

**SOUS VIDE ÜRETİM TEKNİĞİ KULLANILARAK HAZIRLANAN
MACAR GULAŞ YEMEĞİNDE MİKROBİYOLOJİK KALİTENİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hande YILMAZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EYLÜL 2014

Hande YILMAZ tarafından hazırlanan “Sous Vide Üretim Tekniği Kullanılarak Hazırlanan Macar Gulaş Yemeğinde Mikrobiyolojik Kalitenin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Saniye BİLİCİ

Toplu Beslenme Sistemleri Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan (Üye): Prof. Dr. Nevin ŞANLIER

Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye : Doç. Dr. Aylin AYAZ

Beslenme Bilimleri Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 01/09/2014

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Hande YILMAZ

01.09.2014

SOUS VİDE ÜRETİM TEKNİĞİ KULLANILARAK HAZIRLANAN
MACAR GULAŞ YEMEĞİNDE MİKROBİYOLOJİK KALİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Hande YILMAZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2014

ÖZET

Bu çalışma; sous vide üretim tekniği kullanılarak hazırlanan Macar Gulaş yemeğinde depolama aşamasında mikrobiyolojik kalitede meydana gelen değişimleri tespit etmek amacıyla planlanarak yürütülmüştür. Macar Gulaş yemeği sous vide üretim tekniği kullanılarak hazırlanırken sırasıyla çözdürme (et için), ayıklama, doğrama, yıkama, dezenfeksiyon, durulama, ön pişirme, porsiyonlanarak vakum ambalajlama, pastörizasyon, hızlı soğutma ve soğuk depolama proseslerinden geçirilmiş ve üretimi takip eden 20 gün boyunca 2°C’de depolanmıştır. Pastörizasyon işlemi ürünün buhar fırınlarında 90°C’de 1 saat 30 dakika kalması sağlanarak gerçekleştirilmiştir. Tüm proseslerde süre-sıcaklık izlemi kalibre edilmiş bir yemek termometresi ile gerçekleştirilmiştir. Macar Gulaş yemeğindeki mikrobiyolojik değişimler 0, 5, 10, 15 ve 20. günlerde yapılan analizlerle araştırılmıştır. Çalışmada mikrobiyolojik kalite değerlendirilmesi amacıyla 0. ve 20. günde toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* analizleri, 5, 10 ve 15. günlerde toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium perfringens* analizleri yapılmıştır. Toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* analizleri klasik yöntemle, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* ise BAX sistem aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde başlangıçta ve depolama periyotları boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* tespit edilememiştir. Bu teknikle üretilen Macar Gulaş yemeğinde 2°C’de 20 günlük depolama esnasında risk oluşturan patojen mikroorganizmaların varlığına rastlanmadığı, dolayısıyla uygun sous vide tekniği ile üretilen yemeklerin depolama süresinin 20 güne kadar uzayabileceği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte; ülkeler arası farklılık gösteren depolama sürelerinin belirlenmesinde mikrobiyolojik kalite kriterlerinin yanı sıra ürünlerin duyu özelliklerine yönelik analizlerin de yapılması gerektiği ve Türkiye’de de toplu beslenme hizmetlerinde söz konusu tekniğe ilişkin standartların geliştirilerek uygulamaların yaygınlaştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Bilim kodu : 1007

Anahtar Kelimeler: Sous vide, Macar Gulaş, mikrobiyolojik kalite.

Sayfa Adedi : 197

Danışman : Doç. Dr. Saniye BİLİCİ

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF
HUNGARIAN GOULASH PREPARED USING THE TECHNIQUE OF SOUS VIDE

(M. Sc. Thesis)

Hande YILMAZ

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

September 2014

ABSTRACT

This study was carried out in order to identify changes occurring in the microbiological quality of Hungarian Goulash prepared by using the technique of sous vide in the storage phase. During the preparation, Hungarian Goulash, by using the technique of sous vide, passed thawing (for meat), sorting, chopping, washing, disinfection, rinsing, pre-cooked, portioned vacuum packaging, pasteurization, rapid cooling and cold storage processes, respectively, and it was stored following the production for 20 days at 2°C. Pasteurization was carried out in a steam oven at 90 ° C for 1 hour 30 minutes. Throughout the process, time-temperature monitoring was performed with a calibrated food thermometer. Microbiological changes of the Hungarian Goulash was investigated by the analysis in 0, 5, 10, 15 and 20 days. In this study, total aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* analysis in 0. and 20. days; total aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium perfringens* analyzes in 5, 10. and 15. days were performed to evaluate the microbiological quality. Total aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae* and *Clostridium perfringens* analysis were performed by using the classical method; *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* analysis were performed by using BAX system. In conclusion of study, total aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* were not detected in Hungarian Goulash produced with the technique at the beginning and the storage periods. Since pathogenic micro-organisms posing a risk at Hungarian Goulash producing with the technique of sous vide were not detected at 2°C during 20 days of storage, it was concluded that the storage period of dishes produced by using the technique of sous vide can take up to 20 days. All in all, in determination of the storage period that differs between countries, as well as microbiological quality criteria, the organoleptic characteristics of the product is required to conduct the analysis, and dissemination of practices by improving standards about such techniques, is thought to be useful at catering services in Turkey.

Science Code : 1007

Key Words : Sous vide, Hungarian Goulash, microbiological quality.

Page Number : 197

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Saniye BİLİCİ

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi, tecrübe ve anlayışıyla kıymetli yardım, katkı ve yönlendirmelerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Saniye BİLİCİ'ye sonsuz teşekkür ederim.

Mesleki alanda yetişebilmem için verdiği destekten ötürü Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü kurucusu Prof. Dr. Nevin ŞANLIER'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma numunelerinin tekniğine uygun üretim proseslerinde hazırlanması, ilk ve son gün analizlerinin yürütülmesi için gerekli koşulların sağlanması konusundaki destekleri, değerli bilgi ve katkıları nedeniyle İstanbul Turkish DO&CO Hijyen ve Kalite&Üretim Birimi ekibine, özellikle Doç. Dr. Nezih MÜFTÜGİL'e, Özlem GÖNÜL'e, Yeliz KONAÇ'a, Ömer AKMAN'a, Duygu BAYRAM'a, Seher DİREK'e, Fazlı AYDAÇ'a ve kıymetli arkadaşım Filiz GÜREL'e çok teşekkür ederim.

Bu süreçte yaşadığım tüm duyguları benimle paylaşan ve maddi/manevi desteğini hep hissettiren canım aileme; babam Adnan YILMAZ'a, annem Handan YILMAZ'a, ve ağabeyim Hakan YILMAZ'a, kıymetli destekçim Cem MORTAŞ'a, değerli fikir ve manevi desteklerini benden esirgemeyen arkadaşlarım Arş. Gör. Büşra AYHAN'a, Arş. Gör. Semra NAVRUZ'a ve Arş. Gör. Süleyman KÖSE'ye tüm kalbimle teşekkür ederim. Çalışmam boyunca bana hep destek veren Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca maddi destek veren TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR.....	5
2.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar.....	5
2.2. Gıda Tehlikeleri	7
2.2.1. Fiziksel tehlikeler.....	7
2.2.2. Kimyasal tehlikeler	8
2.2.3. Biyolojik tehlikeler	9
2.3. Gıdalarda Mikrobiyal Üremeyi Etkileyen Faktörler.....	13
2.3.1. İç faktörler.....	13
2.3.2. Dış faktörler	23
2.4. Gıdaların Muhafazası.....	25
2.5. Sous Vide Tekniğine Genel Bakış	29
2.5.1. Sous vide tarihçesi	30
2.5.2. Sous vide üretim tekniği ve uygulama farklılıkları	33
2.5.3. Sous vide tekniğinin avantajları.....	38
2.5.4. Sous vide tekniğinin dezavantajları	40

Sayfa

2.5.5. Et ve et ürünlerinde sous vide üretim tekniği prosesleri ve mikrobiyoloji.....	45
yönden değerlendirilmesi.....	
2.5.6. Sous vide tekniğinde kullanılan ekipmanlar	68
2.5.7. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerde gıda güvenilirliğinin sağlanması:	
HACCP kalite değerlendirmesi.....	69
3. YÖNTEM.....	81
3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	81
3.2. Araştırma Yöntemi.....	82
3.2.1. Macar Gulaş yemeğinin analiz periyotlarına hazırlanması.....	82
3.2.2. Macar Gulaş yemeğinin mikrobiyolojik analizi	93
3.2.3. Macar Gulaş yemeğinde fizikokimyasal değişikliklerin saptanması.....	102
3.2.4. Verilerin istatistiksel analizi	104
4. BULGULAR	105
4.1. Mikrobiyolojik Analizler	105
4.2. Nem Tayini	106
4.3. pH Ölçüm Sonuçları	107
5. TARTIŞMA.....	113
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	123
KAYNAKLAR	127
EKLER.....	139
EK-1. Deney numunelerinin hazırlanması standardı	140
EK-2. Enterobacteriaceae'nin aranması standardı	157
EK-3. Salmonella spp. analiz yöntemi.....	172

Sayfa

EK-4. <i>Listeria monocytogenes</i> analiz yöntemi	178
EK-5. Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı	182
EK-6. Nem tayini yöntemi	190
EK-7. Başlangıç günü <i>Salmonella</i> spp. analiz sonuçları	191
EK-8. Başlangıç günü <i>Listeria monocytogenes</i> analiz sonuçları.....	192
EK-9. Depolamanın 20. günü <i>Salmonella</i> spp. analiz sonuçları.....	193
EK-10. Depolamanın 20. günü <i>Listeria monocytogenes</i> analiz sonuçları.....	194
ÖZGEÇMİŞ	195

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Gıdalarda fiziksel kontaminasyon kaynakları	8
Çizelge 2.2. Gıdalarda kimyasal kontaminasyon kaynakları	8
Çizelge 2.3. Gıda kaynaklı temel patojen mikroorganizmalar	10
Çizelge 2.4. Gıdaların a_w değerleri.....	14
Çizelge 2.5. Mikroorganizmaların üremesi için gerekli a_w değerleri.....	15
Çizelge 2.6. Bazı gıdaların pH değerleri.....	17
Çizelge 2.7. Bazı mikroorganizmaların üremesi için gerekli pH değerleri	20
Çizelge 2.8. Bazı patojen mikroorganizmaların üreme sıcaklık aralığı.....	24
Çizelge 2.9. Gıda muhafaza yöntemleri.....	25
Çizelge 2.10. Depolama sıcaklıklarının ve sodyum laktat eklenmesinin <i>Clostridium botulinum</i> toksin üretme zamanına etkisi	39
Çizelge 2.11. Etin doğranma büyüklüklerine göre sıcak su banyosunda pişme süreleri	43
Çizelge 2.12. Etlerin pişmesi ve pastörize olması için gerekli süre-sıcaklık değerleri.....	44
Çizelge 2.13. Buzdolabı sıcaklığında et ve et ürünlerinde üremesi muhtemel mikroorganizma türleri ve beklenen depolama süreleri.....	50
Çizelge 2.14. Sıcaklığa dirençli bakteri ve bakteri sporlarını elimine edebilmek için gereken süre-sıcaklık değerleri	53
Çizelge 2.15. Non proteolitik <i>Clostridium botulinum</i> sporlarını elimine edebilmek için farklı süre-sıcaklık kombinasyonları.....	54
Çizelge 2.16. Sous vide tekniği için Belçika’da önerilen süre-sıcaklık uygulamaları.....	58
Çizelge 2.17. Sous vide pişirme tekniğinin balıkta <i>Listeria monocytogenes</i> üzerine etkisi	59
Çizelge 2.18. Bazı Avrupa ülkelerinde pişmiş gıdayı soğutma ve depolama yasal düzenlemeleri	62
Çizelge 2.19. <i>Clostridium botulinum</i> non-proteolitik tip B ve E suşlarının sous vide tekniğiyle üretilen ve farklı sıcaklıklarda depolanan gıdalarda en erken toksin üretme zamanı (gün)	66

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.20. Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler.....	70
Çizelge 2.21. Sous vide tekniğiyle üretilecek et yemeğinin ürün tanımlaması	77
Çizelge 2.22. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemekte kritik kontrol noktaları	78
Çizelge 3.1. Macar Gulaş yemeği malzeme listesi	84
Çizelge 3.2. Pastörizasyon işlemi sıcaklık-süre takibi.....	89
Çizelge 4.1. Depolama süresi boyunca gözlemlenen mikrobiyal değişim (log kob/g)	105
Çizelge 4.2. Sterilite kontrolü için yapılan analizler (log kob/g).....	106
Çizelge 4.3. Analiz periyotlarında nem tayin sonuçları.....	106
Çizelge 4.4. Analiz periyotlarında pH sonuç değerleri.....	108
Çizelge 4.5. Macar Gulaş yemeğinde farklı depolama sürelerinde yapılan analiz sonuçları	110

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan gıda işleyicileri.....	9
Şekil 2.2. Nacka, güncellenmiş nacka ve AGS sistemleri	33
Şekil 2.3. Sous vide tekniğinde depolama ömrüne göre uygulama farklılıkları	35
Şekil 2.4. Sous vide tekniğinde bireylerin sağlık durumlarına göre uygulama farklılıkları	36
Şekil 2.5. Sous vide tekniği üretim akış şeması.....	46
Şekil 2.6. Yemek üretim sistemleri.....	51
Şekil 2.7. Sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdada mikrobiyal inaktivasyon.....	55
Şekil 2.8. Sous vide tekniğinde uygulanan sıcaklık aralıkları	56
Şekil 2.9. Vakum paketlenme işlemi yapılmış gıdaların 3°C ve altındaki sıcaklıklarda depolama süresinin belirlenmesi karar ağacı	65
Şekil 3.1. Sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeği üretim akış şeması	83
Şekil 3.2. Ön haşlama işlemi süre-sıcaklık grafiği	85
Şekil 3.3. Pişmiş Macar Gulaş yemeği soğutma süre-sıcaklık grafiği.....	86
Şekil 3.4. Soğuk depolama öncesi yapılan soğutma işlemi süre-sıcaklık grafiği	90
Şekil 3.5. RFID kart sıcaklık takip grafiği	92
Şekil 3.6. <i>Salmonella</i> spp. analizi işlem basamakları	98
Şekil 3.7. <i>Listeria monocytogenes</i> analizi işlem basamakları.....	100
Şekil 4.1. Analiz periyotlarında nem tayin sonuçları grafiği	107
Şekil 4.2. Analiz periyotlarında pH değerleri grafiği	108

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Ön pişirme işlemi tamamlanan Macar Gulaş yemeği.....	86
Resim 3.2. Doluma hazır hale getirilen sous vide ambalajları	87
Resim 3.3. Ambalaja dolum yapma aşaması	87
Resim 3.4. Vakumlama aşaması	88
Resim 3.5. Pastörizasyon işlemine hazır hale getirilmiş vakum paketleri.....	89
Resim 3.6. Hızlı soğutucuda Macar Gulaş yemeği.....	89
Resim 3.7. Ankara'ya taşınmak üzere paketlenmiş Macar Gulaş yemeği.....	91
Resim 3.8. Deney dilüsyonlarının hazırlanması	94
Resim 3.9. <i>Salmonella</i> spp. analizi	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

a_w	Su aktivitesi
CO₂	Karbondioksit
kob	Koloni oluşturan birim
log	Logaritma
N₂	Nitrojen
NaCl	Sodyum klorür
O₂	Oksijen
spp	Alt tür (species)

Kısaltmalar

Açıklama

AGS	Anderson Greenville Spartanburg (Hastanelerin ismi)
CDC	Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GDO	Genetiği Değiştirilmiş Organizma
HACCP	Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi
ISO	Uluslararası Standart Organizasyonu
LTLT	Düşük Sıcaklıkta Uzun Süre
MA	Modifiye Atmosfer
PCA	Plate Count Agar
RFID	Radyo Frekans ile Tanımlama
SSP	Uzun Raf Ömürlü
TS	Türk Standartları
TSC	Tryptose Sulfite Cycloserine
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
VRBG	Violet Red Bile Glucose
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Problem Durumu/Konunun Tanımı

Tüketici tercihleri, teknolojik ve ekonomik gelişmeler yemek sektöründeki yeniliklere yön vermektedir. Bu açıdan bakıldığında günümüzde nüfus artışı, kadınların çalışma hayatına yönelmesi, iş yoğunluğu gibi sebeplerle tüketime hazır besinlere olan talep artmaktadır [1]. Tüketicilerin de daha doğal, koruyucu ve kimyasal madde içermeyen, lezzet başta olmak üzere organoleptik özellikler açısından kaliteli ürün beklentisinde artış yaşanmaktadır. Bu beklentileri karşılamak için gıda endüstrisi güvenli gıda üretimini sağlamaya yönelik çalışmalarına hız kazandırmıştır. Güvenli gıda, bir başka deyişle gıda güvenliğinin sağlanması gıdanın kalitesinin vazgeçilmez bir parçasıdır. Gıdalarda kalitenin sağlanması ve korunmasında; gıdaların muhafazasında yararlanılan temel ilkeler ve geliştirilen muhafaza yöntemleri önemli bir yer tutmaktadır [2].

Toplu yemek sektörü ve gıda endüstrisinde uygulanan çok çeşitli muhafaza işlemleri arasında ısıtım işlemleri en yoğun kullanılanıdır. Isıtım işlem uygulamaları ile gıdaların dayanıklı hale getirilmelerinde mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesi sağlanırken, bu gıdaların kalitelerinin korunabilmesi ve besin değerindeki kayıpların minimum düzeyde tutulabilmesi amaçlanmaktadır [3].

Sous vide veya diğer adıyla vakumlu pişirme teknolojisi, 1960'lı yılların başlarında ortaya çıkan ve günümüzde özellikle etlerde yüksek organoleptik özelliğe sahip, homojen bir pişirme sağlayan, su içinde özütleme ile yiyeceklerin besin değeri korunumunu maksimum düzeyde tutan ve vakumlu ambalaj tekniği ile mikroorganizma gelişimini engelleyerek depolama süresini uzatan popüleritesi her geçen gün artan bir yöntem olarak kullanılmaktadır [3, 4].

Sous vide tekniğinde, pişirme sırasında buharın veya suyun etkisiyle sıcaklığın gıdaya daha iyi nüfuz etmesi, homojen pişirme sağladığı için gıdayı pişirme sırasında çevirme gibi işlemlere gerek duyulmaması, vakumlu paketlerde pişirme işlemi uygulandığı için gıdada nem ve aroma kaybının önlenmesi, oksidasyon görülme riskinin elimine edilmesi ve

aerobik mikroorganizmaların gıdada gelişiminin durdurularak gıdanın depolama süresinin uzatılması gibi avantajlar bulunmaktadır [5-7]. Sous vide tekniğinin gıdanın depolama süresinin ve duysal kalitesinin arttırılmasına yönelik sağladığı avantajlar ön plana çıkmaya başladıkça 2000’li yıllardan sonra toplu tüketim yerlerinde alternatif pişirme tekniklerinden biri olarak gösterilmeye başlanmıştır [8]. Sous vide tekniğiyle hazırlanmış besin hemen tüketime sunulabileceği gibi daha sonra tüketime sunulmak üzere depolanabilmektedir [9]. Yemek hizmeti sektöründe popülaritenin artma nedenleri arasında; depolama ömrünün uzun olması ve bununla birlikte mikrobiyolojik riskin minimum düzeyde olması, depolama sürecinde duysal kalite korunumunun üst düzeyde sağlanabilmesi gibi avantajları yer almaktadır [10]. Bu teknikle üretilmiş besinlerin güvenliği ve depolama sürelerinin uygunluğu, pişirilme ve depolama sırasındaki sıcaklık uygulamalarına bağlıdır [11]. Sous vide üretim tekniğiyle üretilmiş besinlerin depolama süreleriyle ilgili yapılan çalışmalarda mikrobiyolojik açıdan maksimum depolama süresinin değişkenlik gösterdiği ve bu konuda daha çok çalışmaya gereksinim duyulduğu bildirilmiştir [12-14]. Sous vide tekniği pastörizasyon tekniği olarak belirtildiğinden ve potansiyel riskli gıdaların uzun süre depolanması yönünden sağladığı avatajlardan dolayı et yemeklerine uygulanışı daha sıklıkla araştırılan konular arasında yer almaktadır [15].

Araştırmanın Amacı

Bu çalışma, sous vide tekniği ile üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi, farklı depolama sürelerindeki mikrobiyolojik değişimlerin saptanması amacıyla planlanıp yürütülmüştür.

Araştırmanın Önemi

Bugün ileri sanayi ülkelerinde nüfusun %70’inin en az bir öğününü ev dışında tükettiği ve Türkiye’de de özellikle son 10 yılda toplu yemek sektöründe hızlı bir gelişim olduğu kaydedilmektedir. Toplu yemek sektöründeki bu hızlı gelişim güvenilir gıda üretimini sağlamanın yanı sıra maliyeti dengeleyici ve iş akışını kolaylaştırıcı tekniklerin de kullanımını yaygınlaştırmıştır. Bu açıdan bakıldığında, sous vide tekniğiyle gıda güvenliği sağlanırken depolama süresi uzatılarak iş yoğunluğu azaltılıp, zamandan ve maliyetten tasarruf sağlanabilmektedir. Ancak, günümüzde yapılan çalışmaların sınırlılığı ve üretilen

yemeklerdeki çeşitliliğin fazla oluşu sebebiyle ürüne özgü depolama ömrüne ilişkin bilimsel veriler sınırlıdır. Özellikle potansiyel riskli gıdalarda kullanımının yaygınlığı nedeniyle bu araştırmaya geleneksel Türk mutfağında bulunan Macar Gulaş yemeği alınmıştır.

Sınırlılıklar

Araştırmada mikrobiyolojik kalite kriterlerinin yanı sıra depolama süresince ürünün duyuşal özelliklerini de kaybetmeden raf ömrüne yönelik değerlendirmenin yapılması bilimsel içeriğe daha iyi katkı sağlayabilir. Bundan sonraki çalışmalarda duyuşal analizlerin yapılabilmesi için TS ISO 8586 standartlarını sağlayan panelistler eşliğinde duyuşal analizlerin gerçekleştirilmesi yararlı olacaktır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR

Gıdalar çiftlikten çatala her aşamada gıda zehirlenmesi riskini en aza indirmek ve gıdanın organoleptik özelliklerinin korunumunu sağlamak amacıyla farklı birçok yöntemle muhafaza edilmeye çalışılmaktadır [16]. Gıda tüketime sunulana kadar satın alma, hazırlama, pişirme, depolama, yeniden ısıtma ve taşıma gibi birçok farklı aşamadan geçmekte ve her aşamada uygun olmayan uygulamalar sebebiyle gıda zehirlenmesi riski artış göstermektedir [2]. Bu aşamalarda gıdalarda olası bozulmaları ve gıda zehirlenmelerini önlemek için alınan tedbirler, gıdada o aşamada bulunan baskın mikrofloranın elimine edilmesine yönelik geliştirilen yaklaşımlardır [3].

2.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar

Patojen mikroorganizmalar, mikroorganizma toksinleri veya sporlarının gıdalarda alınması ile görülen akut dönem gastroenterit tablosuna gıda zehirlenmesi denilmektedir [2, 17]. Amerika Hastalık Korunma ve Kontrol Merkezleri'ne (Centers for Disease Control and Prevention; CDC) göre bir gıda zehirlenmesi, “iki veya daha fazla sayıda insanın aynı hastalık deneyimini yaşaması, genelde sindirim sisteminde, aynı gıdanın-ürünün tüketilmesi sonucunda belirtilerin ortaya çıkması, bunların epidemiyolojik analizle hastalığın kaynağı olarak gıda-ürünün belirlenmesidir” olarak tanımlanmaktadır [18]. Besin kaynaklı hastalıklara neden olan etmenler arasında; kimyasal maddeler, doğal besin toksinleri, metaller, tarım ilaçları, deterjanlar, plastikler, parazitler ve mikroorganizmalar (bakteri, küf, maya) yer almaktadır [19].

Gıda zehirlenmeleri değişik tip bakteri, virüs, parazit ve/veya toksinlerinin kontaminasyonu, gıda maddelerinde ambalaj migrasyonu, gıda katkı maddeleri ile ilgili yönetmeliklerde belirtilen miktarların daha yüksek oranlarda kullanımı, tarımsal ve veteriner ilaç kalıntısı, ağır metal kontaminasyonu, radyasyon kontaminasyonu ve bozulma tepkimelerinden kaynaklanabilmektedir [20].

Birçok gıdanın tüketilmesi sonucu gıda zehirlenmesi ortaya çıkabilmektedir. Ancak bazı gıdalar daha riskli olarak gruplandırılmaktadır [17]. Kaynaklara göre değişiklik gösteren potansiyel riskli gıda tanımlamaları yapılmıştır. Genel olarak gıdalarda bulunabilen patojen

mikroorganizma üremesini minimuma indirebilmek veya toksin üretimini engellemek için belirli bir sıcaklık aralığında tutulması gereken gıdalar potansiyel tehlikeli gıdalar olarak tanımlanmıştır. Yüksek riskli gıdalar, patojen mikroorganizma içerebilen ve bu mikroorganizmaların gelişip toksin üretebilmesi için elverişli ortam oluşturan gıdalar olarak tanımlanmıştır. Meyve ve sebze, portakal suyu, konserve et, pastörize süt, süt ürünleri, dondurma, süt bazlı gıdalar ve fıstık ezmesi orta derecede riskli gıdalar olarak sınıflandırılmıştır. Orta derecede riskli gıdalar içinde patojen mikroorganizma bulundurabilen ancak bunların üremesi için elverişli ortam oluşturmayan veya içinde patojen mikroorganizma bulundurma ihtimali düşük olan ancak patojenlerin üremesi için elverişli ortam oluşturan gıdalar olarak tanımlanmıştır. Düşük riskli gıdalar ise patojen mikroorganizma bulunma ihtimali düşük olan ve üremesi için elverişli ortam teşkil etmeyen gıdalar olarak tanımlanmış olup tahıl, ekmek, alkol ve yağ gibi gıdalar düşük riskli gıdalara örnek olarak verilebilir [21].

Avrupa Birliği'nde mevzuata göre, çiğ gıdalar, gıda bileşenleri, ara ürünler ve son ürünler patojen mikroorganizma üremesi veya toksin gelişmesi için risklidir. Bu aşamalarda sağlık risklerinin önlenmesi için sıcaklık kontrolleri yapılmalıdır. Ancak spesifik süre, sıcaklık ve diğer faktör değerleri tanımlanmamıştır [22]. Başka bir kaynakta patojen mikroorganizma üremesi veya toksin üremesi için elverişli ortam teşkil eden gıdalar potansiyel tehlikeli gıdalar olarak tanımlanmıştır [23]. Amerika mevzuatına göre, potansiyel tehlikeli gıda tanımlaması yapılmamıştır. Ancak, gıda güvenliği için sıcaklık-süre takibi yapılması gereken gıdalar belirtilmiştir. Mevzuata göre patojen mikroorganizma üremesi veya toksin üretimi için elverişli ortam oluşturan gıdalar 8°C'nin altında depolanmalıdır [24].

Amerika Gıda ve İlaç Dairesi'ne (US Food and Drug Administration; FDA) göre potansiyel tehlikeli gıdalar ve özellikleri aşağıdaki gibi belirtilmektedir:

1. (a) Doğal ya da yapay olan ve sıcaklık kontrolü gerektiren gıdalardır:
 1. (i) Enfeksiyöz veya toksijenik mikroorganizmalar bu gıdalarda hızlı gelişebilir.
 2. (ii) *Clostridium botulinum* gelişebilir veya toksin üretebilir.
 3. (iii) Kabuklu çiğ yumurtada *Salmonella enteritidis* üreyebilir.
2. (b) Potansiyel tehlikeli gıdalar, çiğ yada ısıtılmış işlem uygulanmış hayvansal kaynaklı gıdalardır. Isıtılmış işlem görmüş veya mikroorganizma üremesini inhibe edecek şekilde modifiye edilmemiş çiğ tohum filizleri de potansiyel tehlikeli gıdalardandır.
3. (c) Potansiyel tehlikeli gıdalar aşağıdakileri içermemektedir:

1. (i) Kabuğu sağlam haşlanmış yumurta,
2. (ii) Su aktivitesi 0,85 veya daha altında olan gıdalar,
3. (iii) 24 °C’ deki pH 4,6 veya daha altında olan gıdalar,
4. (iv) Hermetik olarak ambalajlanmış ve açılmamış gıdalar,
5. (v) Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda *S. enteritidis*, *C. botulinum*, toksijenik veya enfeksiyöz mikroorganizma üremesinin hızlı olmadığı gösterilmiştir. Gıdalarda bu mikroorganizmaların üremesini inhibe edecek bariyerler bulunmaktadır.
6. (vi) Gıdanın hastalığa neden olabilmesi için bu mikroorganizmaları yeterli seviyede içermesi gerekmektedir [24].

Türkiye’de mevzuata göre potansiyel tehlikeli gıdalar, uygun koşullarda bakterilerin gelişmesini teşvik eden yüksek proteinli gıdalar olarak tanımlanmıştır. Et, kümes hayvanları eti , süt ve süt ürünleri , yumurta, deniz ürünleri potansiyel tehlikeli gıdalara örnek olarak verilen gıdalardır. Ayrıca bu gıdaların işlenmesi sırasında uyulması gereken spesifik süre-sıcaklık limitleri belirlenmiştir [25].

2.2. Gıda Tehlikeleri

Gıda tehlikeleri gıda güvenliğini tehdit etmekte ve gıdanın sağlığı bozucu unsur haline gelmesine neden olmaktadır. Gıda güvenliğini tehdit eden başlıca unsurlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerdir [26]. Gıda işleme aşamalarının her birinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik kontaminasyon kaynaklarına karşı gıda güvenliği sağlanmalıdır [27, 28]. Özellikle potansiyel tehlikeli gıdalarda mevzuatta belirtilen kritik limitler içinde üretim akışı sağlanmalıdır [23, 29].

2.2.1. Fiziksel tehlikeler

Gıdalarda bulunan yabancı objeler fiziksel tehlikeler olarak sınıflandırılmaktadır. Saç, tırnak, böcek, cam kırıkları, plastik malzemeler, metal parçalar, paket malzemesi parçaları fiziksel tehlikelerden bazılarıdır [27, 30]. Fiziksel kontaminasyon kaynakları Çizelge 2.1’de özetlenmiştir [2].

Çizelge 2.1. Gıdalarda fiziksel kontaminasyon kaynakları [2]

Tehlike Kaynağı	Bulaşanlar
Makinalar-çevre	Civata, metal parçaları, cam parçaları, ağaç kıymıkları, kağıt ve karton parçacıkları, yağ damlaları, taş ve toprak kalıntıları vb.
Personel	Yüzük ve takılar, düğmeler, plastik maddeler, tırnak, saçlar, sigara izmaritleri vb.
Paketleme	Karton, plastik ambalaj maddeleri, tel, raptiye, çivi vb.
Zararlı hayvanlar	Böcekler, böcek yumurtaları, kemirgen kılları, tüyleri ve kalıntıları vb.

2.2.2. Kimyasal tehlikeler

Gıdalara kazayla bulaşan kimyasal maddeler, gıda koruyucuları, katkı maddeleri ve uygun olmayan metal kaplardan gıdaya metal geçişi kimyasal tehlike oluşturmaktadır [17]. Kimyasal kontaminasyon hava, su veya katı malzemeler yoluyla olabilmektedir. Toksik metal, dioksin, pestisit, hayvan ilaçları ve başka birçok kimyasal, gıdalar için tehlike oluşturmaktadır. Ayrıca gıda katkı maddeleri ve gıda işleme aşamasında gıdada oluşan akrilamid gibi farklı kimyasallar da bu grupta toplanmaktadır [31]. Gıdalardaki kimyasal tehlikeler Çizelge 2.2’de özetlenmiştir [2].

