 38
4.2.3. Tavuklu patates *C. perfringens* mikrobiyolojik analiz sonuçları 43
4.2.4. Bulguların literatür ile karşılaştırılarak tartışılması 48
5.SONUÇ **51**
KAYNAKLAR **55**
ÖZGEÇMİŞ **59**

KISALTMALAR

CPE **:** *C. perfringens* Enterotoksini
FDA **:** Food and Drug Administration
FSIS **:** Food Safety and Inspection Service
FTG **:** Fluid Thioglycolate
GI **:** Gastrointestinal
HACCP **:** Hazard Analysis Critical Control Point
TGK **:** Türk Gıda Kodeksi
TSC **:** Tryptose Sulfite Cyclocerine
USDA **:** United States Department of Agriculture

SEMBOLLER

g **:** gram

ml **:** mililitre

kob **:** koloni oluşuran birim

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Gıda kaynaklı enfeksiyona/intoksikasyona neden olabilen başlıca mikroorganizmalar ve özellikleri. 6
Çizelge 2.2 : Çiğ gıdalarda ve hayvan yemlerinde *C. perfringens* bulunma oranları. 9
Çizelge 2.3: Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği tüketime hazır ve tüketime hazır olmayan gıdalarda *C. perfringens* bulunma limitleri. 11
Çizelge 2.4 : Farklı ülkelerde farklı insan gruplarıyla yapılan bir çalışmada insan dışkı örneklerinden izole edilmiş *C. perfringens* vejetatif hücre ve spor sayımları. 12
Çizelge 2.5 : *C. perfringens*'in farklı suşlarının ürettiği toksinler ve insan ve hayvanlarda yarattığı etkiler. 13
Çizelge 2.6 : Kromozomal *cpe* izolatları ile plazmid *cpe* izolatlarının yüksek ve düşük sıcaklıklara, nitrite ve ozmotik basınca göre kıyaslanması, vejetatif ve spor hücrelerinin D değerleri. 15
Çizelge 2.7: Farklı ülkelerde perakende zincirlerine yönelik sıcak gıdaların soğutulmasına dair düzenlemeler. 18
Çizelge 2.8 : Bezelye çorbalarının 50°C'den 15°C'ye farklı soğutma hızları ile soğutulması sırasında hücre miktarlarındaki artış. 20
Çizelge 2.9 : *C. perfringens* 790-94 ve 44071.C05 suşlarının sabit sıcaklıklarda çoğalma süreleri. 21
Çizelge 2.10 : Farklı *C. perfringens* suşlarının farklı besin ortamlarında farklı sıcaklık ve soğutma uygulamalarıyla davranışı. 22
Çizelge 4.1 : Farklı ortamlarda soğutulan gıdaların belirlenen sıcaklıklara soğuma süreleri ve hızları 32
Çizelge 4.2 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 34
Çizelge 4.3 : Etli kuru fasulye yemeğinin tekrar ısıtıldıktan sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 34
Çizelge 4.4 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirme sonrasından tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları ve Tukey testi karşılaştırmaları 35
Çizelge 4.5 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 39
Çizelge 4.6 : Kıymalı bezelye yemeğinin tekrar ısıtıldıktan sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 39
Çizelge 4.7 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirme sonrasından tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları ve Tukey testi karşılaştırmaları 40
Çizelge 4.8 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* miktarları 43

Çizelge 4.9 : Tavuklu patates yemeğinin tekrar ısıtıldıktan sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* miktarları 44
Çizelge 4.10 : Tavuklu patates yemeğinin pişirme sonrasından tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları ve Tukey testi karşılaştırmaları 45

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Mikroorganizmaların yaşam döngüsü süresince geçirdikleri çoğalma fazları 8
Şekil 2.2 : *C. perfringens*'in sporulasyon döngüsü 10
Şekil 3.1 : Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan yemeğin deney tasarımı 28
Şekil 3.2 : Orijinal buzdolabında soğutulan yemeğin deney tasarımı 29
Şekil 3.3 : Ortam sıcaklığında soğutulan yemeğin deney tasarımı 29
Şekil 4.1 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 36
Şekil 4.2 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayılarının değişimi 37
Şekil 4.3 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayısının yüzde değişimi 38
Şekil 4.4 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 41
Şekil 4.5 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayılarının değişimi 42
Şekil 4.6 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayısının yüzde değişimi 42
Şekil 4.7 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları 46
Şekil 4.8 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayılarının değişimi 47
Şekil 4.9 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayısının yüzde değişimi 47

SICAK GIDALARDA SOĞUTMA HIZININ MİKROBİYOLOJİK GELİŞİM ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

C. perfringens çok sayıda toksin üretebilen, ısıya karşı dayanıklı spor oluşturabilen ve çok hızlı şekilde çoğalabilen patojen bir mikroorganizmadır. *C. perfringens*, çevrede geniş alanlara yayılmış olup, insan ve evcil hayvanların bağırsaklarında düşük miktarlarda ortaya çıkmaktadır. Vejetatif hücreler ve özellikle organizmanın sporları toprakta ve insan veya hayvan dışkı kirliliğine maruz kalan alanlarda yaşamını sürdürür. Herhangi bir çiğ gıda, özellikle kırmızı etler, kümes hayvanları ve deniz ürünleri, bu bakterinin vejetatif hücreleri veya sporlarını içerebilir. *C. perfringens*'in sporları, ısıya dirençleri bakımından diğer mikroorganizmalara göre büyük ölçüde farklılık gösterir. *C.perfringens*'in ısıya dayanıklı sporlarının 100°C'de 1 saat süreyle yaşayabildiği gösterilmiştir. *C. perfringens*, 7-10 dakikada sayısını ikiye katlayabilme özelliği ile diğer spor oluşturabilen patojen mikroorganizmalar arasında indikator mikroorganizma görevi görmektedir. *C. perfrigens*'in hem ısıya dayanıklı olması, hem çoğalabilme hızının çok yüksek olması, hem de çoğalabilme sıcaklık aralığının 15-60°C olması sebebiyle pişirildikten sonra soğutulan gıdalarda kendini çokça gösterebilmektedir. *C. perfringens*'in çoğalması sırasında üretmiş olduğu enterotoksin sebebiyle gıda zehirlenmesi yaşanabilmektedir. Ayrıca, içerisinde 5 $\log_{10}$ kob/g ya da daha fazla *C. perfringens* hücresi bulunan gıdalar tüketildiğinde de insan vücudunda zehirlenme belirtileri görülmektedir. ABD verilerine göre *C. perfringens*'ten meydana gelen hastalanma rakamları yılda 1 milyona ulaşmaktadır ve yaklaşık 30 kişinin ölümüne sebep olmaktadır. Bu sebeplerle, bazı ülkelerin gıdaların soğutulma sürelerine ilişkin lojistik, hazır yemek sektörü ya da üretim alanlarında uygulanmak üzere bazı düzenlemeleri bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında, pişmiş yemeklerde soğutma hızının farklı yemek türlerinde *C. perfringens* gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Pişirilen yemekler ile tasarlanan mikrobiyolojik analizler, yemeklerin, *C. perfringens*'in çoğalma sıcaklığı olan 15-60°C aralığını geçiş hızları göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda yemeklerin soğutulacağı 3 farklı soğutma ortamı üzerinde çalışılmıştır. Bu ortamlar 25°C'lik ortam sıcaklığı, 4°C'ye ayarlanmış orijinal buzdolabı ve yemeğin soğutulduğu bölmede bulunan fan kanalı sayesinde 5 L/s'lik hava üfleme debisi ile hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabıdır. Soğutma hızının mikrobiyolojik gelişimi üzerine çalışılması için belirlenen, *C. perfringens*'in çoğalması için uygun ortam sağlayan 3 farklı yemek türü, analizler için seçilmiştir. Bu yemekler kıymalı bezelye, etli kuru fasulye ve tavuklu patatestir. Günlük yaşamda bir problem olarak insanların karşısına çıkan, zehirlenmelere sebebiyet verebilecek bir durum olan soğutulmuş yemeklerin tekrar ısıtılıp tüketilmesi de göz önünde bulundurularak, soğutma hızları farklılıkları ile birlikte tekrar ısıtma senaryolarının sonuçları da ortaya konmaya çalışılmıştır. Etli kuru fasulye, kıymalı bezelye ve tavuklu patates yemekleri pişirildikten sonra 60°C'ye soğutulup numune alınmış, daha sonra ortam sıcaklığı, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutma özelliği

bulunan buzdolabı olmak üzere 3 farklı ortamda soğumaya bırakılmıştır. Ortam sıcaklığına bırakılan yemekler 25°C'ye ulaştıktan sonra buzdolabına konularak 15°C'ye soğutulmuş ve numune alınmış, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabında soğutulan yemekler de 15°C'ye soğuduklarında numune alınarak *C. perfringens* miktarlarına bakılmak üzere mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ortam sıcaklığında 60°C'den 25°C'ye ve daha sonra orijinal buzdolabında 25°C'den 15°C'ye soğutulan yemeklerin 15°C'ye soğumaları toplam 7,2 saat sürmüştür. Orijinal buzdolabında soğutulan yemekler 60°C'den 15°C'ye 5,8 saatte; hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabında soğutulmuş yemekler ise 2,9 saatte soğumuşlardır. 15°C sıcaklığa ulaşan yemekler daha sonra buzdolabında bırakılıp 4°C'ye soğutulmuş, 12 saat sonra dolaptan çıkarılıp 60°C'ye tekrar ısıtıldıktan sonra numune alınarak yine aynı şekilde farklı ortamlarda soğumaya bırakılmış ve 15°C'de numune alınmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, ortam sıcaklığında 7,2 saatte soğutulmuş yemeklerde; orijinal buzdolabında 5,8 saatte soğutulan ve hızlı dondurma özelliği bulunan buzdolabında 2,9 saatte soğutulan yemeklere göre daha fazla *C. perfringens* artışı gözlenmiştir. Bu artış, yemek çeşidine göre değişiklik göstermekle birlikte, bazı durumlarda tekrar ısıtılma sonucunda USDA-FSIS'in belirlemiş olduğu 1 $\log_{10}$ kob/g sınırını da geçmekte ve insan sağlığını tehdit edecek boyuta ulaşmaktadır. Yemeklerde *C. perfringens* artışının çoğunlukla tekrar ısıtma sonucunda gerçekleştiği görülmekle birlikte, ilk soğutma ve tekrar soğutma sırasında belirgin bir artış gözlenmemiştir. Yemeklerin soğutulmaları ve tekrar ısıtılmaları sırasındaki artış miktarları, yemeklerde bulunan ilk *C. perfringens* miktarları ile ilişkili olabilmekle birlikte, mikroorganizmanın yaşamsal dönemlerinde hangi faz döneminde bulundukları ile de ilgili olmaktadır.

EFFECT OF COOLING RATE ON MICROBIOLOGICAL DEVELOPMENT IN HOT FOODS

SUMMARY

With the increasing population of the world and the necessity of nutrition of more people, increasing the efficiency in food production and distribution, thus preventing food losses is a great responsibility. Although the annual milk production in India is over 140 million tons and the meat production reach 220 million tons, per capita consumption is not satisfactory in terms of nutrition due to food losses in the distribution and consumption process. In the United States, food losses during retail sales, distribution and consumption accounted for approximately 23% for fruits; 24% for vegetables; 15% for meat, poultry and fish products and 30% for dairy products. Such losses are not limited to India and the United States of America, but significant losses of food occur worldwide. Therefore, it is essential to increase the yield of food and reduce food losses in order to meet the growing nutritional requirements of a growing world population. Reducing food losses, preserving food for longer periods, preserving nutritional properties, and public health are essential for safe handling, proper processing and preservation of food. Ensuring public health is one of the most important problems of these issues. Foodborne diseases are one of the most important problems threatening public health. Therefore, there is a need for projects that both prevent food waste and ensure public health.

There are many factors that can cause foodborne disease outbreaks in homes. These include the intake of contaminated raw foods, food processing and home food preparation errors, and the consumption of raw and undercooked food of animal origin, often described as 'risky eating behavior'. All raw foods, including meat and poultry, raw eggs, fish and shellfish, and fruits and vegetables, should be considered as potential sources of entry for foodborne pathogens. The main infectious agents coming home via food include *C. botulinum, C. perfringens, Bacillus cereus, S. aureus, E. coli, Salmonella, Shigella, Klebsiella* and *Vibrio parahaemolyticus*. Each of these microorganisms may have different characteristics, but there are species that share the same common characteristics.

The three most common errors in the processing and preparation of food that can allow these microorganisms to contaminate foods were identified as improper storage of food (insufficient and/or slow cooling, cooking at insufficient temperatures and/or insufficient reheating temperature), any process that could cause cross contamination, and the use of contaminated kitchen equipment.

C. perfringens is a pathogenic microorganism capable of producing many toxins, which can form heat-resistant spores and can multiply very rapidly. *C. perfringens* spread over large areas in the environment and occur in small amounts in the intestines of humans and animals. Vegetative cells and spores live in the soil and in areas exposed to human or animal fecal contamination. Any raw food, especially red meats, poultry and seafood, may contain vegetative cells or spores of this bacteria.

The spores of *C. perfringens* differ greatly with their heat resistance feature from other microorganisms. It has been shown that the heat-resistant spores of *C. perfringens* can survive at 100°C for 1 hour. *C. perfringens* can be doubled in 7-10 minutes by differentiating it from other microorganisms. *C. perfrigens* have both heat resistance and high speed of reproduction, and because they are capable of reproducing temperatures of 15-60°C, they can survive in a wide variety of foods after being cooked, while cooling. In humans, food poisoning may occur due to the enterotoxins produced by *C. perfringens*, if they consume the foods that have increased the number of *C. perfringens* more than1 $\log_{10}$ cfu/g after the moment they were cooked. There are also signs of poisoning in the human body when foods containing 5 $\log_{10}$ cfu/g or more *C. perfringens* cells are being consumed. According to US data, the number of sicknesses from *C. perfringens* reaches 1 million per year and causes death of approximately 30 people. For these reasons, some countries have some arrangements for the implementation of logistics, catering or production areas related to the cooling times of foods.

In this thesis, the effect of cooling rate in cooked meals on growth of *C. perfringens* in different food types was investigated. The microbiological analyzes with the cooked dishes were carried out considering the cooling rates of the meals on the growth temperature of *C. perfringens*, which is 15-60°C. For this purpose, 3 different cooling environments were studied. These environments are the refrigerator with fast cooling capacity with 5 L/h airflow rate occupied with a fan channel in the compartment where the food is cooled; the room temperature at 25°C and the regular refrigerator set at 4°C. Three different types of food, selected for the study of microbiological development of the cooling rate, which provide a suitable medium for the growth of *C. perfringens*, were selected for analysis. These dishes include peas with minced meat, beans with chopped meat and potatoes with chicken. As a problem in daily life, it has been tried to reveal the results of the reheating scenarios together with the differences in cooling rates, considering the reheating and consumption of these meals, which is a condition that can cause poisoning. After cooking, the peas with minced meat, beans with chopped meat and potatoes with chicken meals were cooled to 60°C, and then sampled, then allowed to cool down in 3 different environments: the room temperature, the regular refrigerator and the refrigerator with fast cooling. The dishes left to the room temperature reached to 25°C, and then refrigerated, cooled to 15°C and sampled; the meals which cooled by original refrigerator and refrigerator with fast cooling were cooled to 15°C directly and sampled. Foods which were cooled from 60°C to 25°C at room temperature and then from 25°C to 15°C in the regular refrigerator took a total of 7.2 hours to cool down. Foods which were cooled from 60°C to 15°C in regular refrigerator had 5.8 hours of cooling; foods which were cooled with fast cooling feature have been cooled in 2.9 hours. The dishes that were cooled to 15°C were then left in the refrigerators and cooled to 4°C. After 12 hours they were removed from the refrigerators and heated to 60°C. According to the results of the microbiological analysis, more *C. perfringens* increase was observed in the meals that were cooled at room temperature in 7.2 hours compared to the meals which were cooled in 5.8 hours in the regular refrigerator and the meals which were cooled in 2.9 hours in the refrigerator with fast cooling. This increase varies from meal to meal, but in some cases, it exceeds the 1 $\log_{10}$ cfu/g limit determined by the USDA-FSIS as a result of reheating and reaches the dimension that threatens human health. Although the increase in *C. perfringens* was observed as a result of reheating, no significant increase was observed during initial cooling and re-cooling. The amounts of increase

in the amount of *C. perfringens* in meals during the cooling and reheating are also related to the amount of *C. perfringens* at the beginning. It is also related to the growth phase of the microorganism during the period of life.

When the amount of *C. perfringens* stated in the first cooling for beans with chopped meat dish is examined, it is seen that no cooling medium has increased by 1 $\log_{10}$ cfu/g. When the amount of *C. perfringens* in beans with chopped meat dish was reheated and cooled; during reheat, the increase in the amount of *C. perfringens* in meal cooled at ambient temperature was 1.94 $\log_{10}$ cfu/g. This increase did not comply with the compliance rules set by the USDA-FSIS and increased by more than 1 $\log_{10}$ cfu/g. In these conditions, beans with chopped meat can cause illness when they are cooled and reheated at ambient temperature. In microbiological analysis results of peas with minced meat meal, the maximum increase in *C. perfringens* amounts in the first cooling, reheating and second cooling processes was observed in slow-cooled peas with minced meat meal at room temperature; however, this increase did not exceed the 1 $\log_{10}$ cfu/g increase limit set by the USDA-FSIS. Considering the changes in the amount of *C. perfringens* during cooling, reheating and re-cooling of potatoes with chicken dish with different cooling rates, again, the highest increase was observed in the chicken potato cooled at room temperature. It is seen that the maximum increase is higher during the second cooling compared to the first cooking time; however, this increase was 0.87 $\log_{10}$ cfu/g and did not exceed 1 $\log_{10}$ cfu/g increase limit determined by USDA-FSIS.

Thanks to the refrigerator which can provide fast cooling, both freshly cooked hot foods can be put in the refrigerator and cooled rapidly and limit the microbiological growth; as well as keeping the internal temperature of the refrigerator constant, preventing other foods from being exposed to high temperatures as much as possible.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun giderek artması ve daha fazla insanın beslenme ihtiyacının ortaya çıkması ile gıda üretiminde ve dağıtımında verimi artırarak gıda kayıplarına engel olmak, büyük bir sorumluluğu ortaya çıkarmaktadır. Hindistan'da yıllık süt üretiminin 140 milyon tonun üzerinde olmasına ve et üretiminin 220 milyon tona ulaşmasına rağmen, dağıtım ve tüketim sürecindeki gıda kayıpları sebebiyle kişi başına düşen tüketim, beslenme açısından tatmin edici olmaktan uzaktır. Amerika Birleşik Devletleri'nde perakende satış, dağıtım ve tüketim sırasındaki gıda kayıplarının meyveler için yaklaşık %23; sebzeler için %24; et, kümes hayvanları ve balık ürünleri için %15 ve süt ürünleri için %30 olduğu raporlanmaktadır. Bu tür kayıplar, Hindistan ve Amerika Birleşik Devletleri ile sınırlı kalmamakta, tüm dünyada ciddi oranlarda gıda kayıpları gerçekleşmektedir. Bu nedenle, giderek artan dünya nüfusunun artan beslenme gereksinimlerini karşılamak için gıdaların verimini artırmak ve gıda kayıplarını azaltmak esastır (Attrey, 2017). Gıda kayıplarının azaltılması, gıdaların daha uzun süre saklanması, besinsel özelliklerinin korunması ve halk sağlığı açısından, gıdanın güvenli bir şekilde elde edilmesi, uygun şekilde işlenmesi ve korunması gibi uygulamalar hayati öneme sahiptir.

Gıda işleme, eski zamanlardan beri gıdaların raf ömrünü uzatmak, onları daha sağlıklı bir şekilde tüketmek, beslenme ve organoleptik özelliklerini korumak ve geliştirmek için gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, gıda işleme sırasında besin kayıpları gerçekleşebilmekte; toksik bileşiklerin oluşumu ve lezzet, doku veya renk üzerinde olumsuz etkiler görülebilmektedir. Öte yandan, gıda işlemenin gıda güvenliğinin iyileştirilmesi, besin değerinin arttırılması, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklere, antioksidan veya antimikrobiyal özelliklere sahip doğal fitokimyasalların oluşturulması veya salınması gibi yararları göz ardı edilmemelidir (Zhao ve diğ., 2019).

