

Bazı Dondurulmuş Sebzelerin Mikrobiyal Florasının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma

Ahmet Doğan DUMAN

KSÜ Ziraat Fakültesi
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü
Kahramanmaraş

Bülend EVLİYA

ÇÜ Ziraat Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü
Adana

Özet

Bu çalışmada, Marmara bölgesinde dondurulmuş gıda üretimi yapan ve Türkiye çapında satışa sunulan; bamya (*Hibiscus esculantus*), bezelye (*Pisum sativum*), yeşil fasulye (*Phaseolus vulgaris*), ıspanak (*Spinacia oleracea*) ve patatesten (*Solanum tuberosum*) oluşan toplam 50 adet (25 kg) haşlanarak dondurulmuş sebze örneği kullanılmıştır. Bu dondurulmuş sebzelerde; küf, maya, koliform grubu organizmaların ve total mezofil aerobik mikroorganizma sayımı, izolasyonu ve belirlenmesine çalışılmıştır.

Dondurulmuş sebze örneklerinin hiçbirinde küf, maya ve koliform bakteri bulunmamıştır. Koliform grubu organizmaların bulunmaması herhangi bir dışkı kontaminasyonun olmadığını göstermiştir. Örneklerdeki ortalama total mezofil aerobik mikroorganizma sayımları sırasıyla; bezelyede 3.6×10^3 kob/g, yeşil fasulyede 2.1×10^3 kob/g, ıspanakta 4.4×10^3 kob/g ve pateteste 2.9×10^3 kob/g olarak bulunmuştur.

Sebzelerden genel olarak; *Achromobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Micrococcaceae* ve *Pseudomonadaceae* ait bakteriler izole edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dondurulmuş Sebzeler, Mikrobiyal Flora

A Research on the Microflora of some Frozen Vegetables

Abstract

In this study, 50 unit (25 kg) blanched and frozen vegetables samples, which are okra, peas, green beans, spinach, and potatoes, manufactured in Marmara region and sold in Turkish markets, were used. In these frozen vegetables; mould, yeast, coliform and total mesophile aerobic microorganism were determined and counted.

No mould, yeast and coliform bacteria were found in frozen vegetables, where as total mesophile aerobic microorganism in samples were found. Not being present any coliform group microorganism in samples is to reveal that there is no fecal contamination. Total mesophile aerobic microorganism in samples were found to be 3.6×10^3 cfu/g in peas, 2.2×10^3 cfu/g green beans, 4.4×10^3 cfu/g in spinach, and 2.9×10^3 cfu/g in potatoes.

Generally, bacteria belonging to family of *Achromobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Micrococcaceae*, and *Pseudomonadaceae* were isolated from blanched and frozen vegetables.

Key Words: Frozen Vegetables, Microbial Flora

Giriş

Gıdaların dayandırılmasında uygulanan bütün yöntemlerin amacı; kimyasal reaksiyon ve enzim aktivitesinin geciktirilmesi, mikroorganizmaların gelişmesinin kontrol altına alınmasıdır. Son yıllarda gıdaların dondurularak işlenmesi önemli saklama yöntemlerinden birisi olmuştur. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde; hızlı dondurulmuş (quick-frozen) veya derin dondurulmuş (deep-frozen) gıdaların tüketimi giderek artmaktadır.

Dondurulmuş gıdalar, temiz, ayıklanmış ve kesilmiş, tüketime hazır şekilde olmaları, tüm hazırlama işçiliğinin yapılmış olması nedeniyle ikinci bir mutfak işçiliğine gerek duyulmaması, fiyatının temizleme ve diğer firelerinin dikkate alındığında, çarşıdan alınan “taze adlı” gıdaya veya konserveye göre daha ekonomik olması, gerektiği miktarda kullanılabilme özelliğine sahip olmaları nedenleri ile büyük avantajlara sahiptir.