Çizelge 2.2. Gıdalarda kimyasal kontaminasyon kaynakları [2]

Tehlike Kaynağı	Bulaşanlar
Bakteri ve küfler tarafından bozulan gıdalar	Toksinler
Bazı bitkiler, mantar, balık ve kabuklu su ürünleri	Toksinler
Pişirme işlemleri	Nitrat, nitrit, polisiklik hidrokarbonlar, heterojenik aminler
Hijyen uygulamaları	Temizleme ajanları, kimyasal ajan kalıntısı
Zararlı kontrol uygulamaları	Fare zehirleri, böcek öldürücü ilaçlar
Pişirme kapları, borular, araçlar	Kurşun, bakır, alüminyum

2.2.3. Biyolojik tehlikeler

Biyolojik tehlikeler üç gruba ayrılabilir. Birincisi, gıda bileşiminde doğal olarak bulunan zehirli kimyasal maddelerdir (örneğin yeşillenmiş ve filizlenmiş patatesten oluşan solanin, zehirli bal vb.). İkincisi, gıdalara bulaşan ve uygun koşullarda üretilmeyen veya saklanmayan gıdalarda hızla üreyen mikroorganizmalar (küf, parazit, bakteri), virüs ve mikrobiyal toksinlerdir. Üçüncüsü, genetiği değiştirilmiş organizmalardır (GDO). Biyolojik tehlikeler içerisinde gıda güvenliğini en çok tehdit eden ve gıda zehirlenmelerine en fazla yol açanlar bakterilerdir. Gıda zehirlenmelerine neden olan bakterilerden bazıları; patojenik *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*'dir. Çizelge 2.3'te gıda kaynaklı temel patojen mikroorganizmalar, kaynakları, inkübasyon süreleri ve oluşturdıkları hastalık ve semptomlar özetlenmiştir. Mikroorganizmaların başlıca kontaminasyon kaynakları toz, toprak, hava, haşereler, kemirgenler ve diğer hayvanlar, çiğ gıdalar, çöpler, gıda üretiminde kullanılan araçlar, gereçler ve insanlardır. İnsanlar birçok patojen bakterinin kaynağıdır. İnsanın boğazı, burnu, elleri, derisi, bağırsakları ve dışkıları bakterilerle yüklüdür. Bu nedenlerle, patojen bakterilerin çoğunluğu insanlar tarafından gıdalara bulaştırılır. Gıdalar satın almadan servise sunulana kadar özellikle gıda işleyicileri tarafından birçok kontaminasyona maruz kalırlar (Şekil 2.1) [26].

Gıda zehirlenmelerini önlemek için alınacak tedbirler öncelikle potansiyel tehlikeli gıdalara yönelik yapılmalıdır [23].



Şekil 2.1. Gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan gıda işleyicileri

Çizelge 2.3. Gıda kaynaklı temel patojen mikroorganizmalar [17, 32]

Patojenler	Hastalık	Gıda Kaynağı	İnkübasyon Süresi	Semptomlar	Süre
<i>Salmonella</i> spp.	Salmonellozis enfeksiyonu	Kanatlı hayvan, et ve et ürünleri, süt, kabuklu yumurta, yumurtalı krema ve soslar, taze sebze ve meyveler ve diğer proteinli gıdalar	6-48 saat	Abdominal ağrı, baş ağrısı, bulantı, kusma, nadiren diyare	1-2 gün
<i>Staphylococcus aureus</i>	Stafilokkal intoksikasyon	Pişirildikten sonra işlemde geçen diğer etler, süt ürünleri, krema, patates salatası ve diğer proteinli gıdalar	½ saat-6 saat	Bulantı, kusma, diyare, dehidratasyon, abdominal kramp	24-48 saat
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>C.perfringens</i> intoksikasyonu/enfeksiyonu	Et ve et ürünleri	8-22 saat	Abdominal ağrı, diyare	24 saat
<i>Bacillus cereus</i>	<i>B.cereus</i> intoksikasyonu	Pirinç, pirinç içeren yemekler, krema, baharatlar, kuru gıdalar, pudding, tahıl ürünü içeren soslar, sebze yemekleri, et, süt ve balık	6-15 saat	Diyare, abdominal kramp, kusma	24 saat

Çizelge 2.3. (devam) Gıda kaynaklı temel patojen mikroorganizmalar

Patojenler	Hastalık	Gıda Kaynağı	İnkübasyon Süresi	Semptomlar	Süre
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulizm intoksikasyonu	Uygun olmayan işlem görmüş düşük asitli konserve gıdalar	18-38 saat	Halsizlik, baş dönmesi, çift görme, konuşma, yutma ve nefes almada zorluk	Birkaç gün-yıl
<i>Campylobacter jejuni</i>	Campylobacteriosis enfeksiyonu	Çiğ kanatlı hayvan etleri, çiğ sebzeler, pastörize edilmemiş süt, işlem görmemiş su	3-5 gün	Diyare, nadiren bulantı, abdominal ağrı, baş ağrısı ve kas ağrısı	1-4 gün
<i>E. coli</i> O:157:H7	Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom	Çiğ kırmızı et, çiğ süt, çiğ süttten yapılan peynirler, taze sebze ve meyveler	12-72 saat	Kanlı diyare, abdominal ağrı ve kramp, bulantı, kusma, hemolitik üremik sendrom	8 gün

Çizelge 2.3. (devam) Gıda kaynaklı temel patojen mikroorganizmalar

Patojenler	Hastalık	Gıda Kaynağı	İnkübasyon Süresi	Semptomlar	Süre
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriozis enfeksiyonu	Pastörize edilmemiş süt ve peynir, sebze, kanatlı hayvan ve dana eti, deniz ürünleri, tüketime hazır gıdalar, soğuk kesim ve fermente edilmiş çiğ sosis	12 saat-birkaç gün	Bulantı, kusma, diyare, baş ağrısı, menenjit, septisemi, ensefalopati	Yüksek oranda mortalite (Tedaviye bağlı)
<i>Shigella</i> spp.	Shigellozis	Salata, çiğ sebze, süt ve süt ürünleri, kanatlı hayvan etleri	1-7 gün	Abdominal ağrı, kramp, diyare, nadiren kusma, kanlı mukuslu dışkı, idrar yapmada zorluk	Değişkenlik gösterir.
<i>Vibrio vulnificus</i>	Yara enfeksiyonu, gastroenterit, primer septisemi	Istiridye, yengeç	3-76 saat	Diyare, kramp, halsizlik, bulantı, baş ağrısı, kusma	1-8 gün

2.3. Gıdalarda Mikrobiyal Üremeyi Etkileyen Faktörler

Gıdalarda mikrobiyal üremeyi birçok faktör etkilemektedir. Bu faktörler ele alınarak gıda muhafaza yöntemleri geliştirilmekte, gıdaya özgü depolama süresi belirlenmekte ve gıdayı işleme aşamaları için sıcaklık-süre gibi bazı kritik limitler oluşturulmaktadır. Gıdalarda mikrobiyal üremeyi etkileyen faktörler temelde iki başlık altında toplanabilir. Bunlar iç faktörler ve dış faktörler [33].

2.3.1. İç faktörler

Nem içeriği

Mikroorganizmalar, gıdada üreyebilmek için neme ihtiyaç duyar. Dolayısıyla gıdada mikroorganizma üremesini engelleyebilmek için gıdanın nem içeriği kontrol altında tutulmalıdır. Mikroorganizmanın gıdada duyduğu bu ihtiyaç su aktivitesi (a_w) olarak tanımlanmış ve bir ortamda gıdanın belli bir sıcaklıktaki buhar basıncının aynı sıcaklıkta aynı ortamda suyun buhar basıncına oranıyla hesaplanmaktadır [34].

Et, meyve ve sebze gibi birçok taze gıda, mikroorganizma üremesi için elverişli a_w aralığında bulunmaktadır (0,97-0,99). Çizelge 2.4'te çeşitli gıdaların a_w değerleri verilmiştir. Ancak bunlar gıdaya eklenen şeker, tuz gibi farklı bileşenlere göre değişkenlik göstermektedir. Farklı mikroorganizmaların üremeleri için gerekli olan optimum a_w değerleri de farklılık göstermektedir. Örneğin Gram (-) mikroorganizmalar Gram (+) mikroorganizmalara göre düşük a_w değerlerine daha duyarlıdır. Çizelge 2.5'te mikroorganizmaların üremesi için gerekli olan minimum a_w değerleri verilmiştir [35].

Çizelge 2.4. Gıdaların a_w değerleri [33]

Hayvansal Kaynaklı Gıdalar	a_w
Taze et, kanatlı hayvan, balık	0,99-1,00
Doğal peynirler	0,95-1,00
Puding	0,97-0,99
Yumurta	0,97
İşlenmiş et	0,87-0,85
Tatlandırılmış kondanse süt	0,83
Parmesan peyniri	0,68-0,76
Bal	0,75
Bitkisel Kaynaklı Gıdalar	a_w
Taze sebze, meyveler	0,97-1,00
Ekmek	$\approx 0,96$
Kurutulmuş ekmek	0,30
Kek	0,90-0,94
Reçel	0,75-0,80
Jöle	0,82-0,94

Çizelge 2.4. (devam) Gıdaların a_w değerleri

Bitkisel Kaynaklı Gıdalar	a_w
Piştirilmemiş pirinç	0,80-0,87
Meyve suyu konsantresi	0,79-0,84
Meyveli kek	0,73-0,83
Un	0,67-0,87
Kurutulmuş meyve	0,55-0,80
Tahıl gevreği	0,10-0,20
Şeker	0,19
Krakerler	0,10

Çizelge 2.5. Mikroorganizmaların üremesi için gerekli a_w değerleri [36]

Mikroorganizma	Minimum	Optimum	Maksimum
<i>Campylobacter</i> spp.	0,98	0,99	-
<i>Clostridium botulinum</i> type E	0,97	-	-
<i>Shigella</i> spp.	0,97	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,97	-	-

Çizelge 2.5 (devam) Mikroorganizmaların üremesi için gerekli a_w değerleri

Mikroorganizma	Minimum	Optimum	Maksimum
<i>Vibrio vulnificus</i>	0,96	0,98	0,99
Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>	0,95	0,99	-
<i>Salmonella</i> spp	0,94	0,99	>0,99
<i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	0,94	0,98	0,99
<i>Bacillus cereus</i>	0,93	-	-
<i>Clostridium</i> <i>botulinum</i> tip A ve B tipi	0,93	-	-
<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i>	0,94	0,95-0,96	0,97
<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	0,92	-	-
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	0,83	0,98	0,99
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> toxin	0,88	0,98	0,99

pH ve asidite

Et, balık ve süt gibi gıdalar hafif derecede asidik iken meyveler asidik gıdalar arasındadır. Yumurta beyazı ise alkali olan gıdalara verilebilecek örneklerdendir. Mikroorganizmalar asiditeye duyarlı oldukları için gıdalara asit eklemesi muhafaza yöntemi olarak eskiden beri bilinmektedir [33]. Bazı gıdaların pH değerleri Çizelge 2.6’da verilmiştir. pH; tuz, a_w , redoks potansiyeli, sıcaklık gibi diğer faktörlerle etkileşim içindedir. Örneğin, düşük pH değerine sahip bir gıdada mikroorganizma inaktivasyonu için daha az ısı işlem uygulaması yeterli olabilmektedir. Birçok bakterinin pH 4,6’nın altında üreme özelliklerini devam ettiremediği bilinmektedir [37]. Bazı mikroorganizmaların üremeleri için gerekli pH değerleri Çizelge 2.7’de verilmiştir.

Çizelge 2.6. Bazı gıdaların pH değerleri [33]

Gıdalar		pH aralığı
Süt ve Ürünleri	Tereyağı	6,1-6,4
	Süt	6,3-6,5
	Krema	6,5
	Peynir	4,9-5,9
	Yoğurt	3,8-4,2
Kırmızı Et ve Kanatlılar	Sığır eti	5,1-6,2
	Jambon	5,9-6,1
	Dana eti	6,0
	Tavuk	6,2-6,4

Çizelge 2. 6. (devam) Bazı gıdaların pH değerleri

Gıdalar		pH aralığı
Balık ve Kabuklu Deniz Ürünleri	Balık	6,6-6,8
	İstiridye	6,5
	Yengeç	7,0
	Tuna balığı	5,2-6,1
	Karides	6,8-7,0
	Somon	6,1-6,3
Meyve ve Sebzeler	Elma	2,9-3,3
	Muz	4,5-4,7
	İncir	4,6
	Greyfurt	3,0
	Limon	1,8-2,0
	Kavun	6,3-6,7
	Portakal	3,6-4,3
	Erik	2,8-4,6
	Karpuz	5,2-5,6

Çizelge 2.6. (devam) Bazı gıdaların pH değerleri

Gıdalar		pH aralığı
Meyve ve Sebzeler	Üzüm	3,4-4,5
	Brokoli	6,5
	Domates	4,2-4,3
	Havuç	4,9-5,2
	Karnabahar	5,6
	Kereviz	6,1-6,4
	Salatalık	3,8
	Patlıcan	4,5
	Marul	6,0
	Ispanak	5,5-6,0
	Kırmızı soğan	5,3-5,8
	Maydanoz	5,7-6,0
	Patates	5.3-5.6
	Kabak	4.8-5.2

Çizelge 2.7. Bazı mikroorganizmaların üremesi için gerekli pH değerleri [33]

Mikroorganizma	Minimum	Optimum	Maksimum
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5-5,8	7,2	8,0-9,0
<i>Vibrio vulnificus</i>	5,0	7,8	10,2
<i>Bacillus cereus</i>	4,9	6,0-7,0	8,8
<i>Campylobacter</i> spp.	4,9	6,5-7,5	9,0
<i>Shigella</i> spp.	4,9	-	9,3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	7,8-8,6	11,0
<i>Clostridium botulinum</i> toxin	4,6	-	8,5
<i>Clostridium botulinum</i>	4,6	-	8,5

Çizelge 2.7. (devam) Bazı mikroorganizmaların üremesi için gerekli pH değerleri

Mikroorganizma	Minimum	Optimum	Maksimum
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	6,0-7,0	10,0
<i>Staphylococcus aureus</i> toxin	4,5	7,0-8,0	9,6
Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>	4,4	6,0-7,0	9,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,39	7,0	9,4
<i>Salmonella</i> spp.	4,2	7,0-7,5	9,5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,2	7,2	9,6

Besin bileşimi

Mikroorganizmalar üreyip yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirebilmek için bazı besin öğelerine ihtiyaç duyar. Bunlar mikroorganizmalara değişkenlik göstermekle beraber nitrojen, vitamin ve mineral gibi besin öğeleridir. Gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan mikroorganizmalar genel olarak karbonhidrat, alkol ve protein gibi besin öğelerine ihtiyaç duyar. Pekçok gıda da bu besin öğeleri açısından zengin olduğu için mikroorganizma üremesi için elverişli ortam sağlanmış olmaktadır [3, 33, 38].

Biyolojik yapı

Bazı gıdalar yapısında doğal olarak patojenik mikroorganizmalara karşı koruyucu maddeler içerir. Örneğin, fındık, ceviz gibi meyvelerdeki dış kabuk, yumurta kabuğundaki kütikül tabakası vb. Mikroorganizmaların bu bariyerleri aşarak gıdada üremesi daha zordur. Ancak gıdanın taşınması ve depolanması aşamalarında dış yüzeyinin darbe alması sonucu mikroorganizma iç yüzeye penetre olarak üreyebilmektedir. Gıdanın hazırlık aşamasında dış kabuğunun soyulması ve bu aşamadan sonra gerçekleşecek kontaminasyonlar da sağlık açısından risk oluşturmaktadır [38].

Redoks potansiyeli

Ortamın indirgenme veya yükseltgenme özelliğine bağlı olarak bu potansiyel değişmektedir. Ortamda indirgen madde bulunması redoks potansiyelinin düşük olması olarak ifade edilmekle beraber anaerop mikroorganizmaların üremesi için elverişli ortam sağlanmış olur. Ortamda oksijen gibi yükselten maddelerin olması durumunda ise redoks potansiyeli yüksektir. Bu durumda ise daha çok aerobik mikroorganizmalar üremeye devam eder [3].

Doğal olarak bulunan veya sonradan eklenen antimikrobiyaller

Sarımsak ve tarçın gibi bazı gıdalar yapısında doğal olarak antimikrobiyal öğeler içermektedir [34]. Hayvansal kaynaklı bazı gıdalar da enzim ve yağ asitleri antimikrobiyal bileşenler içermektedir [35]. Gıdanın yapısında doğal olarak bulunan antimikrobiyaller dışında gıdaya sonradan eklenen katkı maddeleri antimikrobiyal etki göstermektedir.

Fermentasyon ve tütüleme gibi gıdayı işleme aşamasında oluşan bazı bileşenler de antimikrobiyal etki göstermektedir [33].

Rekabetçi mikroflora

Çizelge 2.8. Bazı patojen mikroorganizmaların üreme sıcaklık aralığı [33]

Mikroorganizma	Minimum (°C)	Optimum (°C)	Maksimum (°C)
<i>Bacillus cereus</i>	5	28-40	55
<i>Campylobacter</i> spp.	32	42-45	45
<i>Clostridium botulinum</i> A ve B tipleri	10-12	30-40	50
<i>Clostridium botulinum</i> E tipi	3	25-37	45
<i>Clostridium perfringens</i>	12	43-47	50
Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>	7	35-40	46
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	30-37	45
<i>Salmonella</i> spp.	5	35-37	45
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	35-40	48
<i>Staphylococcus aureus</i> toxin	10	40-45	46
<i>Shigella</i> spp.	7	37	45
<i>Vibrio cholera</i>	10	37	43
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5	37	43
<i>Vibrio vulnificus</i>	8	37	43
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1	28-30	42

Çevrenin bağıl nemi

Gıdaların depolandığı çevrenin bağıl nemi hem gıdanın su aktivitesi hem de yüzeyde mikroorganizma gelişimi açısından önemlidir. Herhangi bir gıdanın a_w değerini bilmek ve korumak, mikroorganizmaların gelişmesini engelleyecek şekilde depolanmalarını sağlamak açısından önemlidir. Deponun bağıl nemi etkin bir klimatizasyon sistemi ile kontrol altına alınmalıdır [38].

2.4. Gıdaların Muhafazası

Gıdalar çiftlikten çatala kadar üretimin her aşamasında değişik sürelerde belli yöntemler ile muhafaza edilir. Bu muhafaza yöntemlerinin amacı hastalık riskini en aza indirmek, bozulmayı durdurmak ya da geciktirmektir [16]. Gıda muhafaza yöntemleri Çizelge 2.9’da özetlenmiştir.

Çizelge 2.9. Gıda muhafaza yöntemleri [3, 40]

İşlevleri	Koruma Faktörleri	Uygulanan İşlemler
Mikroorganizmaların inhibisyonu	Isıtma	-Pastörizasyon -Sterilizasyon -Kaynatma
	Işınlama	-Radisidasyon -Radurizasyon -Radapperdizasyon
	UV ve mikrodalga uygulaması	-UV ile dezenfeksiyon -Mikrodalga ile pişirme

Çizelge 2.9. (devam) Gıda muhafaza yöntemleri

İşlevleri	Koruma Faktörleri	Uygulanan İşlemler
Mikroorganizmaların inaktivasyonu	Soğukta saklama	-Soğutma -Dondurma
	Su aktivitesini düşürmek	-Kurutma -Tuz ilavesi -Şeker ilavesi -Gliserol ilavesi -Liyofilizasyon
	Oksijeni sınırlamak	-Vakum ambalajlama -Azot altında ambalajlama -Kontrollü ve modifiye atmosferde depolama
	Karbondioksiti arttırmak	-CO ₂ altında ambalajlama
	Asitlendirme	-Asit ilavesi -Laktik asit fermentasyonu -Asetik asit fermentasyonu

Çizelge 2.9. (devam) Gıda muhafaza yöntemleri

İşlevleri	Koruma Faktörleri	Uygulanan İşlemler
Mikroorganizmaların inaktivasyonu	Alkolden yararlanma	-Fermantasyon -Fortifikasyon
	Koruyucu ilavesi	-İnorganik koruyucu ilavesi (Sülfıt, nitrit vb.) -Organik koruyucu ilavesi (Sorbit, benzoat, parabenler vb.) -Antibiyotik ilavesi (Nisin vb.) -Dumanlama
	Kombine yöntemler	-Sıcaklık-SSP* -aw-SSP -pH-SSP -Kombine-SSP
	Mikroyapısal kontrol	-Katı faz fermantasyonu ile kontrol -Emülsiyonlarla kontrol

*SSP; shelf stable products: Soğutmadan saklanabilen uzun raf ömürlü ürünler.

Çizelge 2.9. (devam) Gıda muhafaza yöntemleri

İşlevleri	Koruma Faktörleri	Uygulanan İşlemler
Mikroorganizmaların ürüne girişinin engellenmesi	Dekontaminasyon	-Katkı maddelerinin kullanımı -Paketleme materyalleri kullanımı -Kimyasal kullanımı (HCl, H ₂ , O ₂) -Isıtma -Işınlama
	Aseptik veya temiz koşulları sağlama	-Aseptik işleme -Aseptik veya temiz ambalajlama
	Ambalajlama	-Isıl işleme dayanıklı ambalaj kullanımı (retort-pouch) -Özel laminasyonlarla fonksiyonu çeşitlendirilmiş ambalaj altında işleme (Sous vide)

2.5. Sous Vide Tekniğine Genel Bakış

Sous vide, gıdaların vakumlanmış plastik poşetler içinde sıcaklık-süre ilişkisine dikkat edilerek pişirilmesi tekniğidir [15]. Fransızca'dan gelen “sous vide” terimi “vakum altında” anlamında kullanılmakta olup çiğ veya yarı pişmiş gıdalara uygulanan pişirme tekniği olarak tanımlanmaktadır [41]. Bu terim ayrıca düşük oksijenli paketlenme tekniği olarak da adlandırılmaktadır [42]. Bu tekniğin 1970’li yıllardan beri şefler tarafından farklı avantajları sebebiyle diğer pişirme yöntemlerine tercih edildiği bilinmektedir [43]. Gıdanın depolama süresinin ve duyu kalitesinin artırılmasına yönelik sağladığı avantajlar ön plana çıkmaya başladıkça 2000’li yıllardan sonra yemek sektöründe kullanılması planlanan alternatif pişirme tekniklerinden biri olarak gösterilmeye başlanmıştır [8, 44].

Sous vide pişirme tekniğinin temel aşamaları; ürünün ön hazırlık işleminden ve/veya ön pişirme işleminden geçirilmesi, porsiyonlanması, plastik vakum paketlerde hermetik olarak paketlenmesi, buhar fırınlarında veya su banyolarında sıcaklık-süre takibi yapılarak pişirilmesi (pastörizasyon), buz küvetlerinde veya soğutucularda hızla soğutulması, sıcaklık-süre takibi yapılarak soğuk depolama, tüketileceği zaman yeniden ısıtma ve servis proseslerinden oluşmaktadır [5, 45, 46]. Sous vide pişirme tekniği prosesleri göz önünde bulundurulduğunda vakum paketlenmiş gıdanın pişirilmesi ile sous vide üretim tekniğinin sonlandığı ve sonrasında vakum paketli gıdaya uygulanan soğutma işleminin sous vide üretim tekniği aşamalarının dışında olduğu da düşünülmektedir. Bu açıdan bakıldığında, sous vide pişirme işleminin devamında soğutma işleminin uygulandığı teknik, sous vide pişir soğut olarak adlandırılmaktadır [11]. Sous vide üretim tekniğinin iki farklı uygulaması olduğu belirtilmektedir. Bunlardan biri pişir-tüket, diğeri ise pişir-soğut veya pişir-dondur olarak tanımlanmaktadır [15].

Sous vide tekniğinde, pişirme sırasında buharın veya suyun etkisiyle sıcaklığın gıdaya daha iyi nüfuz etmesi, homojen pişirme sağladığı için gıdayı pişirme sırasında döndürme gibi işlemlere gerek duyulmaması, vakumlu paketlerde pişirme işlemi uygulandığı için gıdada nem ve aroma kaybının önlenmesi, oksidasyon görülme riskinin elimine edilmesi ve aerobik mikroorganizmaların gıdada gelişiminin durdurularak gıdanın depolama süresinin uzatılması gibi avantajlar bulunmaktadır [5, 6, 11, 47].

Vakumlanma öncesi ön pişirme aşamasından geçirilmiş ya da çiğ olan gıdaların vakum altında ambalajlandıktan sonra pastörizasyon işlemine tabi tutulduğu her üretim tekniği “sous vide” olarak adlandırılmamaktadır. Sous vide tekniğinde temel prensipler, ürün vakumlanmadan önce yapılan hazırlık işlemlerinin hijyenik koşullarda gerçekleştirilmesi, her aşamada kontaminasyon riskinin en aza indirilmeye çalışılması, pişirme, soğutma ve soğuk depolama işlemleri sırasında sıcaklık-süre takibinin etkin bir şekilde yapılıp son olarak yeniden ısıtma işleminin kontrollü gerçekleştirilmesiyle gıdada üreme ihtimali olan vejetatif mikroorganizmaların inhibasyonunun sağlanması aşamalarıdır [48].

2.5.1. Sous vide tarihçesi

Gıdaları kapalı paketlerde pişirme veya pastörize edilmiş gıdaları hermetik olarak ambalajlanmış paketlerde saklama şekli eski dönemlerden beri bilinmektedir. Gıdaların hava ile temasının engellenerek depolama süresinin uzatılabileceği düşüncesi, eski çağlarda uygulanan gıdanın öküz mesanesinin içerisine konularak pişirilmesi sous vide olarak bilinen tekniğin ilk örneklerindendir. Günümüzde bu işlem ısıya dayanıklı farklı paketleme materyalleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Gıda sektöründe sous vide sisteminin kullanımı ise ilk olarak nacka ve Anderson Greenville Spartanburg (AGS) sistemlerinin kullanımıyla 1960’lı yıllarda başlamıştır [48].

Nacka sistemi

İsveç hükümeti 1960’lı yıllarda şehir hastanelerini gıda üretimiyle ilgili rasyonelleşme çalışmalarında bulunmaları için görevlendirmiştir. Bu dönemde Lowenstrom Hastanesi konuyla ilgili çalışmalara başlayarak gıdanın pişirildikten sonra soğutularak saklanacağı fikrini ortaya koymuştur. O dönemde sınırlı uygulama alanı olan bu teknik 1963 yılında yeni bir mutfak inşa eden Nacka Hastanesi’nin bu tekniği kullanmasıyla birlikte yeniden gündeme gelmiştir. Daha sonraki yıllarda ise sistemde iyileştirmeler yapılarak “Nacka” olarak bilinen yöntemin uygulanması yaygınlaştırılmıştır [49].

Bu yöntemde gıdalar öncelikle ön hazırlık işleminden geçirilip daha sonra pişirilerek iç sıcaklığının en az 80°C’ye ulaşması sağlanmaktadır. Hazırlanan yemek sıcak halde plastik paketlere konulup havası alınarak kapatıldıktan sonra 100°C’deki kaynayan suda 3-10

dakika bekletilmektedir. Son olarak paketler sıcak sudan alınarak soğuk su tünellerine konulup sıcaklığının önce 60 dakikada 10°C'ye daha sonra 4°C'ye ulaşması sağlanmaktadır. Kurulanan paketler en az 4°C'de 21 güne kadar depolanabilmektedir. Paketler servis edilmeden sıcaklığının en az 80°C'ye ulaşması sağlanmaktadır [49].

Bu sistemin ilk uygulama yeri olan günde 1200-7500 hizmet kapasiteli Nacka Hastanesi'nin mutfağında tavalar, standart fırınlar, kaynatma kapları ve buhar ısıtıcılı devirmeli kaplar bulunduğu, 2 adet paketleme makinesi içeren 1 paketleme odasının olduğu ve pastörize edilen yemeğin soğutulabilmesi için 7 metre uzunluğundaki soğuk su tünellerinin kullanıldığı bilinmektedir [48, 49].

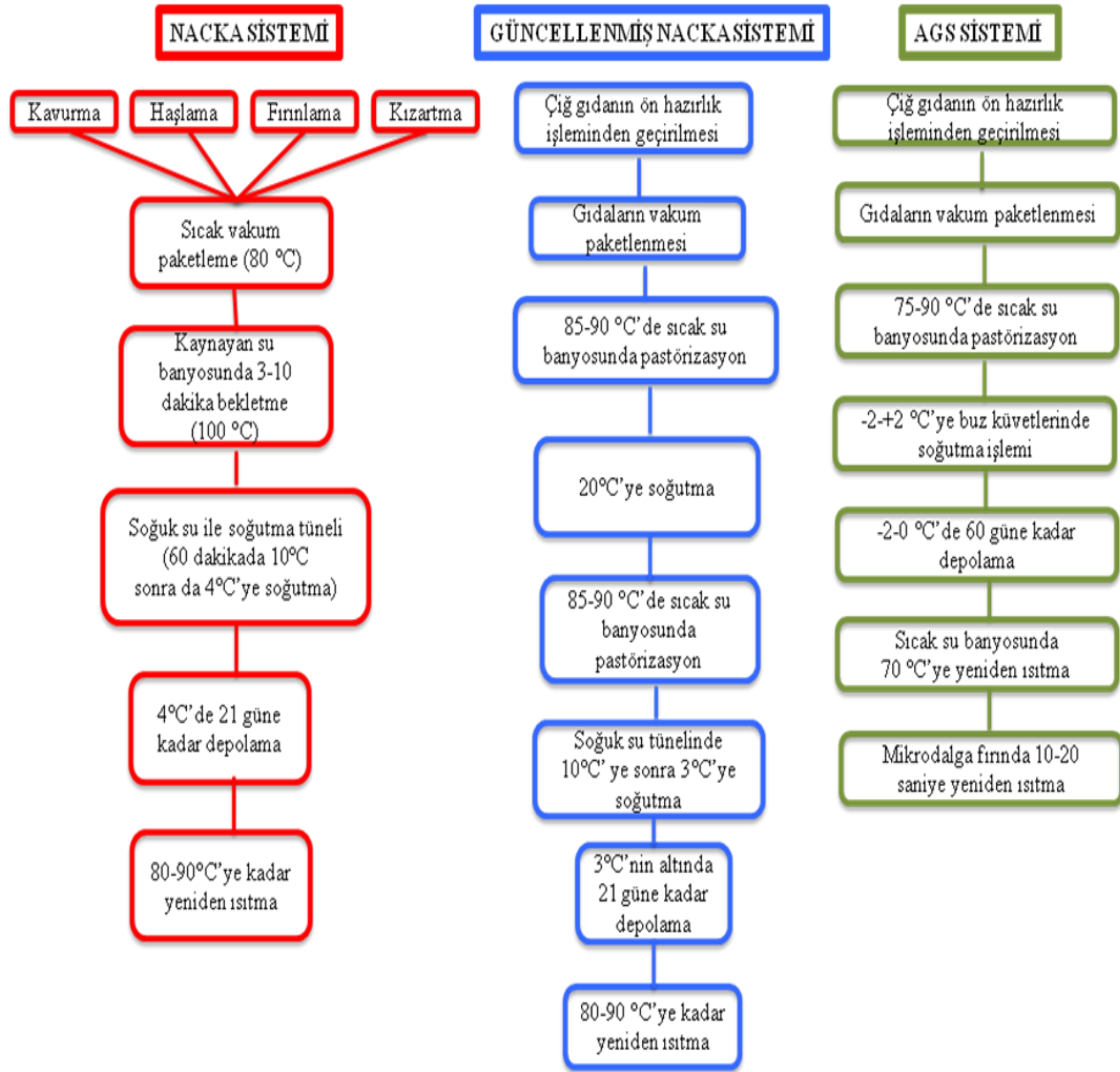
Anderson Greenville Spartanburg (AGS) sistemi

Amerika'da bulunan Dük Vakfı ve üç Güney Karolin hastanesi, hastanelerdeki yemek hizmetlerinde hazırlama, depolama ve servis aşamalarını içeren yeni bir sistemin araştırılması için sponsor olmuştur. Sistemin ismi ise araştırmaya sponsor olan bu 3 hastanenin baş harfleriyle anılmıştır (Anderson, Greenville, ve Spartanburg). Bu sistemin kurucuları nacka sisteminde olduğu gibi vakum paketlemenin kullanılması gerekliliğini ortaya koymuş ancak dondurarak saklama işleminin maliyetli oluşu, depolama şartlarının sağlanmasının zorluğu, donma sıcaklığına ulaşabilmek için gerekli sürenin uzunluğu, çözdürme işlemine gerek duyulması ve dondurma işlemiyle oluşan buz kristallerinin gıdanın yapısını bozduğu gibi sebeplerden dolayı dondurma işleminin kullanılmamasını hedeflemişlerdir. Bu sistemde gıdalara, paketlenmeden önce yarı pişirme işlemi uygulanmaktadır. Bu işlem dahilinde sebzelere ağartma (blanching) işlemi etlere ise mühürleme işlemi uygulanmaktadır. Daha sonra standart tarifiede yer alan tüm ürünler vakum paketi içine yerleştirilerek termostatik olarak kapatılmaktadır. Pişirecek olan yemeğin içeriğine göre farklı sürelerde farklı sıcaklık işlemi uygulanan paketler pişirme işleminden sonra buz dolu küvetlere aktarılarak sıcaklığın -2°C ve +2°C sıcaklık aralığına düşürülmesi sağlanmaktadır. İstenilen sıcaklığa gelen paketler -2°C ile 0°C sıcaklık aralığında soğuk depolarda 60 güne kadar depolanmaktadır. Tüketileceği uydu mutfaklara buz küvetleri içerisinde taşındıktan sonra servis öncesi mikrodalga fırınlarda yeniden ısıtma işlemi uygulanmaktadır. Bu aşamada yemeğin sıcaklığının 70°C'ye ulaşması hedeflenmektedir [49].