Pişirme işlemi, gıda işleme yöntemlerinin arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Pişirme sırasında meydana gelen biyokimyasal ve fiziksel değişiklikler, gıdanın duyusal özelliklerini ve mikrobiyolojik kalitesini etkilemektedir. Pişirme, vejetatif

patojen mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesiyle gıdaların hijyenik kalitesini artırmaktadır (Bejerholm ve diğ., 2014). Gıda muhafaza yöntemlerinden olan soğukta saklama ise gıdaların raf ömrünü uzatıp güvenli bir şekilde tüketilmesini sağlamaktadır. 5°C'nin altındaki sıcaklığa sahip bir buzdolabı, çoğu yiyeceği mikrobiyolojik bozulmalara karşı uzun süre koruyabilmektedir. Verimli bir buzdolabında, mikroorganizmaların çoğunun büyümesi yavaşlamaktadır; ancak tamamen durdurulamamaktadır (Attrey, 2017).

Pişirme işlemi ve soğukta saklama işlemi, gıdaları korumak için ayrı birer yöntem olsalar da yeni pişirilmiş sıcak bir gıdanın hızlı bir şekilde uygun sıcaklıklara soğutulması işlemi de ayrı bir gıda koruma yöntemidir. Bu yüzden yeni pişirilmiş bir gıdanın daha sonra tüketilmesi amacıyla saklanmak istenmesi nedeniyle pişirme ve soğukta saklama işlemleri birbirinden ayrı düşünülemez. Yeni pişirilmiş bir gıdanın soğutulması sırasında gıda güvenliği açısından bazı problemlerle karşı karşıya gelinebilmektedir. Pişirme işleminden önce gıdalar çok farklı türde mikroorganizma ile kontamine olabilmektedir. Bu mikroorganizmalardan başlıca hastalık etkeni olanları *C. botulinum, C. perfringens, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella, Shigella, Klebsiella* ve *Vibrio parahaemolyticus* olarak sayılabilmektedir (Silverman, 1979). Ancak gıdaya kontamine olan bu mikroorganizmaların çoğu, yüksek sıcaklıklarda tamamen yok olurken, spor oluşturabilen mikroorganizmalar, yüksek sıcaklıklarda spor forma geçerek kendilerini koruma altına alabilmektedir (Willey ve diğ., 2008). Sıcak bir gıdayı soğuturken mezofilik mikroorganizmaların gelişme sıcaklığı olan 15-60°C aralığındaki sıcaklıklar gıda içerisinde bu mikroorganizmaların kolaylıkla çoğalmasına ve onların toksin oluşturmasına sebep olabilmektedir.

C. perfringens, spor oluşturabilen ve sıcak gıdaların yanlış soğutulmasından kaynaklanan gıda kaynaklı hastalık salgınlarında en sık rastlanan patojendir. İstatistiklere göre ABD'de her yıl 1 milyon kişi *C. perfringens* zehirlenmesine maruz kalmakta ve en az 30 kişi yaşamını yitirmektedir (Mohr, 2017). Çiğ haldeyken kontamine olmuş ve pişirildikten sonra doğru şekilde soğutulmayan gıdanın içerisinde *C. perfringens* mikroorganizma sayısı artmasıyla birlikte toksin üretimi de gerçekleşmektedir. *C. perfringens* 17'den fazla çeşit toksin üretebilme kabiliyetine sahiptir ve bu toksinler insanlarda kangren, nekrotik enterit, ishal, kusma, karın ağrısı gibi rahatsızlıklara sebep olabilmektedir. (Labbe ve Juneja, 2017). *C. perfringens*'in

insanlarda gıda zehirlenmesine sebebiyet veren en yaygın toksini enterotoksin olup, A tipi *C. perfringens* tarafından sentezlenmektedir.

Bu tez çalışmasında, pişmiş yemeklerde soğutma hızının farklı yemek türlerinde *C. Perfringens* mikrobiyal gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Pişirilen yemekler ile tasarlanan mikrobiyolojik analizler, yemeklerin, *C. perfringens*'in çoğalma sıcaklığı olan 15-60°C aralığını geçiş hızları göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda yemeklerin soğutulacağı 3 farklı soğutma ortamı üzerinde çalışılmıştır. Bu ortamlar, 25°C'lik oda sıcaklığı, 4°C'ye ayarlanmış orijinal buzdolabı ve yemeğin soğutulduğu bölmede bulunan fan kanalı sayesinde 5 l/s'lik hava üfleme debisi ile hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabıdır. Soğutma hızının mikrobiyolojik gelişimi üzerine çalışılması için belirlenen, *C. perfringens*'in çoğalması için uygun ortam sağlayan 3 farklı yemek türü, analizler için seçilmiştir. Bu yemekler kıymalı bezelye, etli kuru fasulye ve tavuklu patatestir. Günlük yaşamda bir problem olarak insanların karşısına çıkan, zehirlenmelere sebebiyet verebilecek bir durum olan soğutulmuş yemeklerin tekrar ısıtılıp tüketilmesi de göz önünde bulundurularak, soğutma hızları farklılıkları ile birlikte tekrar ısıtma senaryolarının sonuçları da ortaya konmaya çalışılmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar ve Nedenleri

Gıda kaynaklı hastalıkların görülme sıklığının küresel olarak arttığı ve dünya çapında önemli bir hastalık ve ölüm nedeni olduğuna işaret eden birçok gösterge vardır. Genel olarak sanayileşmiş ülkeler için, nüfusun üçte birinden fazlasının her yıl gıda kaynaklı bir hastalık yaşadığı tahmin edilmektedir (Scott, 2003). Raporlama sistemleri yeterli olmadığı için verileri destekleyebilmek güç olsa da gelişmekte olan ülkelerde gıda kaynaklı hastalık oranının, gelişmiş ülkelerdekinden daha fazla olduğu söylenebilmektedir. Gelişmemiş ülkelerde ishal vakalarının çoğunun ise su kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Käferstein, 2003).

Gıda kaynaklı hastalıklar ile ilgili veri toplama sistemleri daha çok kitlesel hastalanmalar ile ilgili verileri toplamakta ancak kitlesel olmayan, evlerden kaynaklı hastalanmalar ile ilgili verileri gözden kaçırabilmektedir (Scott, 1996). Amerika Birleşik Devletleri'nde *Escherichia coli* O157:H7 salgınları üzerine yapılan bir çalışma, şüpheli hamburgerlerin %80'inin evde hazırlanıp yenildiğini tespit etti. Avustralya'da *Salmonella* türü enfeksiyonlarının yaklaşık %90'ının genellikle işlenmemiş gıdalar ve bunların evlerde hazırlanması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kanada'dan elde edilen verilere göre ise *Salmonella* türleri, *Campylobacter* türleri ve patojen *E. coli* enfeksiyonu vakalarına en yaygın maruz kalma ortamı olarak ev ortamını tanımlamıştır (Scott, 2003).

Evlerde gıda kaynaklı hastalık salgınlarına sebep olabilecek birçok etken vardır. Bunlar arasında kontamine olmuş ham gıdaların alınması, gıda işleme ve evde yiyecek hazırlama hataları, genellikle 'riskli yeme davranışı' olarak tanımlanan, hayvan kaynaklı gıdaların çiğ ve az pişmiş olarak tüketilmesi sayılabilmektedir. Et ve kümes hayvanları, çiğ yumurtalar, balık ve kabuklu deniz ürünleri ve meyve ve sebzeler dahil olmak üzere çiğ gıdaların tümü, gıda kaynaklı patojenlerin eve giriş potansiyel kaynakları olarak kabul edilmelidir (Scott, 2001). Eve gıdalar yoluyla gelen başlıca bulaşıcı ajanlar *C. botulinum, C. perfringens, Bacillus cereus, S.*

aureus, E. coli, Salmonella, Shigella, Klebsiella ve *Vibrio parahaemolyticus* türlerini içerir. Bu mikroorganizmaların her biri farklı özellikleri barındırabildiği gibi, birbiriyle aynı ortak özellikleri gösteren türler de bulunmaktadır. Evlere gıdalar yoluyla giren başlıca mikroorganizmalar ve bunların başlıca özellikleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Silverman, 1979).

Çizelge 2.1 : Gıda kaynaklı enfeksiyona/intoksikasyona neden olabilen başlıca mikroorganizmalar ve özellikleri (Silverman, 1979).

Mikroorganizma	Gram	Spor	Enterotoksijenik	Enfektif
C. botulinum	+	+	+	
C. perfringens	+	+	+	
Bacillus cereus	+	+	+	
Staphylococcus aureus	+		+	
Escherichia coli	-		+	+
Salmonella	-		+	+
Shigella	-			+
Klebsiella				+
Vibrio parahaemolyticus	-			+

Yiyeceklerin işlenmesi ve hazırlanmasındaki en yaygın üç hata, gıdaların uygun olmayan şekilde depolanması (yetersiz ve/veya yavaş soğutma, yetersiz sıcaklıklarda pişirme ve/veya yetersiz yeniden ısıtma sıcaklığı), çapraz bulaşmaya neden olabilecek herhangi bir işlem ve kontamine olmuşbir mutfak ekipmanı kullanılması olarak belirlenmiştir. Evlerde yapılmış çalışmalarda, gıda kaynaklı hastalıklara sebep olabilecek hatalardan en sık rastlananları %50 oran ile uygunsuz gıda depolama ve %28 oran ile çapraz kontaminasyona sebep olabilecek işlemlerin uygulanması olarak gösterilmiştir (Adak ve diğ., 1998).

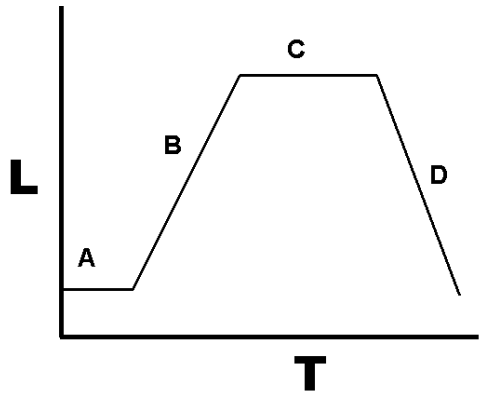
Gıda kaynaklı hastalıklara karşı üç ana savunma yönteminin bulunduğu belirtilmektedir. Birincisi, çiğ gıda maddelerinin hijyenik kalitesini iyileştirmeyi amaçlamaktadır. İkincisi, pastörizasyon ve ışınlama gibi gıda işleme teknolojilerinin ve tehlike analizi ve kritik kontrol noktası (HACCP) gibi gıda güvenliği sistemlerinin kullanılmasıdır. Üçüncüsü ise ev tipi yiyecek hazırlayan kişiler de dahil olmak üzere

tüm yiyecek hazırlayan kişilerin eğitimi ile ilgilidir. Bu kişiler, gıdalara hastalık yapıcı unsurların hangi koşullarda ve ne şekilde bulaşabileceği konusunda bilgilendirilmeli, gıdaların uygun bir şekilde hazırlanması ve depolanması sağlanmalıdır (Käferstein, 2003). Halkı gıda güvenliği ve pratiği konusunda bilgilendirmek amaçlı çok sayıda ulusal ve uluslararası kurumlar bulunmaktadır. Kanada'da bulunan "Canadian Partnership for Consumer Food Safety Education", ABD'de bulunan "The Partnership for Consumer Food Safety Education", Birleşik Krallık'ta bulunan "The Food Standards Agency" ulusal eğitim kuruluşlarına örnektir. Dünya Sağlık Örgütü'nün Gıda Güvenliği Programı ise uluslararası kampanyaları örneklemektedir. Ancak bu tür kuruluşların kampanyaları genel olarak web ya da medya tabanlı oldukları için kaçınılmaz olarak pasif yöntemler olarak görülmekte olup halkın çoğunluğuna ulaşamamaktadır (Scott, 2003).

Çizelge 2.1'de gösterilmiş olan spor oluşturmayan mikroorganizmalardan korunabilmek için gıdaları, inaktive olduğu sıcaklığa kadar, belirli sürelerde ısıl işleme tabi tutmak yeterli olabilmektedir. Ancak spor oluşturabilen mikroorganizmalardan korunmak bu kadar kolay olmamaktadır. Mikroorganizmalar zor koşullara maruz kaldıklarında, vejetatif hücreler yerini bu zor koşullara dayanıklı sporlara bırakırlar ve gıdaları pişirmek ya da farklı uygulamalarda bulunmak sporları yok etmeye yeterli olmaz; tam tersine spor oluşumunu teşvik ederek çoğalmalarını sağlayabilir. Gıdalar, sporları yok etmeye yetersiz miktarda pişirildikten sonra soğumaya bırakıldıklarında sporlar çimlenerek ortama toksin salgılamakta; tekrar vejetatif hücrelere dönüşmekte ve çoğalmaktadırlar. Bu yüzden spor oluşturabilen mikroorganizmalar pişirilerek tüketilen gıdalar için halk sağlığı açısından daha fazla risk teşkil etmektedirler (Andersen ve diğ., 2004). İstatistiklere göre, gıda kaynaklı patojen ve spor oluşturabilen mikroorganizmalardan meydana gelen hastalıkların arasında, *C. perfringens*'in sebep olduğu hastalıklar ilk sıralarda yerini almaktadır (Mohr, 2017).

Mikroorganizmaların çoğalmasında göz önüne alınması gereken bir başka durum ise bakterilerin yaşamsal döngüleri sonucunda geçirdikleri çoğalma fazlarıdır. Bir mikroorganizmanın çoğalmaya başlaması için ilk önce o ortama uyum sağlaması gerekmektedir; daha sonra sayısını artırmaya başlamaktadır. Çoğalma fazı bittikten sonra ise mikroorganizmalar bu döngüde durağan faza geçerek sayıları sabit bir şekilde devam etmektedir. Durağan fazdan sonra ise mikroorganizmalar ölüm fazına

geçmekte, sayıları azalmaya başlamaktadır. Mikroorganizmaların yaşamları boyunca geçirdikleri fazlar Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



*L=Mikroorganizma sayısı, T=Zaman, A=Başlangıç fazı, B=Üreme fazı, C=Durağan faz, D=Ölüm fazı

Şekil 2.1 : Mikroorganizmaların yaşam döngüsü süresince geçirdikleri çoğalma fazları (Tortora ve diğ., 2014)

Başlangıç fazında mikroorganizmalar, üreme fazına geçmek için ortama adapte etmeye çalışmaktadırlar. Mikroorganizmalar üreme için henüz hazır değillerdir ve hazır olmaları mikroorganizma türüne ve ortama göre değişiklik gösterebileceği gibi, günler alabilmektedir. Mikroorganizmalar üreme fazına geçtiklerinde ortamdaki besini de kullanarak hızlı bir şekilde çoğalmakta, sayıları logaritmik olarak artmaktadır. Bu fazda ortam, mikroorganizmaların çoğalması için optimum koşullar içermektedir. Ortamda herhangi bir kısıtlayıcı faktör (sıcaklık değişimi, besin yetersizliği, pH değişimi vb.) oluştuğu zaman mikroorganizmaların çoğalması yavaşlamakta ve sayıları sabit bir şekilde ilerlemeye devam etmektedir. Bu fazda ölüm miktarı ile çoğalma miktarı birbirini dengelemektedir. Ölüm fazına geçildiğinde ise ölüm miktarı çoğalma miktarını geçmekte ve ortamdaki mikroorganizmaların sayısı azalmaktadır (Tortora ve diğ., 2014)

2.2. *C. perfringens*

C. perfringens anaerobik, gram pozitif, çubuk şeklinde, spor oluşturabilen, mezofilik bir bakteridir. Canlı kalıp gelişebilmesi için 13 farklı çeşit aminoasite ve farklı vitaminlere ihtiyaç duyar. Gelişebildiği optimum sıcaklıklar 30-47°C olmakla birlikte, 15-60°C aralığında gelişimini sürdürebilir; gelişebildiği optimum pH aralığı ise 6.0-7.0'dır. *C. perfringens*, doğada en hızlı çoğalabilen mikroorganizmadır.

Optimum koşullar sağlandığında hücre sayısının ikiye katlanma süresi 7-10 dakikadır (Labbe ve Juneja, 2017).

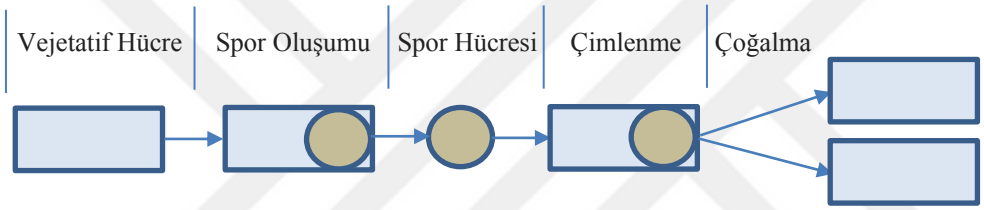
C. perfringens, çevrede geniş alanlara dağılmış olup, insan ve evcil hayvanların bağırsaklarında düşük miktarlarda ortaya çıkmaktadır. Vejetatif hücreler ve özellikle organizmanın sporları toprakta ve insan veya hayvan dışkı kirliliğine maruz kalan alanlarda yaşamını sürdürür. Herhangi bir çiğ gıda, özellikle kırmızı etler, kümes hayvanları ve deniz ürünleri, bu bakterinin vejetatif hücreleri veya sporlarını içerebilir (McClane, 2014). Marketlerden, kasaplardan ve kesimhanelerden alınan numuneler ile uzun yıllardır yapılan çalışmalar sonucunda hangi çiğ gıdanın hangi oranlarda *C. perfringens* içerebildiği Çizelge 2.2'de gösterilmiştir (Labbe, 2003).

Çizelge 2.2 : Çiğ gıdalarda ve hayvan yemlerinde *C. perfringens* bulunma oranları (Labbe, 2003).

Gıda	**Oran (%)**
Et ve Tavuk Ürünleri	
Kanatlı karkası	58
Dondurulmuş tavuk	63
Sığır karkası	26
Domuz karkası	66
Kuzu karkası	85
Kıyma	50-70
Sığır karaciğeri	26-50
Dana eti	82
Domuz eti	37
Domus sosisi	39
Koyun eti	52
Balık ve Kabuklu Deniz Ürünleri	
Balık (dış yüzey)	84
Balık (sindirim sistemi)	82
Vakum paketlenmiş balık	67
İstiridye	100
Alabalık	0
Diğer	
Baharatlar ve otlar	42
Toz çorba ve soslar	18
Hayvan yemi	35

C. perfringens'in sporları, ısıya dirençleri bakımından diğer mikroorganizmalara göre büyük ölçüde farklılık gösterir. *C. perfringens*'in ısıya dayanıklı sporlarının 100°C'de 1 saat süreyle yaşayabildiği gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar, *C. perfringens* sporlarının rutin pişirme işlemlerinde hayatta kalabileceğini kanıtlamıştır (Labbe ve diğ., 2014).

Gıdaya kontamine olmuş *C. perfringens* vejetatif hücreleri, çoğalabilmelerini engelleyebilecek zor şartlarla karşılaştıkları durumlarda kendilerini korumaya almak için spor oluştururlar. Eğer çoğalmalarının önündeki bu engel, sporları yok edecek kadar güçlü değilse, engel kaldırıldığı zaman spor hücreleri çimlenerek tekrar vejetatif hücrelere dönüşür ve çoğalırlar (Andersen ve diğ., 2004). *C. perfringens*'in bu süreçte yaşadığı spor döngüsü Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2 : *C. perfringens*'in sporulasyon döngüsü (Mohr ve Silverman, 2017)

2.3. *C. perfringens* Toksisitesi

Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalardan meydana gelen hastalık sayısı azımsanamayacak kadar fazladır. Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde bu hastalıkların raporlama sistemi yeterli olmadığı için net istatistik değerlerine ulaşılamamaktadır. ABD verilerine göre, ABD nüfusunda gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalardan meydana gelen hastalanma sayısı yılda 48 milyondur ve 3000 tanesi ölümle sonuçlanmaktadır. ABD verilerine göre *C. perfringens*'ten meydana gelen hastalanma rakamları yılda 1 milyona ulaşmaktadır ve yaklaşık 30 kişinin ölümüne sebep olmaktadır (Mohr, 2017). İstatistiklere göre *C. perfringens* sebebiyle hastalanmaların %59'u 20-49 yaş arasındaki kişilerde gerçekleşmektedir (Bennett ve diğ., 2013). *C. perfringens* hastalıkları, çok sayıda ($>10^5$ kob/g) *C. perfringens* içeren gıdaların tüketiminden 8-22 saat sonra başlayan yoğun karın krampları ve ishal ile karakterize edilir. Hastalık, genellikle 24 saat içinde sona ermekle birlikte bazı kişilerde 1-2 hafta boyunca daha az ciddi semptomlar ile devam edebilir. Hastalığa neden olan gıdalar, genellikle restoranlarda, yemek firmalarında veya evde

hazırlanan ve uygun olmayan sıcaklık koşullarına maruz bırakılmış gıdalar olmaktadır. *C. perfringens* sporları, ısıtma sırasında çimlenir ve eğer ısıtılan gıdalar yetersiz ısıtılırsa, uygunsuz bir şekilde soğutulup depolanırsa çimlenen hücreler, çoğalabilir (Crouch ve Golden, 2015). Isıtıldıktan sonra uygunsuz bir şekilde soğutulan gıda içerisinde çimlenen *C. perfringens* sporları ortamda toksin üreterek çoğalırlar ve bu toksinler insanda hastalık yapıcı miktarlara ulaşabilmektedir. Türk Gıda Kodeksi'nin, gıdalarda bulunabilecek *C. perfringens* miktarına yönelik Çizelge 2.3'te de görüldüğü gibi limitleri bulunmaktadır. Türk Gıda Kodeksi'ne göre, tüketime hazır gıdalarda *C. perfringens* miktarı en fazla 10^3 kob/g (5 numuneden en fazla 2 tanesinde) tüketime hazır olmayan gıdalarda ise en fazla 10^4 kob/g miktarında bulunmasına izin verilmektedir (Türk Gıda Kodeksi, 2011).