Yurdumuzda da son yıllarda tarımsal ürünlerin dış satımı özellikle meyve ve sebzelerin soğukta veya donmuş olarak saklanması konusunda büyük bir eğilim belirmiştir. Türkiye meyve ve sebze üretimi bakımından büyük bir potansiyele sahiptir. Ancak üretimin yaklaşık %25-30'u tüketilmeden bozulmaktadır. Kısa ve uzun dönemde Türkiye'nin yurt dışına dondurulmuş olarak satabileceği meyve ve sebze çeşitlerinin belirlenmesi, planlı bir çalışma ve dış pazarların genişletilmesiyle tüketilmeden bozulan taze meyve ve sebzelerin dış ülkelere satılması ve döviz kazanımı olasıdır (Müftügil, 1984).

Ülkemizde dondurulmuş gıda üretimi yapan 26 firma bulunmaktadır. Bu üretici firmaların büyük çoğunluğu da ihracat yapmaktadır. İç tüketim hala yetersiz olmakla birlikte her geçen gün artmaktadır. Avrupa'nın bazı ülkelerinde kişi başına tüketim 40-50 kg'a kadar çıkarken Türkiye'de 200 g civarındadır (Aslan, 1995).

Sebzeler içerdikleri besin maddelerinden dolayı bakteri, küf ve maya gelişmesine uygun bir ortam olup, bütün bu organizmalar tarafından kolayca bozulabilmektedir. Sebzelerin %90-95 gibi yüksek oranlarda su düşük oranlarda karbonhidrat ve yağ içermeleri ise suyun mikroorganizmalar tarafından kullanımını kolaylaştırmaktadır (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Taze sebzelerin pH değerleri meyvelerden daha yüksek ve nötrale yakın oldukları için, taze sebzelerin yüzey mikrofloralarını çoğunlukla bakteriler oluşturur. Bu bakımdan bakteriler arasında özellikle; *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus* ve *Micrococcus* cinsleri çok yaygın bulunur. Dondurulmuş sebze, meyve ve bunların ürünlerinin mikrofloralarını *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Arthrobacter*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* cinslerinden çeşitli türler oluşturur (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Weiser ve ark. (1971) tarafından yapılan bir araştırmaya göre; dondurulmuş kuşkonmaz, bezelye, taze fasulye ve bazı tahıllarda depolamanın ilk altı haftasından sonra mikroorganizma sayısının önemli oranda azaldığını saptamıştır.

Fennema ve ark. (1973), dondurulmuş ve çözünmüş sebzelerin *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Cellulomonas*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Xanthomonas*, *Staphylococcus*, *Serratia* ve *Vibrio* gibi bakteri cinslerinden bir veya daha fazlasını taşıyabileceğini belirtmişlerdir.

Ingram ve ark. (1974), koliform testlerinde seçilmiş minimum 100 adet/g değerine sadece çok iyi üretim şartları altında ulaşabilmişlerdir.

Peterson ve Gunderson (1981), Larkin ve ark. (1954)'nın yaptıkları çalışmada dondurulmuş sebzelerde total mezofil aerobik mikroorganizma sayısını 3000 ile 900.000 adet/g arasında White (1962) ise, ticari olarak dondurulmuş sebzelerde bakteri sayısının 80.000 adet/g'ın altında olmasının kabul edilir olduğunu bildirmişlerdir.

Duran ve ark. (1982), yaptıkları araştırmada haşlanarak dondurulmuş karnabahar, mısır ve bezelyelerde 35 °C'de aerobik plak sayımında sırasıyla 30.000, 6.100 ve 6.800 adet/g, 30 °C'de ortalama olarak yine sırasıyla 45.000, 8.500 ve 6.800 adet/g bakteri bulmuşlardır. Bu sebzelerde koliform ve *Staphylococcus* sayımlarını ise ortalama olarak 10 adet/g'dan az bulmuşlardır.