Nacka ve AGS sistemleri (Şekil 2.2) daha çok hastanelerde kullanıma yönelik geliştirilmiş sistemlerken sous vide tekniğinin daha farklı kullanım alanları olduğu belirtilmektedir.

Patateslerin paketlerde sterilizasyonu, jambonun paketlerde pişirilmesi gibi gelişmelerden sonra, 1974 yılında Fransız bir aşçı pişirme sırasında kaz ciğerindeki ağırlık kaybını en aza indirmek için plastik paketlerde pişirme tekniğini uygulamıştır. Vakum pişirme tekniğini geliştirerek okul açan Fransız aşçı sous vide tekniğini geliştirmiştir. Bu dönemlerde sous vide tekniğiyle üretilen yemeklerin depolama süresi 6 gün olarak sınırlanmışken 1984'ten sonra yapılan düzenlemelerle daha uzun raf ömrü sağlanmıştır [48].

Sous vide tekniğinin geliştirilmesiyle Fransa'da 1989 yılından itibaren kullanım alanı artmıştır. Bu teknik Fransa, Belçika ve Hollanda tarafından büyük ilgiyle karşılanmıştır. Günümüzde giderek artan ilgiyle gıda mikrobiyologları ve aşçılar tarafından üzerinde araştırmalar yapılan bir konu olarak güncelliğini devam ettirmektedir [48].



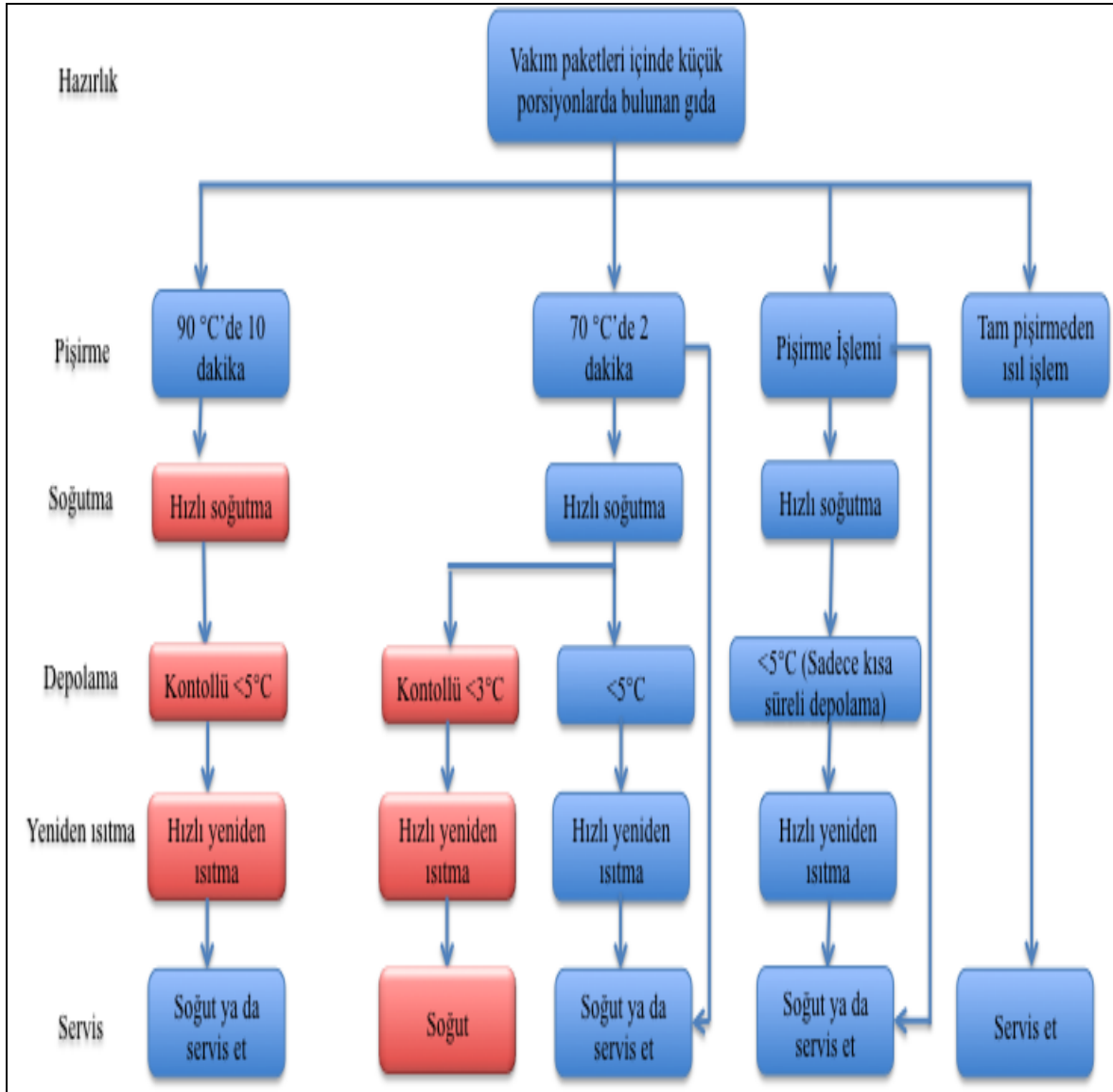
Şekil 2.2. Nacka, güncellenmiş nacka ve AGS sistemleri [49]

2.5.2. Sous vide üretim tekniği ve uygulama farklılıkları

Gıdanın satın alma aşamasından servis aşamasına kadar geçen tüm süreçlerinde yapılan kontrol işlemlerinin son ürünlerdeki mikrobiyal yükü etkilediği bilinmektedir. Gıdada bozulmaya yol açan etkenlerin başında da mikrobiyal bozulma gelmektedir. Mikroorganizmaların gıdada gelişimini en aza indirebilmek için alınan önlemlerin en önemlisi soğukta muhafaza işlemidir. Soğukta muhafazanın yanı sıra vakum paketlenme ve modifiye atmosferle paketlenme gibi uygulamalarla gıdanın depolama süresi uzatılmaya çalışılmaktadır [50]. Sous vide üretim tekniğinde geleneksel üretimden farklı olarak soğukta muhafaza ve yanı sıra vakum paketlenme işlemleri birlikte kullanılmaktadır.

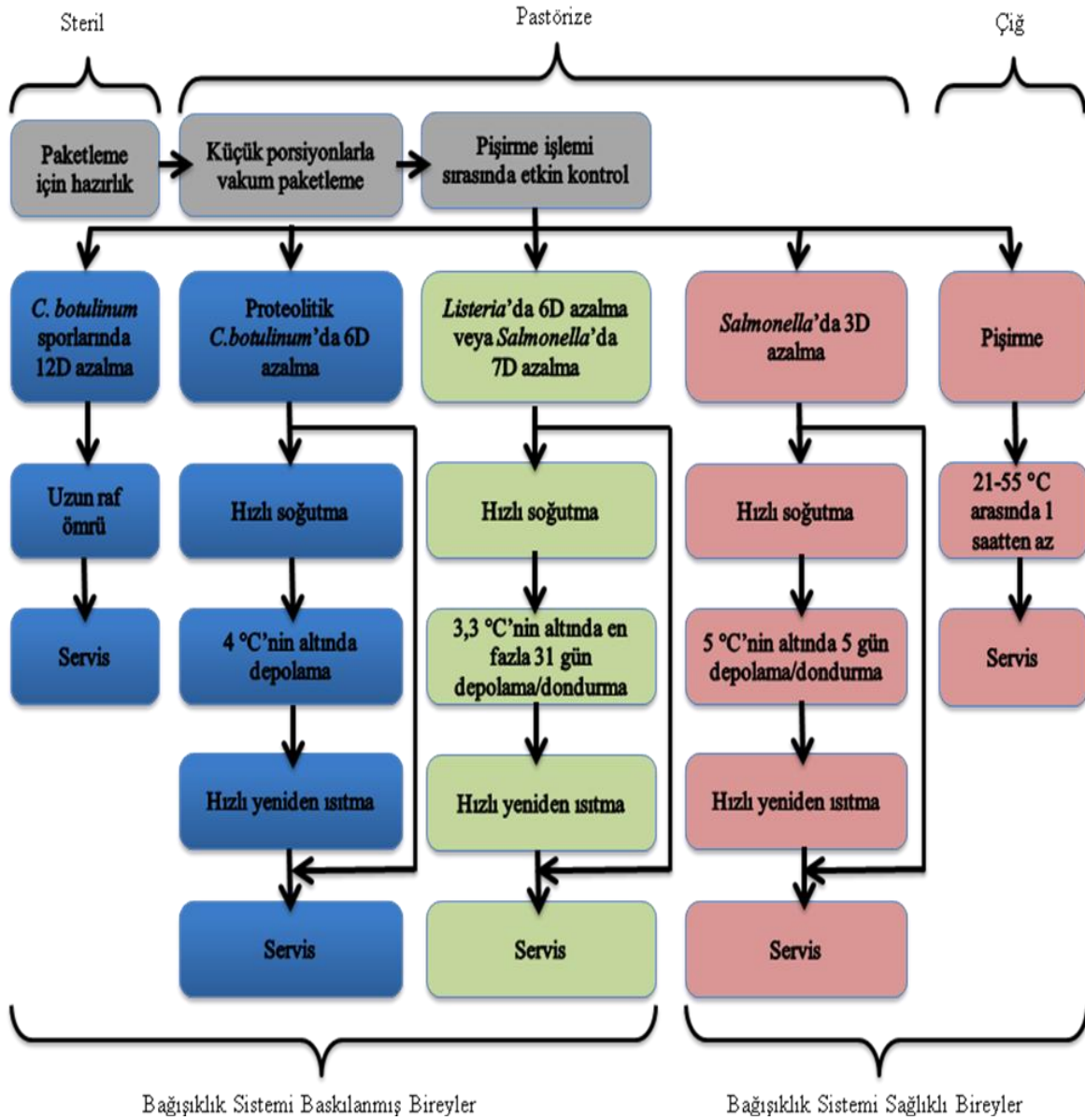
Literatürde vakum paketlenme terimi yerine sıklıkla düşük oksijenli paketlenme terimi kullanılmaktadır. Bu terimin tercih edilme sebebi ise kontrollü atmosferde paketlenme, modifiye atmosferde paketlenme ve sous vide tekniğini kapsadığı görüşüdür [42].

Sous vide tekniği ülkelere, restoranlara ve şeflere göre bazı farklı uygulamalarla yapılmakla beraber uygulanma amacının üretim tekniği veya muhafaza yöntemi olmasına bağlı olarak da uygulamada farklılıklar görülebilmektedir. Şekil 2.3'te raf ömrünün uzun veya kısa olmasına bağlı olarak sous vide tekniğinde görülen uygulama farklılıkları gösterilmiş olup kırmızı kutular uzun depolama ömrünü ifade etmektedir [45].



Şekil 2.3. Sous vide tekniğinde depolama ömrüne göre uygulama farklılıkları

Pişirme ve depolama süre-sıcaklık kombinasyonları, ürünün servis edileceği bireye göre de değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Şekil 2.4'te bağışıklık sistemi baskılanmış ve bağışıklık sistemi sağlıklı bireyler tarafından tüketilecek sous vide tekniğiyle üretilen yemekte uygulanan akış şeması gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Sous vide tekniğinde bireylerin sağlık durumlarına göre uygulama farklılıkları [15]

Non-proteolitik *Clostridium botulinum*' da 90°C'de 10 dakikalık ısıtma işlemi uygulamasıyla %99,9999 oranında azalma sağlanmaktadır. Bu yöntemle üretilmiş yemeklerin depolama ömrü daha uzun olmaktadır. Yavaş pişirme uygulanan sous vide tekniğinin de bu işlemle kombine yapılması önerilmektedir. *Listeria monocytogenes*'de 70°C'de 2 dakikalık ısıtma işlemi uygulamasıyla %99 oranında inhibisyon sağlanmaktadır. Restoranlarda, gıda firmalarında sıklıkla uygulanan pastörizasyon yöntemi olarak bilinmektedir. Pişirme işlemi ise pastörizasyon işlemi uygulanmadan yapılan genellikle evlerde uygulanan işlemdir. Tam

pişirmeden ısıtıl işlem uygulanması sonucunda gıdada parazit ve kontaminant bakteri bulunma olasılığı yüksektir. Sıcak su banyolarında düşük sıcaklıklarda uzun süre pişirilerek uygulanan sous vide tekniğine ise düşük sıcaklıkta uzun süreli (low temperature long time, LTLT) pastörizasyon denilmektedir. Bu teknikte gıda güvenliği açısından birçok risk bulunmaktadır [45].

Sous vide tekniği aşağıdaki özellikleri nedeniyle diğer pişirme yöntemlerine göre daha ön plana çıkan bir sistem olarak değerlendirilmektedir.

- Vakum paketlenen gıdanın düşük sıcaklıklarda ısıtıl işlem uygulamasını takiben 0°C ile 3°C sıcaklık aralığında depolanarak raf ömrünün uzatılması [47],
- Gıda endüstrisinde depolama ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan ve 3-4 haftaya kadar depolama ömrünü uzatabilen pastörizasyon tekniği olması [51],
- 100°C'nin altında vakum paketli ürünlere uygulanan ısıtıl işlem sonrası soğutma, yeniden ısıtma ve servis aşamalarını içeren ve depolama sırasında oksidasyonunun önlenmesini sağlayan bir sistem olması [52],
- Her aşamada HACCP sistemiyle izlenerek güvenli gıda üretimini sağlaması [53],
- Uygulama aşamasında patojen mikroorganizmaların inhibisyonu sağlanırken duyu özelliklerinin korunumunu da sağlanması [54],
- Paketli olarak depolandığı için kontaminasyon riskinin az ve aroma verici bileşenlerin yüksek oranda korunduğu bir sistem olması ve depolama süresinin 1 haftadan üç aya kadar uzatılabileceği bir teknik olarak olması [55],
- Düşük sıcaklıkta pişirme işlemi uygulandığı için gıda bileşenlerinin korunumunun sağlanması ve pişirme aşamasında gıda oksidasyonunun önlenmesi gibi temeller üzerine kurulu olan bir teknik olması [56],
- Temel prensibi vakum paketli gıdalara düşük sıcaklıkta çok uzun süre pişirme işlemi uygulanan bir sistem olması [57].

2.5.3. Sous vide tekniğinin avantajları

Sous vide üretim tekniğinde kullanılan vakum paketlenme işlemiyle paket içerisindeki oksijen azaltılarak aerobik mikroorganizmaların üremesi sınırlandırılmaktadır [58]. Vakum paketlenme yönteminde gaz geçirgenliği çok düşük olan paketlerin içindeki hava vakum cihazlarıyla boşaltılarak paketler klipsle veya sıcaklık yardımıyla kapatılmaktadır. Bu işlem sırasında paketin içerisinde kalan sınırlı miktarda oksijenin de paket içindeki aerobik veya mikroaerofilik mikroorganizmalar tarafından kullanılması sonucu ortamda oksijen en aza inmektedir. Bu yolla paketlerde aerobik bakteri üremesinin engellenmesi sağlanırken yağların oksidasyonu da önlenmektedir. Ayrıca vakum paketler sayesinde depolama aşamasındaki kontaminasyon riski elimine edilirken gıdadaki fire oranı da en aza indirilmiştir [50]. Yapılan bir çalışmada modifiye atmosferle (%60 O₂ + %20 CO₂ + %20 N₂) ve vakum paketlenme yöntemiyle paketlenen taze kırmızı etin 4°C'de 35 gün depolanması sonucunda vakum paketlenmenin etteki mikrobiyolojik kalitenin sağlanmasında önemli bir faktör olduğu saptanmıştır [59]. Vakum paketlenmenin oksidasyonun azaltılması ve gıdadaki aroma kayıplarının korunması, gıda tekstürünün geliştirilmesi, nem kaybının korunması gibi avantajlara sahip olduğu bilinmektedir [47, 60]. Geleneksel yöntemle kıyaslandığında daha uzun süre duyu kalitenin korunduğu da belirtilmektedir. Kırmızı ette 23-35 gün, beyaz ette 14-30 gün ve balık ve sebzelerde 7 güne kadar depolandığında gıdalarda duyu ve mikrobiyolojik kalitenin korunduğunu gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır [47, 61, 62]. Sous vide tekniğiyle üretilmiş tavuk göğsü ve kremalı patates yemeklerinin duyu kalitesinin araştırıldığı bir çalışmada, vakumlu paketlerde uygulanan pişirme işleminin geleneksel pişirme yöntemine göre anlamlı derecede daha fazla aroma, sululuk ve nemlilik özelliklerini koruduğu saptanmış, hedonik skorun da vakumlu paketlenme tekniğiyle pişirme işleminde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ancak çalışmada bu durumun her zaman tüketici tercih sebebi olamayabileceği de belirtilmiştir [8]. Sous vide tekniğiyle hazırlanmış yemeklerde ağırlık kaybının %5-10 arasında, geleneksel yöntemle hazırlanan yemeklerdeki ağırlık kaybının ise %25-40 arasında değiştiği belirtilmektedir [47]. Sous vide tekniğinde ısı transferi su buharı veya su ile sağlandığı için daha etkin bir ısı iletiminin olması bu tekniğin diğer avantajları arasında sıralanmaktadır [63].

Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerde mikrobiyolojik özellikleri etkileyen birçok farklı

etken de bulunmaktadır. Et çeşiti, kas tipi, yağ içeriği, su içeriği, asidite, tuz içeriği ve eklenen baharatların çeşiti gibi birçok faktör mikrobiyolojik özellikleri etkilemektedir [51]. Yapılan bir çalışmada, keten tohumuyla zenginleştirilmiş köftelerin modifiye atmosferle paketlenerek 2°C’de depolanmasının depolama ömrünü artırdığı saptanmıştır [50]. Bu gıdalarda *Clostridium botulinum* üremesini inhibe etmek için kullanılan bir diğer yol sodyum laktat ilavesiyle non proteolitik *Clostridium botulinum*’a karşı alınan önlemdir. Sodyum laktat ilavesinin farklı konsantrasyonlarda yapılması ve farklı sıcaklık değerlerinde depolama işleminin yapılmasının etlerdeki depolama sürelerine etkileri Çizelge 2.10’da gösterilmiştir [41]. Sous vide tekniğinin katkı maddesi içermeyen geleneksel olarak üretilmesi ve doğal antimikrobiyallerin kullanımı ile yemeğin depolama süresinin artırılması özellikleri tüketici tercih sebebi olabilmektedir [55].

Çizelge 2.10. Depolama sıcaklıklarının ve sodyum laktat eklenmesinin *Clostridium botulinum* toksin üretme zamanına etkisi [41]

Gıda	Sodyum laktat (%, w/w*)	Depolama Sıcaklıklarına göre Toksin Üretme Zamanı (gün)			
		4 °C	8°C	12 °C	30 °C
Sığır Eti	0	90	8	4	1
	2.4	>90	90	>40	3
	4.8	>90	>90	>40	6
Tavuk Eti	0	90	16	12	2
	1.8	>90	60	>40	4
	3.6	>90	>90	>40	6
Somon	0	60	8	4	1
	2.4	90	12	6	2
	4.8	>90	>90	>40	4

*Ürünün birim ağırlığındaki sodyum laktat ağırlığı oranı.

Özellikle yemek firmaları için geliştirilen bir yöntem olan sous vide [64] tekniğinin toplu beslenme hizmetleri açısından sağladığı yararlar da bulunmaktadır.

Bu yararlar:

- Bir merkezden toplu üretim yapılabilmesinin sağlanması,
- Ürün çeşitliliğinin sağlanması,
- Üretimde kullanılacak taze gıdaların maliyetinin düşürülmesi,
- İşgücüne fazla gereksinim olmadan uygulanabilmesi,
- Tekniğin sadece et, tavuk ve balık gibi et ürünlerine değil sebze ve meyvelere de uygulanabilirliğinden dolayı hastane, okul, restoran gibi toplu yemek hizmeti veren kurumlara güvenle birçok gıdanın ulaştırılabilmesi,
- Porsiyon kontrollerinin etkin yapılmasının sağlanması,
- Gıda firmaları arasındaki pazar rekabetini güçlendirmesi olarak belirtilmektedir [65].

Tüketicilerin yiyecek içecek sektöründen memnuniyetinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, farklı yaş, sosyal sınıf, cinsiyet, ev dışı tüketim sıklığı gruplarına göre tüketicilerin memnuniyet durumları değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerin grupların çoğunda besin değeri, duyuşal özellikler, kolaylık, güvenlik gibi beklentilerini karşılayabildiği saptanmıştır. Ayrıca tüketicilerin yeni üretim teknolojilerine karşı ön yargılı tutumunun ortadan kaldırılması için önlemlerin alınması gerektiği belirtilmiştir [66].

2.5.4. Sous vide tekniğinin dezavantajları

Vakum paketlenmenin avantajlarının yanı sıra paketlerde *Clostridium botulinum* üremesi için elverişli ortam oluşması gibi bazı dezavantajları da bulunmaktadır [50]. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerde mikrobiyolojik kontrollerin yapılması aşamasında spesifik bazı mikroorganizmalar belirlenmektedir. Bu aşamada pişir-soğut sistemi kullanılırken risk oluşturan mikroorganizmalar seçilebileceği (*Listeria monocytogenes*) gibi sous vide tekniğine spesifik mikroorganizmalar da (*Clostridium botulinum*) seçilebilmektedir. Birçok çalışmada özellikle *Clostridium botulinum* araştırılmasının sebepleri, gıdanın vakum

paketleme işleminden önce pastörizasyon işlemi uygulanmaması nedeniyle gıdada bulunan fakültatif anaerop ve anaerop mikroorganizmaların paketler vakumlandıktan sonra üreyebileceği, pastörizasyon işlemiyle spor oluşturan mikroorganizmaların inhibisyonunun sağlanamayacağı ve depolama süresince vejetatif forma geçerek üremeye devam edeceği, depolama süresinin uzatılması için depolama sıcaklıklarının psikrofil mikroorganizmaların üremesini de yavaşlatacak şekilde seçilememesi olarak belirlenmiştir [53].

Farklı ambalajlama ve depolama sıcaklıklarının tekirdağ köftelerinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir araştırmada, vakum ambalajlama işleminin köftelerin yapı ve şekilleri üzerine olumsuz etkisi olduğu belirtilmiş, modifiye atmosferle (%65 N₂ + %35 CO₂) paketleme işleminin bu köfteler için en uygun paketleme tekniği olduğu belirtilmiştir [67]. Ancak sous vide üretim tekniğinde modifiye atmosferle paketleme yapıldığında ise, CO₂ gazının kullanılmasının ısı transferini kısıtladığı için uygun bir yöntem olmadığı belirtilmektedir [54].

Sous vide tekniğinde genellikle botulizm riski üzerinde durulmaktadır. Düşük sıcaklıkta pişirme yöntemiyle uygulanan sous vide sisteminde gıdanın tehlikeli sıcaklık aralığı olarak tanımlanan 5-60 °C'de uzun süre kalması, soğukta depolanması sırasında psikrofil bazı mikroorganizmaların üremesi, non-proteolitik *Clostridium botulinum* tarafından toksin üretilmeye devam etmesi ve tam pişirilme işlemi yapılmayan sous vide tekniğinde gıdada parazit, virus ve bakteri üremesinin devam etmesi gibi endişeler bulunmaktadır [45]. Bu nedenle özellikle riskli ürün grubunda yer alan etlerin büyüklüklerine göre uygun süre ve sıcaklıklarda pişirilmesi gerekmektedir. Çizelge 2.11'de etlerin doğranma büyüklüklerine göre sıcak su banyosunda pişme sıcaklık ve süreleri, Çizelge 2.12'de ise etin farklı sıcaklıklarda pişmesi ve pastörize olması için gerekli süreler verilmiştir.

Pastörizasyon işlemiyle tüm gıdalarda *Listeria monocytogenes* varlığını 6-log, pişirme işlemiyle kanatlılar dışındaki etlerde *Salmonella* varlığını 5-log azaltmak amaçlanmaktadır. Depolama sıcaklık-süre takibinin etkin yapılmaması sonucu tüketime sunulmadan yeniden ısıtma işleminin yetersizliğiyle birlikte mikrobiyolojik açıdan risk oluşabilmektedir. Yeniden ısıtma işlemiyle ilgili farklı öneriler bulunmaktadır. Tüketime sunulacak gıdanın hızlı bir şekilde 63°C'nin üzerine çıkarılması ve servis edilmeyecekse bu sıcaklıkta en fazla üç saat bekletilmesi İyi Hijyen Uygulamaları Rehberi'nde yer almaktadır [68].

İngiltere Soğutulmuş Gıdalar Birliği sous vide üretim tekniği ile üretilmiş gıdalarda en sık risk oluşturan mikroorganizmaların *Enterobacteriaceae*, *E.coli*, *Clostridia* spp. olduğunu bildirmiştir [69].

Toplu beslenme hizmetleri açısından düşünüldüğünde ise araç-gereçler ve ambalaj malzemelerinin işletmeye ek maliyet getirmesi, eğitilmiş elemanların çalıştırılması gibi dezavantajları bulunmaktadır [56, 65].

Çizelge 2.11. Etin doğranma büyüklüklerine göre sıcak su banyosunda pişme süreleri (saat:dakika) [44, 45]

Kalınlık (mm)	Belirtilen Süreler Boyunca Bekletilmesi Gereken Sıcaklıklar ve Pişirme Süresi (°C-saat:dk)											
	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66
5	3:33	2:41	2:00	1:30	1:08	0:51	0:40	0:31	0:25	0:20	0:17	0:14
10	3:35	2:43	2:04	1:36	1:15	1:00	0:49	0:41	0:35	0:30	0:27	0:24
15	3:46	2:55	2:16	1:48	1:28	1:13	1:02	0:53	0:47	0:42	0:38	0:35
20	4:03	3:11	2:32	2:04	1:44	1:28	1:17	1:08	1:01	0:56	0:52	0:48
25	4:17	3:25	2:46	2:18	1:57	1:41	1:30	1:21	1:13	1:08	1:03	0:59
30	4:29	3:38	3:00	2:32	2:11	1:55	1:43	1:33	1:26	1:19	1:14	1:10
35	4:45	3:53	3:15	2:46	2:25	2:09	1:56	1:46	1:38	1:31	1:26	1:21
40	4:59	4:07	3:29	3:00	2:39	2:22	2:09	1:59	1:50	1:43	1:37	1:32
45	5:21	4:29	3:50	3:22	3:00	2:42	2:29	2:17	2:08	2:00	1:53	1:48
50	5:45	4:53	4:14	3:44	3:21	3:03	2:46	2:37	2:27	2:19	2:11	2:05
55	6:10	5:18	4:39	4:08	3:45	3:26	3:11	2:58	2:47	2:38	2:30	2:23
60	6:38	5:45	5:06	4:35	4:10	3:50	3:34	3:20	3:09	2:58	2:50	2:42
65	7:07	6:15	5:34	5:02	4:36	4:15	3:58	3:43	3:31	3:20	3:11	3:02
70	7:40	6:45	6:03	5:30	5:04	4:42	4:23	4:08	3:54	3:43	3:32	3:23

Çizelge 2.12. Etlerin pişmesi ve pastörize olması için gerekli süre-sıcaklık değerleri [45]

Sıcaklık (°C)	Pastörizasyon Zamanı* (dakika:saniye)	Pişme Zamanı** (dakika:saniye)
55	200:00	69:00
56	147:00	46:00
57	109:00	30:00
58	80:00	20:00
59	59:00	14:00
60	44:00	9:00
61	32:00	6:00
62	24:00	4:00
63	18:00	3:00
64	13:00	2:00
65	10:00	1:05
66	7:00	0:42
67	6:00	0:30
68	4:00	<20 saniye
69	3:00	
70	2:00	
71	1:29	

*Tüm gıdalarda *Listeria monocytogenes* düzeyinde 6-log azalma sağlanan kombinasyon.