Çizelge 2.3: Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği tüketime hazır ve tüketime hazır olmayan gıdalarda *C. perfringens* bulunma limitleri (Türk Gıda Kodeksi, 2011).

Mikroorganizma	Gıda	Numune Alma Planı		Limitler	
		n*	c*	m*	M*
C. perfringens	Tüketime Hazır Olmayan	5	2	10^3	10^4
	Tüketime Hazır	5	2	10^2	10^3

*n=numune sayısı, c=m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı

C. perfringens, insan ve hayvan bağırsak florasının bir parçası olarak da ortaya çıkmaktadır. Sağlıklı insanlarda diğer anaerob bakterilere göre sayısı az olsa da her insanın bağırsak florasından izole edilebilmektedir. Çizelge 2.4'te, farklı ülkelerde farklı insan gruplarıyla yapılmış bir çalışmada, insan dışkılarından alınan örneklerden izole edilen *C. perfringens* vejetatif hücre ve spor sayıları gösterilmektedir (Labbé, 2003).

Çizelge 2.4 : Farklı ülkelerde farklı insan gruplarıyla yapılan bir çalışmada insan dışkı örneklerinden izole edilmiş *C. perfringens* vejetatif hücre ve spor sayımları (Labbé, 2003).

İnsan Grubu	Ülke	Hücre Tipi	Hücre Sayısı (kob/g)
Sağlıklı yetişkinler	ABD, Birleşik Krallık	Vejetatif hücre	10^3-10^4
Genç hastalar	Birleşik Krallık	Vejetatif hücre	6 kişinin 3'ünde $\geq 10^4$ 10 kişinin 0'ında $\geq 10^6$
Yaşlı bireyler	Japonya	Vejetatif hücre	30 kişiden 5'inde $\geq 10^7$
Yaşlı hastalar	Birleşik Krallık	Vejetatif hücre	11 kişinin 10'unda $\geq 10^4$ 11 kişinin 5'inde $\geq 10^6$
Yaşlı akıl hastaları	Birleşik Krallık	Vejetatif hücre	10 kişiden 6'sında $\geq 10^4$ 10 kişiden 3'ünde $\geq 10^6$
Sağlıklı yetişkinler	Kanada	Spor hücresi	10^3-10^4
Gıda zehirlenmesi geçiren hastalar	Birleşik Krallık	Spor hücresi	66 kişiden 56'sında 10^6-10^8
Gıda zehirlenmesi geçiren hastalar	ABD	Spor hücresi	10^7
Gıda zehirlenmesi geçiren hastalar (zehirlendikten 30 gün sonra)	ABD	Spor hücresi	10^3-10^5

C. perfringens, insanlarda kangren ve gastrointestinal hastalıklara (örneğin, gıda zehirlenmesi ve nekrotik enterit) neden olabilir; hayvanlarda ise gastrointestinal ve enterotoksemik hastalıklar daha sık görülür. *C. perfringens,* sağlıklı hücreleri istila etmemektedir, ancak ilişkili lezyonlardan ve semptomlardan sorumlu olan çeşitli toksinler ve enzimler üretir (Petit ve diğ., 1999).

C. perfringens 17 adet farklı toksin üreterek patojeniteyi en iyi örnekleyen mikroorganizmalardan biridir. *C. perfringens* toksinleri konakçı hücrelere temas ettiğinde, genellikle o hücrelere bağlanmakta ve çeşitli şekillerde etki etmektedir. Alfa toksini, plazma zarına zarar verebilecek aktivitelere sahiptir. Iota toksini, konakçı hücreye bağlanarak hücre iskeleti değişikliklerine neden olmaktadır. Diğer önemli *C. perfringens* toksinleri (perfringolisisin O, enterotoksin (CPE), epsilon toksini ve beta toksini), reseptörlerle hücrelere bağlanmakta ve daha sonra toksin komplekslerine oligomerize olmaktadır. Bu toksin kompleksleri, daha sonra hücre ölümüne yol açan gözenekleri oluşturmak için zarlarda birikmektedir (McClane, 2014).

Toksin üretimi, farklı *C. perfringens* suşları arasında önemli ölçüde değişiklik gösterir. Toksin üretiminde suşlar arasındaki farklılıklar, büyük ölçüde suşlarda değişen plazmidler üzerindeki toksin genlerinin varlığını yansıtmaktadır. Sınıflandırma amacıyla, *C. perfringens* suşları, dört tip toksin (alfa, beta, epsilon ve iota) üretimine dayanarak, beş tipe (A – E) ayrılır. Tüm suşlar alfa toksini üretir, ancak C tipi suşlar ayrıca beta toksin üretir, D tipi suşlar epsilon toksini, E tipi suşlar da iota toksini üretir. B tipi suşlar ise hem epsilon hem de beta toksinleri üretir. Bir veya daha fazla tipte toksin üretmeye ek olarak, suşlar ilave toksinler üretebilir (Petit ve diğ., 1999). *C. perfringens*'in farklı tip suşlarının ürettiği toksinler ve yarattığı etkileri Çizelge 2.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.5 : *C. perfringens*'in farklı suşlarının ürettiği toksinler ve insan ve hayvanlarda yarattığı etkiler (Petit ve diğ., 1999).

Toksinler						
Alfa	Enterotoksin (CPE)	Beta	Epsilon	Iota	Tip	İlgili Hastalık
+	-	-	-	-	A	İnsan: Kangren
+	+	-	-	-		İnsan: Gıda zehirlenmesi, Hayvan: Enterit
+	-	-	-	-		Kümes Hayvanları: Nekrotik enterit
+	+/-	+	+	-	B	Hayvan: İshal, enterit
+	+/-	+	-	-	C	Hayvan ve İnsan: Nekrotik enterit
+	+/-	-	+	-	D	Hayvan: Enterotoksemi
+	+/-	-	-	+	E	Hayvan: Enterotoksemi

2.4. *C. perfringens* Enterotoksini ve Gıda Zehirlenmesi

C. perfringens enterotoksini (CPE), gıda zehirlenmelerinde en dikkat çeken ve gıda kaynaklı gastrointestinal rahatsızlıklara en fazla sebep olan toksindir (Freedman ve diğ., 2016).

C. perfringens kaynaklı gıda zehirlenmelerine, çok sayıda vejetatif *C. perfringens* hücresi içeren gıdaların tüketilmesi neden olur ve nadiren gıdada önceden oluşturulmuş CPE'den kaynaklanabilmektedir. *C. perfringens* vücut içerisinde çoğalır ve sindirim sisteminde sporulasyon gerçekleşir. Spor oluşumu ve daha sonraki çimlenme periyodunda bakteriyel lizis ile salınan CPE sentezlenmektedir. CPE sentezi, tip-A *C. perfringens* patojen mikroorganizmasının sahip olduğu *cpe* geni sebebiyle ortaya çıkmaktadır. *cpe* geni, yer değiştirebilen DNA parçasının üzerinde, kromozom ya da konjugatif plazmid ile çevrili şekilde bulunmaktadır. Kromozomal *cpe* ile çevrelenmiş gene sahip olan *C. perfringens* türleri, diğer türlerden farklı olarak, genetik olarak daha homojen kümeler oluştururlar. Bu türler, yüksek ve düşük sıcaklıklara, sodyum klorüre ve nitrite karşı daha dayanıklıdır ve konjugatif plazmid ile çevrili gene sahip olan *C. perfringens*'e göre daha hızlı çoğalmaktadır (Popoff, 2014). *C. perfringens*'in kromozomal ve konjugatif plazmid içeren vejetatif hücrelerin ve spor hücrelerinin farklı koşullara dayanıklılığını ve D değerlerini gösteren Çizelge 2.6 incelendiğinde, kromozomal *cpe* ile çevrelenmiş gene sahip olan türlerin zor koşullarda, plazmid *cpe* izolatlarına göre daha yavaş azalma gösterdiği görülmektedir (Li ve diğ., 2013).

CPE, kontamine yiyeceklerin alımından genellikle 8-22 saat sonra ortaya çıkan semptomlardan (ishal, karın ağrısı ve nadiren bulantı) sorumludur. Ölüm ise yaşlı insanlar ya da bebekler gibi bağışıklığı zayıf bireylerde nadir olarak görülebilmektedir. *C. perfringens* ilk olarak 1945'te gıda zehirlenmesiyle ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, büyük bir gıda kaynaklı patojen olarak öne çıkışı, Hobbs tarafından 1953 yılında yayınlanmış, *C. perfringens* tip A gıda zehirlenmesini tanımlayan raporun ardından gerçekleşmiştir. *C. perfringens* tip A gıda zehirlenmesinin anlaşılmasında bir başka önemli gelişme, 1970'lerin başlarında, *C. perfringens*'in bu gıda zehirlenmesinin gastrointestinal (GI) semptomlarına neden olmaktan sorumlu enterotoksin (CPE) tanımlanması, saflaştırılması ve karakterize edilmesiyle meydana gelmiştir. O zamandan bu yana yapılan kapsamlı çalışmalar, CPE'nin etkisine ve genetiğinin yanı sıra *C. perfringens* A tipi gıda zehirlenmesi izolatlarının direnç özelliklerine katkıda bulunan faktörleri de ortaya koymuştur (Li ve diğ., 2013).

Çizelge 2.6 : Kromozomal *cpe* izolatları ile plazmid *cpe* izolatlarının yüksek ve düşük sıcaklıklara, nitrite ve ozmotik basınca göre kıyaslanması, vejetatif ve spor hücrelerinin D değerleri (Li ve diğ., 2013).

Etki	Vejetatif Hücreler		Spor Hücreleri	
	Kromozomal *cpe* izolatları	Plazmid *cpe* izolatları	Kromozomal *cpe* izolatları	Plazmid *cpe* izolatları
Sıcak[a]	14,9 dk	6,2 dk	61,1 dk	0,9 dk
Soğuk (4°C)	12,6 gün	1,6 gün	0,3 log azalma[b]	1,2 log azalma
(-20°C)	1,6 gün	0,5 gün	0,8 log azalma[c]	1,5 log azalma
NaCl	2,8 gün	1,4 gün	0,2 log azalma[b]	1,1 log azalma
$NaNO_2$	2,2 gün	1,0 gün	0,9 log azalma[c]	3,5 log azalma

[a] Sıcaklık uygulaması vejetatif hücreler için 55°C, spor hücreleri için 100°C'dir.
[b] 6 ay boyunca uygulanmıştır.
[c] 3 ay boyunca uygulanmıştır.

C. perfringens tüm ortamlarda bulunabilir ve gıdaları kontamine edebilir. *C. perfringens* salgınlarının çoğu toplu yemek hazırlanan ortamlarda (okul kantinleri, hastaneler, hapishaneler veya toplantılar vb.) meydana gelmektedir (Brynestad ve Granum, 2002). *C. perfringens*'in hastalık yapıcı yüksek doz seviyelerine çıkana kadar çimlenmesi, büyümesi ve çoğalması için elverişli koşulların ortaya çıkmasını önlemek için gıda işleme ve sıcaklık ile ilgili kurallara dikkat edilmesi önemlidir. Gıda hazırlarken hijyenik koşullara dikkat edilmeli, gıda pişirildikten sonra hızlı bir şekilde soğutulmalı ve soğutulan gıda tekrar ısıtılacaksa yüksek sıcaklıklara kadar ısıtıldığından emin olunmalıdır (Novak ve Juneja, 2002).

C. perfringens salgınlarının görülme sıklığı ülkelere ve yemek pişirme uygulamalarına göre değişmektedir. *C. perfringens*, dünyada bildirilen gıda kaynaklı hastalık salgınlarında bazı ülkelerde ikinci, bazı ülkelerde üçüncü sırada yer almaktadır ve salgınların ortalama %30'unu temsil etmektedir. Yapılan çalışmalarda, *C. perfringens* Japon çiğ perakende etlerinin %70'inde ve Amerikan çiğ perakende etlerinin veya deniz ürünlerinin %30-80'inde tespit edilmiştir. *C. perfringens*'in potansiyel enterotoksijenik suşları en çok hindi, tavuk, domuz ve domuz ürünleri, sığır eti ve balıkta bulunmaktadır. CPE üreten A tipi suşlara baharatlarda da rastlanmış olup, bu durum başka bir potansiyel gıda kirliliği kaynağını teşkil etmiştir (Li ve diğ., 2013).

C. perfringens A tipi besin zehirlenmesi tipik olarak, A tipi kromozomal *cpe* suşu içeren çok sayıda vejetatif hücre ile kontamine olmuş yiyeceklerin alınması ile başlar. Besin zehirlenmesi, gram başına 10^4-10^5 kob/g *cpe* pozitif geni içeren vejetatif hücre alımı durumunda gerçekleşmektedir (Coorey ve diğ., 2018). Kontamine olmuş bir gıdanın yutulmasının ardından, birçok vejetatif hücre, mide asidine maruz kalarak imha olur. Kontaminasyon yükü yeterince yüksek olduğunda ise bazı vejetatif hücreler mide asidinden kaçarak hayatta kalmayı başarır. Hücreler ince bağırsağa geçtikten sonra hızla çoğalırlar. Mide asitleri ve bağırsak safra tuzları dahil olmak üzere çeşitli faktörlerle uyarıldıktan sonra vejetatif hücreler ince bağırsakta sporlaşmaya başlar. Bu sporülasyon sırasında *cpe*-pozitif *C. perfringens* suşları enterotoksin üretmeye başlamaktadır. Enterotoksin bağırsak lümeninde salgılandıktan sonra, alıcılara hızla bağlanmakta ve bağırsak epiteline zarar vermektedir. Bu zarar ise ishal ile birlikte sıvı ve elektrolit kayıplarına neden olmaktadır. *C. perfringens* A tipi yiyecek zehirlenmeleri genellikle hafiftir, kendiliğinden çözülür ve ishal ile birlikte yoğun karın kramplarına sebep olur. Bu semptomlar genellikle kontamine olmuş yiyeceklerin tüketilmesinden sonra 8-22 saat içerisinde gelişir. Bu inkübasyon süresi, sporülasyonun tamamlanması ve ardından ana hücrenin parçalanması sonucu enterotoksinin lümene salınması için gereken süreye karşılık gelir (Brynestad ve Granum, 2002). Hastalık genellikle 24 saat içinde çözülür ancak 2 haftaya kadar süren olağandışı raporlar vardır. Ölümler gençlerde ve sağlıklı bireylerde yaygın değildir, ancak yaşlılarda ortaya çıkabilir ve dehidrasyondan kaynaklanan ikincil komplikasyonlar nedeniyle ölüm gerçekleşebilir (Johnson, 1989).

Kontamine olmuş gıdalarda *C. perfringens*'in hızlı bir şekilde çoğalmasının sıcaklık ile açıklanabilecek sebepleri olduğu savunulmaktadır. Yemeğin pişirildikten sonra ortam sıcaklığında yavaşça soğumaya bırakılması ya da yemeğin soğutulduğu bir ekipman (buzdolabı vb.) var ise, yetersiz ve yavaş bir soğutma sistemine sahip olması sebebiyle *C. perfringens*'in çoğalma sıcaklığı olan 60-15°C arasında uzun süreler geçirilmesi, bu mikroorganizmanın hızlıca çoğalmasını teşvik etmektedir. Ayrıca yemek soğutulduktan sonra tekrar ısıtılırsa, yemeğin içerisinde çoğalmış olan vejetatif hücreler tekrar sporülasyon döngüsüne girecek ve enterotoksin salgılanacaktır (Hauschild, 1973). Bu yüzden tekrar ısıtmadan önce yemeğin

içerisinde çok fazla vejetatif hücre bulunmaması da önemlidir. Bu da ancak yemek ilk pişirildikten sonra hızlı bir soğutma sistemi ile soğutulması ile sağlanabilir.

2.5. Gıdalarda Soğutma Hızının *C. perfringens* Gelişimine Etkisi

C. perfringens'in gelişebilmesi için ortam sıcaklığı 15-60°C aralığında olmalıdır; optimum sıcaklık ise 30-47°C aralığıdır. *C. perfringens*, en hızlı çoğalabilen mikroorganizmalardandır ve optimum şartlar sağlandığında 7-10 dakika içerisinde hücre sayısını ikiye katlayabilmektedir. *C. perfringens* sporları ise diğer mikroorganizmalara göre anormal şartlara oldukça dayanıklıdır. *C. perfringens* ile kontamine olmuş bir gıdayı normal koşullar ile pişirmek vejetatif hücreleri inaktive edebilir ancak sporları yok etmeye yetmez. Tam tersine, sıcaklık artışıyla birlikte sporlar aktive olarak çimlenmektedirler. Gıdanın soğuma sürecinde ise optimum gelişme sıcaklıklarına gelen ortam sayesinde, çimlenen hücreler çoğalarak insanda hastalık yapıcı etkilere sebep olmaktadırlar (Huang, 2015).

Pişirilen gıdaları hızlı soğutmak, mikroorganizma gelişimini kontrol altına alabilmek için kritiktir. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Gıda Güvenliği ve Denetimi Hizmeti (USDA-FSIS)'nin yayınladığı uygunluk kurallarına göre, pişirilmiş kırmızı et ve tavuk ürünlerinin 54,4°C'den 26,7°C'ye soğuma süresi 1,5 saatten kısa; 26,7°C'den 4,4°C'ye soğuma süresi ise 5 saatten kısa olmalıdır (USDA Food Safety and Inspection Service [USDA-FSIS], 1999). Benzer olarak, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), pişmiş, potansiyel hastalık yapıcı gıdaların sıcaklıklarının 57°C'den 21°C'ye 2 saatte, 21°C'den 5°C'ye 4 saatte soğutulmasını önermektedir (FDA, 2005). Aynı zamanda, gıdanın pişirilme ve soğutma süreci boyunca *C. perfringens* sporulasyonu ve çimlenmesi ile birlikte ortama salınacak enterotoksin miktarını kontrol altına tutmak amacıyla, USDA-FSIS, *C. perfringens* miktarının en fazla 10 kat artması gerektiğini savunmaktadır (Mohr, 2017). Hollanda'da uygulanan kanunlara göre ise pişirilmiş gıdalar 60°C'den 7°C'ye 5 saatten daha kısa sürede soğutulmuş olmalıdır. *C. perfringens* ve onun gibi spor üretebilen ve patojenik mikroorganizmaların sebep olduğu hastalanma sayıları ve onları azaltmaya yönelik bilinç arttıkça, farklı kurumlarca ve ülkelerce bu konu hakkında gıda üretim ve perakende zincirlerine yönelik farklı, ancak birbirine benzer kanunlar çıkarılmıştır. Farklı ülkelerde sıcak gıdaların hangi sıcaklıklar aralığında ve

ne kadar sürede soğutulması gerektiği ile ilgili düzenlemeler Çizelge 2.7'de verilmiştir (DeJong ve diğ., 2004).

Çizelge 2.7: Farklı ülkelerde perakende zincirlerine yönelik sıcak gıdaların soğutulmasına dair düzenlemeler (DeJong ve diğ., 2004).

Ülke	Sıcaklık Aralığı (°C)	Süre (saat)
Hollanda	60 - 7 7 - 4	5 24
Danimarka	65 - 1	3
Fransa	70 - 10	2
Almanya	80 - 15 15 - 2	4 24
İsveç	80 - 8	4
Birleşik Krallık	<10 <3	2,5 1,5
Avustralya	60 - 5	6
ABD	60 - 5 48,8 - 12,7	4 - 6 6

2.6. Sıcak Gıdaların Hızlı Soğutulmasına Dair Yapılan Çalışmalar

C. perfringens ve onun yaşam süreci, sporlanma döngüsü, çoğalması ve ürettiği toksinleri hakkında yapılmış birçok araştırmanın ışığında, *C. perfringens*'in hangi koşullara nasıl tepkiler gösterebileceği bilinmektedir. Bunun sonucunda ise *C. perfringens*'ten meydana gelebilecek herhangi bir gıda kaynaklı hastalanmayı önleyebilmek adına çalışmalar yapılmaktadır. *C. perfringens*'in sebep olduğu hastalanma ve ölüm ile ilgili istatistikler göz önünde bulundurulduğunda, bunun önüne geçmek için yapılacak çalışmalar hayati önem taşımaktadır. Sıcak yiyeceklerin *C. perfringens* bakterilerinin çoğalmasına izin vermeden hızlı bir şekilde soğutulması da bu alanda yapılan çalışmalardan bir tanesidir.