Çevik ve ark. (1982), yaptıkları bir araştırmada dondurularak saklanan sebze örneklerinde mikroorganizma yükünün hızla azaldığını, donmuş depolamada haşlanarak dondurulmuş sebze örneklerinde dokuzuncu aydan sonra maya ve küfe rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Ovrutskaya ve ark. (1987), yaptıkları araştırmada dondurulmuş patateslerde total aerobik bakteri sayımını 40.000 adet/g olarak bulmuşlardır. Yaptıkları bu çalışmada dikkatlerini ürünlerin kalitesine ve hijyenik durumuna bağlamışlardır. Dondurulmuş patates köfteleri için ise total aerobik bakteri sayısının 30.000 kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Abaylı ve Başoğlu (1982), donma işlemi ile koliform bakteri sayısının meyvelerde %13-82, sebzelerde %36-75 arasındaki oranlarda azaldığını koliform bakteri sayısında meydana gelen azalmanın düşük olması veya bu sayının artmasının işlem sırasında koliform grubu bakterilerce bulaşmanın bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir.

Belirtilen bu hususlar dikkate alınarak; adı geçen sebzelerde küf, maya, koliform grubu organizmaların ve total mezofil aerobik mikroorganizma sayımı, izolasyonu ve belirlenmesine çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Örneklerin Elde Edilmesi

Araştırmada kullanılan örnekler Marmara bölgesinde dondurulmuş gıda üretimi yapan özel bir firmanın 1994 yılında yaptıkları üretimden temin edilmiş ve araştırma süresince Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki derin dondurucuda -20 °C'de mikrobiyolojik analizlerin sonuçlanmasına kadar saklanmıştır. Materyal olarak ; 500 g'lık ambalajlarda 10 adet yeşil fasulye, 10 adet ıspanak, 10 adet bezelye, 10 adet bamya ve 10 adet patates olmak üzere toplam 50 adet (25 kg) sebze örneği denemeye alınmıştır.

Metod

Örneklerden steril koşullarda bıçak, pens ve spatül kullanılarak 25 g örnek tartılmıştır. Daha sonra örnek ünitesi 225 ml fizyolojik serum çözeltisinde

homojenize edilerek her bir örnek 9 ml fizyolojik serum bulunan tüplerde 10^{-6} 'ya kadar seyreltilmiştir. Seyreltme işlemi bittikten sonra, sebze örneklerinde küf, maya ve bakteri sayımı yapabilmek için dökme ekim uygulanmıştır (Aran ve ark., 1994). Sebze örneklerinde koliform bakteri sayımı, En Muhtemel Sayı Yöntemi (EMS)'ne göre EMS çizelgesinden saptanmıştır (Karapınar, 1990).

Örneklerdeki mikroorganizmalara uygulanan inkübasyon koşulları; bakteriler için 30 °C' de 2 gün (FAO, 1992), küf ve maya da 25 °C'de 3-5 gün olarak belirlenmiştir (Gürgün ve Halkman, 1990). Koliform grubu mikroorganizmalarda inkübasyon koşulları 37 °C'de 24-48 saat olarak belirlenmiştir (Aran ve ark., 1994). Örneklerde küf, maya ve bakteri sayısı kob (koloni oluşturan birim)/g olarak değerlendirilmiştir.

Total Mezofil Aerobik Mikroorganizma Sayımı ve İzole Edilen Bakteri Suşlarının Tanımlanması

PCA besiyeri üzerinde üremiş olan tüm bakterilerin sayımı ve izolasyonu 30 °C'de 2 günlük inkübasyonda tamamlandıktan sonra, tek koloni düşürme yöntemi ile saf kültürler elde edilmiştir. Elde edilen saf kültürlerin; morfolojik, kültürel ve fizyolojik özellikleri incelenerek genel bakteri florası familya düzeyinde Breed ve ark. (1957)'na göre (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology) belirlenmiştir.