**Kümes hayvanları etleri hariç etlerde *Salmonella* düzeyinde 5-log azalma sağlanan kombinasyon.

Çizelge 2.12. (devam) Etlerin pişmesi ve pastörize olması için gerekli süre-sıcaklık değerleri

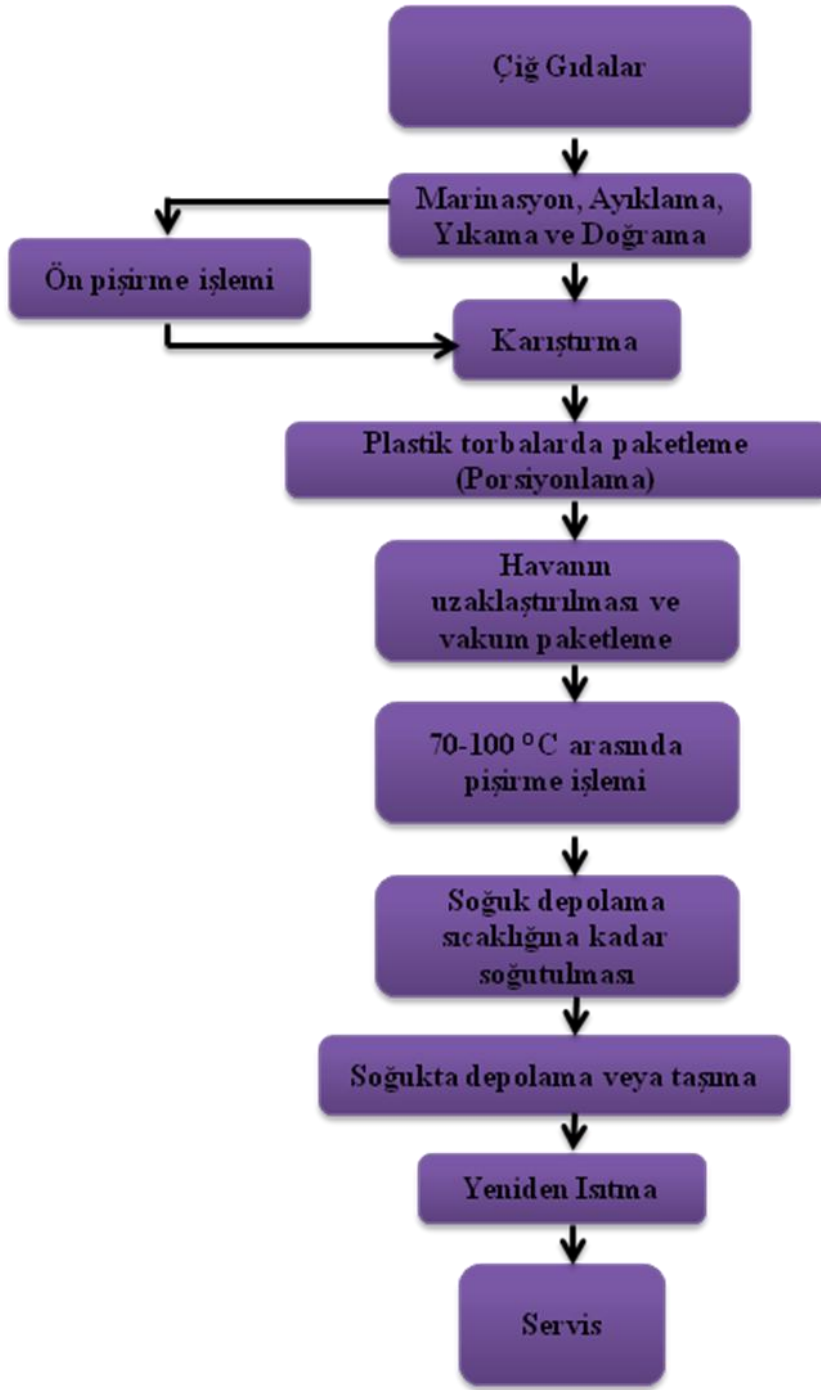
Sıcaklık (°C)	Pastörizasyon Zamanı* (dakika:saniye)	Pişme Zamanı* (dakika:saniye)
72	1:05	
73	0:48	
74	0:36	
75	0:26	
>76	<20 saniye	

*Tüm gıdalarda *Listeria monocytogenes* düzeyinde 6-log azalma sağlanan kombinasyon.

**Kümes hayvanları etleri hariç etlerde *Salmonella* düzeyinde 5-log azalma sağlanan kombinasyon.

2.5.5. Et ve et ürünlerinde sous vide üretim tekniği prosesleri ve mikrobiyoloji yönünden değerlendirilmesi

Sous vide üretim tekniğindeki özellikle sıcaklık-süre uygulamaları toplu beslenme hizmeti veren kurumların bu üretimle hedefledikleri faktörlere göre değişkenlik göstermektedir. Temel olarak uygulanan işlemler göz önünde bulundurularak bir toplu beslenme hizmetinde hazırlanan çiğ gıdalar için üretim akış şeması Şekil 2.5'te yer almaktadır.



Şekil 2.5. Sous vide tekniği üretim akış şeması [14]

Sous vide sisteminde hijyenik bir üretim için ve gıdanın depolama ömrünün güvenliği için en başta iyi hijyen uygulamaları kapsamındaki gerekliliklerin yerine getirilmesi son derece önemlidir [68]. Mevzuat gereği tüm gıdaların üretiminde olduğu gibi sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda da güvenliği sağlayabilmek için HACCP sisteminin uygulanması bir zorunluluktur [14, 53, 70, 71].

Sous vide tekniğinde kritik kontrol noktalarının belirlenmesi işletmenin uygulayacağı üretim akış planına ve risk analizine göre değişmekle birlikte temel olarak hammadde temini, pişirme, paketlenme, vakumlama, soğutma, yeniden ısıtma ve tüketiciye servis edilmeye kadar soğuk zincirin takibi aşamaları kritik kontrol noktaları olarak kabul edilmeli ve izlem altına alınmalıdır [14].

Ön hazırlık aşaması

Öncelikle kullanılacak olan çiğ ürün teslim alınmadan önce iyi hijyen uygulamaları rehberleri ve belirlenen mikrobiyolojik, kimyasal ve organoleptik kalite kriterlerini karşılama durumuna bağlı olarak değerlendirilir ve kabul edilir [72].

Ön hazırlık işlemlerinden olan çözdürme işlemi dondurulmuş olarak satın alınan gıdalara uygulanmakla beraber önemli bir kritik kontrol noktası olduğu için kritik limitlere uyularak kayıt tutulması önemlidir. Çözdürme işleminin 4°C’de en fazla 48 saat içinde tamamlanması gerekmektedir. Acil durumlarda soğuk su içinde ve gıdaya uygun poşet içerisinde su ile temas etmeyecek şekilde ve çözündürülme suyu 30 dakikada bir değiştirilerek çözündürme işlemi gerçekleştirebilir. Bu işlem sırasında suyun sıcaklığının 10°C’den yüksek olmamasına dikkat edilmelidir [68]. Pişirilecek olan yemeğe göre doğranan etler genellikle marinasyon işlemine tabi tutulmaktadır. Marinasyonda ise genellikle şarap, yoğurt, sirke, limon gibi asidik ürünler tercih edilmektedir. Bu aşamada sous vide tekniği açısından dikkat edilecek noktalardan birisi de marinasyon işleminde alkol kullanımının mümkün olduğu kadar azaltılmaya çalışılmasıdır. Çünkü marinasyonda kullanılan alkol, gıda vakumlandıktan sonra, pişirme aşamasında vakum paket içerisinde kabarcıkların oluşmasına sebep olmaktadır [15].

Pişirme öncesi ete uygulanan bir diğer işlem de mekanik yumuşatma işlemidir. Bu işlem ile kas liflerine endojen proteazların etkisi artırılırken membran su geçirgenliğinde artış ve bağ dokularında zayıflamanın sağlandığı biyokimyasal ve fizikokimyasal bir işlemdir [73]. Bu işlem sırasında kullanılan et dövme ekipmanından ete çapraz bulaş olabileceğinden sous vide pişirme işlemi sırasındaki süre-sıcaklık takibi daha da önem kazanmaktadır [15].

Sous vide tekniğinde pişirme öncesi işlemlerden birisi olan tuzlama işleminin ise et üzerine bazı etkileri bulunmaktadır. Tuzlama ile et liflerinin bir bölümünün çözünmesi sağlandığı için sous vide pişirme işlemi sırasında et liflerinin birlikte agregasyona uğrayarak ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemesi önlenmiş olur. Ayrıca bu işlem sırasında et, ağırlığının yaklaşık %10'u kadar tuzu, baharatı ve kullanılan aroma verici bitki bileşenlerini yapısına çektiği için lezzetli bir gıda elde edilmesi sağlanır [7, 74].

Ön hazırlık işlemi aşamasında gıdaya eklenen tuz ile birlikte gıdanın NaCl konsantrasyonu artmaktadır. Tuz konsantrasyonunun artması tuza duyarlı *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae* gibi mikroorganizmaların üremesini inhibe ederken tuza daha dirençli laktik asit bakterileri ve mayaların üremesini engellemektedir. Maya üremesi ise daha çok ortamdaki gaz konsantrasyonundan etkilenerek anaerobik atmosferde inhibasyon sağlanmaktadır. Laktik asit bakterilerinin üremesi ise daha çok su aktivitesinden etkilenmektedir [75].

Pastörizasyon işleminin etkin yapılabilmesi için gıdanın başlangıçtaki mikroorganizma yükünün azaltılması da önemli olduğu için ön hazırlık aşamasında hijyen koşullarına üst düzeyde dikkat edilmelidir [72, 76]. Ette hijyenik koşullar kesimhaneden itibaren kontrol altında tutulmalıdır. Sous vide yönteminde ön hazırlık aşamasında diğer pişirme tekniklerinde de dikkat edilmesi gerektiği gibi güvenli hammadde temini, çiğ ve pişmiş etin ayrı ekipmanlar kullanılarak işlenmesi gibi koşullara dikkat edilmesi gerekmektedir [25]. Teslim alınan et hemen kullanılmayacaksa soğuk depolarda depolanarak risk kontrol altına alınmalıdır. Et dondurulmuş olarak satın alınıp çözündürme işlemine tabi tutulacaksa etin özellikle yüzey sıcaklığının kontrol altında tutulması gerekmektedir [77].

Ön hazırlık işlemi tamamlanmış gıda, porsiyonlanarak tartılır ve uygun poşetlere yerleştirilerek vakumlama işlemine tabi tutulur [56].

Vakum paketleme aşaması

Sous vide tekniğindeki vakum paketleme aşaması bu tekniğe özgü bir aşamadır. Sous vide tekniğinin diğer üretim teknikleri ile proses basamakları yönünden karşılaştırılması Şekil 2.6.'da verilmiştir. Vakum paketleme aşaması ürünün aroma verici bileşenlerinin

korunumu, oksidasyon riskinin elimine edilmesi, aerobik mikroorganizmaların gelişiminin inhibe edilmesi, depolama sırasında gıdanın rekontamine olmasının önlenmesi ve porsiyon kontrolünün sağlanması gibi pek çok avantajı beraberinde getirmektedir [75, 78]. Diğer taraftan ne yazık ki vakumlama işlemi ile bütün mikroorganizmaların gelişimi inhibe edilememektedir. Özellikle sporlu ve anaerobik mikroorganizmalar gıda vakumlandıktan sonra da üremeye devam ederek insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Sous vide işlemi uygulanmış et yemeklerinde özellikle *C.perfringens*, *C.botulinum*, *L.monocytogenes*, *B.cereus* ve laktik asit bakterileri (LAB) gibi mikroorganizmalar uygun olmayan ortamlarda vakumlama işlemi yapılması ile sağlığı tehdit etmektedir [53, 79, 80].

Vakum paketleme aşamasında kullanılacak paketin bu teknik için üretilmiş oksijen ve su geçirgenliği minimize edilmiş ve sıcaklığa dayanıklı paketlerden tercih edilmesi diğer önemli noktalardan birisidir [81, 82]. İyi vakum paketleme koşulları altında O_2 %1' den daha aşağı azaltılırken , doku ve mikrobiyal solunumdan üretilen CO_2 değeri paket içerisinde %10-20' ye yükselir . Bu koşulları gösteren bazı çalışmalarda düşük O_2 miktarı ve CO_2 'nin yükselmesi etlerde bozulma yapan aerobik mikroorganizmaların özellikle *Pseudomonas* ve *Alteromonas* türlerinin gelişimini önleyerek taze etin raf ömrünü arttırdığı belirlenmiştir. Vakum paketlenmiş et ve et ürünlerinde pH, su aktivitesi gibi diğer faktörlere de bağlı olarak *Lactobacillus* türleri, anaerobik ve fakültatif türler gelişebilir [83, 84]. Et ve et ürünlerinde depolama ömrünün belirlenmesini etkileyen bazı çevresel faktörler ve belirlenen bu çevresel koşullar altında üremesi muhtemel mikroorganizmalar Çizelge 2.13'te verilmiştir [75]. Vakumlama aşamasında katı gıdalar için 10–15 mbar, sıvı gıdalar için 100–120 mbar'lık vakumlama işlemi önerilmektedir [15, 41].

Yüksek basınçla vakumlama işlemi balık ve kümes hayvan etleri gibi yumuşak etlerde doku kalite kaybına sebep olabilmektedir.

Sous vide üretim tekniğinde pişirme işlemi mikrobiyolojik güvenliği sağlamak amaçlı uygulandığı için pişirme işleminden hemen önceki paketleme ve vakumlama aşaması kritik kontrol noktası olarak belirlenmeli ve kontrol altına alınarak izlenmelidir [72].

Çizelge 2.13. Buzdolabı sıcaklığında et ve et ürünlerinde üremesi muhtemel mikroorganizma türleri ve beklenen depolama süreleri [75]

Ürün	Depolama Koşulları	Depolama Ömrü	Mikroorganizmalar			
			<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Laktik asit bakterileri	<i>Brochothrix thermosphacta</i>
Et, normal pH	Hava	Günler	+++	++	++	++/+++
	Yüksek O ₂ -MA	Günler	+++	++/+++	++/+++	+++
	Vakum paket	Haftalar-Aylar	+	+/++	+++	++/+++
	%100 CO ₂	Aylar	+	+/++	+++	+
Et, yüksek pH	Vakum paket	Günler	+	++/+++	+++	++/+++
	%100 CO ₂	Haftalar-Aylar	+	+/++	+++	+
Et ürünleri	Hava	Günler	+/++	+	++	+++
	Vakum paket	Haftalar	+	+	+++	++/+++
	CO ₂ +N ₂	Haftalar	+	+	+++	+

+++ , baskın mikroflora; ++ , orta düzeyde mikroflora; + , düşük düzeyde mikroflora

MA, modifiye atmosfer



Sous vide tekniğinde uygulanan sıcaklık-süre kombinasyonları ürüne göre değişiklik gösterdiği için şekilde belirtilmemiştir.

Şekil 2.6. Yemek üretim sistemleri

Pişirme aşaması

Sous vide üretim tekniği ile üretilmiş yemeğin mikrobiyolojik açıdan güvenli olmasını sağlayan en önemli proses pişirmedir. Pişirme işlemi sırasındaki süre-sıcaklık uygulamasının etkin yapılması büyük önem taşır [11]. Özellikle pişirildikten sonra hemen tüketime sunulmayıp soğuk depolanacak gıdalarda pişirme işlemi sırasında *Listeria monocytogenes* varlığını 6 log değerinde bir azalma sağlayacak süre-sıcaklık kombinasyonu uygulanması gerekliliği bildirilmektedir. Çünkü *Listeria monocytogenes*

sıcaklığa en dirençli spor oluşturmeyen ve buzdolabı sıcaklığında üreyebilen bir bakteridir [51].

Piştirme aşaması iki farklı biçimde yapılabilir. Bunlar; buhar fırınları ve sıcak su kuvetleri [15]. Dolayısıyla uygulanan piştirme tekniğine göre ve pişirilecek et ürününün doğranma kalınlıklarına göre süre-sıcaklık değerleri değişiklik göstermektedir [85]. Mikrobiyolojik açıdan gıda güvenliğini sağlayabilmek için belirlenen piştirme süre-sıcaklık değerinin hesaplanması özellikle patojen vejetatif mikroorganizmaların ortamdaki tamamen uzaklaştırılması ilkesine dayanarak yapılmaktadır [11]. Et ve et ürünlerinde $6.5 \log_{10}$ - $7 \log_{10}$ aralığında *Salmonella* inaktivasyonunu sağlayan süre-sıcaklık değerleri tercih edilmektedir [85].

Sous vide tekniğiyle pişirilen gıdalar temelde 3 kategori altında toplanabilmektedir:

1. Çiğ veya pastörize edilmemiş gıdalar: İmmün sistemi baskılanmış bireyler tarafından tüketilmemelidir.
2. Pastörize edilmiş gıdalar: Pastörizasyon işlemiyle gıdada bulunan vejetatif bakteriler güvenli düzeye indirilmektedir. Pastörizasyon işlemi takiben hemen tüketime sunulmayacak gıdalar, *Clostridium* sporlarının rejenerasyonunun önlenmesi için hızlı soğutma işlemine tabi tutularak tüketime kadar soğuk depolarda muhafaza edilmelidir.
3. Sterilize edilmiş gıdalar: Gıdada bulunan vejetatif mikroorganizmaların ve sporların miktarının güvenli düzeye indirilmesi işlemidir. Bu işlemin gerçekleşmesi için basınçlı sıcaklığa gereksinim duyulmaktadır. Basınçlı sıcaklık ile sağlanan iç sıcaklığın 121°C 'de 2,4 dakika kalması sağlanarak sterilizasyon gerçekleştirilmiş olur. Bu işlem ile pişirilmiş gıdaların tadı konserve gıdalara benzemektedir (Şekil 2.7) [86, 87].

Sous vide üretim tekniğinde mikrobiyolojik açıdan gıda güvenliği ile ilgili akıllarda soru işareti oluşturabilecek bazı temel noktalar bulunmaktadır. Bunların başında spor oluşturan mikroorganizmaların elimine edilememesi endişesi gelmektedir. Özellikle *C.botulinum* ve *B.cereus* gibi spor oluşturan mikroorganizmalar, vejetatif patojenleri elimine edebilmek için uygulanan minimum sıcaklık uygulamasıyla (70°C 'de 2 dk) inaktive edilememektedir.

Sonrasında sous vide paketlerinin depolanması aşamasında 3°C’de *C.botulinum* ve 4°C’de *B.cereus* sporları vejetatif hale geçip üremeye devam ederek sağlık açısından risk oluşturmaktadır [88].

Bazı mikroorganizmalar yüksek sıcaklığa karşı duyarlıyken bazı mikroorganizmalar ise yüksek sıcaklığa dayanıklılık göstermektedir. Sous vide tekniğinde pastörizasyon işlemi sırasında elimine edilemeyen sıcaklığa dayanıklı mikroorganizmalar depolama süresinde de uygun depolama sıcaklığının sağlanamaması durumunda gıdada üreyerek tehdit oluşturmaktadır. Sıcaklık-süre uygulamasının önemi sous vide tekniğinde gıda güvenliği açısından son derece önemli olduğu için sıcaklık-süre değerlerinin belirlenmesinde spor oluşturan mikroorganizmaların elimine edilebileceği ve psikrofil mikroorganizmaların üreyemeceği sıcaklık değerlerinin seçilmesi depolama süresini ve mikrobiyolojik kaliteyi etkilemektedir. Çizelge 2.14 ve Çizelge 2.15’te bazı mikroorganizmaların elimine edilebilmesi gerekli olan süre-sıcaklık değerleri verilmiştir [48].

Çizelge 2.14. Sıcaklığa dirençli bakteri ve bakteri sporlarını elimine edebilmek için gereken süre-sıcaklık değerleri

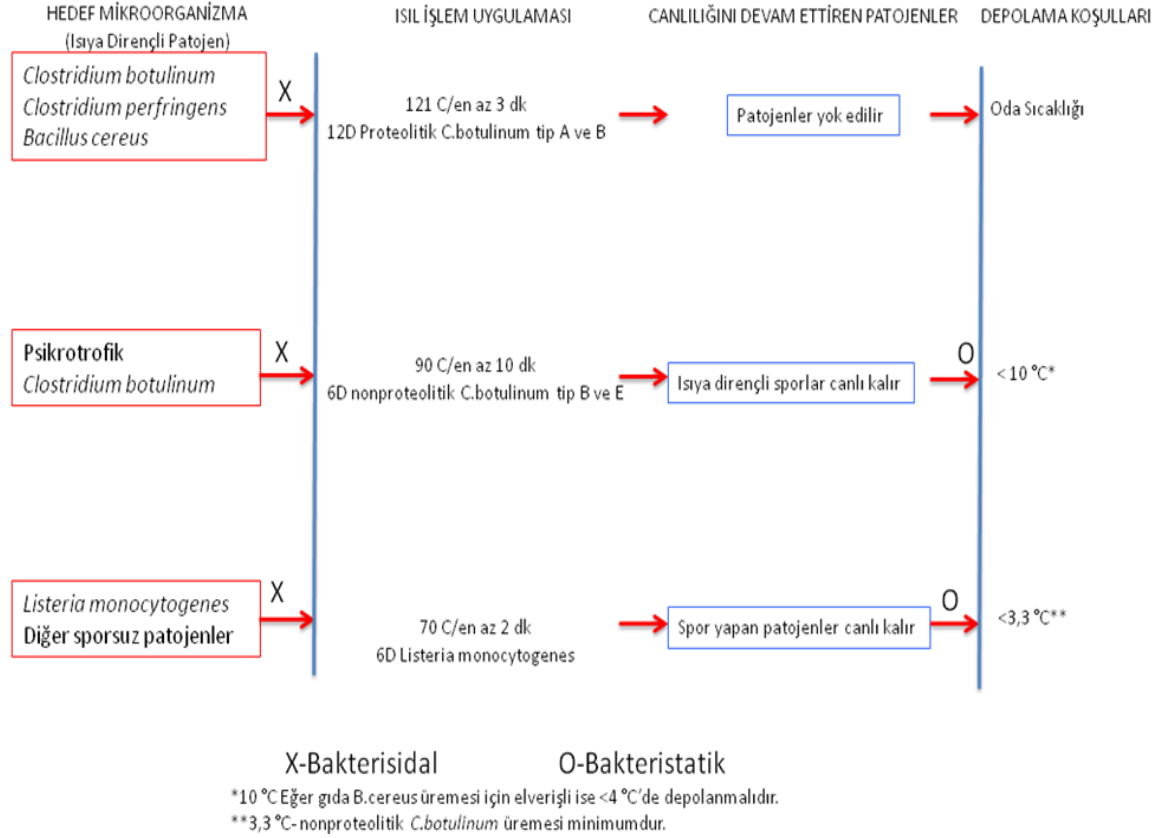
Mikroorganizmalar	Sıcaklık (°C)	Süre (Dakika)
<i>Campylobacter jejuni</i>	55	0,74-1
<i>Brucella</i> spp.	65,5	0,1-0,2
<i>Salmonella</i> spp.	65,5	0,02-0,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	65,5	0,2-2,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	66,1	16,7-16,9
Maya ve küf	65,5	0,5-3,0
<i>Clostridium perfringens</i>	100	0,3-20,0
<i>Clostridium botulinum</i> Tip A ve proteolitik Tip B	100	50,0
<i>Clostridium botulinum</i> Tip E ve non-proteolitik Tip B	80	1,0

Gıda güvenliğinin sağlanmasında ve depolama süresinin belirlenmesinde uygun süre ve sıcaklıklarda pişirme işleminin uygulanması özellikle spor oluşturan ve toksin oluşturan mikroorganizmaların elimine edilmesinde son derece önemlidir. Çizelge 2.15'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.15. Non proteolitik *Clostridium botulinum* sporlarını elimine edebilmek için farklı süre-sıcaklık kombinasyonları [89]

Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)
80	129
81	100
82	77
83	60
84	46
85	36
86	28
87	22
88	17
89	13
90	10,0
91	7,9
92	6,3
93	5,0
94	4,0
95	3,2
96	2,5
97	2,0
98	1,6
99	1,3
100	1,0

Diğer endişe de özellikle sıcak su küvetlerinde yapılan pişirme işleminin tehlikeli sıcaklık aralığında gerçekleştirilmesinin gıda üzerine olası riskleridir [45].



Şekil 2.7. Sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdada mikrobiyal inaktivasyon

Sıcak su küvetlerinde yapılan pişirme işlemi düşük sıcaklıkta uzun süreli pastörizasyon (LTLT) olarak adlandırılmaktadır. Sous vide üretim tekniği kapsamında uygulanan LTLT pastörizasyon ile pişirilen et ve et ürünleri tehlikeli sıcaklık sınırları içinde uzun süre bekletilebilmektedir [80, 90]. Yapılan bir çalışmada, dana eti sous vide LTLT pastörizasyon tekniğiyle 50-65°C arasındaki sıcaklıklarda 90-390 dakika arasında değişen süreler boyunca pişirilmiş ve çalışmanın sonucunda uygulanan süre-sıcaklık değerlerinin vejetatif mikroorganizmaların inaktivasyonu için yeterli olduğu ancak *C.botulinum* sporlarının inaktivasyonu için yeterli olmadığı saptanmıştır [11]. Başka bir çalışmada, kuzu eti sous vide tekniği ile 70°C'de 12 saat boyunca pişirilerek farklı depolama sürelerindeki mikrobiyolojik ve duyusal kalite araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda belirtilen sıcaklıkta pişirilen kuzu etinde psikrofil, laktik asit bakterileri ve *Enterobacteriaceae*'nin inaktive edildiği saptanmıştır [90]. Kuzu etlerinin 60, 70 ve

80°C’lerde ve 6, 12 ve 24 saat süreleri boyunca sous vide LTLT tekniğiyle pişirilecek şekilde 9 farklı gruba ayrıldığı bir çalışmada, mikrobiyolojik kalitenin 70°C’ de 12 saat boyunca pişirilen etlerde en yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca pastörizasyon işleminin etkin olabilmesi için 60°C’ de 6 saat sıcaklık uygulamasının da yeterli olduğu belirtilmiştir [91]. Sous vide LTLT pastörizasyon tekniğiyle pişirilen dana etine uygulanan farklı süre-sıcaklık kombinasyonlarının değerlendirildiği (3, 6, 9, 12 saat ve 56, 58 ve 60°C) bir çalışmada ise, duyu kalitenin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada etin sululuk ve hassasiyet oranının tüketici tarafından en çok dikkat edilen özellik olduğu ve 56°C’ de 12 saat pişirmeyle et hassasiyetinin maksimum düzeyde korunduğu, aynı sıcaklıkta 3 saat pişirmeyle de sululuk oranının en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Ancak sonuçların öneri verebilmek için yeterli olmadığı belirtilmiştir [92]. Çalışmaların sonuçlarına bakıldığında sous vide LTLT pastörizasyon tekniğinde et ve et ürünleri genellikle tehlikeli sıcaklık aralığında uzun süreler boyunca tutulmaktadır. Diğer taraftan yapılan çalışmalara bakıldığında su banyosunda pişirilen etlerin pişme süreleri daha uzun görünmesine rağmen istenilen sıcaklığa ulaşma süresi buhar fırınlarında pişirilen etlere göre daha kısa olmaktadır [1, 15, 93]. Sous vide tekniğinde uygulanan sıcaklık aralıkları aşağıdaki gibi özetlenebilir (Şekil 2.8):



Şekil 2.8. Sous vide tekniğinde uygulanan sıcaklık aralıkları

Özetle çiğ gıdalar pastörizasyon işleminden önce 2 günden fazla depolanmamalı ve 2 saat içinde iç sıcaklığı 3°C'nin altına düşürülmelidir. Pastörize edilmiş gıdalar hızlı bir şekilde servis edilmeli veya soğutularak 3°C'nin altında depolanmalıdır [86].

Sous vide LTLT pastörizasyon çalışmalarının pek çoğunda patojen vejetatif mikroorganizmaların ve spor oluşturan mikroorganizmaların tehlike oluşturmadığı [6, 47, 90, 91, 94], sınırlı sayıdaki çalışmalarda ise spor oluşturan mikroorganizmaların inaktive edilemediği saptanmıştır [11, 88]. Başka bir çalışmada kısa süreli sıcaklık uygulamasıyla (52-62°C'de 20-117 dk.) buhar fırınlarında sous vide tekniğiyle pişirilen dana etlerinin farklı depolama sürelerine göre (0, 15 ve 30 gün) mikrobiyolojik kalitesi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *C. perfringens* depolama sürelerinin hiçbirinde saptanmamış olup sous vide pişirme tekniğinin gıda güvenliğinin sağlanması için restoranlarda uygulanması önerilmiştir [4].

Sous vide tekniğiyle alabalık ve somon pişirme işleminde farklı süre-sıcaklık kombinasyonlarının mikrobiyolojik kalite üzerine etkilerinin değerlendirildiği başka çalışmalarda ise, 90°C 15 dakika boyunca ısıtılma işlemi uygulanmasının en etkin yöntem olduğu saptanmıştır [95, 96].

Sous vide tekniğinde farklı mikroorganizmaların inhibisyonunu sağlamak için birçok farklı sıcaklık-süre kombinasyonu pişirme işlemi sırasında uygulanmaktadır. Ülke uygulamalarına bakıldığında, Fransa düzenlemelerine göre, 70°C'de 100-1000 dakika arasında değişen sıcaklık uygulanmasıyla gıdanın depolama ömrünün 24-48 gün arasında değişebileceği belirtilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Gıda Mikrobiyolojik Kriterler Danışma Komitesi, *Listeria monocytogenes*'te en az 4 log azalma sağlayacak süre-sıcaklık kombinasyonunun uygulanması gerektiğini belirtilmektedir. İngiltere düzenlemelerine göre ise, sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda asıl mikrobiyal riskin zorunlu anaerob *Clostridium botulinum* olduğu için uygulanan ısıtılma işlemi süre-sıcaklık kombinasyonunun *Clostridium botulinum* sporlarında en az 6 log azalma sağlayan değerlerden seçilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Buna karşılık, İngiltere Sağlık Bakanlığı gıdanın iç sıcaklığının 70°C'de 2 dakika kalmasıyla 5 günlük raf ömrü sağlandığını bildirmiştir [54].

Çizelge 2.16'da Belçika'da uzmanların sous vide tekniği için önerdiği süre-sıcaklık uygulamaları yer almaktadır [97].

Çizelge 2.16. Sous vide tekniği için Belçika'da önerilen süre-sıcaklık uygulamaları [97]

Ürün	Fırın Sıcaklığı (°C)	Süre (Dakika)
Kuşkonmaz	98	18
Biftek	76	70
Kabuklu deniz ürünleri	74	10
Somon	70	12
Kaz ciğeri	68	35

Gıdalar *Listeria monocytogenes* gibi bazı mikroorganizmaların inaktivasyonuna sebep olan sıcaklıkların altında ısıtıldığında veya yavaş ısıtıldığında bu mikroorganizmalar ısı şok proteinleri ismi verilen proteinleri oluşturur. Bu proteinler mikroorganizmaların ısıya karşı dirençlerini arttırmaktadır. Sous vide tekniğiyle uygulanan ısıl işlemin bu proteinlere etkisinin incelendiği bir çalışmada alabalık ve somona 10^6 kob/g *Listeria monocytogenes* inoküle edildikten sonra gıdanın iç sıcaklığının 65°C 'de 5 dakika kalması sağlanarak balıkların yüzeyindeki ve iç kısımlarında bulunan *Listeria monocytogenes* ısı şok proteinlerinde ve diğer proteinlerinde görülen azalma araştırılmıştır (Çizelge 2.17) [54].

Çizelge 2.17. Sous vide pişirme tekniğinin balıkta *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi [54]

Balık Çeşidi	Sous Vide Pişirme İşleminde Sonra Gıdada Bulunan <i>Listeria monocytogenes</i> Düzeyi	
	Isıl Şok Proteini Bulunan	Isıl Şok Proteini Bulunmayan
Alabalık (Yüzey)	4,87	3,96
Somon (Yüzey)	3,64	
Alabalık (İç)	5,55	3,13
Somon (İç)	3,64	

Pastörizasyon işleminin verifikasyonunun sağlanması için uygulanabilecek iki yöntem vardır. Bunlardan birisi verilerin değerlendirilerek ürüne özgü sıcaklık-süre kombinasyonunun seçilmesi [98-100], diğeri ise mikrobiyolojik analiz metodudur. Yapılan bir çalışmada, sıcaklık-süre verilerine göre ürüne özgü pastörizasyon işleminin deneysel veriyle anlamlı derecede benzer olduğu saptanmıştır [101]. Buna karşın başka bir çalışmada, literatürdeki sıcaklık-süre verilerine göre ürüne özgü pastörizasyon işleminin deneysel veriyle tutarsız olduğu saptanmış, sous vide tekniğiyle pişirilen gıdaların güvenliği için, seçilen süre-sıcaklık kombinasyonuna dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır [102].