Steele ve Wright (2001), tüketime hazır kızartılmış hindi göğüslerinin farklı hızlarda soğutulması sırasında *C. perfringens* çoğalmasını gözlemlemişlerdir. Steele ve Wright, USDA-FSIS'in yayınlamış olduğu uygunluk kuralları çerçevesinde çalışmalarını sürdürmüştür. USDA-FSIS'e göre, gıdalar soğutulurken *C. perfringens* miktarı 1 $\log_{10}$ kob/g veya daha fazlası kadar artış gösterirse, o gıda güvenli gıda olmanın dışına çıkmaktadır. Hindi göğüs eti ile yapılmış bu çalışmada gıdalar

48,9°C'den 12,8°C'ye 3 farklı soğutma hızı (6°C/saat, 4,5°C/saat ve 3,6°C/saat) ile 6, 8 ve 10 saatte soğutulmuşlardır. Başlangıçta 48,9°C'de iken hindi göğüs etleri 1,1 $\log_{10}$ kog/g kadar *C. perfringens* içermektedirler. 6 saatte 12,8°C'ye ulaşan hindi göğüs etinde *C. perfringens* sayısı 1,2 $\log_{10}$ kog/g, 8 saatte 12,8°C'ye ulaşan hindi göğüs etinde *C. perfringens* sayısı 1,7 $\log_{10}$ kog/g ve 10 saatte 12,8°C'ye ulaşan hindi göğüs etinde *C. perfringens* sayısı 2,4 $\log_{10}$ kog/g miktarlarına ulaşmıştır. Bu sonuçlara göre, başlangıçta 1,1 $\log_{10}$ kog/g kadar *C. perfringens* içeren hindi göğüs etlerinden, 10 saatte 12,8°C'ye soğutulan örnekte 1,3 $\log_{10}$ kog/g kadar *C. perfringens* artışı gerçekleşmiş olup, USDA-FSIS'in belirlemiş olduğu uygunluk kuralına göre güvensiz gıda sınıfına girmiştir.

Zaika (2003), NaCl konsantrasyonu ile soğutma oranının, *C. perfringens*'in büyümesi üzerindeki etkisini, kızarmış sığır etlerinin endüstride pişirilmesini ve soğutulmasını simüle eden bir işlem kullanarak incelemiştir. Bu çalışmada 5'er gram halinde porsiyonlanan sığır etlerine farklı konsantrasyonlarda NaCl eklenmiştir. Ayrıca etlerin *C. perfringens* içeriği 3 $\log_{10}$ kob/g olacak şekilde inokulasyon gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonda NaCl eklenmiş sığır etleri 75°C'de 20'şer dakika boyunca pişirilmiş ve daha sonra su banyosu yardımıyla farklı soğutma hızları ile soğutulmuştur. Sığır etleri 75°C'den 8,5°C'ye 3 farklı soğutma hızı (4,4°C/saat, 3,7°C/saat ve 3,1°C/saat) ile 15, 18 ve 21 saatte soğutulmuştur. NaCl konsantrasyonu %2'den az olan sığır etlerinden 15 saatte soğutulan numunenin *C. perfringens* miktarı 3 $\log_{10}$ kob/g kadar, 18 ve 21 saatte soğutulan sığır eti numunelerinin *C. perfringens* miktarları ise 5 $\log_{10}$ kob/g kadar artış göstermiştir. NaCl konsantrasyonu %3'ten fazla olan sığır eti numunelerinin hiçbirinde ise *C. perfringens* miktar artışı gözlenmemiştir. Bu çalışmada farklı soğutma sürelerinde soğutulan ve %2'den az konsantrasyonda NaCl içeren hiçbir sığır eti tüketilmek için önerilmemektedir. Ancak %3'ten fazla konsantrasyonda NaCl içeren sığır etleri, 21 saatte de soğutulmuş olsa güvenilir olarak kabul edilmektedir.

DeJong ve diğ. (2004)'nin yaptığı çalışmada *C. perfringens*'in hızlı çoğalabilme özelliğinden dolayı sıcak yemekler uygunsuz bir şekilde soğutulduğunda, hücre sayısının yüksek miktarlara ulaşabileceği tartışılmış ve bununla ilgili Hollanda'nın geleneksel çorbası olan bezelye çorbası ile deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, 50°C'de bulunan 16 adet bezelye çorbası örneklerinden 8 tanesine 1,5 $\log_{10}$ N/ml kadar *C. perfringens* vejetatif hücreleri, 8 tanesine ise sıcaklık ile aktive

edilmiş 4,7 $\log_{10}$ N/ml *C. perfringens* sporları inokule edilmiş ve çorbalar 3, 5, 7,5 ve 10 saat olmak üzere 4 farklı soğutma süresinde 15°C'ye soğutulmuştur. 15°C'ye soğutulmuş olan 16 bezelye çorbası da sonraki 84 saat boyunca 3°C'ye ayarlanmış buzdolabında muhafaza edilmiştir. 16 adet bezelye çorbasının farklı soğutma hızları ile soğutulduktan sonra içerdikleri *C. perfringens* vejetatif hücre ve spor hücresi miktarları Çizelge 2.8'de görüldüğü gibidir. Sonuçlar incelendiğinde, vejetatif hücrelerdeki artış miktarı 3 saatte soğutulmuş olsa da 1 $\log_{10}$ N/ml'nin üzerinde gerçekleşmiştir. Bu artış, Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'nın güvenli soğutma kriterlerini karşılamamaktadır. Diğer soğutma hızlarının sonucunda gerçekleşen artışlara bakıldığı zaman ise, vejetatif hücrelerde en fazla artışın 10 saatte 5,3 $\log_{10}$ N/ml olarak gerçekleştiğini, spor hücrelerinde ise yine 10 saatte 5 $\log_{10}$ N/ml olarak gerçekleştiği görülmektedir.

Çizelge 2.8 : Bezelye çorbalarının 50°C'den 15°C'ye farklı soğutma hızları ile soğutulması sırasında hücre miktarlarındaki artış (DeJong ve diğ., 2004).

	15°C'ye ulaşma süreleri (sa)			
	3 saat	5 saat	7,5 saat	10 saat
1	2,8 $\log_{10}$ N/ml	5,0 $\log_{10}$ N/ml	6,2 $\log_{10}$ N/ml	6,8 $\log_{10}$ N/ml
2	2,3 $\log_{10}$ N/ml	4,9 $\log_{10}$ N/ml	5,6 $\log_{10}$ N/ml	6,4 $\log_{10}$ N/ml
3	5,7 $\log_{10}$ N/ml	6,6 $\log_{10}$ N/ml	7,2 $\log_{10}$ N/ml	7,3 $\log_{10}$ N/ml
4	5,8 $\log_{10}$ N/ml	6,5 $\log_{10}$ N/ml	6,9 $\log_{10}$ N/ml	7,2 $\log_{10}$ N/ml

1 ve 2= Başlangıçta inokule edilmiş 1,5 $\log_{10}$ N/ml vejetatif *C. perfringens* hücrelerinin miktarı, 3 ve 4=Başlangıçta 4,7 $\log_{10}$ N/ml inokule edilmiş aktif *C. perfringens* spor hücrelerinin miktarı

Benzer bir çalışma Danimarka'da Andersen ve diğ. (2004) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada 2 farklı *C. perfringens* suşunun hindi kıyması üzerinde hem farklı soğutma hızlarında gelişimleri incelenmiş, hem de bu suşların sabit sıcaklıklarda çoğalma süreleri birbiriyle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılan bu suşlar *C. perfringens* 790-94 ve 44071.C05 olmuştur ve her iki suş da kromozomal ve plazmid *cpe* geni içermektedirler.

Soğutma hızları farklılıkları ile karşılaştırılan bu 2 suş için hindi kıymaları 65°C'den 10°C'ye 3, 4, 5, 6 ve 7 saatte farklı soğutma sürelerinde soğutulmuşlardır. Her iki suş için de 3 saatte 10°C'ye soğutulan hindi kıymasında çoğalma gözlenmemiştir. 4

saatte soğutulan hindi kıymasında ise sadece 790-94 suşunda istatistiksel olarak anlamlı bir çoğalma gözlenmiştir. 5, 6 ve 7 saatte soğutulmuş olan hindi kıymalarında her iki suş için de çoğalma gözlenmekte olup, 790-94 suşunun hücre sayısı 44071.C05'e göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu çalışmada 65°C'den 10°C'ye 5 saatte soğutulmuş olan 790-94 suşunda 1 $\log_{10}$ kob/g kadar *C. perfringens* artışı görüldüğü için Avrupa Birliği düzenlemelerine uymadığı belirtilmiştir.

Bu çalışmadaki bir diğer araştırma ise *C. perfringens* 790-94 ve 44071.C05 suşlarının sabit sıcaklıklarda çoğalma süreleri üzerine olmuştur. Bu 2 farklı suş farklı sıcaklıklarda (20, 30, 37, 45 ve 50°C) inkübe edilmiş ve hücre sayılarının ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır. Bu iki suşun da farklı sıcaklıklarda sabit bırakılan hindi kıymasında hücre sayılarını ikiye katlama süreleri Çizelge 2.9'da görülmektedir.

Çizelge 2.9 : *C. perfringens* 790-94 ve 44071.C05 suşlarının sabit sıcaklıklarda çoğalma süreleri (Andersen ve diğ., 2004).

		Belirlenmiş sıcaklıklarda çoğalma süreleri (dakika)				
Suş	Gıda	20°C	30°C	37°C	45°C	50°C
790-94	Hindi kıyması	79,0	14,6	12,2	8,2	8,2
44071.C05		84,4	12,9	11,8	17,8	17,0

Çizelge 2.9 incelendiğinde, 790-94 suşu için en kısa çoğalma süresi 45 ve 50°C sıcaklıklarda 8,2 dakikadır. 44071.C05 suşu için ise en kısa çoğalma süresinin 37°C'de 11,8 dakika olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar da 65°C'den 15°C'ye farklı soğutma hızları ile soğutulurken 790-94 suşunun daha hızlı çoğaldığını destekler niteliktedir.

Andersen ve diğ. (2004), yine aynı çalışmada, farklı gıdaların farklı besiyerlerinde, farklı soğutma hızlarıyla *C. perfringens* miktarlarının ne şekilde değiştiğini araştırmıştır. Sonuçları Çizelge 2.10'da özetlenmiştir.

Çizelge 2.10 : Farklı *C. perfringens* suşlarının farklı besin ortamlarında farklı sıcaklık ve soğutma uygulamalarıyla davranışı (Andersen ve diğ., 2004).

Besin Ortamı	*C. perfringens* suşu	İlk yükü (log kob/ml)	Isıtma uygulaması	Soğuma sıcaklık aralıkları	Soğuma süresi (saat)	m.o artışı (log kob/ml)
FTG	H-3	4	80°C, 15 dk	60°C-10°C	<3,3	0
					5	1
					6,7	1,5
					10	3
Otoklavlanmış Dana Kıyması	H-3	4	80°C, 15 dk	60°C-10°C	4,5	0,7
					9	3
				60°C-25°C	4,7	3
Otoklavlanmış Dana Kıyması	NCTC8238, 3239, ATCC10288	1,5	75°C, 20 dk	54,4°C-7,2°C	<12	0
					15	1
					18	4,5
Hindi Rosto	NCTC 8238, 8239, 10388	1	72°C (merkez)	48,9°C-12,8°C	6	0
					8	0,7
					10	1,3
Kürlenmiş Domuz Kıyması	NCTC 8238, 8239, 10240	2,5	75.5C, 20 dk	54,5°C-7.2°C	18	3,7
					21	4,4

Çizelge 2.10'a göre, ısıtılmış gıdaların soğutulma süreleri artış gösterdiğinde *C. perfringens* miktarları da artış göstermektedir. FTG besin ortamında incelenen *C. perfringens* miktarı, 60-10°C sıcaklık aralıklarının 5 saatten daha fazla sürede geçilmesi durumunda 1 $\log_{10}$ kob/ml artış sınırını aştığı görülmüştür. Otoklavlanmış dana kıymasında incelenen *C. perfringens* H-3 suşunun artış miktarı, 60-10°C aralığı için soğutma süresi 9 saat iken 3 $\log_{10}$ kob/ml olarak gerçekleşmiş; 60-25°C aralığı için soğutma süresi 4,7 saat iken 3 $\log_{10}$ kob/ml olarak gerçekleşmiştir. Hindi rostonun 48,9-12,8°C aralığı için soğutma süresi 10 saat iken *C. perfringens* miktarı ise 1,3 $\log_{10}$ kob/ml artış göstermiştir.

3. MATERYAL-METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Yemeklerin hazırlanması için kullanılan materyaller

Deney çalışmalarında yemeklerin pişirilmesi için kullanılan bütün çelik tencereler aynı olup, Berlin Gastro marka, 20x10 boyutlarında ve 3 litre hacmindedir.

Deneysel çalışmalar süresince kullanılan dana kuşbaşı, dana kıyma ve tavuk etleri Yenimahalle, Kocaeli (Türkiye)'de bulunan yerel bir kasaptan temin edilmiştir. Dana kuşbaşı, dana kıyma ve tavuk etleri, deneylerin yapılacağı gün taze olarak alınmıştır.

Etli kuru fasulye ve kıymalı bezelye yemekleri için Tat marka, haşlanmış konserve kuru fasulyeler ve bezelyeler kullanılmıştır. Tavuklu patates için kullanılan patatesler ise, deneylerin yapılacağı günden 1 gün önce Kartal, İstanbul'da bulunan yerel bir manavdan temin edilmiştir.

Yemekler Arçelik OV 643 T marka ev tipi elektrikli ocak ile pişirilmiştir.

Pişirilmiş tencere yemeklerinden mikrobiyoloji laboratuvarında numune alınması gerektiğinden ısılarını kaybedip deneyi etkilememesi için tencereler pişirildiği anda içerisi cam elyaf ile doldurulmuş strafor kutulara konularak taşınmıştır.

3.1.2. Yemeklerin soğutulması için kullanılan ekipmanlar

Hızlı soğutmanın sağlanabilmesi için Arçelik Merkez Ar-Ge Departmanı içerisinde tasarlanan bir prototip ile buzdolabındaki fanın yüksek gerilim ile çalışması ve farklı yöne dönmesi sayesinde taze gıda bölmesinin alt rafında konumlanmış hava kanallarından yüksek debili hava üflenmesi yoluyla o rafa konulan gıdaların hızlı soğutulması amaçlanmıştır. Tencere üzerine üflenen havanın debisi 5 l/s olarak ölçülmüştür. Deneylerde hızlı soğutma, bu prototip buzdolabının kullanılması ile sağlanmıştır. Hızlı soğutmanın sağlanmak istenmediği koşullarda ise orijinal Arçelik buzdolabı kullanılmıştır. Yavaş soğutma ise oda sıcaklığında, ortamda, laboratuvar tezgah üstünde gerçekleştirilmiştir.

3.1.3. Mikrobiyolojik analizler için kullanılan materyaller

Hazırlanmış yemekler ile yapılan deneylerde mikrobiyolojik analizler için mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan araç ve ekipmanlar şu şekildedir:

- OXOID CM0587 (İngiltere) Perfringens Agar Base (TSC) besiyer
- IKA Vortex Genius (Almanya) vorteks karıştırıcı
- İnkübasyon için Memmert (Almanya) marka etüvler
- Mikroorganizma sayımları için Gerber Instruments (İsviçre) koloni sayacı
- *C. perfringens* anaerobik inkübasyonu için anaerobik kavanozlar
- Anaerobik kavanozların içerisinde *C. perfringens* için uygun anaerobik ortam yaratan, Kieselguhr (serbest kristalli silisik asit) içeren Merck (Almanya) marka Anaerocult® A
- Anaerob ortam şartlarının sağlanıp sağlanmadığının kontrolünü sağlayan, renk değiştirebilen indikatör, Merck (Almanya) marka Anaerotest®
- Besiyer hazırlandıktan sonra soğutulması için Nüve ST402 marka (Türkiye) su banyosu
- Besiyerin sterilize olması için Hirayama (Japonya) marka otoklav
- Interscience Bagmixer (Fransa) stomacher parçalayıcı
- IKA ETS-D5 (Almanya) marka ısıtıcılı karıştırıcı

3.2. Metot

3.2.1. Etli kuru fasulye yemeğinin hazırlanışı

Berlin Gastro 20x10, 3 litrelik çelik tencerelerin her birine 2 yemek kaşığı ayçiçek yağı ve 1 yemek kaşığı domates salçası konulmuş, ardından 300 gram dana kuşbaşı eklenerek kavrulmuştur. Kuşbaşı etler kavrulduktan sonra üzerine 300 gram konserve kuru fasulye eklenerek yaklaşık 3 dakika beraber kavrulmuştur. Kuşbaşı etler ve kuru fasulyeler birlikte kavrulduktan sonra, tencere içerisindeki hacim 2 litreye tamamlanacak şekilde su ilave edilmiştir. Yemek kaynamaya başlayana kadar yüksek ısıda, kaynadıktan sonra ise orta ısıda pişirilmiştir. Kaynamaya başladıktan 20 dakika sonra ocak kapatılarak tencereler ısı yalıtımlı strafor kaplara alınmış,

mikrobiyolojik analizler ve soğutma işlemleri yapılmak üzere mikrobiyoloji laboratuvarına götürülmüştür.

3.2.2. Kıymalı bezelye yemeğinin hazırlanışı

Berlin Gastro 20x10, 3 litrelik çelik tencerelerin her birine 2 yemek kaşığı ayçiçek yağı ve 1 yemek kaşığı domates salçası konulmuş, ardından 300 gram dana kıyma eklenerek kavrulmuştur. Kıymalar kavrulduktan sonra üzerine 300 gram konserve bezelye eklenerek yaklaşık 3 dakika beraber kavrulmuştur. Kıyma ve bezelyeler birlikte kavrulduktan sonra, tencere içerisindeki hacim 2 litreye tamamlanacak şekilde su ilave edilmiştir. Yemek kaynamaya başlayana kadar yüksek ısıda, kaynadıktan sonra ise orta ısıda pişirilmiştir. Kaynamaya başladıktan 20 dakika sonra ocak kapatılarak tencereler ısı yalıtımlı strafor kaplara alınmış, mikrobiyolojik analizler ve soğutma işlemleri yapılmak üzere mikrobiyoloji laboratuvarına götürülmüştür.

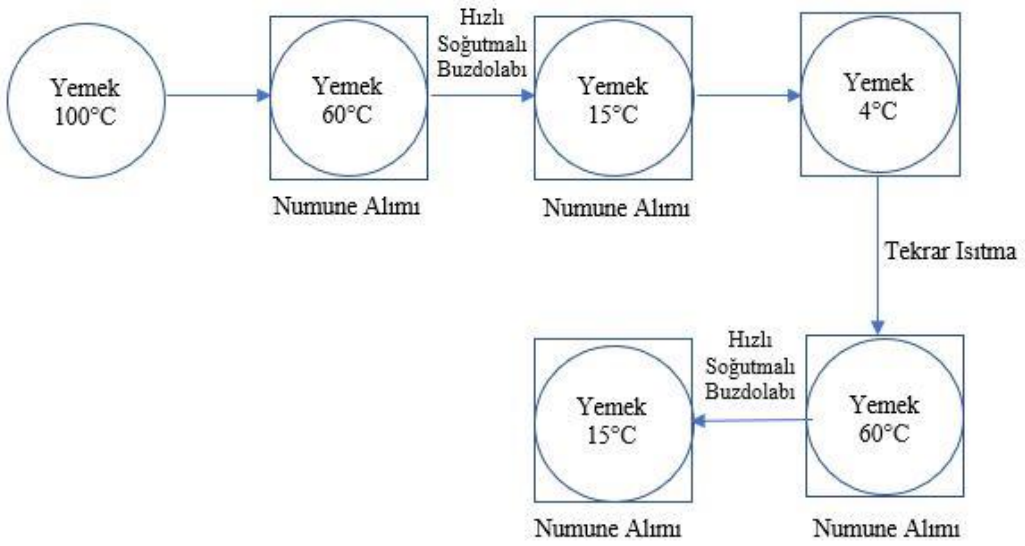
3.2.3. Tavuklu patates yemeğinin hazırlanışı

Berlin Gastro 20x10, 3 litrelik çelik tencerelerin her birine 2 yemek kaşığı ayçiçek yağı, ardından 400 gram kuşbaşı doğranmış tavuk göğsü konulmuştur. Tavuklar 3 dakika kavrulduktan sonra küp şeklinde doğranmış 2'şer adet büyük boy patates tencerelere eklenmiştir. Daha sonra 1 yemek kaşığı domates salçası eklenerek birlikte 2 dakika kavrulduktan sonra, yemeğin hacmi 2 litreye tamamlanacak şekilde su ilave edilmiştir. Yemek kaynamaya başlayana kadar yüksek ısıda, kaynadıktan sonra ise orta ısıda pişirilmiştir. Kaynamaya başladıktan 20 dakika sonra ocak kapatılarak tencereler ısı yalıtımlı strafor kaplara alınmış, mikrobiyolojik analizler ve soğutma işlemleri yapılmak üzere mikrobiyoloji laboratuvarına götürülmüştür.