Bakterilerin Morfolojik, Kültürel ve Fizyolojik Özelliklerinin Saptanması

1. Morfolojik Özellikler

İzole edilen bakterilerin şekilleri, hazırlanan preparatlar basit veya gram boyama yöntemleri ile boyandıktan sonra, mikroskopik incelemesi ile saptanmıştır (Temiz, 1994).

Hareketliliğin belirlenmesinde; %0.5 agar içeren, yarı katı besi ortamı eritilip, sterilize edildikten sonra elde edilen saf kültürden dik olarak aşılama yapılmıştır. Hareketli olan mikroorganizmaların aşılama bölgesi dışındada gelişme göstermeleri hareketli olarak değerlendirilmiştir (Temiz, 1994).

Bakterilerin spor yapıp yapmadıkları; metilen mavisi reaksiyon testi ve malaşit yeşili ile spor boyama yöntemleriyle incelenmiştir (Skerman, 1967).

2. Kültürel Özellikler

Bakterilerin kültürel özellikleri; katı besiyerindeki koloni görünüşlerinin yanısıra, sıvı besiyerindeki ve farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme özellikleri incelenerek değerlendirilmiştir (Temiz, 1994).

3. Fizyolojik Özellikler

Sıvı besiyeri içeren tüplere aşılanan bakterilerin, tüp içerisinde üredikleri yere göre oksijen istekleri belirlenmiştir. Besiyerinin yüzeyinde gelişen suşlar ise aerobik olarak değerlendirilmiştir (Evliya, 1988).

Katalaz testinde, katı besiyerinde üretilen kültürler %3'lük H_2O_2 çözeltisi ilave edilmiş; köpürme olması pozitif(+), köpürme olmaması ise (-) olarak değerlendirilmiştir (Hammes, 1989).

Total mezofil aerobik mikroorganizma sayıları Tablo 1, 2, 3 ve 4'te verilmiştir.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Küf ve maya içerikleri bakımından sebze örneklerinin hiçbirinde üreme meydana gelmemiştir. Çevik ve ark. (1987), yaptıkları araştırmada dondurularak saklanan sebze örneklerinde mikroorganizma yükünün hızla azaldığını, donmuş depolamada haşlanarak dondurulmuş sebze örneklerinde dokuzuncu aydan sonra maya ve küfe rastlandığını bildirmişlerdir.

Koliform içerikleri bakımından sebze örneklerinin hiçbirinde üreme meydana gelmemiştir. Bu durum haşlanarak dondurulmuş sebzelerde herhangi bir dışkı kontaminasyonunun olmadığını göstermektedir. Bunun yanında ürünlerin patojen mikroorganizmaları da içermemeleri gerekmektedir. Gıda endüstrisinin tüm alanlarında olduğu gib sanitasyonun sağlanması için gerekli koşulların yerinme getirilmesi mutlak zorunludur.

Total mezofil aerobik mikroorganizma sayıları Plate Count Agarda (PCA); bezelyede 3.6×10^3 kob/g, yeşil fasulyede 2.1×10^3 kob/g, ıspanakta 4.4×10^3 kob/g ve patatest 2.9×10^3 kob/g düzeylerinde iken, bamya örneklerinde yaygın üreme görüldüğü için sayım yapılamamıştır.

İncelenen 10 bamya örneğinin tamamından *Bacillaceae* familyasına ait olan bakteri suşları izole edilmiştir. İzole edilen tüm bakteri suşlarının aerobik oldukları saptanmıştır. Ayrıca diğer sebzelerden; *Achromobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Micrococcaceae* ve *Pseudomonadaceae* familyasına ait bakteriler izole edilmiştir.

Peterson ve Gunderson (1981), dondurulmuş sebzelerde yüzey mikroflorasını çoğunlukla bakterilerin oluşturduğunu ve en sık rastlanılanların ise *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*; *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* cinslerinin olduğunu belirtmişlerdir.