Pişirme prosesi, sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda kritik kontrol noktasıdır ve belirlenen kritik limitlere uyularak izlem çalışmalarının yürütülmesi önemlidir. Diğer taraftan uzun süre depolama amaçlı pişirme işleminin önemli bir işlem basamağı olan gıdalarda ısı işlem uygulamasının özellikleri de önem taşımaktadır. Özellikle ısı transferinin homojenliği ve uygulanan işlemin tekrarlanabilirliği önemlidir [72]. Isı transferinin etkin olmasının sağlanması için transferin etkin yapılabileceği bir sistemin seçilmesi, kullanılan ekipman özelliklerinin transferi kolaylaştırması, paketleme işleminin

ısı transferini olumsuz engellememesi sağlanması, ölçüm ve kontrollerin düzenli yapılması gibi işlemler önem taşımaktadır. Ürünün geometrik tasarımı, buhar fırınlarda pişiriliyorsa fırının ısı transfer yeteneği, paketlerin balon yapıp yapmaması durumları da ısı transferini etkilemektedir [64].

Soğutma ve soğuk depolama aşaması

Et ve et ürünü piştikten sonra hemen tüketilmeyecekse soğutma işlemine tabi tutulmaktadır. Soğutma işlemi gıdanın iç sıcaklığı 63°C'den 37°C'ye en çok 2 saat içinde ve 37°C'den 4°C'ye en çok 4 saat içinde inecek şekilde yapılmalıdır [68]. İstenilen sıcaklıklara ulaşma süresi gıdanın parça büyüklüğüne ve kullanılan soğutma işlemine göre farklılık göstermektedir. Toplu tüketim yerlerinde buz dolu küvetler veya soğutucu ekipmanlarla soğutma işlemi gerçekleştirilmektedir. Kullanılacak küvetteki soğuk su-buz toplam hacminin en az yarısının buzdan oluşması gerekmektedir [45]. Sous vide tekniğiyle üretilmiş et ve et ürünlerinin kalitesini ve raf ömrünü belirleyen pişirme işleminden sonraki prosesler ise soğutma ve soğuk depolamadır. Pişirme işlemi sırasında vejetatif patojen mikroorganizmalar inaktive edilmektedir. Ancak spor oluşturan mikroorganizmalar gıdada bulunmaya devam ederek soğukta depolama işlemi sırasında vejetatif hale geçebilmektedir [41]. Bu yüzden pişirme işlemi sırasında duysal kaliteyi etkilemeyecek en yüksek sıcaklık tercih edilirken soğutma işlemi sırasında duysal kaliteyi etkilemeyecek en düşük sıcaklık tercih edilmelidir. Soğuk depolama işlemi ile gıdada bulunan mikroorganizmaların üreme periyotlarındaki lag süresinin uzaması sonucu sağlık riskleri en aza indirilmektedir [103, 104].

Gıda güvenliğini sağlamak için özellikle potansiyel tehlikeli gıdalar için kritik kontrol noktası olan soğutma prosesinde kontaminasyonun engellenmesi, soğutma işlemi sırasında sıcaklık kontrollerinin düzenli olarak yapıp kayıt altına alınması gerekmektedir [72].

Mikroorganizmaların farklı sıcaklıklarda çoğalma özellikleri göz önünde bulundurularak depolama sıcaklıkları belirlenmektedir [45, 71, 80]:

B.cereus: Birçok suşu 10°C'nin altında üreyememektedir. Ancak bazı enterotoksijenik suşları 4°C'nin altında üremektedir. Dolayısıyla çiğ gıdalardan çapraz kontaminasyonun

önlenmesi, pişirme ve soğutma işlemleri sırasında süre-sıcaklık kontrollerinin etkin yapılması alınabilecek önlemler arasındadır.

Sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda pişirme sıcaklığı depolama sıcaklığı ve süresinin belirlenmesinde de son derece önemlidir. Örneğin 15°C’de depolama işlemi uygulanması sonucu gıdaya uygulanan ısı işlem derecesine göre değişmekle birlikte vakum paketlerde 15-21 gün sonra şişme görülmektedir. Bunun sebebi ise 15°C’de 7-12 gün depolamadan sonra gıdada *Bacillus* türlerinin ve laktik asit bakterilerinin üremesi olarak belirtilmiştir [105].

Nonpsikrofil *C.botulinum*: Botulizme sebep olan bu *C.botulinum* suşu sıcaklığa karşı oldukça dirençlidir. Ancak 10°C’nin altında üreyememektedir. Dolayısıyla kontrolünün sağlanabilmesi için etkin soğutma ve soğuk depolama işlem basamaklarının izlenmesi gerekmektedir.

Soğuğa toleranslı non-proteolitik *C.botulinum*: Sous vide ürünlerinde depolama sıcaklıklarında da üreyebildikleri için sağlık açısından risk oluşturmaktadır. Depolama sıcaklıklarının kontrolüne ve çapraz kontaminasyona dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir.

C.perfringens: Sağlık açısından risk oluşturabilecek bu mikroorganizma mezofilik olup 15°C’nin altında üreyememektedir. Soğukta depolama işleminin kontrollü yapılmasıyla birlikte riskin ortadan kaldırılmış olacağı bildirilmiştir.

L.monocytogenes: Psikrofilik bir mikroorganizma olan *L.monocytogenes* özellikle çapraz kontaminasyon sonucu gıdada belirlenmektedir. Pişirme aşamasında 70°C’de 2 dakikalık sıcaklık uygulamasıyla inaktive olmaktadır. Dolayısıyla pişirme işlemi etkinliği ve hijyenik koşulların sağlanmasıyla birlikte risk en aza indirilecektir.

Salmonella: 5°C’nin altında üreyemediği için uygun depolama sıcaklıklarında ve çapraz kontaminasyonun önlenmesiyle kontrolü sağlanabilmektedir.

Pastörizasyona dirençli olan sporların vejetatif forma geçip üremeye devam ederek sağlık riski oluşturmalarını engellemek amacıyla depolama sıcaklıklarının 3°C'nin altında tutulması gerekmektedir [12]. Bazı Avrupa ülkelerinde soğutma ve soğuk depolama işlemiyle ilgili belirlenen limitler Çizelge 2.18'de verilmiştir.

Çizelge 2.18. Bazı Avrupa ülkelerinde pişmiş gıdayı soğutma ve depolama yasal düzenlemeleri [48]

Ülkeler	Sıcaklık Aralığı (°C)	İstenen Sıcaklığa En Fazla Ulaşma Süresi (saat)	Depolama Sıcaklığı (°C)
Danimarka	65'ten 10'a	3	<5
Fransa	70'ten 10'a	2	0-3
Batı Almanya	80'den 15'e	2	<2
	15'ten 2'ye	24	
İsveç	80'den 8'e	4	<3
İngiltere	70'ten 3'e	2	0-3

Soğuk depolama sıcaklıkları ülkelere göre küçük farklılıklar göstermekle beraber 0°C ile 3°C sıcaklıkları arasında değişmektedir [48].

İngiltere Gıda Standartları Ajansı'na göre sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda en büyük risk psikrofil, non-proteolitik *C.botulinum*'un en aza indirilmesi için beş temel özellik bulunmaktadır. Bunlar;

- Sıcaklık-süre kontrolü yapılan etkin pişirme işlemi,
- Gıdanın asiditesi (pH<5),
- Tuz içeriği (>%3.5),

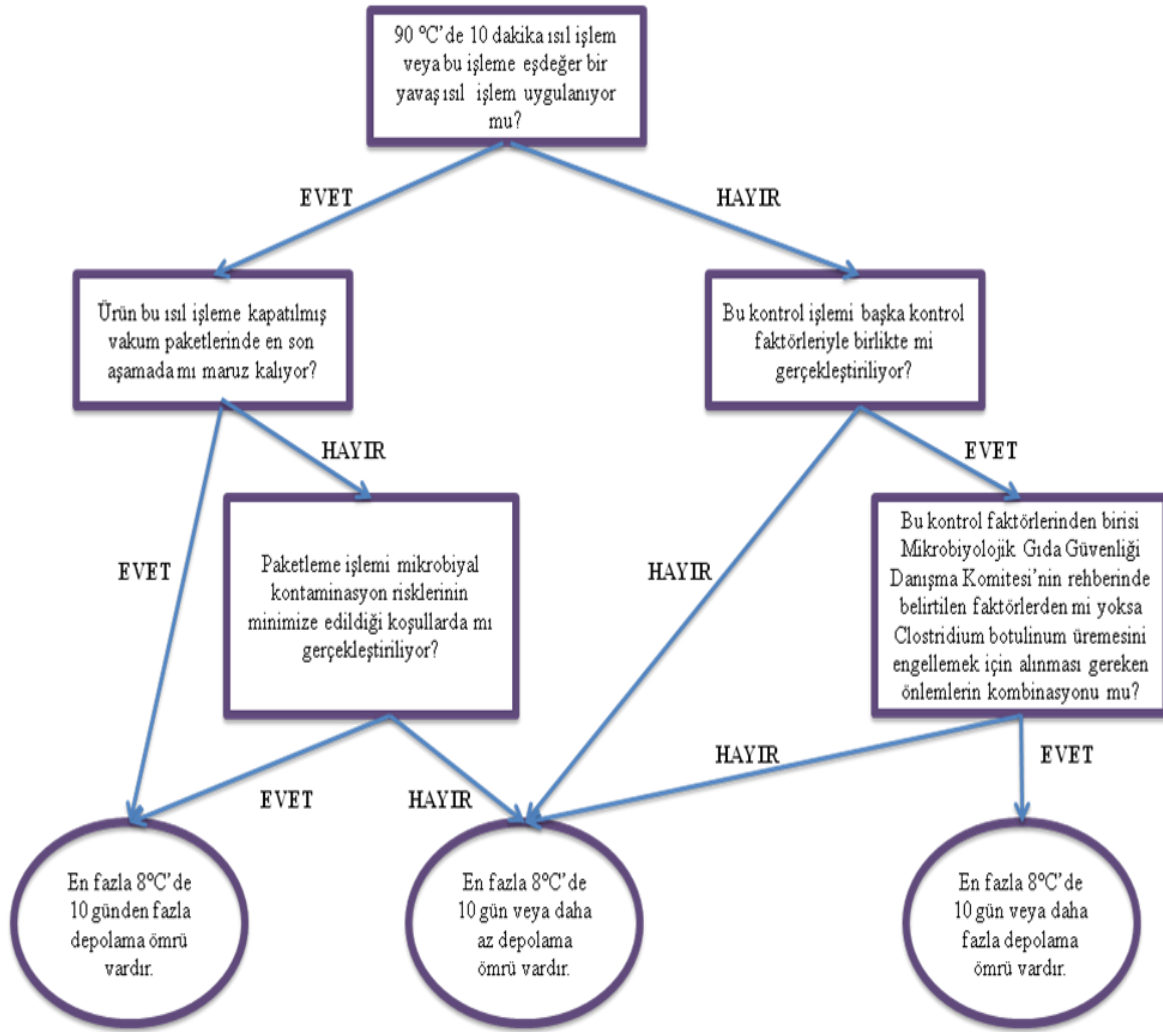
- Su aktivitesi (<0.97) ve
- Kombine edilmiş faktörlerdir.

Piştirme sıcaklık-süre kriterlerinden birisi olan 90°C’de 10 dakika piştirilen ürün 8°C’nin altında 10-40 gün arasında değişen depolama süresine sahiptir. Yukarıda verilen faktörlerin uygulanmasıyla birlikte depolama süresi 40 güne kadar uzayabilmektedir [6, 99]. Benzer şekilde Mikrobiyolojik Gıda Güvenliği Danışma Komitesi’ne göre, diğer faktörler kontrol altında tutulmadığında sous vide tekniğiyle piştirilmiş et ve et ürünlerinin depolama işleminin 3-8°C’de 10 gün yapılabileceği bildirmiştir. Ayrıca 3°C’nin altında *C.botulinum* üremesi inhibe edildiği için en az 3°C’de depolama işlemi önerilmektedir [45]. Ayrıca Güney Galler Hükümeti, sous vide tekniğiyle gıdaya 90°C’de 10 dakika piştirme işlemi uygulayıp 5°C’de depolayan ve 70°C’de 2 dakika prensibi doğrultusunda piştirme işlemi uygulayıp 3°C’nin altında depolayan gıda işletmelerinde depolama süresi için validasyon çalışmalarının yapılması gerektiğini ve 70°C’de 2 dakika piştirme prensibini uygulayıp 5°C’de depolayan gıda işletmelerinde depolama süresinin 10 gün olarak belirlenmesi gerektiği bildirilmiştir. Ancak günümüzde gıda işletmelerinin yoğunluğu sebebiyle validasyon çalışmaları sıklıkla yapılamadığı için bu işletmelerde etkin sous vide piştirme işleminin ardından 10 günlük depolama süresinin uygulanabileceği belirtilmektedir [45]. Bazı kaynaklarda ise, sous vide tekniğiyle piştirilmiş yemeğin piştirme işleminden sonra kontaminasyon riskinin önlenmesinin önemi vurgulanmıştır. Bu nedenle; sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdaların 2,5°C’nin altında en fazla 90 gün, 3,3°C’nin altında en fazla 31 gün, 5°C’nin altında en fazla 10 gün ve 7°C’nin altında en fazla 5 gün depolanabileceği bildirilmektedir [51, 99].

Sous vide üretim tekniğiyle piştirilmiş et ve et ürünleriyle ilgili yapılan pek çok çalışmada farklı sıcaklıklarda depolamanın mikrobiyal kaliteye etkisi araştırılmıştır. Uygulanan piştirme işlemi sıcaklık-süre değerlerine ve depolama sıcaklığına göre değişmekle birlikte mikrobiyolojik kalite açısından bakıldığında, depolama süresinin oldukça uzun olduğu (3°C’de 16 hafta, 10°C’de 12 gün, 4°C’de 14-18 gün) ve gıdanın depolama süresinin duyu kalitesindeki değişimler de araştırılarak belirlenmesi gerektiği belirtilmiştir [9, 11, 93, 106, 107].

Sous vide tekniğinde vakum paketleme ile modifiye atmosferle paketlemenin depolama süresi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, sous vide tekniğiyle pişirilen domuz eti polipropilen paketlere yerleştirilerek vakumlanmış ve bir bölümü de modifiye atmosferle (% 80 N₂ + %20 CO₂) paketlenmiştir. Her iki gruptaki paketlere de buhar fırınlarında 70°C’de yedi saatlik pişirme işlemi uygulandıktan sonra 3°C’de 90 gün depolanarak mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda ısı transferinin vakum paketlenmiş ürünlerde daha etkin ve hızlı sağlandığı saptanmıştır. Mikrobiyolojik özellikleri ve depolanma süresi açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmazken her iki gruptaki ürünün de depolama süresi 56 gün olarak belirlenmiştir [13].

İngiltere Gıda Standartları Ajansı, vakum paketleme işleminin yapıldığı gıdalardaki en önemli mikroorganizma riskinin *Clostridium botulinum* olduğu ve bu mikroorganizmanın toksin üretmesini engellemek için soğuk depolama koşullarında en fazla 10 gün depolama işleminin yapılması gerektiğini bildirmektedir. Depolama süresinin 10 günün üzerine çıkması için sağlanması gereken farklı özellikler olmakla beraber Mikrobiyolojik Gıda Güvenliği Danışma Komitesi vakum veya modifiye atmosferle paketleme işlemi yapılan gıdaların 3°C ve 8°C arasında en fazla 10 gün depolanabileceğini belirtmektedir. Gıdaların depolama süresinin belirlenmesinde yararlanılabilecek karar ağacı Şekil 2.9’da verilmiştir [89].



Şekil 2.9. Vakum paketleme işlemi yapılmış gıdaların 3°C ve altındaki sıcaklıklarda depolama süresinin belirlenmesi karar ağacı [89]

Vakum paketleme veya modifiye atmosferle paketleme işlemi yapılmış olan gıda porsiyonlama veya dilimleme gibi farklı işlemler için paketinden çıkarılıp sonra tekrar paketlenildiğinde bu gıdanın depolama süresinin orijinal gıdanın depolama ömrünü aşmaması gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca bu gıdanın orijinal haline göre depolama süresi 10 günün üzerinde ise non-proteolitik *Clostridium botulinum* üremesini engelleyecek kontrol faktörlerini içerip içermediğinin değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra, vakum paketleme veya modifiye atmosferle paketleme yöntemleriyle üretilen gıda başka bir gıdayla karıştırılarak tüketilecekse depolama ömrünün karıştırılan orijinal gıdanın depolama ömrünü aşmaması gerektiği ancak son karışımın vejetatif mikroorganizmaların inhibasyonunu sağlamak amacıyla tekrar ısıtma işlemi tabi tutulması durumunda depolama sürelerinin birleştirilmesine gerek duyulmamaktadır [89].

Sous vide tekniğiyle üretilen gıdaların depolama aşamasında oksijensiz paketlerde bekletildiği düşünüldüğünde non-proteolitik psikrofilik *Clostridium botulinum* Tip B, E ve F türlerinin toksin üretmeye devam etmesi için elverişli ortam olduğu sonucuna varılmaktadır. Ancak, bu suşun 3,3°C'nin altında toksin oluşturmadığı bilinmektedir. Sous vide tekniğiyle üretilmiş 3,3°C ve üzerinde depolanan gıdalarda ise risk teşkil etmektedir. Soğuk depolanan gıdanın depolama sıcaklığı 3,3°C'ye yaklaştıkça bu suşun toksin üretmek için ihtiyaç duyduğu zaman da artmaktadır [70, 99, 108, 109]. *Clostridium botulinum* Tip E suşunun özellikle bazı gıdalarda bulunabildiği (balık) ve coğrafi bölgelere göre bulunma sıklığının değiştiği bilinmektedir. *Clostridium botulinum* Tip B suşunun ise sıcaklığa dirençli olduğu ve bu özelliği sebebiyle sous vide tekniğiyle üretilen gıdalarda depolama sırasında daha sıklıkla tehdit oluşturabileceği düşünülmektedir. Sıcaklığa direnç gösteren B suşunun ve bazı riskli gıdalarda bulunan E suşunun toksin üretme yeteneğinin ve süresinin depolama sıcaklığına bağlı olduğu bilinmekte olup Çizelge 2.19'da sous vide tekniğiyle üretilmiş bazı gıdalarda farklı depolama sıcaklıklarında non-proteolitik *Clostridium botulinum* Tip B ve E suşlarının toksin üretme süresi gösterilmiştir. Bu tabloda yer alan gıdalara iki suş inoküle edildikten sonra gıdalar sous vide tekniğiyle 70°C'de 2 dakika bekletilmek suretiyle pastörizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemten sonra gıdalar tabloda belirtilen farklı sıcaklıklarda 84 gün boyunca depolanmıştır. Belirtilen suşların toksin oluşturduğu süreler tabloda belirtilmiştir [53].

Çizelge 2.19. *Clostridium botulinum* non-proteolitik tip B ve E suşlarının sous vide tekniğiyle üretilen ve farklı sıcaklıklarda depolanan gıdalarda en erken toksin üretme zamanı (gün) [53]

<i>Clostridium botulinum</i> tipleri	Ürün	2°C	3°C	5°C	8°C	15°C	30°C
B	Havuç	TE	TE	TE	TE		TE
B	Tavuk	TE	TE	TE	42	7	5
B	Balık	TE	TE	70	28	7	5
E	Havuç	TE	TE	TE	TE		56
E	Tavuk	TE	TE	TE	28	7	5
E	Balık	TE	TE	42	21	7	5

TE, Tespit edilemedi (84 gün boyunca).

Sonuç olarak, kalite ve gıda güvenliği gerekliliklerinin karşılanması için kontrollü bir soğutma ve soğuk depolama aşamasına ihtiyaç duyulmaktadır. Birçok mikroorganizma, patojenik bakteriler ve mikotoksijenik küfler, depolama sıcaklıklarında üreyebilmektedir. Ürünün depolama ömrü de mikroorganizmaların inhibe edilmesine göre değişebilmektedir [72]. Son ürünlerdeki mikroorganizma varlığını etkileyen üç temel faktör ise sıcaklık uygulamasının yoğunluğu, soğutma süresinin hızı-ulaşılacak sıcaklık derecesi ve depolama aşamasındaki süre-sıcaklık kontrolleri olarak belirtilmiştir [95].

Sous vide tekniğinde soğuk depolama sıcaklık ve süresinin saptanmasında sadece mikrobiyolojik özellikler değil aynı zamanda gıdanın duyu kalitesinin korunumunun sağlanması ve kimyasal değişimlerin de göz önünde bulundurularak değerlendirmelerin yapılması önemlidir [1, 90, 93, 110, 111]. Sous vide tekniğiyle pişirilmiş somon balıkları 2°C’de 25 gün depolanmış ve farklı depolama periyotlarında mikrobiyolojik analiz ve duyu analizleri değerlendirilmiş bir çalışmada balıkların depolama süreleri duyu kalitedeki değişime göre 18 gün olarak saptanmıştır [1].

Spor oluşturmeyen mikroorganizmalar da sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalar için risk oluşturmaktadır. Özellikle 5°C’nin altında üremeye devam edebilen *Listeria monocytogenes* sıcaklığa en dayanıklı mikroorganizmalardan birisi olması sebebiyle de sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda risk oluşturan en önemli mikroorganizmadır [48, 87, 100]. *Listeria monocytogenes* fakültatif bir mikroorganizma olmasına rağmen anaerobik koşullarda da üreme yeteneğini devam ettirebildiği için sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalarda araştırılması önem taşımaktadır [112]. Bu mikroorganizmanın üremesinin önemli ölçüde yavaşlamasını sağlayan sıcaklık ise 0°C ile 5°C arası olarak saptanmıştır. Ayrıca bu sıcaklığa yaklaştıkça üreme öncesi hazırlık fazı olan lag fazının ve üreme fazı olan log fazının uzaması sağlanarak mikroorganizma üremesi en aza indirilmektedir [48].

Servis öncesi yeniden ısıtma aşaması

Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemekler pişirme işleminden sonra hemen tüketilmeyecekse uygun soğutma işleminin ardından soğuk depolanır. Tüketime sunulmadan önce yeniden ısıtma işlemine tabi tutulmaktadır. Yeniden ısıtma işlemi 2 farklı yöntemle

yapılabilmektedir: sıcak su küvetlerinde ve buhar fırınlarında. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeğe uygulanan yeniden ısıtma işlemindeki tek fark sous vide yönteminde gıdaya plastik poşetler içerisindeyken ısıtma işleminin uygulanmasıdır. Isıtma işleminin etkin yapılabilmesi için gıdanın pişirme işlemi öncesinde küçük parçalara ayrılmış olması önemli noktalardan birisidir [45]. Yeniden ısıtma işlemi FDA önerisine göre, soğukta depolanmış gıdalar için en az 74°C’de 15 saniye bekletilerek, paket içinde bulunan tüketime hazır gıdalar için ise en az 57°C’ye ısıtılarak yapılmalıdır. Ayrıca 5°C’den belirtilen ısıtma sıcaklıklarına ulaşma süresinin 2 saati geçmemesi gerektiği bildirilmektedir [83].

Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemek depolanmadan hemen tüketime sunulacaksa taşıma aşaması da kritik kontrol noktası olarak belirlenerek ambalajın kontaminasyona sebep olacak maddelerle temasından kaçınılması, süre-sıcaklık kontrollerinin yapıp kayıt altına alınması gibi uygulamaların takibi gerekmektedir [72]. Gıda sıcak ise servis edilene kadar 63°C’nin altında en fazla 2 saat, soğuk ise 8°C’nin üstünde en fazla 4 saat bekletilmelidir [68].

2.5.6. Sous vide tekniğinde kullanılan ekipmanlar

Sous vide üretim tekniği birçok ülkede genellikle toplu beslenme hizmetleri sektöründe ve bazı yüksek sınıf restoranlarda uygulanmaktadır. Sous vide üretim tekniğinde sıcaklık-süre kontrollerinin etkin yapılması için kullanılacak ekipmanların seçiminde dikkat edilmelidir. Ayrıca gıdaya uygun pastörizasyon uygulamasını ve depolama uygulamasını belirleyebilmek için tahmini mikrobiyolojiden yararlanarak model-tabanlı kontrol sistemi uygulanabilmektedir [41]. Bu teknikle üretimin gerçekleştirilmesi için gerekli olan buhar fırınları, vakum makineleri, soğutucular, soğuk depolar gibi temel ekipman ve koşulların yanı sıra sıcaklık izlem sisteminin kurulmasının önemi vurgulanmaktadır [98].

2.5.7. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerde gıda güvenilirliğinin sağlanması:

HACCP kalite değerlendirmesi

Sous vide tekniği ile pişirilen tüm ürünlerde HACCP gerekliliklerinin karşılanması bir zorunluluktur. Sous vide tekniğine özgü planın oluşturulması gerekliliği, işletmenin uyguladığı depolama süresine göre farklılık göstermektedir. Eğer işletme sous vide tekniğiyle pişirme işlemi uygulanmış gıdaya 10 günlük depolama süresi limiti koyuyorsa, gıda paketinin üzerine 10 gün içinde kullanılması gerektiği etiketinin yapıştırılması, soğuk depolarda depolanması gibi koşullar sağlanmalıdır. Ancak işletme 10 günün üzerinde depolama süresi uyguluyorsa işletme yeni izleme sistemi oluşturması, kritik kontrol noktalarını belirlemesi ve kayıtlarını düzenli olarak tutması gerekmektedir. Yasal otoritelerin denetimler sırasında işletmede takip edilen depolama süresinin uygunluğunu saptayabilmesi için, 10 günden fazla depolama işlemi uygulayan işletmelerin kendi ürünlerine özgü bilimsel kanıtlarını ortaya koyması gerekmektedir. [89].

Son üründe yapılan kalite değerlendirmesi, gıda güvenliğini sağlamada etkin ve çözümsel bir yöntem değildir. Bu nedenle hammadde kabulünden bütün proseslerin takibi ve kontrol edilmesi konusunda en etkin yöntemin HACCP uygulaması olduğu kabul edilmektedir [113]. Çizelge 2.20’de sous vide tekniğiyle üretilen ve 10 gün boyunca depolanacak olan bir et yemeği için potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler verilmiştir.

Çizelge 2.20. Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
-Hammadde kabul ve depolama	Biyolojik: - Tedarikçi personelden hammaddeye patojen mikroorganizma bulaşması, - Yüksek sıcaklıkta sevkiyat yapılması sonucu donuk ürünlerde çözülme meydana gelmesi, - Vakum ambalajlı ürünlerde ambalajda fiziksel hasar olması, yeterli vakum yapılmaması, - Sevkiyat aşamasında gelen ürünlerin sıcaklığının artması, -Hammaddenin hemen depoya alınmaması nedeniyle üründe sıcaklık artışı, patojen mikroorganizma artışı. Fiziksel: - Sert madde, ambalaj malzemesi vb. yabancı madde bulunması, - Personelden fiziksel bulaş (kıl, tırnak vb.), - Gıda taşımaya uygun temiz olmayan bir araçla taşıma sonucu ürüne bulaşma. Kimyasal: - Kimyasal madde bulaşması (temizlik malzemesi, haşere kimyasalları, makine yağları vb.), - Soğutuculu araçların soğutucularından gaz bulaşması.	-Etin organoleptik özelliklerinin ve ambalaj bütünlüğünün mal kabul komisyonunca standartlara göre değerlendirilmesi, -Gerekli belgelerin kontrolü, -Etiket bilgilerinin kontrolü, -İç sıcaklık ve araç içi sıcaklık kontrolü, -Teslim alma sonrası ürünün ilgili depoya kaldırılması, -Depo sıcaklık kontrollerinin düzenli yapılması, -Depoların sanitasyonunun sağlanması, -Fiziksel kirliliğin ve çapraz kontaminasyonun önlenmesi, -Kimyasalların gıda kabul alanlarından uzak mesafede depolanması.

Çizelge 2.20. (devam) Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
-Çözdürme işlemi	Biyolojik: -Çözündürme dolabı sıcaklığı yükselmesi nedeniyle patojen mikroorganizma çoğalması, -Suda çözdürmede patojen mikroorganizma bulaşması, -Çapraz bulaşma nedeniyle mikroorganizma üremesi (<i>Salmonella</i>, <i>E.coli</i> O157:H7, <i>Campylobacter jejuni</i>). Fiziksel: -Çözdürme kabından plastik parça bulaşması. Kimyasal: -Depo soğutucularından gaz bulaşması.	-Suda çözdürme gıdanın su geçirmeyen ambalaj içinde tutulması, -Soğuk suda çözdürürken gıda ve ortam sıcaklığının takibi, -Çözdürme işlemi sırasında ürün sıcaklığının kontrolü, -Bakım ve onarım planının uygulanması, -Çözdürme sırasında ürünün soğutucu evaporatörü altına yerleştirilmesi.

Çizelge 2.20. (devam) Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
-Ayıklama, doğrama, marinasyon ve sebze dezenfeksiyon işlemleri	Biyolojik: -Ürünlerde patojen mikroorganizmanın uzaklaştırılamaması, -Ürüne çapraz bulaş ile patojen mikroorganizma bulaşması, -Etin ön hazırlık işlemlerinin yapıldığı ortam ısının yükselmesi, mikroorganizma üremesi. Fiziksel: -Kemik ayırma işleminin uygun koşullarda yapılmaması sonucu kemik parçası bulaşması, -İşleyen personelden bulaş olması (saç, kıl, tırnak, eldiven parçası vb.). Kimyasal: - Makine yağlarından kimyasal kontaminasyon, -Kullanılan ekipmanlarda temizlik kimyasalı kalıntısı, -Sebzelerde klor kalıntısı, -Pestisit kalıntıları.	-Etin ayrı bölümde işlenmesi ve ortam sıcaklığının düşük tutulması, -Zimba, tel gibi küçük metal ekipmanların üretim alanında bulundurulmaması, -Temizlik ve sebze dezenfeksiyonunun talimatlarına uygun olarak yapılması, -Ekipman bakım ve onarım talimatlarına uyulması, -Dezenfeksiyon için kullanılacak kimyasal dozunun, uygulama süresinin kontrolü, -Dezenfeksiyon işlemi sonrası durulamanın iyi yapılması ve son durulama suyunda klor miktarının takibi, -Personelin kişisel hijyen kurallarına uygun davranması.

Çizelge 2.20. (devam) Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
Ön pişirme, haşlama, kavurma	Biyolojik: -Pişirmenin etkin bir şekilde yapılamaması nedeniyle patojenlerin canlı kalması. Fiziksel: - Personelden kıl, saç, eldiven parçası, cam vb. yabancı madde bulaşması. Kimyasal: -	-Personele eğitim verilmesi, -Objektif yöntemlerle pişirme süre-sıcaklık takibinin yapılması, -Personel hijyen talimatlarının uygulanması, -Üretim alanında cam malzeme kullanılmaması, -Aydınlatma lambalarına karşı koruyucu önlemlerin alınması, -Pişmiş ve çiğ ürünlerin ayrı tutulması.
Malzemelerin harmanlanması ve vakum paketlerine porsiyonlanarak yerleştirilmesi	Biyolojik: -Pişirmenin etkin bir şekilde yapılamaması nedeniyle patojenlerin canlı kalması, -Çapraz kirlenme, -Kullanılan materyallerin hijyenik yetersizlikleri, -Vakumlama işleminin etkin yapılamaması sonucu gıdada aerobik mikroorganizmaların üremeye devam etmesi, Fiziksel: - Personelden kıl, saç vb. yabancı madde bulaşması. Kimyasal: - Makine yağı bulaşması.	-Paketleme malzemelerinin gıdaya ve uygulanacak ısı ileme uygun seçilmesi, -Paketleme alanının diğer alanlardan ayrı olması, -Personel hijyen talimatlarının uygulanması, -Paketleme alanının ortam sıcaklık ve kontrolünün yapılması, -Vakum makinesinde gıdaya uygun makine yağı kullanımı.