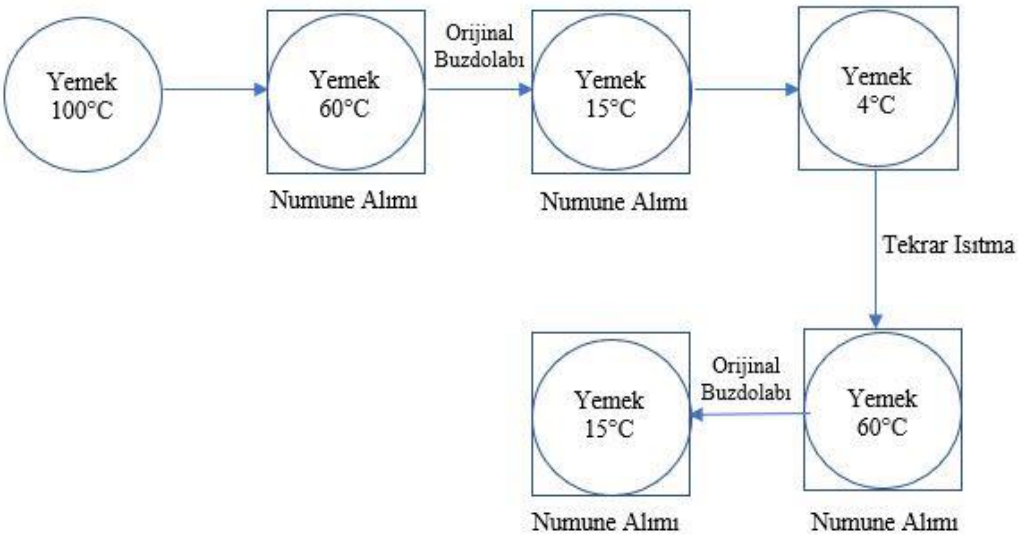
3.2.4. Yemeklerin soğutulması ve numune alımı

Pişirilen 3 farklı yemek, tasarlanan deneylere göre soğutulma süreleri boyunca sıcaklıkları ölçülerek, *C. perfringens* yaşam döngüsü için kritik sıcaklıklar olan 60°C ve 15°C sıcaklıklarda numune alınarak mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu sıcaklık aralıklarında yemeklerin soğutulması için bir adet hızlı soğutabilme özelliği bulunan prototip buzdolabı, bir adet hızlı soğutabilme özelliği bulunmayan orijinal buzdolabı kullanılmış olup, yavaş soğutma için de 25°C ortam sıcaklığı kullanılmıştır.

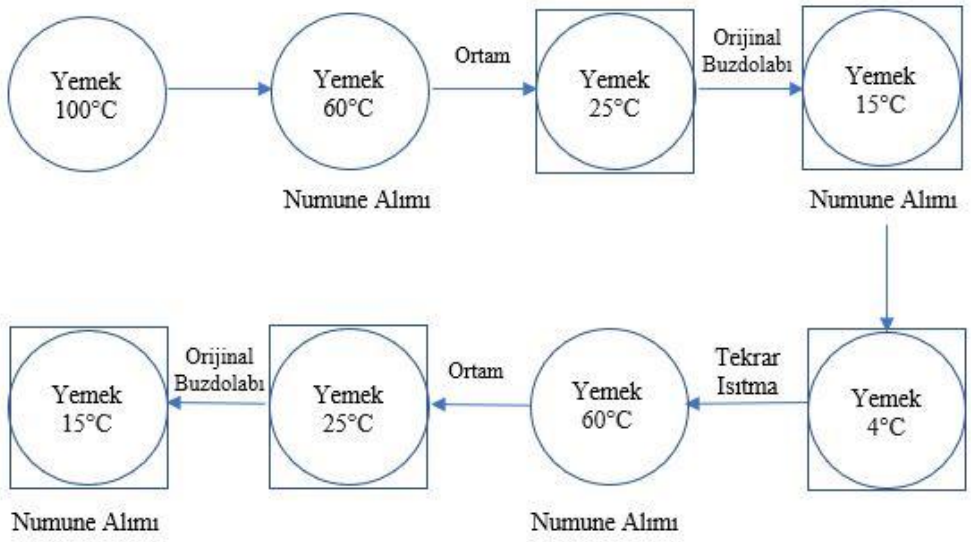
3 adet yemeğin 3 farklı ortamdaki soğuma hızına bağlı olarak *C. perfringens* patojen mikroorganizmasının çoğalma profili incelenmiştir. *C. perfringens*'in çoğalabilmesi için uygun sıcaklık 15-60°C aralığı olduğu için, pişirilen yemekler soğutulurken bu sıcaklık aralıklarının geçilme süresine göre ne kadar üreme görüleceği mikrobiyolojik analizler ile gözlemlenmiştir. 60°C'de numune alındıktan sonra hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabına ve orijinal buzdolabına konulan yemekler 15°C'de numune alındıktan sonra 4°C'ye soğutulmaya devam edilmişlerdir. Oda sıcaklığına bırakılan ve 25°C'ye soğutulmuş olan yemek ise 15°C'ye soğuması için orijinal buzdolabına konulmuş; 15°C'deyken numune alındıktan sonra ise 4°C'ye soğutulması için buzdolabında bırakılmıştır. 3 tencere yemek de buzdolaplarında 4°C sıcaklıkta 12 saat bırakıldıktan sonra dolaptan çıkarılıp 60°C'ye tekrar ısıtılmış ve bu sıcaklıkta tekrar numune alınmıştır. Bu 3 tencere, ilk soğutmada olduğu gibi soğutma hızı farklı ortamlara konularak soğuduktan sonra 15°C'de tekrar numune alınmıştır. Bu 3 farklı soğutma süreci Şekil 3.1, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'de gösterilmiştir. Şekil 3.1'de hızlı soğutma buzdolabı, Şekil 3.2'de orijinal buzdolabı ve Şekil 3.3'te ortam sıcaklığında gerçekleştirilen deney süreçleri gösterilmektedir.



Şekil 3.1 : Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan yemeğin deney tasarımı



Şekil 3.2 : Orijinal buzdolabında soğutulan yemeğin deney tasarımı



Şekil 3.3 : Ortam sıcaklığında soğutulan yemeğin deney tasarımı

3.2.5. *C. perfringens* sayısının belirlenmesi

C. perfringens analizi için öncelikle ekim yapılacak olan Tryptose Sulphite Cycloserine Agar (TSC) besiyeri hazırlanmıştır. 500 ml TSC hazırlamak için 23 gram Oxoid marka CM0587 Perfringens Agar Base bir kap içerisinde tartılmıştır. Üzerine 500 ml saf su konularak manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karışım homojenize olduktan sonra kabın kapağı kapatılıp otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Daha sonra 45°C'lik su banyosunda soğutulmuş ve biyogüvenlik kabini içerisinde steril tek kullanımlık petri kaplarına 15 ml miktarında dökülmüştür. Besiyerlerin donması için petri kapları kabin içerisinde bekletilmiştir.

Yemek numuneleri steril kabin içerisinde, bek alevinin bulunduğu ortamda, steril koşullarda stomacher poşetine alınmıştır. 10'ar gram alınan yemek numuneleri için stomacher poşetlerine 90 ml fizyolojik tuz çözeltisi (FTS) eklenmiş ve stomacherde 90 saniye karıştırılarak parçalanması sağlanmıştır. *C. perfringens*'in sayılabilir seviyeye getirilebilmesi amacıyla örnek FTS çözeltisi yardımıyla seyreltilmiştir. Bunun için 9 ml FTS ile doldurulan tüpler hazırlanmıştır. Örnekten alınan 1 ml sıvı, 9 ml FTS içeren tüpe ilave edilerek içerisindeki mikroorganizma seviyesinin 10 kat (10^{-1}) seyreltilmesi sağlanmıştır. Seyreltme işleminden sonra mikroorganizma gelişiminin gözlenmesi amacıyla *C. perfringens*'in seçici besiyeri ortamı olan TSC agara yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. 0,1 ml hacminde numune alınarak besiyeri üzerine drigalski ile yayılmıştır. Ekim yapılmış olan petriler daha sonra anaerobik ortam sağlayan kavanozlara yerleştirilmiştir. *C. perfringens*'in üremesi için uygun ortam sağlayan Anaerocult ve anaerobik ortamın sağlanıp sağlanmadığını test eden Anaerotest de kavanozlara yerleştirildikten sonra kapakları kapatılıp 37°C'lik etüvde 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonra, kolonilerin sayımı için petriler etüvlerden çıkarılmıştır. Sayım sonucu değerlendirilirken, koloni oluşturan birimin hesaplanması için petrideki mikroorganizma sayısı, seyreltme faktörü (1/seyreltme oranı) ve petri kutusuna ekim yapılan miktar (ml) denklem 3.1'deki formüle yerleştirilmiştir.

$$\text{Mikroorganizma sayısı (kob)} = a * b/c \quad (3.1)$$

a: Petrideki mikroorganizma sayısı (adet)

b: Seyreltme Faktörü

c: Petri kutusuna ekilen miktar (ml)

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Yapılan analizlerin değerlendirilmesinde Minitab (Minitab 17 Statistical Software for Windows®, Minitab Inc., Pennsylvania, USA) yazılımı kullanılmıştır. Öncelikle tüm sonuçların temel istatistik analizleri yapılmış, ortalamalar ve standart sapmalar belirlenmiştir. Ardından değerler varyans analizine (ANOVA) tabi tutularak *C. perfringens* miktarının değişimlerinin anlamlı olup olmadığı tespit edilmiştir. Anlamlı olan değerleri sınıflandırmak için ise Tukey testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sıcaklık Ölçüm Sonuçları

Yemeklerin soğutulma sürecinde sıcaklık ölçümleri gerçekleştirilerek deney senaryosuna göre belirli sıcaklıklarda aksiyon alınmıştır. *C. perfringens* patojenik mikroorganizması için kritik sıcaklıklar olan 60°C ve 15°C aralığı soğutma hızına göre farklı sürelerde geçilerek mikrobiyal gelişimi gözlenmiştir. 60°C'de hızlı soğutmalı buzdolabına ve orijinal buzdolabına konulan ve buralarda soğutulan yemekler 4°C'ye kadar soğutulurken, ortam sıcaklığında soğutulmaya bırakılan yemekler ise önce 25°C'ye soğutulmuş, ardından buzdolabına konularak 4°C'ye soğutulmuştur. Çizelge 4.1'de, hızlı soğutmalı buzdolabında, orijinal buzdolabında ve ortam sıcaklığında soğutulan yemeklerin soğuma süreleri ve soğuma hızları gösterilmiştir. Soğutma performanslarını ölçmek için yapılan öncül çalışmalarda yemekler 90°C'den 4°C'ye soğutularak süreleri ve soğuma hızları; daha sonra ise *C. perfringens* gelişimi için kritik sıcaklıklar olan 60 ve 15°C aralığındaki soğuma süreleri ve hızları ölçülmüştür.

90°C'den 4°C'ye kadar soğutma yapılan ön çalışmalarda, hızlı soğutmalı buzdolabı yemekleri ortam sıcaklığı ve orijinal buzdolabı kombinasyonuna göre 3 kat daha hızlı soğutarak 4,5 saatte gerçekleştirmiştir. Soğutma hızları *C. perfringens* için kritik sıcaklıklar olan 60°C-15°C aralığında ölçüldüğünde ise, yine aynı şekilde hızlı soğutmalı buzdolabı ortam sıcaklığı ve orijinal buzdolabı kombinasyonuna göre 2,5 kat daha hızlı soğutarak 2,9 saatte gerçekleştirmiştir. DeJong ve diğ. (2004)'e göre Almanya'da geçerli olan gıdaların soğutulması ile ilgili düzenlemeye göre, mikrobiyolojik gelişme görülmemesi için gıdalar 80°C'den 15°C'ye 4 saatte soğutulmalı iken, Fransa'daki düzenlemeye göre ise 70°C'den 10°C'ye 2 saatte soğutulmalıdır. Çizelge 4.1'de gösterilmiş olan, hızlı soğutmalı buzdolabında elde edilen soğutma sürelerinde ise bu düzenlemelere çok yakın bir sonuç elde edilmiştir.

Çizelge 4.1 : Farklı ortamlarda soğutulan gıdaların belirlenen sıcaklıklara soğuma süreleri ve hızları

Gıda	Hacim	Ortam	Ortam Koşulu	İlk Sıcaklık	Son Sıcaklık	Süre	Hız
Sulu Yemek (Etli Kuru Fasulye, Kıymalı Bezelye, Tavuklu Patates)	2 L	**Oda + Orijinal Buzdolabı**	25°C ve 4°C	**90°C**	**4°C**	**13,75 saat**	**6,25°C /saat**
Sulu Yemek (Etli Kuru Fasulye, Kıymalı Bezelye, Tavuklu Patates)	2 L	**Orijinal Buzdolabı**	4°C	**90°C**	**4°C**	**11,85 saat**	**7,27°C /saat**
Sulu Yemek (Etli Kuru Fasulye, Kıymalı Bezelye, Tavuklu Patates)	2 L	**Hızlı Soğutmalı Buzdolabı**	4°C (5 l/s hava üfleme debisi)	**90°C**	**4°C**	**4,5 saat**	**19,11°C /saat**
Sulu Yemek (Etli Kuru Fasulye, Kıymalı Bezelye, Tavuklu Patates)	2 L	**Oda + Orijinal Buzdolabı**	25°C ve 4°C	**60°C**	**15°C**	**7,2 saat**	**6,25°C /saat**
Sulu Yemek (Etli Kuru Fasulye, Kıymalı Bezelye, Tavuklu Patates)	2 L	**Orijinal Buzdolabı**	4°C	**60°C**	**15°C**	**5,8 saat**	**7,75°C /saat**
Sulu Yemek (Etli Kuru Fasulye, Kıymalı Bezelye, Tavuklu Patates)	2 L	**Hızlı Soğutmalı Buzdolabı**	4°C, (5 l/s hava üfleme debisi)	**60°C**	**15°C**	**2,9 saat**	**15,52°C /saat**

4.2. *C. perfringens* Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

C. perfringens'in çoğalabilmesi için en uygun sıcaklık aralığı 15-60°C olup, eğer optimum koşullar sağlanırsa *C. perfringens* hücre sayısını 7-10 dakika içerisinde ikiye katlayabilmektedir. Bu özelliği ile doğada en hızlı çoğalabilen mikroorganizmalardan biridir ve spor oluşturabilme özelliği sayesinde yüksek sıcaklıklarda bile canlı kalmayı başarabilmektedir (Labbe ve Juneja, 2017). Soğutulurken ya da tekrar ısıtılırken çoğalan *C. perfringens*, enterotoksin salgılayarak insanlarda gıda zehirlenmesine sebep olabilmektedir. Bu sebeple, yüksek sıcaklıklarda canlı kalmayı başarabilmiş ve yemek soğutulurken ya da tekrar ısıtılırken hızlıca çoğalabilen *C. perfringens*'in çoğalmasını yavaşlatmak önemlidir. Yemeklerin hızlı soğutulması için tasarlanmış olan prototip buzdolabı bu amaç doğrultusunda tasarlanmıştır.

Günümüzde büyük tencerelerde pişirilmiş yemekler ilk pişirildiğinde tamamı tüketilemeyerek buzdolabına yerleştirilip soğutulduktan sonra, ertesi günlerde tüketilmek üzere tekrar dolaptan çıkarılarak ısıtılıp tüketilmektedir. Tekrar ısıtma sonucunda ise *C. perfringens*'in çoğalabilme sıcaklıklarına çıkılmış olup, eğer tekrar soğutulacaksa hızlı bir şekilde soğutulması gerekmektedir. Bu tez çalışmasında tasarlanan deneyler, yemeklerin ilk pişirildikten sonraki soğuma sürecini ve daha sonrasında tekrar ısıtılıp tekrar soğutulma sürecini ele almaktadır. *C. perfringens* mikrobiyolojik analizleri için seçilmiş olan 3 farklı yemek türü de 3 farklı hızda soğutularak, ertesi gün ise tekrar ısıtılıp tekrar soğutularak içeriklerindeki *C. perfringens* bakterisinin mikrobiyal gelişmesi analizlenmiştir.

4.2.1. Etli kuru fasulye *C. perfringens* mikrobiyolojik analiz sonuçları

Üç tekrarlı olarak hazırlanan etli kuru fasulye tenceresi pişirildikten sonra 60°C'ye ilk geldikleri anda numune alınmış, daha sonra 15°C'ye soğumaları için farklı ortamlara yerleştirilmiştir. Yemek sıcaklıkları 15°C'ye geldiği anda ise tekrar numune alınarak bu iki sıcaklık arasında *C. perfringens* değişim miktarı belirlenmiştir ve farklı soğutma ortamları için karşılaştırma yapılmıştır. Farklı ortamlarda soğutulmuş etli kuru fasulyelerin 60°C ve 15°C sıcaklıklarındaki *C. perfringens* değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

	C. perfringens sayısı (log_{10} kob/g)	
Soğutma Ortamı	60°C	15°C
Ortam Sıcaklığı	2,92±0,02	2,96±0,21
Orijinal Buzdolabı	4,18±0,24	4,38±0,23
Hızlı Soğutmalı Buzdolabı	3,19±0,16	3,11±0,16

Çizelge 4.2'ye bakıldığında, etli kuru fasulye yemekleri 60°C'den 15°C'ye soğutulurkenki süreçte ortam sıcaklığında soğutulan yemekte başlangıçtaki *C. perfringens* miktarı 2,92 log_{10} kob/g olmakla birlikte soğutma sırasındaki artışı 0,04 log_{10} kob/g ve orijinal buzdolabında soğutulan yemekteki başlangıçtaki *C. perfringens* sayısı 4,18 log_{10} kob/g olmakla birlikte soğutulduktan sonraki artışı 0,20 log_{10} kob/g olarak gerçekleşmiştir. Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulmuş olan etli kuru fasulye yemeğinin içerisindeki *C. perfringens*'in başlangıçtaki sayısı 3,19 log_{10} kob/g iken soğutma sırasında azalış göstererek 3,11 log_{10} kob/g seviyelerine gerilemiştir.

15°C'ye soğutulmuş olan etli kuru fasulye yemekleri, buzdolaplarında 4°C'de 12 saat tutulduktan sonra tekrar ısıtılmak üzere çıkarılmış ve 60°C'ye ısıtılmıştır. 60°C'de iken numune alınan yemek tencereleri tekrardan aynı şekilde 3 farklı ortama konularak 15°C'ye soğutulmuşlar ve 15°C'de tekrar numune alınarak *C. perfringens* sayılarına bakılmıştır. Isıtılmış ve daha sonra hızlı soğutmalı buzdolabı, orijinal buzdolabı ve ortam sıcaklığında soğutulmuş olan etli kuru fasulye yemeklerinde analizi gerçekleştirilen *C. perfringens* sayıları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 : Etli kuru fasulye yemeğinin tekrar ısıtıldıktan sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

	C. perfringens sayısı (log_{10} kob/g)	
Soğutma Ortamı	60°C	15°C
Ortam Sıcaklığı	4,86±0,21	5,20±0,04
Orijinal Buzdolabı	3,71±0,11	4,37±0,12
Hızlı Soğutmalı Buzdolabı	3,60±0,25	3,61±0,17

Çizelge 4.3'teki sonuçlara bakıldığında, etli kuru fasulye yemeklerinin tekrardan 60°C'ye ısıtıldıktan sonraki *C. perfringens* sayısı sonuçları ve farklı ortamlarda 15°C'ye soğutuldukları andaki *C. perfringens* sayısı sonuçları görülmektedir. Tekrar ısıtma sonucunda ortaya çıkan sonuçlara bakıldığında, daha önce ortam sıcaklığında soğutulmuş olan etli kuru fasulyedeki *C. perfringens* sayısının 4,86 $\log_{10}$ kob/g değerine ulaştığı görülmektedir. 60°C'deki tencere tekrar ortam sıcaklığında soğutulduğunda ise *C. perfringens* sayısı 5,20 $\log_{10}$ kob/g seviyesine ulaşmıştır. İlk pişirme sonrasında orijinal buzdolabında soğutulmuş olan etli kuru fasulye yemeğindeki *C. perfringens* sayısı 60°C'ye tekrar ısıtıldığında 3,71 $\log_{10}$ kob/g seviyesinde, 15°C'ye tekrar soğutulduğunda ise 4,37 $\log_{10}$ kob/g seviyesindedir. İlk pişirme sonrasında hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulmuş etli kuru fasulye tekrar 60°C'ye ısıtıldığında *C. perfringens* vejetatif hücre sayısı 3,60 $\log_{10}$ kob/g miktarına ulaşmış, yine hızlı soğutmalı buzdolabında tekrar soğutulduğunda ise 3,61 $\log_{10}$ kob/g seviyesindedir.