Tablo 1: Yeşil fasulyedeki sayımlar

Ürün Cinsi (Yeşil Fasulye)	Total mezofil m.o. sayısı (kob/g)
F ₁	2.1×10^3
F ₂	2.9×10^3
F ₃	2.7×10^3
F ₄	2.1×10^3
F ₅	2.4×10^3
F ₆	2.5×10^3
F ₇	1.8×10^3
F ₈	2.5×10^3
F ₉	0.7×10^3
F ₁₀	0.8×10^3
Genel Ortalama	2.1×10^3

Tablo 2: Patatesteki sayımlar

Ürün cinsi (patates)	Total mezofil m.o. sayısı (kob/g)
P ₁	4.5×10^3
P ₂	4.2×10^3
P ₃	5.4×10^3
P ₄	1.1×10^3
P ₅	0.9×10^3
P ₆	0.7×10^3
P ₇	2.5×10^3
P ₈	3.9×10^3
P ₉	3.7×10^3
P ₁₀	2.4×10^3
Genel ortalama	2.9×10^3

Tablo 3. Ispanaktaki sayımlar

Ürün Cinsi (ıspanak)	Total mezofil m.o. sayısı (kob/g)
I ₁	2.6x10 ³
I ₂	5.2x10 ³
I ₃	6.8x10 ³
I ₄	6.0x10 ³
I ₅	5.0x10 ³
I ₆	4.6x10 ³
I ₇	4.6x10 ³
I ₈	3.6x10 ³
I ₉	2.5x10 ³
I ₁₀	2.8x10 ³
Genel Ortalama	4.4x10³

Tablo 4. Bezelyedeki sayımlar

Ürün cinsi (bezelye)	Total mezofil m.o. sayısı (kob/g)
b ₁	4.7x10 ³
b ₂	5.5x10 ³
b ₃	4.5x10 ³
b ₄	4.4x10 ³
b ₅	2.6x10 ³
b ₆	3.3x10 ³
b ₇	2.2x10 ³
b ₈	3.6x10 ³
b ₉	2.4x10 ³
b ₁₀	3.2x10 ³
Genel ortalama	3.6x10³

Araştırma sonuçlarına göre, haşlanarak dondurulmuş sebze örneklerinde küf ve mayaya rastlanılmamıştır. Total mezofil aerobik mikroorganizma sayısı; bamyada yaygın üreme görüldüğü için sayım yapılamamıştır. Diğer sebze örneklerinde ise total mezofil aerobik mikroorganizma sayıları; yeşil fasulyede gramında en az, ıspanakta ise en fazla bulunmuştur. En fazla ıspanakta bulunmasının iki nedeninin olduğu kanısına varılmıştır. Birincisi geniş yapraklı olması, ikincisi ise toprağa yakın bir ürün olarak yetişmesidir.

Sebzelerin pH değerlerinin nötrale yakın olmasına rağmen, m.o. sayıları beklenenden daha düşük bulunmuştur. Örneğin TSE’de haşlanarak dondurulmuş sebzelerde müsaade edilen total mezofil aerobik mikroorganizma sayısı 100.000 kob/g iken; bu çalışmada 2900 ile 6800 kob/g bulunmuştur. Bu da göstermektedir ki, dondurulmuş saklamada ürünün hammaddeden mamul ürüne dönüştürülmesine kadar ki aşamada kontaminasyon minimum derecededir.

Sonuç olarak; sebzelerin mikrobiyolojik kalitelerinin korunmasında gıdaların dondurulması ve donmuş halde depolanması en iyi muhafaza yöntemlerinden birisidir. Ayrıca donmuş depolama sırasında mikroorganizma sayısında azalmada meydana gelmektedir.