Çizelge 2.20. (devam) Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
Vakum paketlenen gıdanın pişirilmesi	Biyolojik: -Pişirmenin etkin bir şekilde yapılamaması nedeniyle patojenlerin canlı kalması. Fiziksel: - Personelden kıl, saç, eldiven parçası, cam vb. yabancı madde bulaşması. Kimyasal: -	-Pişirme süre-sıcaklık kontrolünün etkin yapılması, -Uygun ve kalibrasyonu yapılmış termometrelerle gıdanın iç sıcaklık ölçümünün yapılması.
Soğutma	Biyolojik: - Soğutma işleminin yavaş yapılması sonucu sporlu bakterilerin vejetatif hale gelmesi ve çoğalması. Fiziksel: - Kimyasal: -	-Soğutma işleminin uygun sıcaklık ve sürelerde yapılması, -Sıcaklık-süre takiplerinin etkin yapılması, -Uygun soğutma ekipmanlarının kullanılması, -Paketlerinin deformasyonunun engellenmesi.

Çizelge 2.20. (devam) Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
Soğuk depolama	Biyolojik: - Soğutucu sıcaklığının yükselmesi sonucu patojen mikroorganizma çoğalması, Raf ömrü dolan ürünlerde patojen mikroorganizma çoğalması. Fiziksel: - Kimyasal: -	-Soğuk depolara yerleştiren paketlerin tarih etiketlerinin görülecek şekilde raflara yerleştirilmesi ve personelin gıdanın raf ömrüyle ilgili bilgilendirilmesi, -Soğuk depo sıcaklıklarının izlenmesi, -Deponun hijyen koşullarının kontrol edilmesi, -Depo soğutma ekipmanının bakımının düzenli yapılması.
Yeniden ısıtma	Biyolojik: - Yeniden ısıtmanın etkin yapılmamasından dolayı patojen mikroorganizmanın üründen elimine edilememesi. Fiziksel: - Kimyasal: -	-Süre-sıcaklık kontrolünün etkin yapılması, -Uygun ve kalibrasyonu yapılmış termometrelerle gıdanın iç sıcaklık ölçümünün yapılması, -Yeniden ısıtma işleminin vakum paketlerinin açılmadan yapılması.

Çizelge 2.20. (devam) Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinin hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemler

Tehlike Kaynağı	Potansiyel Tehlike	Koruyucu Önlemler
Servis	Biyolojik: - Sıcak ürünlerin düşük sıcaklıklarda uzun süre bekletilmesinden dolayı patojen mikroorganizma çoğalması, -Servis ekipmanlarından mikroorganizma bulaşması. Fiziksel: -Ürüne fiziksel madde (taş, kıl, cam vb.) bulaşması. Kimyasal: - Servis ekipmanlarında kimyasal kalıntısı bulunması.	-Servis süre ve sıcaklığının kontrol altında tutulması, -Servis sırasında kullanılan ekipmanın hijyen kontrolünün yapılması, -Servis ekipmanlarında kimyasal kalıntı kontrollerinin yapılması, -Bulaşık makinelerinde durulama sıcaklığının kontrolü, -Personelin kişisel hijyen kurallarına uygun davranması.

Sistem çerçevesinde öncelikle sous vide tekniği ile üretilen ürünlerin tanımlamalarının yapılması gerekmektedir. Son ürün tanımlarında ürünün genel adı, üründe kullanılan hammadde ve diğer bileşenlerle ilgili spesifikasyon, standartlar, ürünün genel özellikleri, paketlenme/ambalajlama özellikleri, ürünün kullanım ve tüketim şekli, tüketici profili gibi bilgiler yer almalıdır [114]. Son ürün tanımlamalarının yanı sıra yemek üretilirken kullanılacak olan hammaddelerin özelliklerinin de ayrıntılı olarak belirlenmiş olması gereklidir. Hammadde tanımlarında, ürünün menşei, kimyasal (pH, su aktivitesi vb.) ve mikrobiyolojik kalite kriterleri, hammaddenin organoleptik özellikleri (tat, kıvam, yapı, renk vb.), ambalaj ve etiketleme özellikleri, taşıma koşulları, ürünün red koşulları gibi bilgiler belirlenmelidir. Çizelge 2.21’de dana eti için hammadde tanımlaması verilmiştir [113].

Çizelge 2.21. Sous vide tekniğiyle üretilecek et yemeğinin ürün tanımlaması [114]

Ürün tanımı	Sıcak et yemekleri
İçindekiler	Yağlı et (et:yağ 80:20), taze mantar, domates sosu, baharatlar (tuz, biber), su
Ürün kompozisyonu	Nem (%30), yağ (%1), protein (%16), karbonhidrat (%50), kül (%3), su aktivitesi (0,98), pH 5-3
Paketleme özellikleri	Isıya stabil polipropilen ambalaj, ambalajlanmış son ürünün net ağırlığı 375 g
İşleme durumları	70°C’de 45 dakika pastörizasyon, 2-3 saat içinde 3 °C’nin altına düşürme işlemi
Etiketleme özellikleri	İçindekiler listesi, 4°C’de depolama uyarısı, son kullanım tarihi, yeniden ısıtma uygulaması.
Depo koşulları	Ürün soğuk depolarda maksimum 28 gün muhafaza edilmelidir.
Tüketici profili	1 yaş üzeri tüketime uygundur.

Hammadde ve son ürün tanımlamalarından sonra ürün akış şemalarının oluşturulması önemlidir. Oluşturulacak akış şemaları, tehlike analizlerinin gerçekleştirilebilmesi için hammadde kabulünden servise kadar geçen tüm prosesleri ve proseslerin birbiri ile ilişkisini içermelidir. Akış şemaları göz önünde bulundurularak her aşamada ortaya çıkabilecek problemler ve bunların doğurabileceği tehlikeler ve tehlike kaynakları değerlendirilmelidir. Sous vide tekniğiyle üretilmiş et yemeklerinde hammadde temini ve diğer proseslerde oluşabilecek potansiyel tehlikeler ve koruyucu önlemlerin saptanması gerekmektedir (Bkz. Çizelge 2.20). Tehlike analizlerinin yapılması, üretimin her aşamasında oluşabilecek olan potansiyel tehlikelerin ayrı ayrı ortaya konmasını ve bunların ortaya çıkma olasılıkları ve yarattıkları tehlikenin ciddiyeti göz önüne alınarak

değerlendirilmesini içerir. Bu değerlendirme teknik uzmanlık ve deneyim gerektiren bir aşamadır [115].

Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeği HACCP sistemiyle takip ederken en önemli nokta kritik kontrol noktalarının belirlenmesi aşamasıdır. Kritik kontrol noktası belirlenirken risk matrislerinden ve HACCP karar ağacından faydalanılmaktadır. Sous vide tekniğiyle üretilmiş bir yemekte kritik kontrol noktalarına ilişkin örnek Çizelge 2.22’de gösterilmiştir [114].

Çizelge 2.22. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemekte kritik kontrol noktaları* [114]

Kritik Kontrol Noktaları					
Proses Basamakları	Çiğ bileşen kontrolü	Sanitasyon (Ekipman/personel)	Süre-Sıcaklık İlişkisi	Paketleme	Ek Koruyucu Önlemler
Hammadde kontrolü	X				
Soğuk depolama		X	X		
Çözdürme		X	X		
Formülasyon	X	X	X		X
Vakum paketleme		X	X	X	
Pastörizasyon		X	X	X	
Hızlı soğutma		X	X	X	
Etiketleme			X	X	
Soğuk depolama		X	X		
Yeniden ısıtma		X	X		
Servis		X	X		

*Belirtilen kaynaktan uyarlanmıştır.

Yapılan çalışmalarda, sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerde 6 temel kritik kontrol noktası olduğu belirtilmiştir. Bunlar pişirme, soğutma, yeniden ısıtma, pastörizasyon, çözündürme ve depolama aşamalarıdır [48].

Sous vide üretim tekniğiyle hazırlanan gıdada sanitasyon işlemleri son derece önemli kritik kontrol noktalarından birisidir. Çapraz kontaminasyonun önlenmesi ve çapraz kontaminasyona sebep olabilecek ekipmanların sanitasyonunun sağlanması gerekmektedir. Bu doğrultuda personel hijyeni de önem taşımaktadır [116].

Tüm kritik kontrol noktalarında biyolojik risklerden *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium botulinum* toksini varlığını elimine etmenin amaçlanması gerektiği bildirilmektedir. Bu nedenle özellikle kritik kontrol noktalarında süre-sıcaklık kontrollerinin yapılması gerektiği ve süre-sıcaklık ilişkisinin birçok proseste oluşturulacak HACCP planları çerçevesinde izlenmesi gerekliliği vurgulanmaktadır. Pastörizasyon işleminden sonra bazı sporlu mikroorganizmaların üreme riskini mümkün olduğu kadar en aza indirebilmek için her aşamada sıcaklık-süre takibi yapılmalıdır [48, 114].

Sous vide üretim tekniğine özgü kritik kontrol noktalarından birisi de paketleme aşamasıdır. Isıl işlem den önce, ısıl işlem uygulanması sırasında ve ısıl işlem uygulamasından sonra kontaminasyonun önlenmesi için paketleme aşaması kontrol altında bulundurulması gereken bir basamaktır. Öncelikle paketleme malzemesinin mikrobiyolojik kontaminasyona uğramamış olmasından emin olunmalıdır. Kullanılacak olan paketleme malzemesi ısıl işleme dayanıklı olmalı ve aynı zamanda kimyasal bileşiminin ne olduğu da bilinmelidir. Paketleme aşamasında süre-sıcaklık takibi de mutlaka yapılmalıdır. Paketleme aşamasında gıdanın paketlere doldurulma miktarı da sonraki aşamada uygulanacak olan ısıl işlemin etkinliği için son derece önemlidir. Ayrıca paketlerin üzerinde soğuk depolanması gerektiği uyarısı ve son tüketim tarihi uyarısı mutlaka yer almalıdır [114].

Sous vide tekniği ile üretilen ürünler için kritik kontrol noktalarının izlenmesi, sonuçların kayıt altına alınarak değerlendirilmesi de önemlidir. İzlem amacıyla kullanılan yöntemler belirli aralıklarla test edilmeli ve gerekli kalibrasyonlar yaptırılmalıdır. Özellikle üretim hattında sıcaklık-süre gibi fiziksel ölçümler, üretim hattı dışında özellikle depolama

aşamasında ürünün pH, su aktivitesi gibi fiziksel ve kimyasal ölçümleri de ürün kalitesinin değerlendirilmesi açısından önemli uygulamalardandır.

3. YÖNTEM

3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Bu çalışma, sous vide tekniği ile üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi, farklı depolama sürelerindeki mikrobiyolojik değişimlerin saptanması amacıyla planlanıp yürütülmüştür. Araştırmanın, laboratuvar analizlerine dair çalışmalar 1 Kasım-20 Mayıs 2014 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeği 20 gün boyunca 2°C'de depolanarak ürünün mikrobiyolojik yükünde ve mikrobiyolojik yüke etki eden iç faktörlerde meydana gelen değişimler 5 günlük periyotlarla takip edilmiştir. Çalışma, analiz yapılan her periyotta benzer laboratuvar koşulları sağlanarak gerçekleştirilmiştir. Yemeğin sous vide tekniğiyle üretimi İstanbul'da Turkish DO&CO mutfağında gerçekleştirilmiş olup, 0. ve 20. gün analizleri Turkish DO&CO bünyesindeki mikrobiyoloji laboratuvarında araştırmacı tarafından, 5., 10., 15. gün analizleri ise Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Besin Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'nda araştırmacı tarafından yapılmıştır. Turkish DO&CO'da sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinden, İstanbul'da 0. gün ve 20. gün analizleri için iki paket ayrılmış, aynı üretim partisinde diğer paketler buz aküleriyle doldurulmuş termobakslar içinde radyo frekansı ile tanımlama sistemi (RFID) kartlarıyla ürünlerin sıcaklık takibi yapılarak havayoluyla Ankara'ya Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Besin Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'na taşınmıştır. Taşıma işlemi 4 saat 50 dakika içinde tamamlanmış, Ankara'ya ulaştırılan ürünler 5 günlük periyotlarla analizi yapılmak üzere 2°C'de 20 gün boyunca depolanmıştır. İstanbul'da 0. ve 20. gün analizleri gerçekleştirilmek üzere bırakılan iki paket ürün de benzer koşullarda 2°C'de depolanmıştır. Numunelerde 0. gün ve 20. gün toplam aerobik mezofilik bakteri, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* analizleriyle yapılmıştır. Mikroorganizma üremesini etkileyen iç faktörlerden gıdanın pH'sı ve nem içeriği analiz edilmiştir. Depolama süresi boyunca 5 günlük periyotlarla gerçekleştirilen analizlerden 5., 10., 15. gün analizlerinde ise toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* analizleriyle birlikte gıdanın pH'sı ve nem içeriği de saptanmıştır.

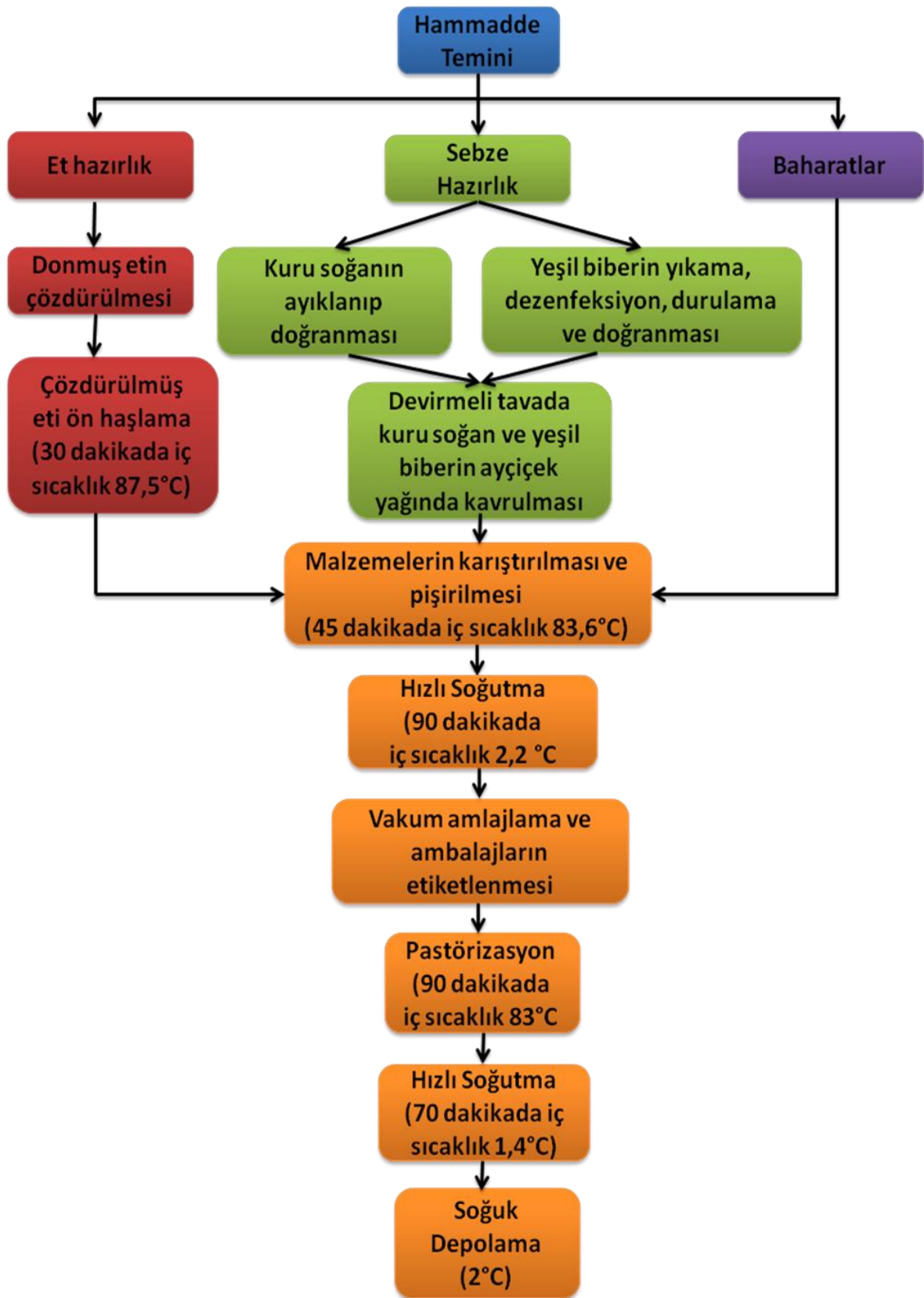
İstanbul ve Ankara’da gerçekleştirilen analizlerde aynı yöntemler benzer çevre koşullarında araştırmacı tarafından yapılmıştır.

Çalışmada 0. ve 20. günlerde analiz yapılan *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. analizlerinde BAX system kullanılmış olup bütün toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* analizleri geleneksel analiz yöntemiyle yapılmıştır. Bütün analizler üçlü paralelli çalışılmıştır.

3.2. Araştırma Yöntemi

3.2.1. Macar Gulaş yemeğinin analiz periyotlarına hazırlanması

Sous vide tekniğiyle Macar Gulaş yemeği üretimi aşamasında Turkish DO&CO’da uygulanan üretim akışı takip edilmiştir. Çalışmada analizi yapılan Macar Gulaş yemeğinin sous vide tekniğiyle üretim akış şeması Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeği üretim akış şeması

Macar Gulaş yemeğinin malzemeleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Verilen tarif Turkish DO&CO firmasının Macar Gulaş yemeğini hazırlarken kullandığı malzemeleri göstermektedir.

Çizelge 3.1. Macar Gulaş yemeği malzeme listesi*

Malzemeler	Miktarları
Dana but kuşbaşı	50 kg
Konkase domates	9,820 kg
Kuru soğan	9,905 kg
Yeşilbiber	4,225 kg
Domates salçası	4,840 kg
Ayçiçek yağı	3,6 kg
Buğday unu	4,1 kg
Tuz	0,949 kg
Toz kırmızı biber	0,41 kg
Sarımsak sosu	0,435 kg
Su	49 kg

*Verilen tarife yaklaşık 250 kişiliktir.

1. Et için çözdürme aşaması

Dana but kuşbaşı donmuş olarak satın alınmış ve 4°C’deki soğuk depolarda 24 saat içinde çözdürme işlemine tabi tutulmuştur. Çözdürme işlemi et orijinal vakumlu ambalajındayken gerçekleştirilmiştir. Çözdürme işlemi 24 saat içinde tamamlanmış olup iç sıcaklığının 4°C’yi yüzey sıcaklığının en fazla 8°C’yi geçmemesi sağlanmıştır.

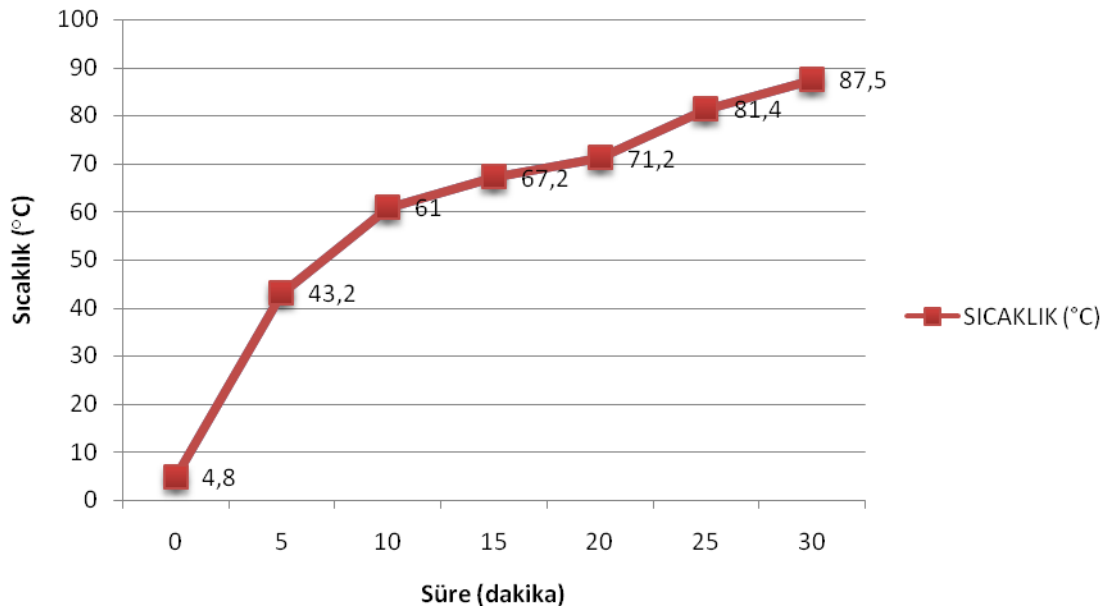
2. Sebzeler için yıkama, dezenfeksiyon ve ön hazırlık işlemleri

Kuru soğanlar kabukları soyulduktan sonra yıkama işleminden geçirilerek doğranmıştır. Yeşilbiberler öncelikle dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Dezenfeksiyon işlemi; önce ön yıkamanın yapılması, daha sonra 100 ppm’lik klor konsantrasyonunda 3 dakikalık dezenfeksiyon işlemi ve durulama aşamasıyla gerçekleştirilmiştir. Dezenfeksiyon

işleminde sonra doğranarak kuru soğanla birlikte ayçiçek yağında sotelenmiştir.

3. Et için ön haşlama aşaması

Çözdürme işlemi tamamlanmış olan et ön haşlama işleminden geçirilmek üzere devirmeli tavalara aktarılmıştır. Kaynayan suyun içerisine dana kuşbaşı etler aktarıldıktan sonra bekletilmeden ilk haşlama suyu dökülmüştür. Daha sonra etlerin üzerine tekrar sıcak su ilave edilerek 30 dakika ön haşlama işlemi uygulanmıştır. Ön haşlama işlemine tabi tutulan etin 30. dakikada iç sıcaklığı 87,5°C olarak ölçülmüştür (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Ön haşlama işlemi süre-sıcaklık grafiği

4. Macar Gulaş yemeği ön pişirme aşaması

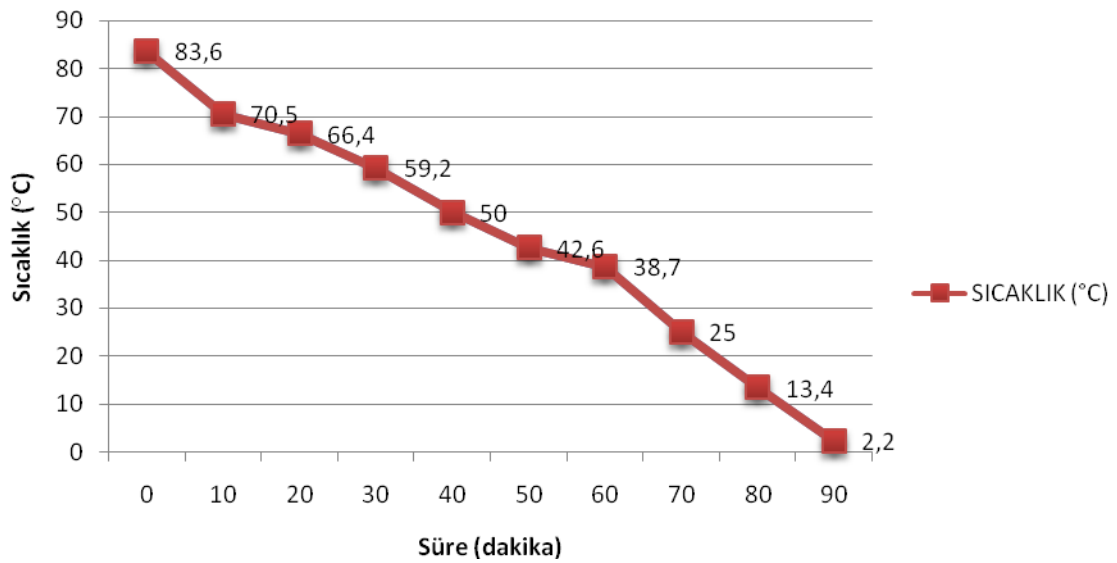
Başka bir devirmeli tavada ayçiçek yağı içerisinde sotelenen yeşil biber ve kuru soğan üzerine konkase domates, domates salçası, tuz, toz kırmızı biber ve sarımsak sosu ilave edildikten sonra ön haşlama işleminden geçirilmiş olan et eklenmiştir. Son olarak su eklenerek pişirme işlemine tabi tutulmuştur. Yemeğin salçalı suyu kaynayıp devirmeli tavadan alınmadan önce buğday unu ilave edilerek bağlama işlemi yapılmıştır. Bütün malzemelerle birlikte yapılan ön pişirme işlemi toplam 45 dakikada tamamlanmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. Ön pişirme işlemi tamamlanan Macar Gulaş yemeği

5. Macar Gulaş yemeği soğutma aşaması

Hızlı soğutucuya yerleştirilen Macar Gulaş yemeğinin iç sıcaklık takibi yapılarak iç sıcaklığının 90 dakikada 2,2°C'ye düşmesi sağlanmıştır. Bu süreç içerisinde ürünün iç sıcaklık-süre takibi yapılmıştır (Şekil 3.3).



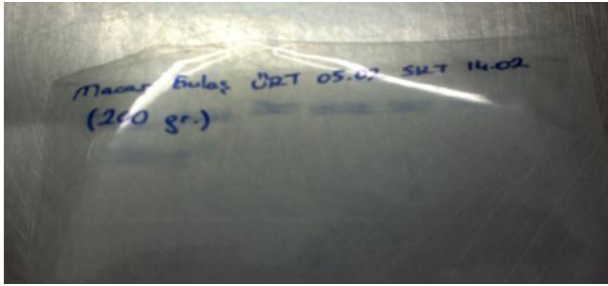
Şekil 3.3. Pişmiş Macar Gulaş yemeği soğutma süre-sıcaklık grafiği

Hızlı soğutucu kullanılarak iç sıcaklığı 2,2°C'ye düşürülen Macar Gulaş yemeği vakumlama bölümüne alınmıştır.

6. Macar Gulaş yemeği porsiyonlanarak vakum paketleme aşaması

Sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeğinin porsiyonlanarak paketlenmesi aşamasında kullanılacak ambalaj malzemesi özel bir firmadan (Pal Plastik Ambalaj Sanayi ve Ticaret) temin edilmiştir. Ambalaj malzemesinin (poliamid polietilen-pape) O₂ geçirgenliği 25 cc/m²/gün (24°C), sıcaklık dayanımı -25/105°C, toplam kalınlık 150 mikron, nem geçirgenliği 6 g/m²/gün'dür.

Vakumlama bölümünde sıcaklığa stabil ambalajların üzerine ürünün gramajı, üretim ve tüketim tarihleri önceden yazılarak doluma hazır hale getirilmiştir (Resim 3.2).



Resim 3.2. Doluma hazır hale getirilen sous vide ambalajları

Vakum odasının sıcaklığı 10°C olup dolum sırasında ürünün iç sıcaklığının yükselmesi engellenmiştir.

Üzerine gerekli bilgilerin yazıldığı ambalajlara dolum yapılma işlemi sırasında tek kullanımlık aseptik eldivenler kullanılmıştır (Resim 3.3).



Resim 3.3. Ambalaja dolum yapma aşaması

Dolum işlemi sırasında ürünün homojen bir şekilde porsiyonlanmasının sağlanması amacıyla karıştırılarak 200 gram Macar Gulaş yemeği alınıp ambalajlara konulmuş ve tekrar tartımları yapılarak doğrulanmıştır. Ürünün aktarılması sırasında kullanılan ölçü kabı ile 200 gramlık alınmakla beraber ürün ambalajlara konulduktan sonra tartılarak nicel doğrulama yapılmıştır.

Toplam 8 paket (200 gramx8) hazırlanmış ve vakumlama işlemine tabi tutulmuştur (Resim 3.4). Hazırlanan 8 paketten rastgele seçilen 3 pakete vakumlama aşaması, pastörizasyon işlemi ve hızlı soğutucularda yapılan işlemlerde ısı takibin gerçekleştirilmesi için birer probe termometre batırılmıştır.



Resim 3.4. Vakumlama aşaması

7. Macar Gulaş yemeği pastörizasyon aşaması

Vakumlanan paketler buhar fırınlarında pastörizasyon işlemi yapılmak üzere hazır hale getirilmiştir (Resim 3.5). Pastörizasyon işlemi öncesinde buhar fırınlarına giren ürünün iç sıcaklığı 5,5°C olarak ölçülmüştür. Pişirme işlemi sırasında ürünün iç sıcaklık takibinin yapılabilmesi için buhar fırınının probe termometresi kullanılmayacak bir paketteki ürüne saplanmıştır. Macar Gulaş yemeği, iç sıcaklığı 90°C'ye ayarlanmış buhar fırınında 1 saat 30 dakika süreyle pastörize edilmiştir. Buhar fırınlarından çıkarılan ürünün son sıcaklığı 83°C olarak kaydedilmiştir.



Resim 3.5. Pastörizasyon işlemine hazır hale getirilmiş vakum paketleri

Pastörizasyon işlemi toplam 1 saat 30 dakikada saatte tamamlanmış, buhar fırınlarının sıcaklığı 90°C'ye ayarlanarak ürünün iç sıcaklık takibi yapılmıştır (Çizelge 3.2).

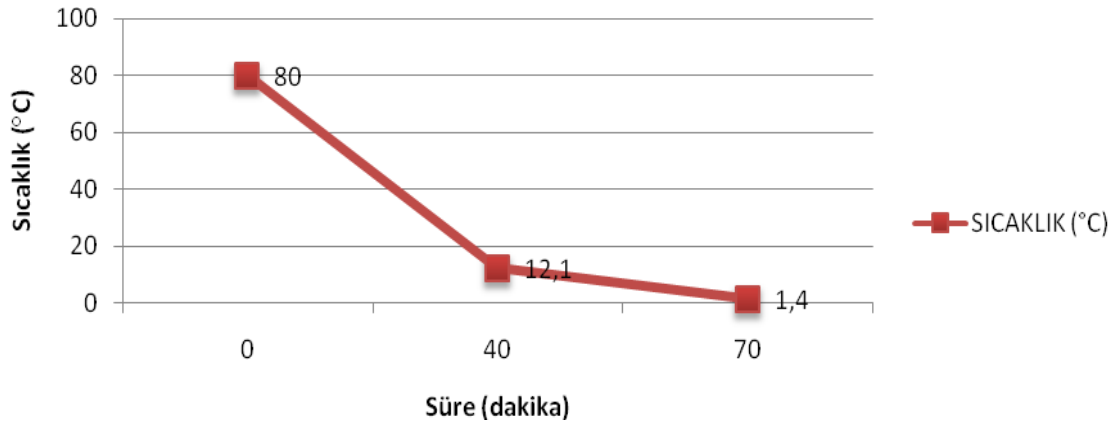
Çizelge 3.2. Pastörizasyon işlemi sıcaklık-süre takibi

SÜRE	SICAKLIK (°C)
Başlangıç	5,5
Bitiş (1 saat 30 dakika sonra)	83

8. Vakum paketli Macar Gulaş yemeği soğutma aşaması

Pastörizasyon işleminden sonra vakum paketli Macar Gulaş yemekleri hızlı soğutucuya alınarak iç sıcaklığı 70 dakikada 1,4°C'ye düşürülmüştür (Şekil 3.4). Macar Gulaş yemeğinin soğutma sırasında kullanılmayacak olan bir pakete probe termometre saplanarak iç sıcaklık-süre takibi yapıp kayıt altına alınmıştır.