Üç tekrarlı tencere etli kuru fasulye yemeğinin ilk pişirildikleri andan, tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar geçen süreçteki numune alımları sonucunda *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları Çizelge 4.4'te gösterilmektedir.

Çizelge 4.4 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirme sonrasından tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları ve Tukey testi karşılaştırmaları

	C. perfringens sayısı ($\log_{10}$ kob/g)		
	Ortam Sıcaklığı	Orijinal Buzdolabı	Hızlı Soğutmalı Buzdolabı
Pişirme sonrası (60°C)	2,92±0,02^{a}	4,18±0,24^{ab}	3,19±0,16^{a}
İlk Soğutma (15°C)	2,96±0,21^{a}	4,38±0,23^{a}	3,11±0,16^{a}
Tekrar Isıtma (60°C)	4,86±0,21^{b}	3,71±0,11^{b}	3,60±0,25^{a}
İkinci Soğutma (15°C)	5,20±0,04^{b}	4,37±0,12^{a}	3,61±0,17^{a}

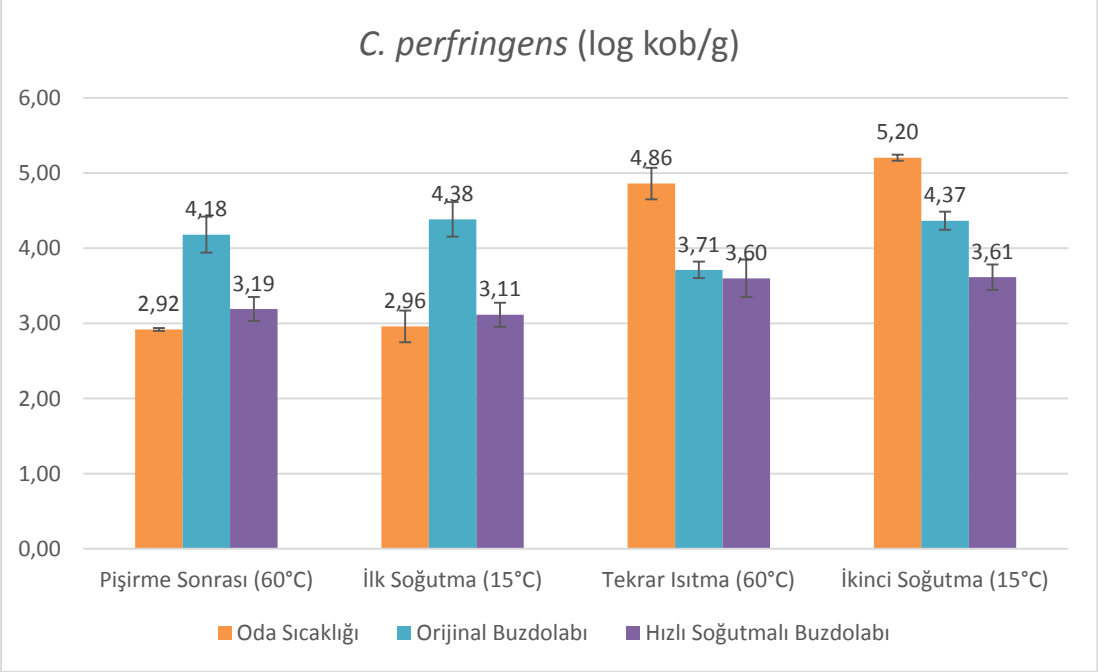
*Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.4'te orijinal buzdolabında soğutulmuş olan etli kuru fasulye yemeklerindeki *C. perfringens* sayısına bakıldığı zaman ilk soğutma sırasında istatistiksel olarak farklılık görülmemekte, ancak tekrar ısıtma sırasında *C.*

perfringens sayısında anlamlı bir düşüş yaşanmıştır. İkinci soğutma sırasında ise, tekrar ısıtmaya göre anlamlı bir artış görülmektedir.

Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan etli kuru fasulye yemeklerinde bulunan *C. perfringens* sayısında bütün süreçler boyunca anlamlı bir fark görülmemektedir.

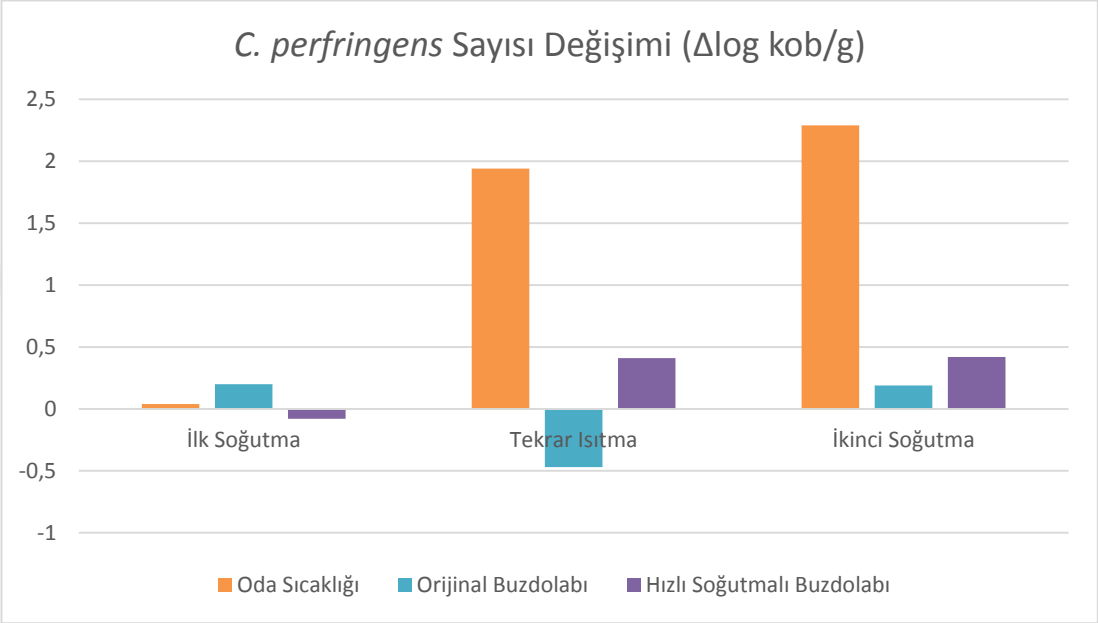
Üç tekrarlı tencere etli kuru fasulye yemeğinin ilk pişirildikleri andan tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar geçen süreçteki numune alımları sonucunda *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları grafik halinde Şekil 4.1'de gösterilmektedir. Şekil 4.1'de sürecin tümüne bakıldığında, ortam sıcaklığında soğutulan etli kuru fasulyede bulunan *C. perfringens* sayısı pişirildikten sonraki 60°C'de yapılmış analiz sonucuna göre 2,92 $\log_{10}$ kob/g iken, soğutulup tekrar 60°C'ye ısıtıldığında 4,86 $\log_{10}$ kob/g'a ulaştığı görülmektedir. Ortam sıcaklığında ilk önce 25°C'ye, ardından buzdolabında 15°C'ye toplam 7,2 saatte soğutulmuş olan etli kuru fasulyede *C. perfringens* sayısındaki artış 1,94 $\log_{10}$ kob/g iken, 1 $\log_{10}$ kob/g olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4.1 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

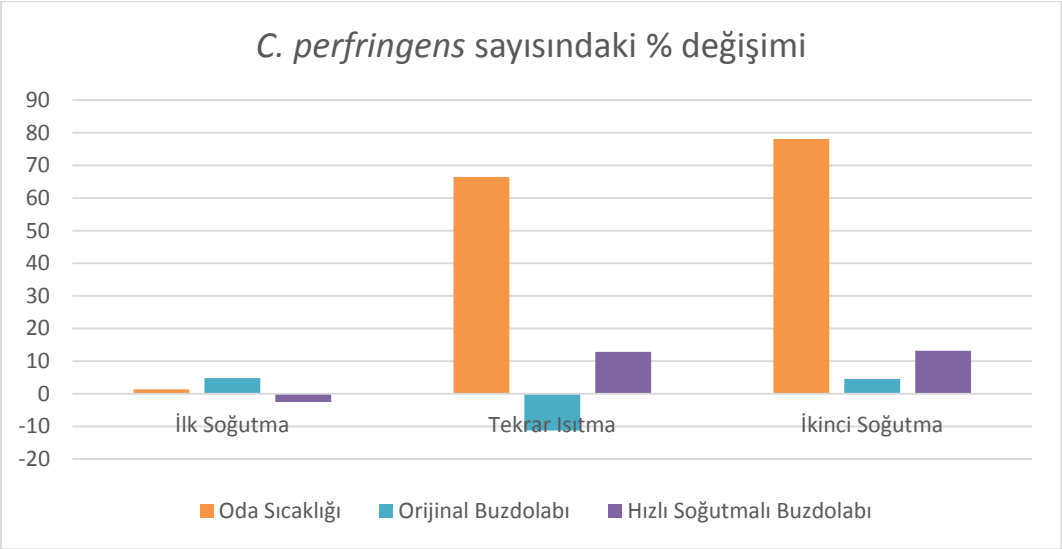
Etli kuru fasulye yemeğinin orijinal buzdolabında soğutulma koşuluna bakıldığı zaman ilk soğutmadaki artışın 0,20 $\log_{10}$ kob/g olduğu ve tekrar ısıtma sonucunda 0,67 $\log_{10}$ kob/g kadar düşüş olduğu görülmektedir. Bu düşüşün sebebinin, tekrar ısıtma sırasında bazı *C. perfringens* hücrelerinin inaktif hale geçtiğinden

kaynaklandığı düşünülmektedir. Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan etli kuru fasulye yemeğinin *C. perfringens* sayısı sonuçlarına bakıldığında en önemli artışın tekrar ısıtma sonucunda gerçekleştiği görülmekte; bunun ise 1 $\log_{10}$ kob/g sınırını aşmadığı için insan sağlığını tehdit edecek bir miktar olmadığı söylenebilmektedir. İlk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma sırasında; ilk pişirmeye göre meydana gelen *perfringens* sayılarındaki değişimlerinin gösterimi Şekil 4.2'dedir.



Şekil 4.2 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayılarının değişimi

Şekil 4.3'te, pişirilmiş etli kuru fasulye yemeklerinin *C. perfringens* sayılarının soğutma işlemleri ayrı ayrı oda sıcaklığı, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutmalı buzdolabında gerçekleştiğinde pişirme sonrasındaki *C. perfringens* sayısına göre ilk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma sırasında % değişimi gösterilmiştir.



Şekil 4.3 : Etli kuru fasulye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayısının yüzde değişimi

Şekil 4.2'deki *C. perfringens* sayılarının değişim sonuçları ve Şekil 4.3'teki yüzde değişimlerine bakıldığı zaman, *C. perfringens* sayısının artışının en fazla gerçekleştiği durumun, etli kuru fasulye yemeğinin oda sıcaklığında soğutulduğu durum olduğu görülmektedir. Pişirme sonrası 60°C'de alınan numuneye göre değişimi gösteren grafiklerde, ikinci soğutma ile birlikte *C. perfringens* sayısında 2,29 $\log_{10}$ kob/g kadar bir artış olduğu görülmektedir. Bu artış miktarı ise pişirme sonrası duruma göre %78'lik bir *C. perfringens* sayısı artışını temsil etmektedir. Orijinal buzdolabı ve hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan etli kuru fasulye yemeklerinde ise anlamlı bir değişim görülmemekle birlikte, ikinci soğutma sonucunda, pişirme sonrası duruma göre değişim miktarı orijinal buzdolabında soğutulan etli kuru fasulye için %4,5; hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan etli kuru fasulye yemeği için ise %13 olmuştur.

4.2.2. Kıymalı bezelye *C. perfringens* mikrobiyolojik analiz sonuçları

3 adet kıymalı bezelye yemeği pişirildikten sonra 60°C'ye ilk geldikleri anda numune alınmış, daha sonra 15°C'ye soğumaları için farklı ortamlara yerleştirilmiştir. Yemek sıcaklıkları 15°C'ye geldiği anda ise tekrar numune alınarak bu iki sıcaklık arasında *C. perfringens* değişim miktarı belirlenmiştir ve farklı ortamlar ve farklı soğutma hızları için karşılaştırma yapılmıştır. Farklı ortamlarda soğutulmuş kıymalı bezelyelerin 60 ve 15°C sıcaklıklarındaki *C. perfringens* değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

	C. perfringens sayısı (log_{10} kob/g)	
Soğutma Ortamı	60°C	15°C
Ortam Sıcaklığı	3,24±0,46	3,42±0,29
Orijinal Buzdolabı	3,87±0,11	3,96±0,11
Hızlı Soğutmalı Buzdolabı	3,98±0,13	3,81±0,25

Çizelge 4.5 incelendiğinde, kıymalı bezelye yemekleri 60°C'den 15°C'ye soğutulurkenki süreçte ortam sıcaklığında soğutulan yemekte başlangıçtaki *C. perfringens* sayısı 3,24 log_{10} kob/g olmakla birlikte soğutma sırasında artış göstermiş ve 3,42 log_{10} kob/g seviyesine ulaşmıştır. Orijinal buzdolabında soğutulan yemekte başlangıçtaki *C. perfringens* sayısı 3,87 log_{10} kob/g olmakla birlikte soğutulduktan sonraki artışı 0,09 log_{10} kob/g olarak gerçekleşmiştir. Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulmuş olan kıymalı bezelye yemeğinin içerisindeki *C. perfringens*'in başlangıçtaki sayısı 3,98 log_{10} kob/g iken soğutma sırasında azalış göstererek 3,81 log_{10} kob/g seviyelerine ulaşmıştır.

15°C'ye soğutulmuş olan kıymalı bezelye yemekleri, buzdolaplarında 4°C'de 12 saat tutulduktan sonra tekrar ısıtılmak üzere çıkarılmış ve 60°C'ye ısıtılmıştır. 60°C'de iken numune alınan yemek tencereleri tekrardan aynı şekilde 3 farklı ortama konularak 15°C'ye soğutulmuşlar ve 15°C'de tekrar numune alınarak *C. perfringens* sayılarına bakılmıştır. Isıtılmış ve daha sonra hızlı soğutmalı buzdolabı, orijinal buzdolabı ve ortam sıcaklığında soğutulmuş olan kıymalı bezelye yemeklerinde analizi gerçekleştirilen *C. perfringens* sayıları Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6 : Kıymalı bezelye yemeğinin tekrar ısıtıldıktan sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60 ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

	C. perfringens sayısı (log_{10} kob/g)	
Soğutma Ortamı	60°C	15°C
Ortam Sıcaklığı	3,52±0,25	3,41±0,24
Orijinal Buzdolabı	3,72±0,05	3,89±0,05
Hızlı Soğutmalı Buzdolabı	3,84±0,18	3,69±0,26

Çizelge 4.6'daki sonuçlar incelendiğinde, kıymalı bezelye yemeklerinin tekrardan 60°C'ye ısıtıldıktan sonraki *C. perfringens* sayısı sonuçları ve farklı ortamlarda 15°C'ye soğutuldukları andaki *C. perfringens* sayısı sonuçları görülmektedir. Tekrar ısıtma sonucunda ortaya çıkan sonuçlara bakıldığında, daha önce ortam sıcaklığında soğutulmuş olan kıymalı bezelyedeki *C. perfringens* sayısının 3,52 $\log_{10}$ kob/g değerine ulaştığı görülmektedir. 60°C'deki tencere tekrar ortam sıcaklığında soğutulduğunda ise *C. perfringens* sayısı 3,41 $\log_{10}$ kob/g seviyesine gerilemiştir. İlk pişirme sonrasında orijinal buzdolabında soğutulmuş olan kıymalı bezelye yemeğindeki *C. perfringens* sayısı 60°C'ye tekrar ısıtıldığında 3,72 $\log_{10}$ kob/g seviyesinde, 15°C'ye tekrar soğutulduğunda ise 3,89 $\log_{10}$ kob/g seviyesindedir. İlk pişirme sonrasında hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulmuş kıymalı bezelye tekrar 60°C'ye ısıtıldığında *C. perfringens* vejetatif hücre sayısı 3,84 $\log_{10}$ kob/g miktarına ulaşmış, yine hızlı soğutmalı buzdolabında tekrar soğutulduğunda ise 3,69 $\log_{10}$ kob/g seviyesindedir.

Üç ayrı tencere kıymalı bezelye yemeğinin ilk pişirildikleri andan tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar geçen süreçteki numune alımları sonucunda *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları Çizelge 4.7'de gösterilmektedir.

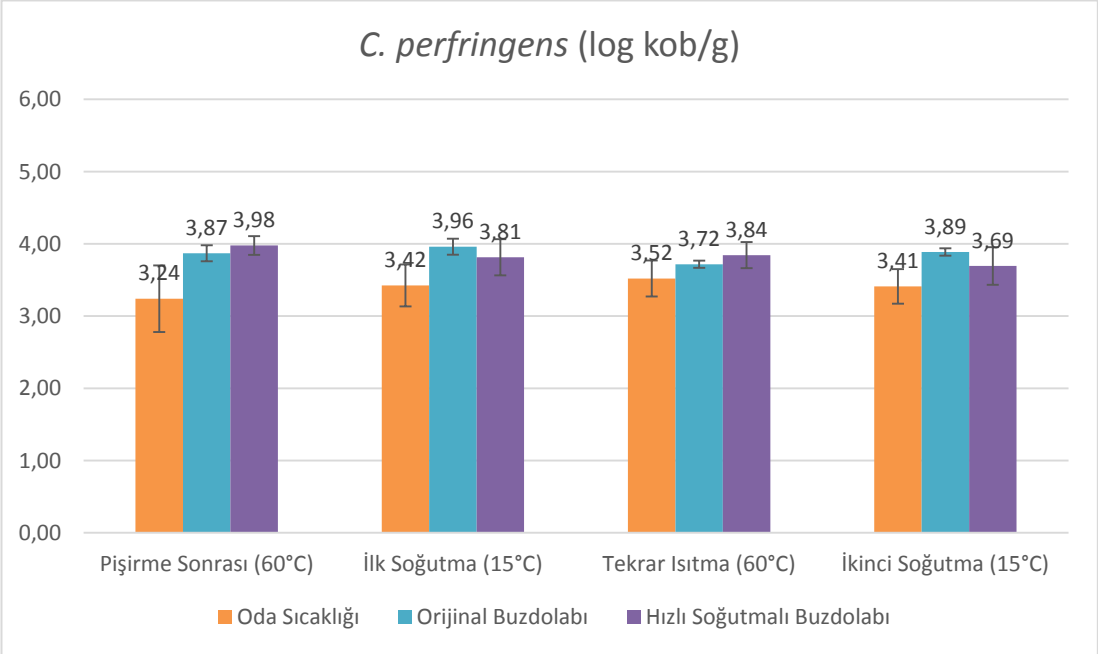
Çizelge 4.7 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirme sonrasından tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları ve Tukey testi karşılaştırmaları

	C. perfringens sayısı ($\log_{10}$ kob/g)		
	Ortam Sıcaklığı	Orijinal Buzdolabı	Hızlı Soğutmalı Buzdolabı
Pişirme Sonrası (60°C)	3,24±0,46[a]	3,87±0,11[a]	3,98±0,13[a]
İlk Soğutma (15°C)	3,42±0,29[a]	3,96±0,11[a]	3,81±0,25[a]
Tekrar Isıtma (60°C)	3,52±0,25[a]	3,72±0,05[a]	3,84±0,18[a]
İkinci Soğutma (15°C)	3,41±0,24[a]	3,89±0,05[a]	3,69±0,26[a]

*Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

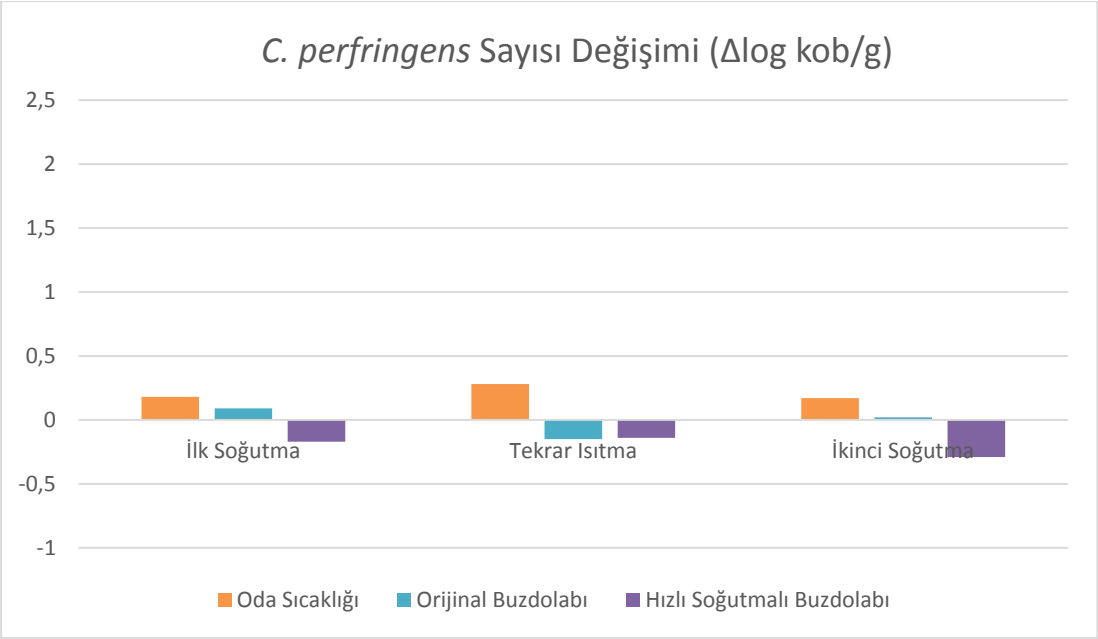
Çizelge 4.7'de de gösterildiği gibi, ortam sıcaklığında, orijinal buzdolabında ve hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan kıymalı bezelye yemeklerinde bulunan *C. perfringens* sayılarında bütün süreçler boyunca anlamlı bir fark görülmemektedir.