Kaynaklar

- Abaylu, N. ve F. Başoğlu, 1992. Dondurularak Muhafaza Edilen Bazı Meyve ve Sebzelerin Mikrobiyolojisi ve Depolama Sürecindeki Değişimleri Üzerine Araştırmalar. Gıda Teknolojisi Dergisi (5), Ankara, 291-301s.
- Aran, N., M. Karakuş, Ş. Topal, İ. Alperden ve H. Kalafatoğlu, 1994. Gıdalarda Temel Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri. Marmara Araştırma Merkezi, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü. Gebze- Kocaeli, 53s.
- Aslan, A., 1995. Hani Dondurulmuş Gıda Türkiye’de Hiç Tutmazdı. Ekonomist Dergisi, İstanbul, 30-31s.

- Breed, R.S., E.G.D. Murray ve N.R. Smith, 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Seventh Edition. The Williams and Wilkins Company, Baltimore , pp. 1094
- Cemeroğlu, B. ve J. Acar, 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği. Yayın No: 6, Ankara , 508s.
- Çevik, İ., M. Erhan ve A. Şentürk, 1987. Bazı Sebzelerin Derin Dondurmaya Elverişliliği Üzerine Araştırmalar. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı. Çanakkale İl Müdürlüğü, Çanakkale İl Kontrol Laboratuar Müdürlüğü Araştırma Projeleri, 1986 Yılı Raporları, Çanakkale, 41s.
- Duran, A. P., A. Swartzentruber, R. J. Barnard, A. H. Schwab, B. Wentz ve R. B. Jr. Read, 1982. Applied and Environmental Microbiology. FDA Washington, 44 (1), pp. 54-58
- Evliya, B., 1988. Genel Mikrobiyoloji Ders Notları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Adana, 136s.
- Fennema, O.R., W.D. Powrie ve E.H. Marth, 1973. Low- Temperature Preservation of Food and Living Matter. pp. 398-412
- FAO, 1992. Manual of Food Quality Control Microbiological Analysis. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy
- Gürgün, V. ve A.K. Halkman, 1990. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği. Yayın No: 7, San Matbaası, Ankara, 146s.
- Hammes, W.P., 1989. Lebensmittelmikrobiologie und Hygiene (Ders Notu) Univ. Hohenheim, 29, Stuttgart, 73p.
- Ingram, M., D.F. Bray, P.S. Clark, C.E. Dolmann, R.P. Elliot ve F.S. Thatcher, 1974. Microorganisms in Foods 2, Sampling for Microbiological Analysis, Principles and Specific Applications. Univ. of Toronto Press, pp. 213
- Karapınar, M., 1990. Gıdaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü. Ege Üniversitesi, Ege Meslek Yüksek Okulu, Yayın No: 6, Bornova- İzmir, 159s.
- Müftügil, N., 1984. Dondurulmuş Meyve ve Sebze Endüstrisinde Hammadde Sorunları. MAM, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, Yayın No: 82, Gebze-Kocaeli, 47s.
- Ovrutskaya, I. Ya., A.Ya. Pagodaeva, V.E. Novitskaya, L.F. Kavalenko, N.N. Obodovskaya, V.S. Skripnichenko, T.V. Karshunova ve N.N. Shimko, 1987. Konservnaya Ovoshchesushilnaya Promyhlenost. Proizvodstuv Produktav iz Kartafelya, Russia, No: 10, pp. 35- 38
- Peterson, A.C. ve M.F. Gunderson, 1981. The Freezing Preservation of Foods. Volume:2, ed. by Tressler, D. K., Van Arsdell, W.B. and Compey, M.J., Third Printing, The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 397p.
- Skerman, V.B.D., 1967. A Guide to The Identification of The Genera of Bacteria .Second Edition. The Williams and Company, Baltimore, pp. 303
- Temiz, A., 1994. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Birinci baskı, Şafak Matbaası, Ankara, 303s.
- Weiser, H. H., G.J. Mountey ve W.A. Gould, 1971. Practical Food Microbiology and Technology. Westport, Connecticut. The Avi Publ. Co., 2nd edit, pp. 139