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeği hızlı soğutucuya tek başına konularak başka ürünlerin soğutma işlemini geciktirmesi engellenmiştir (Resim 3.6).



Şekil 3.4. Soğuk depolama öncesi yapılan soğutma işlemi süre-sıcaklık grafiği



Resim 3.6. Hızlı soğutucuda Macar Gulaş yemeği

9. Vakum paketli Macar Gulaş yemeği etiketleme aşaması

Macar Gulaş yemeği hızlı soğutucudan çıkarıldıktan sonra üzerindeki su damlacıkları kurularak paketlerin tartım işlemleri yapılmıştır. Tartımları yapılan paketlerin üzerine yemeğin ismi, son ağırlıkları, üretim ve son kullanma tarihi bilgilerini içeren etiketler yapıştırılmıştır.

10. Macar Gulaş yemeği taşıma aşaması

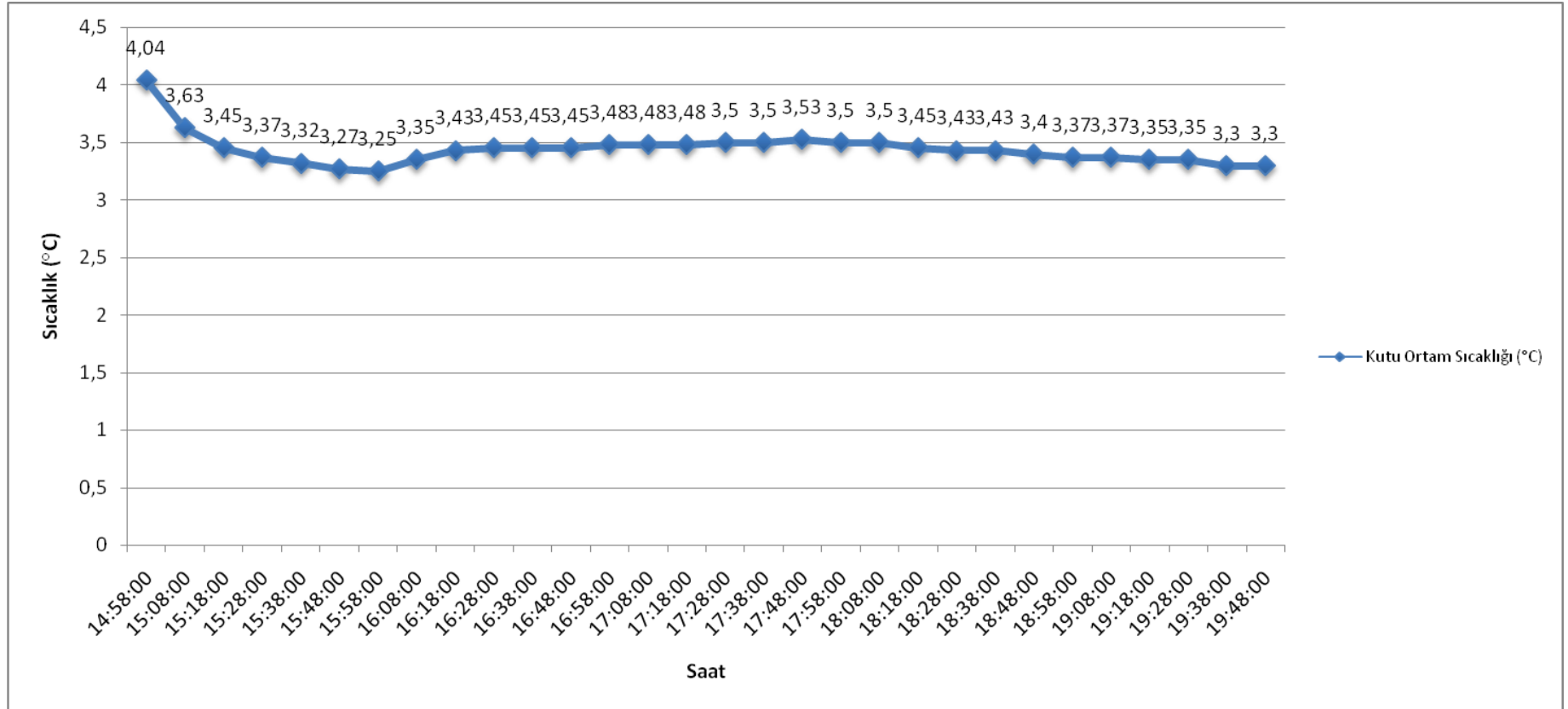
Soğutulan Macar Gulaş yemeğinden İstanbul'da yapılacak olan 0. gün ve 20. gün analizleri için 2 paket alınarak diğer paketler sıcaklık-süre takibi yapılacak olan (RFID kartlar ile) termobakslara dezenfekte edilmiş buz aküleriyle birlikte yerleştirilerek havayolu ile Ankara'ya Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Besin Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'na taşınmıştır (Resim 3.7).



Resim 3.7. Ankara'ya taşınmak üzere paketlenmiş Macar Gulaş yemeği

Toplam taşıma süresi 4 saat 50 dakika olarak belirlenmiş olup taşıma sürecinde ürünün taşındığı ortam sıcaklığının 4°C 'nin üzerine çıkmadığı saptanmıştır (Şekil 3.5). Ürün Ankara'da 2°C sıcaklığındaki, içi %70'lik etil alkol ile dezenfekte edilmiş buzdolabında depolanmak üzere tek sıra halinde yerleştirilmiştir.

İstanbul'da başlangıç gün analizi yapılacak olan paketler üretim binası ile aynı binada bulunan Turkish DO&CO mikrobiyoloji laboratuvarında analize alınmış 20. gün analizi yapılmak üzere depolanan paketler 2°C 'lik soğuk depoya yerleştirilmiştir.



Şekil 3.5. RFID kart sıcaklık takip grafiği

RFID kart aracılığıyla izlenen ürünün iç sıcaklığı 4°C'nin üzerine çıkmamıştır.

3.2.2. Macar Gulaş yemeğinin mikrobiyolojik analizi

Başlangıç gün analizi

Başlangıç gününde toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* analizleri yapılmıştır. Ayrıca üründe mikroorganizma üremesini belirleyen faktörlerden olan pH ölçümü ve nem tayini de yapılmıştır. Başlangıç günü analizi bizzat araştırmacı tarafından İstanbul Turkish DO&CO Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Başlangıç günü için ayrılan paketlerde yapılan mikrobiyolojik analizler 3'lü paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Numune alma ve dilüsyonların hazırlanması

Vakum paketli üründen numune alma işlemi EK-1'de verilen TS EN ISO 6887-2 Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi- Deney Numunelerinin, Başlangıç Süspansiyonunun ve Ondalık Seyreltilerin Mikrobiyolojik Muayene İçin Hazırlanması isimli standartta belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerin yapılacağı tezgah fiziksel kirlerden arındırıldıktan sonra %70'lik etil alkol ile dezenfekte edilmiştir.

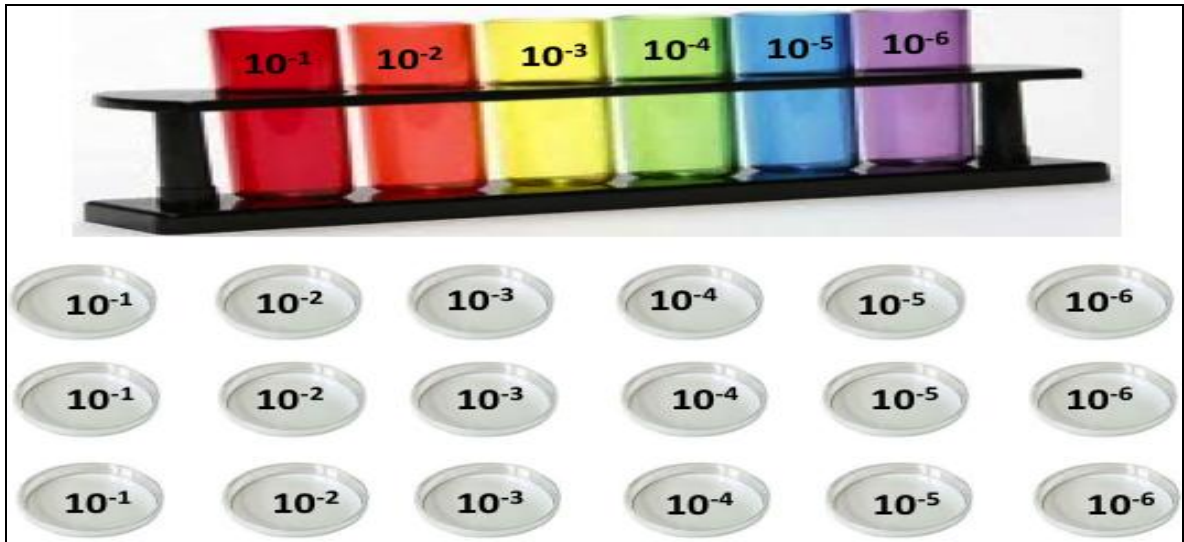
Paketleri açma aşamasında kullanılan diseksiyon makası ve numune alma aşamasında kullanılan penset ve spatül %70'lik etil alkol çözeltisine batırılıp bek alevinde yakılarak bu işlemi 3 kez gerçekleştirme suretiyle dezenfekte edilmiştir. Dezenfekte edilmiş diseksiyon makası yardımıyla paket açıldıktan sonra dezenfekte edilmiş penset yardımıyla üründen homojen olacak şekilde ve paketin her yerinden az miktarda alınmak suretiyle 25 gram numune alınmıştır.

Araştırmada kullanılan 0,01 gram duyarlılığındaki hassas terazi üzerine stomacher poşet tutucu yerleştirilip içerisine stomacher poşeti yerleştirildikten sonra darası alınmıştır. Hazır hale getirilen stomacher poşeti içine alınan numune konulmuştur.

İlk dilüsyon olan 10^{-1} 'lik seyreltinin hazırlanması için %0,1'lik peptonlu su otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilize edilip, oda sıcaklığına soğutulduktan sonra alınan numunenin üzerine 225 mL ilave edilmiştir. Stomacher poşetinin ağız kısmı anaeroklips yardımıyla kapatıldıktan sonra stomacherda 60 sn boyunca homojenize edilmiştir.

Deney tüplerine 9 mL hacminde %0,1'lik peptonlu su konularak tüplerin ağız kısmı çok sıkı olmayacak şekilde tüp kapaklarıyla kapatıldıktan sonra otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan peptonlu su içeren deney tüpleri üzerine dilüsyonları cam kalemiyle yazılmıştır.

Stomacher poşeti içinde hazırlanan 10^{-1} dilüsyonundan steril pipet ucu ve otomatik pipet yardımıyla 1 mL alınarak ağız kısmı bek alevine yalıtılan ve 9 mL peptonlu su içeren deney tüpüne ilave edilmiştir. Bu şekilde 10^{-2} dilüsyonu hazırlanmış olup karışımın homojenize edilmesi için vortex kullanılmıştır. Homojenize edilen karışımdan pipet ucu değiştirilerek alınan 1 mL hacmindeki 10^{-2} dilüsyonu bir sonraki deney tüpüne ilave edilerek 10^{-3} dilüsyonu hazırlanmıştır. Aynı işlemleri 10^{-6} dilüsyonu hazırlanıncaya kadar tekrarlanmıştır (Resim 3.8). Analiz edilecek mikroorganizma için yöntemde belirtilen miktarda her dilüsyon sıvısından, 3'lü paralelli analiz yapılabilmesi için, 3'er petri kutusuna inoküle edilmek üzere hazır hale getirilmiştir.



Resim 3.8. Deney dilüsyonlarının hazırlanması

Toplam bakteri analizi

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımında dökme plak yöntemi kullanılmıştır. Analizde kullanılacak Plate Count Agar (PCA) besiyeri üzerinde tarif edilen ölçülerde hazırlanarak otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilize edilen besiyerinin, dilüsyonların analiz için hazırlanması aşamasında soğuyarak donmasının önlenmesi için 65°C’ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir.

Yukarıda belirtilen şekilde hazırlanan dilüsyonlar vortekslendikten sonra steril pipet ucu takılmış otomatik pipet ile önceden üzerine dilüsyon ve analiz edilecek mikroorganizma isimlerinin yazıldığı petri kutularına 1’er mL aktarılmıştır. Dilüsyon inoküle edilmiş petri kutularının üzerine sıcaklığı 45±1°C’ye indirilmiş PCA besiyeri 15 mL hacminde dökülmüştür. Sterilite kontrolü için ayrı petrilere %70’lik etil alkol, %0,1’lik peptonlu su 1’er mL inoküle edildikten sonra bunların üzerine de 15 mL PCA besiyeri eklenmiştir. Steriliteyi test etmek amacıyla her analiz periyodunda hazırlanan her besiyerinden steril ve boş petri kutularına besiyeri dökülerek o besiyerine özgü mikroorganizma analizi için uygun sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri dökülen petri kutularına 3 kez 8 hareketi yaptırılarak dilüsyonlarla besiyerinin karışması sağlanmıştır. Havadan ve çevreden kontaminasyon riskini en aza indirebilmek için besiyeri dökme işleminin en fazla 15 dakika içinde tamamlanması sağlanmıştır.

Dökülen besiyerleri katılaştıktan sonra petri kutuları ters çevrilerek 35±1°C’de 48±2 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon işleminin sonunda oluşan kolonilerin sayılması için koloni sayım cihazı kullanılarak besiyerinde görülen her koloni sayılmıştır. Paralel petri sayımlarının aritmetik ortalaması kaydedilmiştir. Petri kutularında bakteri kolonisi çok az sayıda gözlemlendiği için en düşük dilüsyon değerinde üreyen koloni sayısı kaydedilmiştir.

Her hesaplamanın sonunda bulunan değerler dilüsyon faktörüyle çarpılarak sonuçlar standart petri sayımı olarak kaydedilmiştir.

Enterobacteriaceae analizi

Enterobacteriaceae analizinde EK-2’de verilen TS ISO 21528-2:2011 Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi-Enterobacteriaceae’nın Aranması ve Sayımı için Yatay Yöntem-Bölüm 2: Koloni Sayım Yöntemi standardı kullanılmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasında bulunan mikroorganizmaların analizinde Violet Red Bile Glucose (VRBG) agar kullanılmıştır. Bu familyanın analizinde kullanılan VRBG agar diğer besiyerlerinden farklı olarak otoklavda sterilize edilmemektedir. Bu besiyerinin sterilizasyon işlemi sıcak su banyosunda veya mikrodalga fırınlarda gerçekleştirilmektedir. Dolayısıyla mikrodalga fırında veya su banyosunda yapılacak olan sterilizasyon işleminin etkinliğini arttırmak amacıyla besiyerinin hazırlanmasında kullanılan malzeme ve materyallerin steril olması önem taşımaktadır. Bu çalışmada VRBG agar hazırlanırken kullanılan distile su ve schottlar önceden otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilerek oda sıcaklığına soğutulduktan sonra kullanılmıştır.

Bu çalışmada VRBG agar besiyerinin sterilize edilmesi için mikrodalga fırınlar tercih edilmiştir. Sterilizasyon işleminin etkinliğini arttırmak için mikrodalga fırına yerleştirilecek besiyerinin hacminin en fazla 250 mL olması sağlanmıştır. Dilüsyonlar hazırlanıncaya kadar besiyerinin donmasının engellenmesi amacıyla 65°C’ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir.

Enterobacteriaceae analizinde çift kat dökme yöntemi kullanılmıştır. Yukarıda belirtilen şekilde hazırlanan dilüsyonlardan steril pipet ucu takılmış otomatik pipet yardımıyla 1’er mL alınarak önceden üzerine dilüsyon ve analiz edilecek mikroorganizma isimlerinin yazıldığı petri kutularına inoküle edilmiştir. Hazırlanan inokulum üzerine sıcaklığı 44-47°C arasında değişen besiyerinden 10 mL dökülmüştür. Dökme işleminden sonra inokulum ve besiyerinin karışmasının sağlanması için 3 kere 8 hareketi yapılmıştır. Petri kutularına dökülen besiyerinin donması beklenmiştir. Bu sürenin 15 dakikayı aşmaması sağlanmıştır. Donmuş olan petri kutularındaki besiyerlerinin üzerine 15 mL daha VRBG agardan dökülerek donması için beklenmiştir. Böylece fakültatif anaerob mikroorganizmaların üremesi için elverişli ortam sağlanmıştır. Donma işlemi gerçekleşikten sonra petri kutuları ters çevrilerek 37°C’de 24±2 saat inkübe edilmek üzere

inkübatöre yerleştirilmiştir.

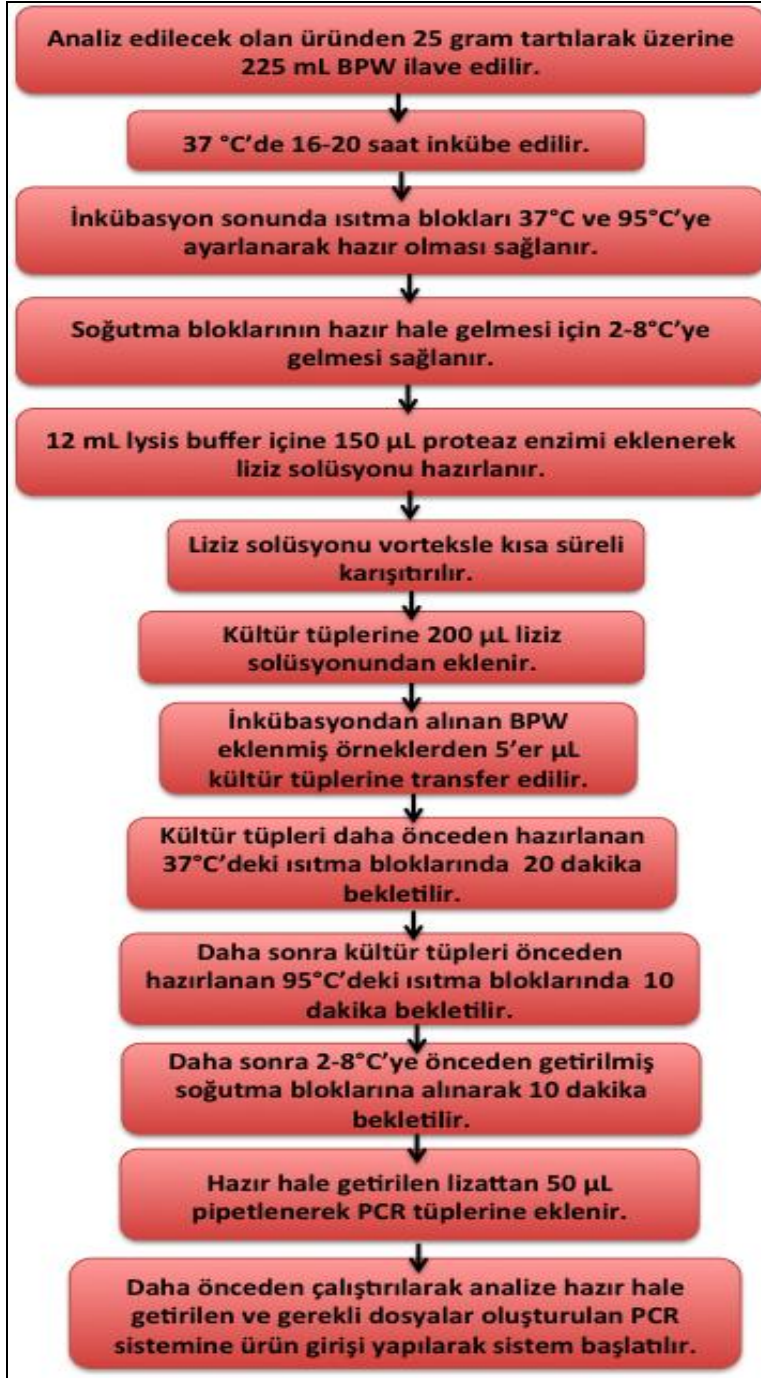
İnkübasyon işleminin sonunda oluşan kolonilerin sayılması için koloni sayım cihazı kullanılarak besiyerinde görülen kırmızı/mor renkli koloniler sayılmıştır. Paralel petri sayımlarının aritmetik ortalaması kaydedilmiştir. Petri kutularında bakteri kolonisi çok az sayıda gözlemlendiği için en düşük dilüsyon değerinde üreyen koloni sayısı kaydedilmiştir.

Her hesaplamanın sonunda bulunan değerler dilüsyon faktörüyle çarpılarak sonuçlar standart petri sayımı olarak kaydedilmiştir.

VRBG agar besiyerinde görülen kolonilerin *Enterobacteriaceae* familyasından olduğundan emin olabilmek için doğrulama testine ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak bu çalışmada 20 günlük depolama süresi boyunca yapılan analizlerde VRBG agar besiyerinde şüpheli koloniye rastlanmamış ve bu nedenle daha önce doğrulama amaçlı çalışma için temin edilen oksidaz test stripleri kullanılmamıştır.

Salmonella spp. analizi

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin analiz periyotlarından 0. ve 20. günlerde bakılan *Salmonella* spp. BAX sistem aracılığıyla EK-3'te verilen yöntem kullanılarak analiz edilmiştir. *Salmonella* spp. analizleri İstanbul Turkish DO&CO Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. *Salmonella* spp. analizinde izlenen işlem basamakları Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. *Salmonella* spp. analizi işlem basamakları

Analizde uygulanan ısıtma ve soğutma bloklarının önceden hazırlanması ve bu bloklarda bekletilecek karışımlar yerleştirildikten sonra geçen sürenin takibi son derece önemli olup analiz sonuçlarını etkilemektedir (Resim 3.9).

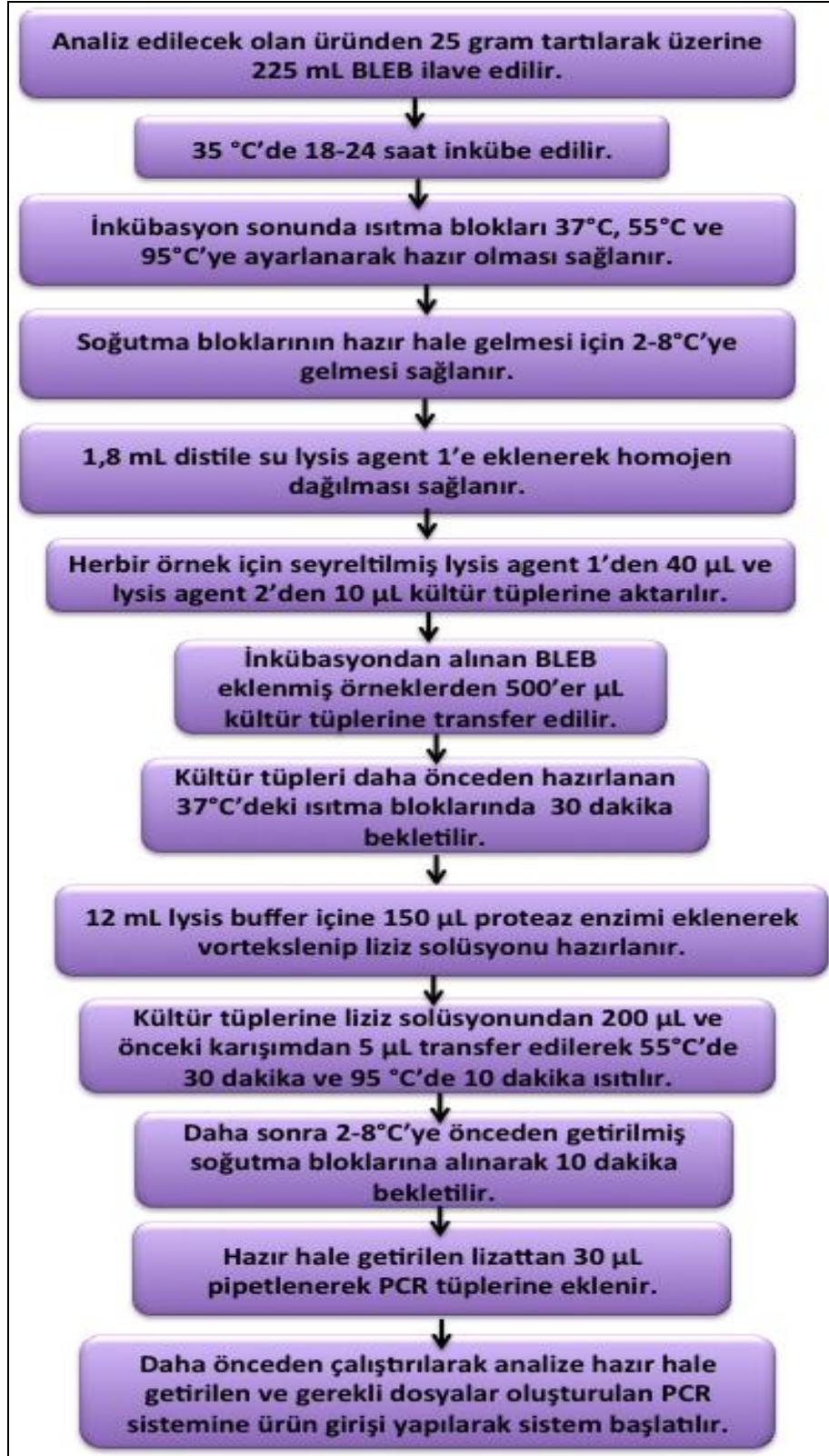


Resim 3.9. *Salmonella* spp. analizi

Listeria monocytogenes analizi

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin analiz periyotlarından 0. ve 20. günlerde bakılan *Listeria monocytogenes*, EK-4'te verilen yöntem kullanılarak BAX sistem aracılığıyla analiz edilmiştir. *Listeria monocytogenes* analizleri İstanbul Turkish DO&CO Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bizzat araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. *Listeria monocytogenes* analizinde izlenen işlem basamakları Şekil 3.7'de verilmiştir.

Salmonella spp. analizinde olduğu gibi *Listeria monocytogenes* analizinde de uygulanan ısıtma ve soğutma bloklarının önceden hazırlanması ve bu bloklarda bekletilecek karışımlar yerleştirildikten sonra geçen sürenin takibi son derece önemli olup analiz sonuçlarını etkilemektedir.



Şekil 3.7. *Listeria monocytogenes* analizi işlem basamakları

Clostridium perfringens analizi

Clostridium perfringens analizinde TS EN ISO/IEC 17025 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarının Yeterliliği için Genel Şartlar” Standardına göre BAM 2001 tüm gıdalarda *Clostridium perfringens* analizi için belirlenen yöntem kullanılmıştır.

Clostridium perfringens analizi için örnek alınırken vakum ambalajlı ürünün farklı bölgelerinde lokal bakteri üreme ihtimali olacağı için ürün ambalajının içerisinde homojen olacak şekilde 25 gram ürün analiz için alınmıştır. Peptonlu su eklendikten sonra yapılan homojenizasyon işlemini takiben alınan örnekten 10^{-6} ’ya kadar olacak şekilde dilüsyon seti hazırlanmıştır. *Clostridium perfringens* analizi sırasında üründe bulunması muhtemel mikroorganizmanın havayla temasını mümkün olduğu kadar engelleyebilmek için homojenizasyon işlemi ve vorteksleme işlemi daha düşük devirde gerçekleştirilmiştir.

Steril petri kutularına içerisinde yumurta sarısı solüsyonu içeren steril TSC agardan 6-7 mL dökülerek donması sağlanmıştır. Donan besiyeri üzerine 3’lü paralelli olacak şekilde her dilüsyondan 0,1 mL inoküle edilmiştir. İnokülasyon işlemi yapıldıktan sonra inokülümün emilmesini sağlamak amacıyla yaklaşık 5 dakika beklendikten sonra üzerlerine yaklaşık 10 mL olacak şekilde yumurta sarısı içermeyen steril edilmiş TSC agar dökülmüştür. Agar donmaya bırakılmıştır. Donma işlemi tamamlandıktan sonra, içine ortamdaki atmosferik oksijeni bağlayan anaerocult yerleştirilmiş anaerobic jarlar içine ters çevrilen petri kutuları yerleştirilmiştir. Petri kutuları 35 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra anaerobik jardan çıkarılan petri kutularında, çevresinde 2-4 mm çapında opak zon bulunan lesitinaz enzim aktivitesi sonucu siyah renkli koloni oluşturmuş olan *Clostridium perfringens* kolonileri aranmıştır.

Çalışmada belirtilen şekilde koloni tespit edilmediği için doğrulama testi yapılmamıştır.

5-10-15. gün analizleri

Başlangıç günü analizinden sonra 5'er günlük periyotlarla mikrobiyolojik analizlere devam edilmiştir. Takip eden periyotlardaki analizler Ankara'da Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Besin Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde başlangıç gününde yapılan analizlerden farklı olarak *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* bakılmamıştır. Toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* analizleri gerçekleştirilmiştir. Toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* analizlerinde kullanılan yöntemler başlangıç gün analizinde kullanılan yöntemlerdir.

20. gün analizleri

Çalışmanın son periyotu olan 20. gün analizi İstanbul'da Turkish DO&CO Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bizzat araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. Başlangıç gününde son analiz için ayrılan sous vide tekniğiyle hazırlanan Macar Gulaş yemeği paketleri 20. gün analiz için kullanılmıştır. Bu son gün analizinde toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* bakılmıştır. Bu analizlerde kullanılan yöntem başlangıç gününde kullanılan yöntemle aynıdır.

3.2.3. Macar Gulaş yemeğinde fizikokimyasal değişikliklerin saptanması

pH ölçümü

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde, 20 gün boyunca depolanıp mikrobiyolojik analizi gerçekleştirilen 5'er günlük periyotların herbirinde, pH ölçümü yapılmıştır.

Numunelerin pH ölçümleri EK-5'te verilen TS 3136 ISO 2917 Et ve Et Ürünleri-pH ölçülmesi-Referans Yöntem standardı kullanılarak yapılmıştır.

Ölçümlerde kullanılan pH metrenin kalibrasyonu her analiz gününde ölçüm öncesi yapılmıştır. Kullanılan pH metre elektrodu cam kombine elektrot olarak tercih edilmiştir. Kalibrasyon yapılırken en az 0,01 pH birimi doğrulukla, pH değeri garanti edilen ticari olarak kullanıma hazır tampon çözeltiler kullanılmıştır. Kalibrasyon işlemi 3 farklı pH değerinde gerçekleştirilmiş olup bu değerler sırasıyla 4,00, 5,45 ve 6,88'dir. Bütün ölçümler pH metrenin sıcaklık düzeltme özelliğinden yararlanılarak 20°C'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Analiz yapıldıktan sonra elektrotları temizleme sıvısı olarak %95'lik etanol ve distile su kullanılmıştır. Temizlenen elektrotlar potasyum klorür çözeltisi içinde korunmuştur.

Yapılan ölçümlerde tahribatsız ölçüm tekniği kullanılmıştır.