Üç tekrarlı tencere kıymalı bezelye yemeğinin ilk pişirildikleri andan tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar geçen süreçteki numune alımları sonucunda *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları grafik halinde Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



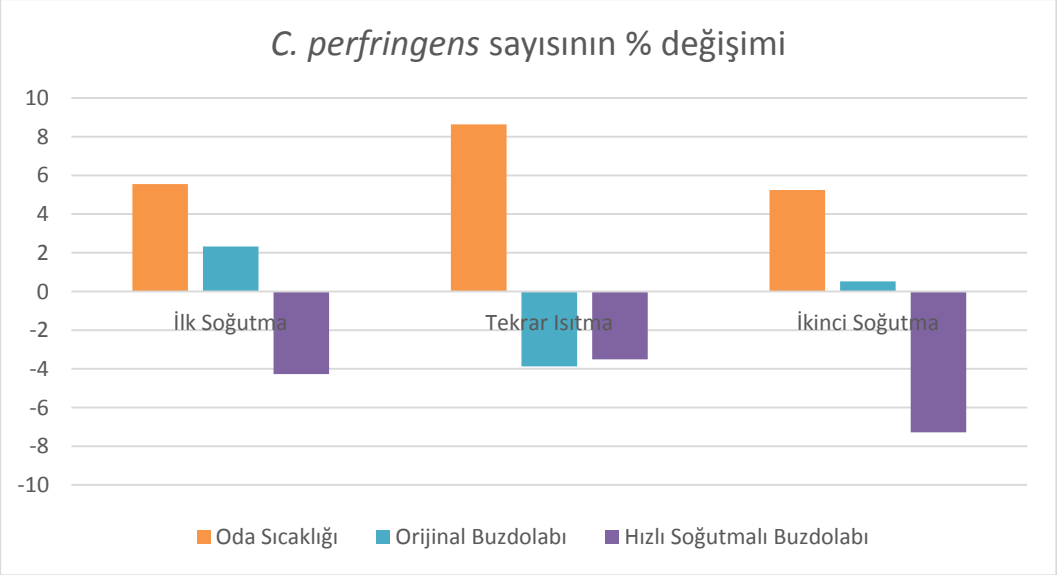
Şekil 4.4 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

Kıymalı bezelye yemeğinin orijinal buzdolabında soğutulma koşuluna bakıldığı zaman ilk soğutmadaki artışın 0,09 $\log_{10}$ kob/g olduğu ve tekrar ısıtma sonucunda 0,24 $\log_{10}$ kob/g kadar düşüş olduğu görülmektedir. Bu düşüşün sebebinin, tekrar ısıtma sırasında bazı *C. perfringens* vejetatif hücrelerinin inaktif hale geçtiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan kıymalı bezelye yemeğinin *C. perfringens* sayısı sonuçlarına bakıldığında 1 $\log_{10}$ kob/g sınırını aşan bir artış görülmemekte ve insan sağlığını tehdit edecek bir tehlike olmadığı söylenebilmektedir. İlk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma sırasında; ilk pişirmeye göre meydana gelen *C. perfringens* sayısındaki değişimlerin gösterimi Şekil 4.5'tedir.



Şekil 4.5 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayılarının değişimi

Şekil 4.6'da, pişirilmiş kıymalı bezelye yemeklerinin *C. perfringens* sayılarının soğutma işlemleri ayrı ayrı oda sıcaklığı, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutmalı buzdolabında gerçekleştiğinde ilk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma sırasındaki değişim yüzdesi gösterilmiştir.



Şekil 4.6 : Kıymalı bezelye yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayısının yüzde değişimi

Şekil 4.5'teki *C. perfringens* sayılarının değişim sonuçları ve Şekil 4.6'daki yüzde değişimlerine bakıldığı zaman, *C. perfringens* sayısının artışının en fazla gerçekleştiği durumun, kıymalı bezelye yemeğinin oda sıcaklığında soğutulduğu durum olduğu görülmektedir. Pişirme sonrası 60°C'de alınan numuneye göre değişimi gösteren grafiklerde, tekrar ısıtma ile birlikte *C. perfringens* sayısında 0,28 $\log_{10}$ kob/g kadar bir artış olduğu görülmektedir. Bu artış miktarı ise pişirme sonrası duruma göre %8,6'lık bir *C. perfringens* sayısı artışını temsil etmektedir. Orijinal buzdolabı ve hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan kıymalı bezelye yemeklerinde ise anlamlı bir artış görülmemektedir.

4.2.3. Tavuklu patates *C. perfringens* mikrobiyolojik analiz sonuçları

Üç adet tavuklu patates tenceresi pişirildikten sonra, tavuklu patatesler 60°C'ye ilk geldikleri anda numune alınmış, daha sonra 15°C'ye soğumaları için farklı ortamlara yerleştirilmiştir. Yemek sıcaklıkları 15°C'ye geldiği anda ise tekrar numune alınarak bu iki sıcaklık arasında *C. perfringens* artış miktarı belirlenmiştir ve farklı ortamlar için karşılaştırma yapılmıştır. Farklı ortamlarda soğutulmuş tavuklu patates yemeklerinin 60°C ve 15°C sıcaklıklarındaki *C. perfringens* değerleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* miktarları

	C. perfringens sayıları ($\log_{10}$ kob/g)	
Soğutma Ortamı	60°C	15°C
Ortam Sıcaklığı	2,86±0,18	3,29±0,18
Orijinal Buzdolabı	3,42±0,32	3,44±0,23
Hızlı Soğutmalı Buzdolabı	3,42±0,16	3,26±0,36

Çizelge 4.8'e bakıldığında, tavuklu patates yemekleri 60°C'den 15°C'ye soğutulurkenki süreçte ortam sıcaklığında soğutulan yemekteki başlangıçtaki *C. perfringens* miktarı 2,86 $\log_{10}$ kob/g olmakla birlikte soğutulduktan sonraki artışı 0,43 $\log_{10}$ kob/g ve orijinal buzdolabında soğutulan yemekte başlangıçtaki *C. perfringens* sayısı 3,42 $\log_{10}$ kob/g olmakla birlikte soğuma sırasındaki artışı 0,02 $\log_{10}$ kob/g olarak gerçekleşmiştir. Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulmuş olan

tavuklu patates yemeğinin içerisindeki *C. perfringens*'in başlangıçtaki sayısı 3,42 $\log_{10}$ kob/g iken soğutma sırasında azalış göstererek 3,26 $\log_{10}$ kob/g miktarına düşmüştür.

15°C'ye soğutulmuş olan tavuklu patates yemekleri, buzdolaplarında 4°C'de 12 saat tutulduktan sonra tekrar ısıtılmak üzere buzdolaplarından çıkarılmış ve 60°C'ye ısıtılmıştır. 60°C'de iken numune alınan yemek tencereleri tekrardan aynı şekilde 3 farklı ortama konularak 15°C'ye soğutulmuşlar ve 15°C'de tekrar numune alınarak *C. perfringens* sayılarına bakılmıştır. Isıtılmış ve daha sonra hızlı soğutmalı buzdolabı, orijinal buzdolabı ve ortam sıcaklığında soğutulmuş olan tavuklu patates yemeklerinde analizi gerçekleştirilen *C. perfringens* sayıları Çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9 : Tavuklu patates yemeğinin tekrar ısıtıldıktan sonra farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* miktarları

	C. perfringens sayıları ($\log_{10}$ kob/g)	
Soğutma Ortamı	60°C	15°C
Ortam Sıcaklığı	3,44±0,08	3,73±0,05
Orijinal Buzdolabı	3,31±0,11	3,50±0,07
Hızlı Soğutmalı Buzdolabı	3,15±0,11	3,48±0,24

Çizelge 4.9'daki sonuçlara bakıldığında, tavuklu patates yemeklerinin tekrardan 60°C'ye ısıtıldıktan sonraki *C. perfringens* sayısı sonuçları ve farklı ortamlarda 15°C'ye soğutuldukları andaki *C. perfringens* sayısı sonuçları görülmektedir. Tekrar ısıtma sonucunda ortaya çıkan sonuçlara bakıldığında, daha önce ortam sıcaklığında soğutulmuş olan tavuklu patatesteki *C. perfringens* sayısının 3,44 $\log_{10}$ kob/g değerine ulaştığı görülmektedir. 60°C'deki tencere tekrar ortam sıcaklığında soğutulduğunda ise *C. perfringens* sayısı 3,73 $\log_{10}$ kob/g seviyelerine yükselmiştir. İlk pişirme sonrasında orijinal buzdolabında soğutulmuş olan tavuklu patates yemeğindeki *C. perfringens* sayısı 60°C'ye tekrar ısıtıldığında 3,31 $\log_{10}$ kob/g seviyesinde, 15°C'ye tekrar soğutulduğunda ise 3,50 $\log_{10}$ kob/g seviyesindedir. İlk pişirme sonrasında hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulmuş tavuklu patates tekrar 60°C'ye ısıtıldığında *C. perfringens* vejetatif hücre sayısı 3,15 $\log_{10}$ kob/g miktarına ulaşmış, yine hızlı soğutmalı buzdolabında tekrar soğutulduğunda ise 3,48 $\log_{10}$ kob/g seviyesindedir.

3 tencere tavuklu patates yemeğinin ilk pişirildikleri andan tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar geçen süreçteki numune alımları sonucunda *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları Çizelge 4.10'da gösterilmektedir.

Çizelge 4.10 : Tavuklu patates yemeğinin pişirme sonrasından tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları ve Tukey testi karşılaştırmaları

	C. perfringens sayısı (log_{10} kob/g)		
	Ortam Sıcaklığı	Orijinal Buzdolabı	Hızlı Soğutmalı Buzdolabı
Pişirme Sonrası (60°C)	2,86±0,18^{a}	3,42±0,32^{a}	3,42±0,16^{a}
İlk Soğutma (15°C)	3,29±0,18^{ab}	3,44±0,23^{a}	3,26±0,36^{a}
Tekrar Isıtma (60°C)	3,44±0,08^{b}	3,31±0,11^{a}	3,15±0,11^{a}
İkinci Soğutma (15°C)	3,73±0,05^{b}	3,50±0,07^{a}	3,48±0,24^{a}

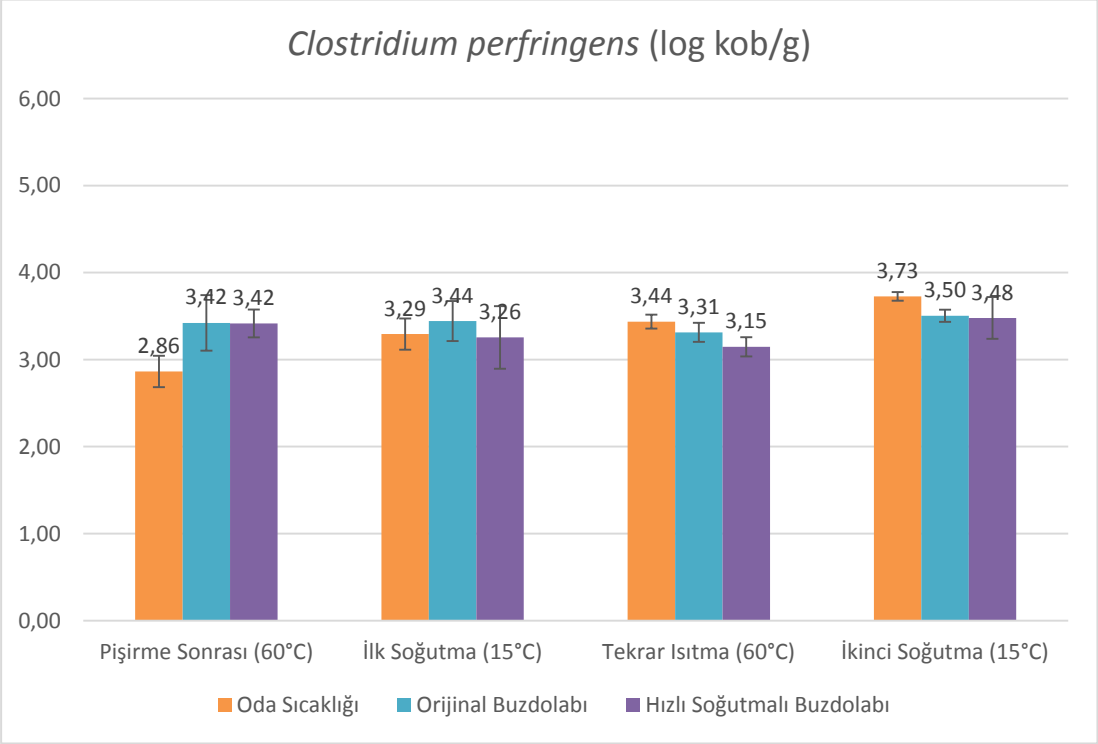
*Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.10'da da gösterildiği gibi orijinal buzdolabında ve hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan tavuklu patates yemeklerinde bulunan *C. perfringens* sayılarında bütün süreçler boyunca anlamlı bir fark görülmemektedir.

Tukey testi karşılaştırmalarına göre tavuklu patates yemeğinin ortam sıcaklığında ilk soğutma sırasında *C. perfringens* sayısı artış göstermiş olsa da istatistiksel anlamda önemli bir artış gerçekleşmemiştir. Ancak tekrar ısıtma sırasında 3,44 log_{10} kob/g seviyelerine ulaşan *C. perfringens* sayısı, pişirme sonrası *C. perfringens* sayısından istatistiksel anlamda farklıdır. İkinci soğutma sırasında ise tekrar ısıtma sonucundaki *C. perfringens* sayısına göre istatistiksel anlamda değişim gerçekleşmemiştir.

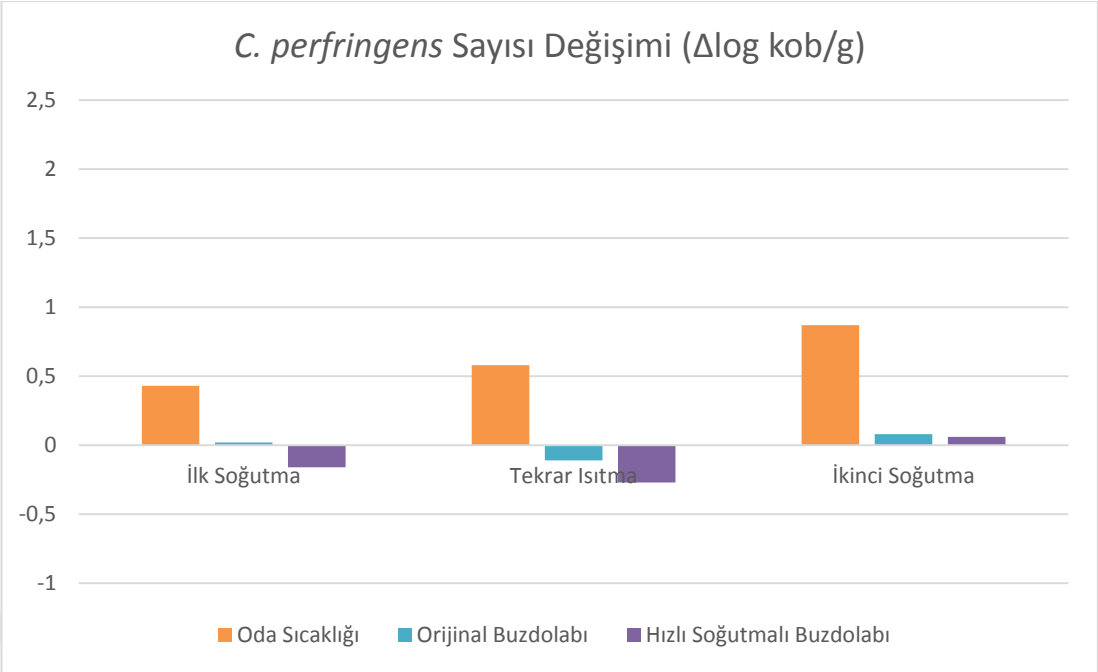
3 tencere tavuklu patates yemeğinin ilk pişirildikleri andan tekrar ısıtılıp soğutuldukları ana kadar geçen süreçteki numune alımları sonucunda *C. perfringens* vejetatif hücre sayıları grafik halinde Şekil 4.7'te gösterilmektedir. Şekil 4.7'te sürecin tümüne bakıldığında, ortam sıcaklığında soğutulan tavuklu patateste bulunan *C. perfringens* sayısı pişirildikten sonraki 60°C'de yapılmış analizde 2.86 log_{10} kob/g iken, tekrar 60°C'ye ısıtılıp soğutulduğunda 3,73 log_{10} kob/g'a ulaştığı görülmektedir. Ortam sıcaklığında ilk önce 25°C'ye, ardından buzdolabında 15°C'ye

7,2 saatte soğutulmuş olan kıymalı bezelyede tekrar ısıtılıp soğutulma sonucu *C. perfringens* sayısındaki artış 0,86 $\log_{10}$ kob/g olarak gerçekleşmiştir.



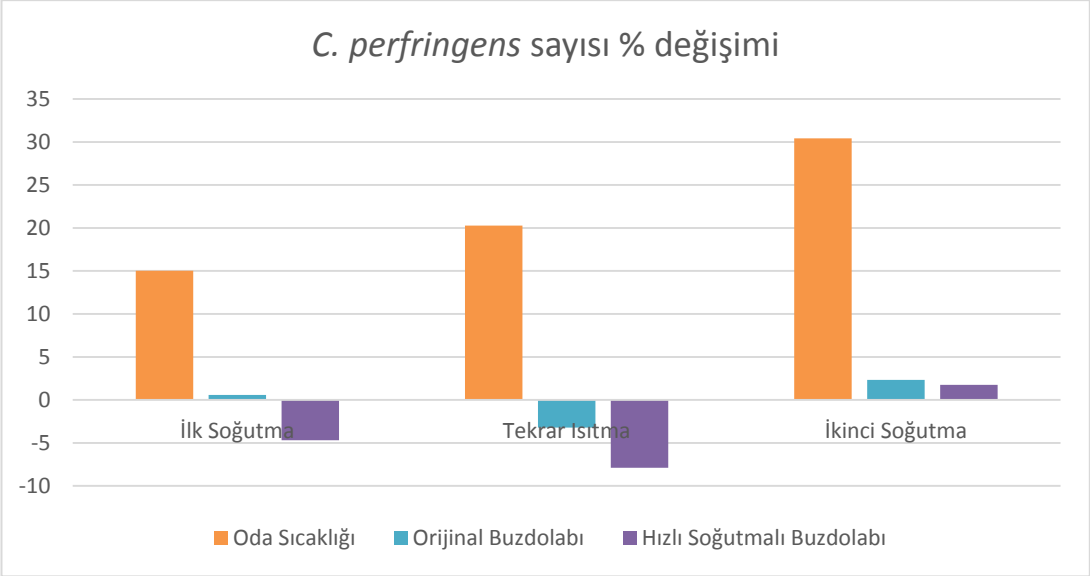
Şekil 4.7 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayıları

Tavuklu patates yemeğinin orijinal buzdolabında soğutulma koşuluna bakıldığı zaman ilk soğutmadaki artışın 0,02 $\log_{10}$ kob/g olduğu ve tekrar ısıtma sonucunda 0,13 $\log_{10}$ kob/g kadar düşüş olduğu görülmektedir. Bu düşüşün sebebinin, tekrar ısıtma sırasında bazı *C. perfringens* hücrelerinin inaktif hale geçtiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan tavuklu patates yemeğinin *C. perfringens* sayısı sonuçlarına bakıldığında önemli bir artışın gerçekleşmediği görülmektedir. İlk pişirme, ilk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma sırasında meydana gelen *C. perfringens* sayılarındaki değişimlerinin gösterimi Şekil 4.8'dedir.



Şekil 4.8 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayılarının değişimi

Şekil 4.9'da, pişirilmiş tavuklu patates yemeklerinin *C. perfringens* miktarlarının soğutma işlemleri ayrı ayrı oda sıcaklığı, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutmalı buzdolabında gerçekleştiğinde ilk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma sırasındaki değişimi yüzdelik olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.9 : Tavuklu patates yemeğinin pişirildikten sonra soğutulması ve 12 saat sonrasında tekrar ısıtılıp farklı ortamlarda soğutulması sonucu 60°C ve 15°C'deki *C. perfringens* sayısının yüzde değişimi

Şekil 4.8'deki *C. perfringens* sayılarının değişim sonuçları ve Şekil 4.9'daki yüzde değişimlerine bakıldığı zaman, *C. perfringens* sayısının artışının en fazla gerçekleştiği durumun, tavuklu patates yemeğinin oda sıcaklığında soğutulduğu durum olduğu görülmektedir. Pişirme sonrası 60°C'de alınan numuneye göre değişimi gösteren grafiklerde, ikinci soğutma ile birlikte *C. perfringens* sayısında 0,87 $\log_{10}$ kob/g kadar bir artış olduğu görülmektedir. Bu artış miktarı ise pişirme sonrası duruma göre %30'luk bir *C. perfringens* sayısı artışını temsil etmektedir. Orijinal buzdolabı ve hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan tavuklu patates yemeklerinde ise anlamlı bir artış görülmemekle birlikte, ikinci soğutma sonucunda, pişirme sonrası duruma göre değişim miktarı orijinal buzdolabında soğutulan tavuklu patates için %2,3; hızlı soğutmalı buzdolabında soğutulan tavuklu patates yemeği için ise %1,7 olmuştur.

4.2.4. Bulguların literatür ile karşılaştırılarak tartışılması

Doyle (2002)'nin bilimsel literatür incelemesinde ve USDA-FSIS (1999)'in düzenlemiş olduğu uygunluk kuralları çerçevesinde gıdaların soğutulması sırasında insanların sağlığını tehdit edecek bir tehlike oluşmaması için *C. perfringens* sayısının 1 $\log_{10}$ kob/g'dan daha fazla artış göstermemesi gerektiği belirtilmiştir.

Etli kuru fasulye yemeği için ilk soğutmada belirtilmiş olan *C. perfringens* sayısına bakıldığı zaman, hiçbir soğutma ortamında 1 $\log_{10}$ kob/g kadar artış gerçekleşmediği görülmektedir. Tekrar ısıtılıp soğutulan etli kuru fasulye yemeğindeki *C. perfringens* sayılarına bakıldığında; tekrar ısıtma sırasında, ortam sıcaklığında soğutulmuş olan etli kuru fasulye yemeğindeki *C. perfringens* sayısındaki artış 1,94 $\log_{10}$ kob/g olarak gerçekleşmiştir. Bu artış miktarı USDA-FSIS'in belirlemiş olduğu uygunluk kurallarına uymayarak 1 $\log_{10}$ kob/g artışın üzerinde bir artış gerçekleşmiştir. Bu koşullarda, ortam sıcaklığında soğutulup tekrar ısıtılan etli kuru fasulye yemeği insan sağlığı için tehdit oluşturarak hastalanmaya sebep olabilmektedir.

Kıymalı bezelye yemeğinde gerçekleştirilen mikrobiyolojik analiz sonuçlarında ise ilk soğutma, tekrar ısıtma ve ikinci soğutma süreçlerinde en fazla *C. perfringens* sayıları artışı, oda sıcaklığında yavaş soğutulan kıymalı bezelye yemeğinde görülmüş; ancak bu artış USDA-FSIS'in belirlediği 1 $\log_{10}$ kob/g artış sınırını geçmemiştir.

Sıcak tavuklu patates yemeğinin farklı soğutma hızları ile soğutulması, tekrar ısıtılması ve tekrar soğutulması sırasında gerçekleşen *C. perfringens* sayısındaki değişimlere bakıldığında, yine en fazla artışın oda sıcaklığında soğutulan tavuklu patateste gerçekleştiği görülmektedir. Yemeğin ilk pişme anına göre en fazla artışın ikinci soğutma sırasında gerçekleştiği görülmekte; ancak bu artışın da 0,87 $\log_{10}$ kob/g seviyesinde olması ile USDA-FSIS'in belirlediği 1 $\log_{10}$ kob/g artış sınırını geçmemiştir.

Coorey ve diğ. (2018)'ne göre ise 5 $\log_{10}$ kob/g kadar *C. perfringens* vejetatif hücresi içeren gıdaların tüketilmesi insanda zehirleyici etkiler yaratarak karın krampları, ishal ve mide bulantısına sebep olabilmektedir.

Etli kuru fasulye yemeklerinin ortam sıcaklığında soğutulmuş olanında ikinci soğutma sonucunda 5,20 $\log_{10}$ kob/g miktarlarına ulaşan *C. perfringens* sayısı Coorey ve diğ. (2018)'nin çalışmalarında belirttikleri 5 $\log_{10}$ kob/g miktarının üzerinde bir sonuç ortaya çıkarmış ve bu sonuç ile ortam sıcaklığında soğutulan etli kuru fasulye insan sağlığını tehdit etmektedir.

Kıymalı bezelye ve tavuklu patates yemeklerindeki *C. perfringens* sayıları ise bütün ortamlar ve bütün süreçlerde 5 $\log_{10}$ kob/g sınırının altında kalmış olup Coorey ve diğ. (2018)'nin belirlediği limiti geçmemiştir.

5. SONUÇ

C. perfringens çok sayıda toksin üretebilen, ısıya karşı dayanıklı spor oluşturabilen ve çok hızlı şekilde çoğalabilen patojenik bir mikroorganizmadır. *C. perfringens*, çevrede geniş alanlara dağılmış olup, insan ve evcil hayvanların bağırsaklarında düşük miktarlarda ortaya çıkmaktadır. Vejetatif hücreler ve özellikle organizmanın sporları toprakta ve insan veya hayvan dışkı kirliliğine maruz kalan alanlarda yaşamını sürdürür. Herhangi bir çiğ gıda, özellikle kırmızı etler, kümes hayvanları ve deniz ürünleri, bu bakterinin vejetatif hücreleri veya sporlarını içerebilir. *C. perfringens*'in sporları, ısıya dirençleri bakımından diğer mikroorganizmalara göre büyük ölçüde farklılık gösterir. *C. perfringens*'in ısıya dayanıklı sporlarının 100°C'de 1 saat süreyle yaşayabildiği gösterilmiştir.

Kontamine olmuş gıdalarda *C. perfringens*'in hızlı bir şekilde çoğalmasının sıcaklık ile açıklanabileceği savunulmaktadır. Yemeğin pişirildikten sonra ortam sıcaklığında yavaşça soğumaya bırakılması ya da yemeğin soğutulduğu bir ekipman (buzdolabı vb.) var ise, yetersiz ve yavaş bir soğutma sistemine sahip olması sebebiyle *C. perfringens*'in çoğalma sıcaklığı olan 60-15°C arasında uzun süreler geçirilmesi, bu mikroorganizmanın hızlıca çoğalmasını teşvik etmektedir. Ayrıca yemek soğutulduktan sonra tekrar ısıtılırsa, yemeğin içerisinde çoğalmış olan vejetatif hücreler tekrar sporülasyon döngüsüne girecek ve enterotoksin salgılanacaktır.

Bu tez çalışmasında, 3 farklı yemeğin hem ilk pişirildikten sonra hem de tekrar ısıtıldıktan sonra 3 farklı ortamda soğutulması sonucunda *C. perfringens* sayısında sebep olacağı değişiklikler incelenmiştir. Etli kuru fasulye, kıymalı bezelye ve tavuklu patates yemekleri pişirildikten sonra 60°C'ye soğutulup numune alınmış, daha sonra ortam sıcaklığı, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabı olmak üzere 3 farklı ortamda soğumaya bırakılmıştır. Ortam sıcaklığına bırakılan yemekler, 25°C'ye ulaştıktan sonra buzdolabına konularak 15°C'ye soğutulmuş ve numune alınmış, orijinal buzdolabı ve hızlı soğutma özelliği bulunan buzdolabında soğutulan yemekler de 15°C'ye soğuduklarında numune alınarak *C. perfringens* sayısının belirlenmesi ile mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Yemekler

buzdolaplarında bırakılıp 4°C'ye soğutulmuş, 12 saat sonra dolaptan çıkarılıp 60°C'ye tekrar ısıtıldıktan sonra numune alınarak yine aynı şekilde farklı ortamlara soğumaya bırakılmış ve 15°C'de numune alınmıştır. Mikrobiyolojik analizler sonucunda ortaya çıkan tablolara göre, ortam sıcaklığında 7,2 saatte soğutulmuş yemeklerde; orijinal buzdolabında 5,8 saatte soğutulan ve hızlı dondurma özelliği bulunan buzdolabında 2,9 saatte soğutulan yemeklere göre daha fazla *C. perfringens* artışı gözlenmiştir. Bu artış yemeğin ilk soğutulma aralığında değil, daha çok tekrar ısıtma sırasında görülmüştür. Bunun sebebi *C. perfringens* patojen mikroorganizmasının ilk soğutma sırasında gelişme fazlarından başlangıç fazında bulunması ve tekrar ısıtıldığı zaman çoğalma fazına geçmiş olması gösterilebilir. *C. perfringens* sayısı değişimi yemekten yemeğe göre değişiklik göstermekle birlikte, bazı durumlarda tekrar ısıtılma sonucunda USDA-FSIS'in belirlemiş olduğu 1 $\log_{10}$ kob/g sınırını da geçmekte ve insan sağlığını tehdit edecek boyuta ulaşmaktadır. Örneğin, etli kuru fasulye yemeğinde gözlemlenen, pişirme sonrası 60°C'de alınmış numuneye göre değişim gözlemlenmiş ve tekrar soğutma sonucunda toplam %78'lik bir *C. perfringens* sayısı artışı görülmüştür. %78'lik *C. perfringens* sayısının artışının 2,29 $\log_{10}$ kob/g miktarına denk geldiği görülmektedir ve insan sağlığını tehdit etmekte olduğu kriterlerce bilinmektedir. Yemeklerde ilk soğutma ve tekrar soğutma sırasında belirgin bir *C. perfringens* artışı gözlenmemiştir. Yemeklerin soğutulmaları ve tekrar ısıtılmaları sırasındaki artış miktarları, yemeklerde bulunan ilk *C. perfringens* sayıları ile de alakalı olmaktadır. Bu bakımdan, ısıtma ve soğutma sırasında 1 $\log_{10}$ kob/g sınır olarak belirtilen artış miktarı ile birlikte 5 $\log_{10}$ kob/g *C. perfringens* bulunma sınırı da göz ardı edilmemelidir. Eğer bir insan 1 $\log_{10}$ kob/g artış gerçekleşmeden, içerisinde 5 $\log_{10}$ kob/g miktarında *C. perfringens* bulunan gıdayı tüketirse de zehirlenme riski ile karşı karşıya kalabilmektedir.

Hızlı soğutma sağlayabilen buzdolabı sayesinde hem yeni pişirilmiş sıcak yemekler buzdolabına konularak hızlı bir şekilde soğutulabilmekte ve mikrobiyolojik çoğalmayı sınırlayabilmekte; hem de buzdolabının iç sıcaklık salınımını sabit tutmaya çalışarak diğer gıdaların yüksek sıcaklıklara maruz kalmasını mümkün olduğunca engellemektedir. Çalışma kapsamında, gelecekte, buzdolabına sıcak yemekler konulmadan önce buzdolabında bulunan gıdaların; sıcak yemek yerleştirildikten sonraki süreçte mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmesi ve raf ömrü testleri gerçekleştirilmesi planlanmaktadır. Orijinal buzdolabına yerleştirilen

sıcak yemeklerin buzdolabının iç sıcaklığını yükselteceği ve diğer gıdaların raf ömürlerini kısaltacağı düşünülmektedir. Hızlı soğutmalı buzdolabına yerleştirilecek sıcak yemekler ise hızlı bir şekilde soğutulacağından, diğer gıdalar sıcaklık salınımına maruz kalmayacak ve raf ömürleri orijinal buzdolabındakilere göre daha uzun olacaktır.

KAYNAKLAR

Adak, G. K., Djuretic, T., Douglas, C., Evans, H. S., Madden, P., O'Brien, S. J., & Stanwell-Smith, R. (1998). General outbreaks of infectious intestinal disease in England and Wales, 1995 and 1996. *Communicable Disease and Public Health*, *1*, 165-175

Andersen, K. G., Hansen, T. B., & Knöchel, S. (2004). Growth of heat-treated enterotoxin-positive *C. perfringens* and the implications for safe cooling rates. *Journal of food protection*, *67*(1), 83-89

Attrey, D. P. (2017). Safe storage and cooking practices for foods of animal origin in home kitchen before consumption. *Food Safety in the 21st Century*, Academic Press, 229-240

Bejerholm, C., Tørngren, M. A., & Aaslyng, M. D. (2014). Cooking of meat| Cooking of Meat. *Encyclopedia of meat sciences*, 370-376

Bennett, S. D., Walsh, K. A., & Gould, L. H. (2013). Foodborne Disease Outbreaks Caused by Bacillus cereus, *C. perfringens*, and *S. aureus*—United States, 1998–2008. *Clinical Infectious Dieseases*, *57*(3), 425-433. doi:10.1093/cid/cit244

Brynestad, S., & Granum, P. E. (2002). *C. perfringens* and foodborne infections. *International journal of food microbiology*, *74*(3), 195-202.

Coorey, R., Ng, D. S. H., Jayamanne, V. S., Buys, E. M., Munyard, S., Mousley, C. J., ... & Dykes, G. A. (2018). The Impact of Cooling Rate on the Safety of Food Products as Affected by Food Containers. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *17*(4), 827-840

Crouch, E., & Golden, N. J. (2015). *A Risk Assessment for C. perfringens in Ready-to-Eat and Partially Cooked Meat and Poultry Products.* USA, United States Department of Agriculture, Office of Public Health Science

DeJong, A. E. I., Rombouts, F. M., & Beumer, R. R. (2004). Effect of cooling on *C. perfringens* in pea soup. *Journal of food protection*, *67*(2), 352-356.

Doyle, E. (2002). Survival and growth of *C. perfringens* during the cooling step in thermal processing of meat products: a review. *Food Research Institute, University of Wisconsin, United States http://www. wisc. edu/fri/briefs/cperfsurvivgrow. pdf*.

FDA (2005). Cooling. Food Code. U. S. Department of Health and Human Services Public Health Service, College Park, MD: Food and Drug Administration, 80-81.

Freedman, J., Shrestha, A., & McClane, B. (2016). *C. perfringens* enterotoxin: action, genetics, and translational applications. *Toxins*, *8*(3), 73

Hauschild, A. H. W. (1973). Food poisoning by *C. perfringens*. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, *6*(2), 106-110.

Huang, L. (2015). Dynamic determination of kinetic parameters, computer simulation, and probabilistic analysis of growth of *C. perfringens* in cooked beef during cooling. *International journal of food microbiology*. *195*, 20-29.

Johnson, C. C. (1989). *C. perfringens* food poisoning

Käferstein, F. (2003). Foodborne diseases in developing countries: aetiology, epidemiology and strategies for prevention. *International Journal of Environmental Health Research*, *13*(sup1), 161-168

Labbe, R., Juneja, V. K., & Blaschek, H. P. (2014). *C. perfringens*. In *Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol. 1, 433-445. Elsevier. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00068-9

Labbe, R. G., & Juneja, V. K. (2017). *C. perfringens*. *Foodborne diseases*, 235-242. Academic Press

Labbé, R. G. (2003). CLOSTRIDIUM| Occurrence of *C. perfringens*.

Li, J., McClane, B. A. & Robertson, S. L. (2013). *C. perfringens*. *Food microbiology: fundamentals and frontiers, ASM Press, Washington, DC*, 4, 465-489

McClane, B.A. (2014). *C. perfringens*. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition) (Vol. 1, pp. 987-988). Pittsburgh, PA: Elsevier. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00081-6

Mohr, T. B. (n.d.). *Evaluating Cooling Deviations in Cooked/Heat-Treated Meat and Poultry Products*, p. 5, USA, United States Department of Agriculture, Office of Public Health Science

Mohr ve T. B., & Silverman, M. (n.d.). *The Stabilization of Cooked/Heat-Treated Meat and Poultry Products and the Use of Cooling Models* (USA, United States Department of Agriculture, Office of Public Health Science

Novak, J. S., & Juneja, V. K. (2002). *C. perfringens*: hazards in new generation foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *3*(2), 127-132

Petit, L., Gibert, M., & Popoff, M. R. (1999). *C. perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends in microbiology*, *7*(3), 104-11

Popoff, M. R. (2014). Detection of Enterotoxin of *C. perfringens.* Encyclopedia of Food Microbiology (Vol. 1, p. 474). Elsevier. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00069-0

Scott, E. (1996). Foodborne disease and other hygiene issues in the home. *Journal of Applied Bacteriology*, *80*(1), 5-9

Scott, E. (2001). The potential benefits of infection control measures in the home. *American journal of infection control*, *29*(4), 247-249.

Scott, E. (2003). Food safety and foodborne disease in the 21st century. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, *14*(5), 277-280.

Silverman, G. J. (1979). Establishing and maintaining microbiological standards in food service systems. *Food Service Systems*, 379-404

Steele, F. M., & Wright, K. H. (2001). Cooling rate effect on outgrowth of *C. perfringens* in cooked, ready-to-eat turkey breast roasts. *Poultry science*, *80*(6), 813-816.

Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L., & Johnson, T. R. (2004). *Microbiology: an introduction* (Vol. 9). San Francisco, CA: Benjamin Cummings.

Türk Gıda Kodeksi. (2011). Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. *Resmi Gazete, Tebliğ*, (2009/6).

USDA Food Safety and Inspection Service [USDA-FSIS]. (1999). Performance standards for the production of certain meat and poultry products. Fed. Regist. 64 (3), 732–749

Willey, J. M., Sherwood, L., Woolverton, C. J. and Prescott, L. M. (2008). Harley, and Klein's Microbiology. New York: McGraw-Hill Higher Education, p. 138 Print

Zaika, L. L. (2003). Influence of NaCl content and cooling rate on outgrowth of *C. perfringens* spores in cooked ham and beef. *Journal of food protection*, *66*(9), 1599-1603.

Zhao, C., Liu, Y., Lai, S., Cao, H., Guan, Y., San Cheang, W., ... & Capanoglu, E. (2019). Effects of domestic cooking process on the chemical and biological properties of dietary phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad **:** Cihan Kaan COŞKUN

Doğum Tarihi ve Yeri **:** 12.06.1993 / ANKARA

E-posta **:** c.kaan.coskun@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Yüksek Lisans :** 2018, Bahçeşehir Üniversitesi, MBA
- **Lisans :** 2017, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM:

- Nisan 2017'den itibaren ARÇELİK A.Ş. ARGE departmanında mesleki deneyimini devam ettirmektedir.