Bu teknik ile pH'ı ölçülecek numunede bıçak yardımıyla bir kesik açılarak pH metrenin elektrodu buraya batırılmıştır. Sabit bir değere ulaşıldığında pH metre ekranındaki değer 0,01 pH birimi yaklaşımla kayıt altına alınmıştır. Aynı noktaya pH metre elektrodu tekrar batırılmıştır. Aynı şekilde pH metre ekranında yazan değer 0,01 pH birimi yaklaşımla okunarak kayıt altına alınmıştır. İki ölçümün aritmetik ortalaması alınarak değerlendirilmiştir.

Nem tayini

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde nem tayini 20 günlük depolama süresi boyunca başlangıç gününden itibaren 5'er günlük periyotlarla yapılmıştır. Nem tayini analizinde EK-6'da verilen AOAC Official Method 950.46 Loss on Drying (Moisture) in Meat isimli yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde gıdanın bileşimi ve uygun ekipmanların sağlanması koşuluyla B. Air Drying maddesinin a seçeneği uygulanmıştır. Nem tayini yapılabilmesi için kullanılacak olan kaplar 0,001 g duyarlılığındaki hassas terazi ile sabit tartıma getirilmiştir.

Macar Gulaş yemeğinden spatula ile yaklaşık 2 g ağırlığında örnek alınarak çapı ≥ 50 mm ve derinliği ≤ 40 mm olan cam kaplara konulmuştur. Örneklerle birlikte kapların ağırlıkları da 0,001 g duyarlılığındaki hassas terazide tartılarak kayıt altına alınmıştır.

Tartımları yapılan örnekler etüvde 100-102°C’de 16-18 saat bekletilmiştir. Sürenin bitiminde cam kaplar silika jel içeren desikatörün içine konularak soğuması sırasında nem çekmesi önlenmiştir.

Kaplar desikatörün içinde yaklaşık 20 dk bekletilerek soğuması sağlandıktan sonra 0,001 g duyarlılığındaki hassas terazi ile ağırlıkları ölçülmüştür. Son tartım ile ilk tartım arasındaki fark alınıp gıdanın başlangıçtaki ağırlığına bölündükten sonra 100 ile çarpılarak %nem tayini sonucu bulunmuştur (Eş. 3.1).

Eşitlik 3.1. Yüzde nem tayini

$$\% \text{ Nem} = \frac{(\text{Başlangıçtaki örnek+kap ağırlıkları}) - (\text{Son örnek+kap ağırlıkları})}{\text{Gıdanın başlangıçtaki ağırlığı}} \times 100$$

3.2.4. Verilerin istatistiksel analizi

Çalışmada verilerin istatistiksel değerlendirilmesi aşamasında SPSS 15.0 paket programı kullanılmıştır.

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde farklı depolama sürelerinde analizi yapılan parametrelerdeki değişim ANOVA testi sonucuna göre değerlendirilmiştir. Verilerdeki değişimin istatistiksel olarak anlamlılığı $p < 0,05$ düzeyine göre değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada, sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin mikrobiyolojik kalitesi 20 günlük depolama süresi boyunca değerlendirilmiş olup mikrobiyolojik kaliteyi etkileyen faktörlerden pişirme süresi, pişirme sıcaklığı, soğutma süresi, soğutma sıcaklığı, nem, pH gibi faktörlerdeki değişimler de değerlendirilmiştir.

4.1. Mikrobiyolojik Analizler

Başlangıç gününde ve 20. günde yapılan toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* analizlerinde mikroorganizma üremesi tespit edilememiştir. Ayrıca, beşer günlük periyotlarla yapılan diğer analizlerde mikroorganizma tespit edilememiştir (Çizelge 4.1). *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* PCR analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.1. Depolama süresi boyunca gözlemlenen mikrobiyal değişim (log kob/g)

Mikrobiyolojik Analizler	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20.gün
Toplam aerobik mezofilik bakteri	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
<i>Enterobacteriaceae</i>	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
<i>Salmonella</i> spp.	TE*				TE*
<i>Listeria monocytogenes</i>	TE*				TE*
<i>Clostridium perfringens</i>	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00

*TE: Tespit edilemedi.

Steriliteyi test etmek amacıyla yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Sterilite kontrolü için yapılan analizler (log kob/g)

Analiz Çeşitleri	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20.gün
PCA	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
VRBG-A	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
TSC-A	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
%0,1 peptonlu su	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
%70 etil alkol	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00

4.2. Nem Tayini

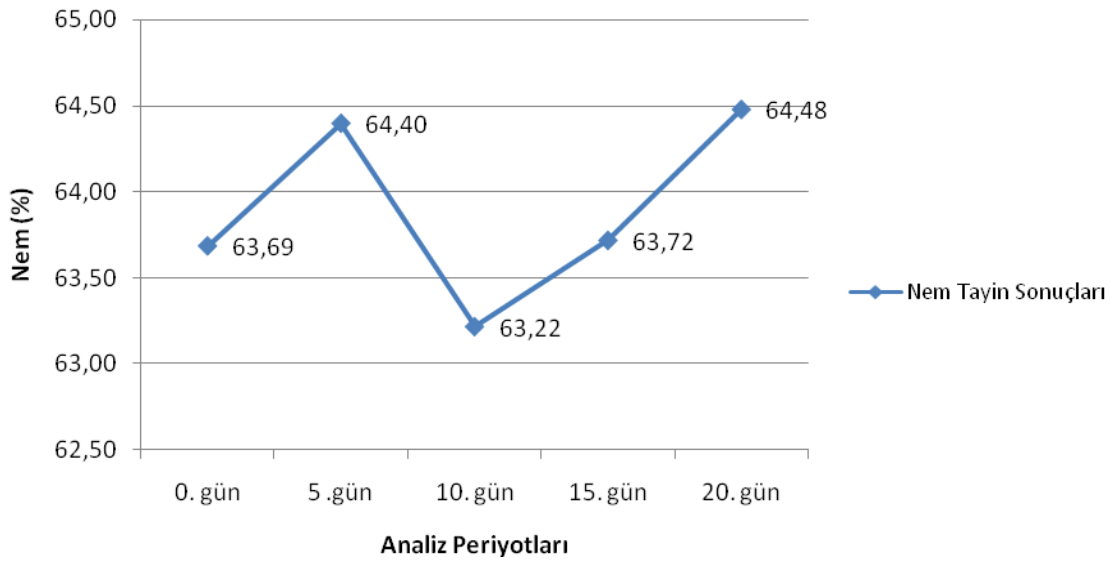
Mikroorganizma üremesini etkileyen iç faktörlerden birisi olan gıdanın nem içeriği analiz periyotlarından herbirinde üçlü paralelli olarak değerlendirilmiştir.

Nem tayini sonuçları paralel analiz yapılan örneklerin ortalaması alınarak Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Analiz periyotlarında nem tayin sonuçları (%)

Analiz Periyotları	Nem Tayin Sonuçları* ($\bar{x} \pm SS$)
0. gün	63,69±0,50
5 .gün	64,40±0,30
10. gün	63,22±0,10
15. gün	63,72±0,57
20. gün	64,48±0,23

*Nem tayin sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.1. Analiz periyotlarında nem tayin sonuçları grafiği

Nem tayin sonuçlarına bakıldığında sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin başlangıçtaki nem içeriğinin 2°C'de 5 günlük depolama işleminden sonra anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Aynı koşullarda 10 günlük depolama işleminden sonra yapılan nem tayini verilerine göre ise, sonuçların başlangıç gününe ve 5 günlük depolama sonrasına göre daha düşük olduğu ancak, bu değişimin önemli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Devam eden periyotlarda 15. günde, gıdanın nem içeriğindeki artışın anlamlı derecede olmadığı sonucuna ulaşılmıştır ($p>0,05$). Depolamanın son günü olan 20. günde yapılan nem tayininde ise aynı şekilde, gıdanın nem içeriğinde anlamlı düzeyde bir artışın olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

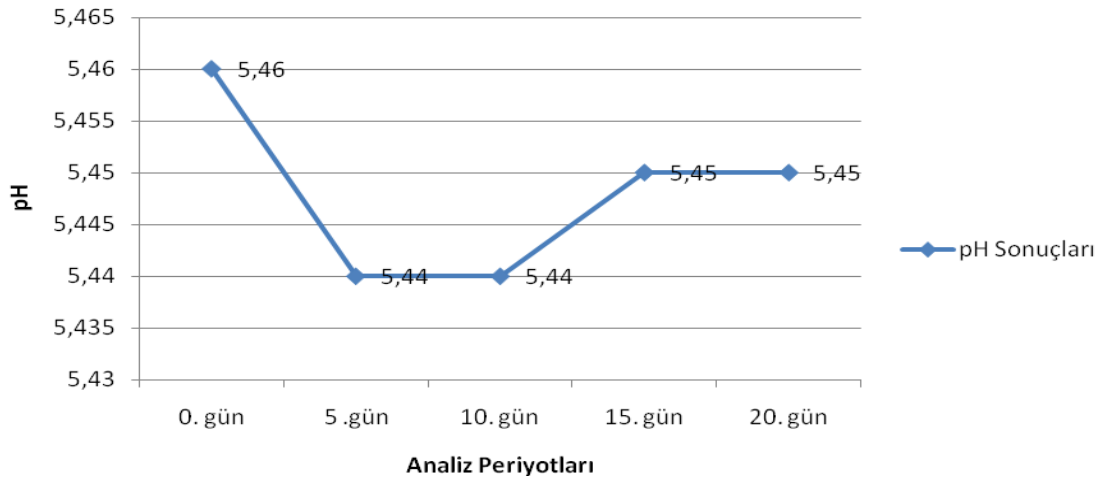
4.3. pH Ölçüm Sonuçları

Kaydedilen ölçüm sonuç ortalama ve standart sapma değerleri ($\bar{x} \pm SS$) Çizelge 4.4'te verilmiştir. Ölçümlerin yapıldığı analiz periyotlarında elde edilen pH sonuçlarındaki değişim ise Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Analiz periyotlarında pH sonuç değerleri

Analiz Periyotları	pH Sonuçları* ($\bar{x} \pm SS$)
0. gün	5,46 $\pm$ 0,01
5 .gün	5,44 $\pm$ 0,01
10. gün	5,44 $\pm$ 0,01
15. gün	5,45 $\pm$ 0,02
20. gün	5,45 $\pm$ 0,01

*pH ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.2. Analiz periyotlarında pH değerleri grafiği

Yapılan ölçümler sonucunda pH değerinin 5. günde azalma gösterdiği saptanmıştır ($p > 0,05$). Devam eden periyotlarda yapılan ölçümlerde 10. ve 15. günlerde pH sonuçlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Depolamanın 20. gününde belirlenen pH değerinde anlamlı bir değişimin olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$).

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin farklı depolama sürelerinde toplam bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, nem ve pH ölçümleri izelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Macar Gulaş yemeğinde farklı depolama sürelerinde yapılan analiz sonuçları

Yapılan Analizler	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün
Nem (%)	63,69±0,50	64,40±0,30	63,22±0,10	63,72±0,57	64,48±0,23
pH	5,46±0,01	5,44±0,01	5,44±0,01	5,45±0,02	5,45±0,01
Toplam aerobik mezofilik bakteri (log kob/g)	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
<i>Enterobacteriaceae</i> (log kob/g)	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00
<i>Salmonella</i> spp.	TE*	-	-	-	TE*
<i>Listeria monocytogenes</i>	TE*	-	-	-	TE*
<i>Clostridium perfringens</i> (log kob/g)	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00	<1±0,00

*BAX sistemle yapılan analizde tespit edilemedi.

Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğini 2°C’de 20 gün depolama ile mikroorganizma yükünde değişim saptanmamıştır. Gıdaya uygulanan pastörizasyon işlemi sonucu 2°C’de 20 gün depolama sonrası mikrobiyal kalitenin korunduğu belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada uygulanan ısı işlem sonucu gıdanın nem içeriğinin $\%63,69 \pm 0,50$ olduğu saptanmıştır. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemeklerde paket içinde uygulanan pişirme işleminin, nem kaybını önleyerek lezzete olumlu katkı sağlayacağı beklentisi göz önünde bulundurulduğunda gıdanın nem içeriği ve depolama süresi boyunca nem içeriğinde görülen değişim önem taşımaktadır. Bu çalışmada sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde depolama süresi boyunca beşer günlük periyotlarla yapılan analizlerde, gıdanın nem içeriğinde önemli düzeyde bir değişimin olmadığı saptanmıştır. Ayrıca çalışma periyotları boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri saptanmamıştır. Bu bulgunun elde edilmesinde özellikle pişirme ve depolama işlemlerinin vakum paket içerisinde yapılmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada varılan sonuçla benzer şekilde birçok kaynakta sous vide tekniğiyle üretimin geleneksel yöntemle göre en büyük avantajının vakum pakette pişirilmesi-depolanması ve pastörizasyon işlemi uygulanması olduğu bildirilmiştir. Vakum paketlemenin, aerobik bakteri üremesini ve depolama sırasında istenmeyen aromaya sebep olan oksidatif ransiditeyi engellediği belirtilmektedir [6, 46, 78]. Ayrıca pişirme işlemi ambalaj içinde gerçekleştirildiği için aroma verici bileşenlerin kaybı engellenirken nem kaybı da önlenmektedir. Özellikle etin nem içeriğinin korunması ise pastörizasyon işlemi sırasında kollajenin jelatine dönüşümünü arttırarak et hassasiyetinin artmasını sağlamaktadır [117].

Bu çalışmada sous vide tekniğiyle pişirilmiş Macar Gulaş yemeği depolama süresi 20 güne çıktığında bile mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinde bir değişim gözlemlenmemiştir. Pişirilen ürün ve pişirme tekniğiyle bu çalışmaya benzerlik gösteren bir başka çalışmada da sous vide tekniği kullanılarak pişirilen dana etiyle, geleneksel yöntemle pişirilmiş dana etinin duyu ve mikrobiyolojik özellikleri karşılaştırılmış ve sous vide tekniğiyle pişirilen dana etinin duyu ve mikrobiyolojik kalitesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada, geleneksel yöntemle dana etinin ve sous vide tekniğiyle pişirilen dana etinin 3°C ve 10°C’de depolama süreleri karşılaştırıldığında sous vide tekniğinde depolama süresinin 12 güne kadar çıkabildiği için kullanılmasının daha avantajlı olduğu belirtilmiştir [93].

Başka bir kaynağa göre, sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdaların hiçbir kontrol önlemi alınmadan $\leq 8^{\circ}\text{C}$ 'de ≤ 10 gün boyunca depolanabileceği vurgulanmaktadır [94]. Mevcut rehberlerde bildirilen su aktivitesi, pH, pastörizasyon sıcaklık-süre kombinasyonu gibi farklı kontrol önlemlerinin uygulanması aynı yemek için bile tarifieden tarife, kullanılan malzemelerin değişimiyle farklılık göstermektedir [6, 118]. Yukarıda belirtilen kontrol önlemleri sağlanmamış olmakla birlikte, bu çalışmada elde edilen mikrobiyolojik açıdan olumlu sonuçlar, uygun sous vide tekniği ile üretilen ürünlerdeki depolama süresinin 10 günün de üzerinde olabileceğini göstermektedir.

Çalışmada, 2°C 'de 20 günlük depolama süresi boyunca analiz yapılan *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. ve toplam aerobik mezofilik bakteri tespit edilmemiştir. Bu çalışmayla benzer şekilde başka bir araştırmada, sous vide tekniğiyle pişirilen sığır etine 75°C 'de 443 dakika ve 85°C 'de 88 dakika su banyosunda pastörizasyon işlemi uygulanmış, 2°C ve 10°C 'de 35 gün boyunca depolanmıştır. Araştırma sonucunda, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, total koliform ve toplam aerobik mezofilik bakteri üremesine rastlanmamıştır. Ayrıca fizikokimyasal özellikleri incelendiğinde, su aktivitesi ve pH değerlerinde önemli düzeyde bir değişim olmadığı tespit edilmiştir [6].

Çalışma sonuçlarına göre 2°C 'de 20 gün depolanan üründe depolama süresi boyunca sporlu bir mikroorganizma olan *Clostridium perfringens* varlığına rastlanmamıştır. Sous vide tekniğiyle üretilmiş yemekler için sporlu mikroorganizmaların temel endişe kaynağı olduğu vurgulanmaktadır [88]. Sporlu mikroorganizmalardan birisi olan psikrotrofil *Clostridium botulinum* suşunun gıdada üremesinin farklı sebeplere bağlı olarak devam ettiği, bunlardan birisinin, vakum paketli ürünlerde fakültatif aerobik ve anaerobik mikroorganizmaların üreyebilmesi olduğu ve minimal ısı işlem uygulaması olan 70°C 'de 2 dakika yapılan pişirme işlemi ile gıdada vejetatif mikroorganizmalar elimine edilirken sporlu mikroorganizmaların üremeye devam ettiği bildirilmiştir [53]. Dolayısıyla vakum paketlenme işlemi aerobik mikroorganizma üremesi için engel oluştursa da, anerobik mikroorganizmalar üremeye devam edeceği için soğuk depolama sıcaklığının kontrol altında tutulması önemlidir [119]. Çalışmada 90°C 'de 1 saat 30 dakika boyunca buhar fırınlarında yapılan pastörizasyon işlemi sonrasında sporlu bir mikroorganizma olan *Clostridium perfringens* tespit edilmemiştir. Uygulanan ısı işlemin, ürünün üretim

koşulları hijyenitesinin yeterliliğinin ve her aşamada uygulanan HACCP sisteminin bu sonucun sağlanmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

Yapılan birçok çalışmada, sous vide tekniğiyle üretilen gıdaların depolama sürelerinin belirlenmesinde duysal ve mikrobiyolojik kalitenin saptanmasının önemi vurgulanmaktadır [47, 93, 120, 121]. Bu çalışmada sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeğinin depolama süresinin tespit edilmesinde mikrobiyolojik kalite değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışmada Macar Gulaş yemeğine uygulanan 90°C’de 1 saat 30 dakika pişirme işleminin ve 2°C’de depolamanın ürünün mikrobiyolojik kalitesinin 20 gün boyunca korunmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Sous vide tekniğiyle üretilen domuz köftesine iç sıcaklığı 62°C ve 76°C’ye ulaşana kadar ısıtıl işlem uygulandıktan sonra 1°C’de 1, 2 ve 3 hafta depolanarak mikrobiyolojik kalitede meydana gelen değişimlerin araştırıldığı bir çalışma sonucunda 76°C ısıtıl işlem uygulanan domuz etinin 3 hafta boyunca soğuk depolama sonrasında tüketim için mikrobiyolojik açıdan risk oluşturmadığı ancak, 62°C’nin altında ısıtıl işlem uygulamasıyla 3 hafta soğuk depolanan domuz etinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının kabul edilebilir limitlerin üzerine çıktığı saptanmıştır [120].

Bir başka çalışmada, sous vide tekniğiyle fırında 80°C’de 45 dakika pastörizasyon işlemi uygulanan somon balıklarında, 2°C’de 10 haftalık depolama süresi boyunca duysal, mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal kalitede meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışmada, 10 haftalık depolama süresi boyunca toplam aerobik ve anaerobik psikrotrof, laktik asit bakterileri, maya-küf ve *Enterobacteriaceae* üremesinde önemli düzeyde bir değişim olmadığı rapor edilmiştir. Ayrıca, fiziko-kimyasal özelliklerde de stabilizasyon sağlandığı belirtilmiştir. Ancak, 10 haftalık depolama süresinin sonunda duysal kalitesinin önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçta, sous vide tekniğiyle üretilmiş ürünlerde mikrobiyal kalite yönünden stabilitenin sağlandığı ancak, duysal kalitenin değiştiği ve depolama süresinin belirlenmesi çalışmalarında duysal analizin yapılmasının gerekli olduğu ifade edilmiştir [12]. Sous vide tekniğiyle pişirilen mezgıt balığının depolama süresinin araştırıldığı bir başka çalışmada da, depolama süresini belirleyici faktörlerden en önemlisinin duysal analiz sonuçları olduğu ve mikrobiyolojik kalitenin 70°C’de 10 dakika pişirme ve 4°C’de depolamayla 35 gün stabil olduğu saptanmıştır [9].

Yapılan başka bir çalışmada, bolonez et sosu ve baharatlı tavuk yemeği sous vide üretim tekniğiyle pişirilerek sırasıyla 70°C’de 900 dakika ve 90°C’de 45 dakika su banyosunda ısıtılma işlemine tabi tutulmuştur. Sous vide tekniğiyle hazırlanan yemekler 1,5°C’lik soğuk depolarda 40 gün boyunca depolanarak duyusal kalitedeki değişim araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, sous vide tekniğiyle üretilen bolonez et sosu ve baharatlı tavuk yemeklerinin 1,5°C’de 40 gün depolama boyunca duyusal kalitesinin korunduğu belirtilmiştir [47]. Sous vide tekniğiyle üretilen tavuk ve patates yemeklerine uygulanan ısıtılma işleminin duyusal kaliteye etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada 70°C’de 2 dakika, 80°C’de 10 dakika ve 80°C’de 30 dakika olmak üzere buhar fırınlarında uygulanan 3 farklı ısıtılma işlemi kombinasyonu araştırılmıştır. Her iki yemekte de 80°C’deki ısıtılma işlemi uygulamalarının diğer ısıtılma işlem uygulamalarıyla karşılaştırıldığında lezzetin daha iyi olduğu ve yemeklerin lezzetli olmalarının nem korunumuyla anlamlı düzeyde ilişkisi olduğu sonuçlarına varılmıştır [8]. Bu çalışmada, Macar Gulaş yemeği 90°C’ye ayarlanmış buhar fırınlarında 1 saat 30 dakika süreyle pişirilmiş ve sürenin sonunda ürünün iç sıcaklığının 83°C’ye ulaştığı tespit edilerek pastörizasyon işlemi tamamlanmıştır. Analiz periyotlarında mikroorganizma tespit edilememesi, uygulanan pastörizasyon işleminin mikrobiyolojik kaliteyi sağlamada etkinliğinin göstergelerinden birisidir.

Et ve et ürünlerinde depolama sürelerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda ürünün depolama süresince gıdada üremesi muhtemel ve bozulmaya yol açan mikroorganizmaların tespitinin de önemli olduğu bildirilmektedir. Buzdolabı sıcaklığında depolanan sığır eti ve domuz etinde bozulmaya yol açan mikroorganizmalardan bazıları *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp.’dir. Bu mikroorganizmalar ette istenmeyen aroma, tat, renk değişimi ve gaz oluşumuna neden olmakta [122] ve bu mikroorganizmaların üremesini etkileyen çevresel faktörlerin belirlenmesi ve önlemlerin bu faktörlere yönelik alınması önem taşımaktadır [75]. Bu çalışmada da, depolama süresi boyunca Macar Gulaş yemeğinde bozulmaya sebep olan faktörlerden pH ölçümü ve nem tayini yapılmıştır. Yapılan fizikokimyasal ölçümlerin sonucunda stabilitenin korunduğu ve bu durumun mikrobiyolojik kalitenin korunumunda da etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Dana etine *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae* inoküle edilerek 20 gün boyunca 4°C’de depolama sırasında mikroorganizma düzeyinde tespit edilen değişimlerin araştırıldığı bir çalışmada, vakum paketlenme yöntemiyle bu

bakterilerde önemli düzeyde azalma sağlandığı ancak laktik asit bakterilerinin etkilenmediği tespit edilmiştir [123]. Bu faktörlerin dışında gıdada mikrobiyal üremenin ve depolama süresinin araştırıldığı çalışmalarda gıdanın kimyasal ve biyokimyasal içeriğinin mikroorganizma üremesini etkileyeceğinden dolayı araştırılmasının gerekliliği de belirtilmektedir [40, 111, 124-126].

Piştirme işlemi sırasında süre-sıcaklık uygulamasının takibinin önemli olduğu kadar soğutma işlemi sırasında süre-sıcaklık takibinin de son derece önemli olduğu ve soğutma işlemi sırasında süre-sıcaklık takibinin yapılmaması sonucu psikrofilik patojenlerin soğuk depolama sırasında gıdada üremeye devam ederek tehdit oluşturduğu bildirilmiştir. Özellikle 5°C’de üremeye devam eden *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica*, enterotoksijenik *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes*’in sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalara uygun olmayan soğutma ve soğuk depolama işlemlerinin yapılması sonucu gıdada üremeye devam ettiği bilinmektedir [48]. Bu çalışmada, buzdolabı sıcaklığına dirençli bir mikroorganizma olan *Listeria monocytogenes* üremesi, 2°C’de 20 gün depolanan Macar Gulaş yemeğinde tespit edilmemiştir. Çalışmada, uygulanan depolama sıcaklığının ve pastörizasyon süre-sıcaklık kombinasyonlarının HACCP sistemi ile kayıt altına alınması ve tüm kontaminasyon kaynaklarının kontrol altına alınmasının sonucu desteklediği düşünülmektedir.

Sous vide tekniğinin en önemli basamağının pastörizasyon olduğu için fırınların istenen sıcaklığa ulaşma sürelerinin kontrol edilmesinin önemli olduğu bildirilmiştir [103]. Fırına sous vide tekniğiyle üretilmiş ürünlerin paketlerinin yerleştirilme düzenlerinin, fırınların doluluk oranına göre istenen sıcaklığa ulaşma süresindeki değişimlerin tespit edilmesinin ve sous vide tekniğini uygulayan kurumların sıcaklık takip sistemlerinin bulunmasının önemine dikkat çekilmiştir [127]. Araştırmada, pastörizasyon amacıyla buhar fırınları kullanılmış, fırın sıcaklığı ve ürün iç sıcaklığı probe termometre ile takip edilerek kayıt altına alınmıştır. Ürünün iç sıcaklığının 1 saat 30 dakika içinde 83°C’ye ulaştığı ve mikrobiyolojik kalitenin korunmasında, pastörizasyon işleminin yeterli olduğu tespit edilmiştir.

Sous vide tekniğiyle üretilen gıdaların depolama süresinin bu çalışmayla benzer şekilde 20 günün üzerinde olabileceğine yönelik pek çok çalışma bulunmaktadır [127-131]. Nyati’nin

yaptığı bir çalışmada [60] dana, kuzu, sığır, tavuk ve domuz eti gibi birçok et çeşidine sous vide tekniği uygulamasından sonra 3°C ve 8°C’de 5 haftaya kadar varan depolama sürelerinde görülen mikrobiyal ve organoleptik özelliklerdeki değişim araştırılmıştır. Çalışmada, 3°C’de depolanan ürünlerde mikrobiyal kalitenin ve organoleptik kalitenin korunduğu sonucuna varılmış olup, 3°C’de 4 hafta depolama sonunda hemen hemen bütün ürünlerde toplam bakteri sayısının yaklaşık 7×10^3 kob/g olduğu ve *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* ve *Enterobacteriaceae* üremesinin depolama süresi boyunca tespit edilmediği belirtilmiştir. Çalışmada, 2°C’de 20 günlük depolama süresi boyunca sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde toplam aerobik mezofilik bakteri, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, ve *Enterobacteriaceae* tespit edilmemiştir. Ürünün kontrol altında tutulan depolama sıcaklığının bu mikroorganizmaların inhibisyonunda etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada, pastörizasyon işlemi öncesindeki ve soğuk depolara yerleştirme aşamasındaki tüm basamaklarda sıcaklık kontrolü yapılarak kayıt altına alınmış, ortam sıcaklığının yükselmemesi sağlanarak ürünün iç sıcaklığının 7°C’nin üzerine çıkması önlenmiştir. Böylece olası sıcaklık değişimlerinin ürünün depolama süresi tespitinde yanıltıcı sonuçlara sebebiyet vermesi engellenmiştir. Çalışmada uygulanan bu sıcaklık takip sisteminin önemini açıklayan bir kaynakta sous vide tekniğiyle üretimde porsiyonlama, paketlenme, etiketlenme ve vakum ambalajlama gibi birçok işlem basamağı bulunduğu ve her basamakta gıdada sıcaklık değişimleri meydana geldiği bilinmektedir. Her basamakta gıdanın iç sıcaklığı ölçülerek 10°C’nin üzerine çıkmasının engellenmesi gerektiği belirtilmiştir [48].

Bu çalışmayla benzer şekilde sous vide tekniğiyle pişirilecek ürüne ön pişirme işleminin uygulandığı Topal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [132], sous vide tekniğiyle üretilmiş Türk geleneksel yemeklerinden birisi olan çoban kavurma yemeğinde, depolama süresi boyunca meydana gelen duyuşal, mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal değişimler araştırılmıştır. Çalışmada, dana eti, kuru soğan, ayçiçek yağı, kekik, karabiber ve tuz kullanılarak hazırlanan çoban kavurma yemeği, buharlı kazanda 111°C’de 50 dakika süreyle pişirilmiştir. Pişirme işleminden sonra vakum ambalajlama ve 85°C’de 30 dakika pastörizasyon işlemi uygulanmıştır. Pastörizasyon işleminden sonra vakum paketli ürünler buzlu su küvetlerine alınarak 51,5 dakikada iç sıcaklıklarının 10°C’ye düşmesi

sağlanmıştır. Analiz periyotlarına kadar 4°C'deki soğuk depolara yerleştirilen ürünle duyuusal analiz öncesinde sıcak su banyosunda 70°C'de 10 dakika süreyle ısıtılarak teste hazır hale getirilmiştir. Toplam bakteri, koliform, *Bacillus* spp., maya-küf, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Listeria* spp. düzeylerinin 63 günlük depolama süresi boyunca araştırıldığı bu çalışmada 42 gün boyunca ürün kalitesinde stabilitenin sağlandığı ve 63 güne kadar olan depolama süresinde önemli olmayan düzeyde değişimler olduğu saptanmıştır.

Sebastia ve arkadaşlarının [4] kaz ciğeri, domuz eti, tavuk ve balık eti sous vide tekniğiyle pişirildikten sonra 30 gün boyunca 3°C'de depolanarak mikrobiyolojik kalitesinde meydana gelen değişimleri araştırdığı bir çalışmada, gıdaların analiz periyotlarının (başlangıç, 15. ve 30. gün) hiçbirinde bu çalışmayla benzer şekilde *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* varlığına rastlanmamıştır.

Uygulanan ısıl işlemin ve depolama sıcaklığının ürünün mikrobiyolojik kalitesinin korunmasında etkili olduğu aşikardır. Çalışmada sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeğinde mikrobiyolojik kalitenin en az 20 gün süresince korunabileceği sonucuna varılmıştır. Sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin araştırıldığı bir çalışmada ticari olarak satışa sunulan 2168 gıda dahil edilmiştir. Bu çalışmadaki depolama sıcaklığından daha yüksek bir depolama sıcaklığının uygulandığının bir araştırmada, sous vide tekniğiyle üretilmiş olan gıdalar depolama sürelerinin 1/3'lük periyodunda 4°C'de, 2/3'lük periyodunda ise 7°C'de depolanmıştır. Gıdaların 3/4'lük kısmında üretimden sonra 10 bakteri/gram'dan az mikroorganizma içerdiği tespit edilirken, depolama süresi boyunca da bu bakteri sayısında önemli düzeyde değişim saptanmamıştır. Çalışmanın sonucunda sous vide tekniğiyle üretilen gıdaların uygun koşullarda ve sıcaklıklarda depolandığı sürece sağlık açısından risk oluşturmadığı belirtilmiştir [14]. Başka bir çalışmada, gökkuşağı alabalıklarına farklı sıcaklık-süre kombinasyonlarıyla uygulanan sous vide pişirme tekniğinin farklı sıcaklıklarda depolama işlemiyle birlikte ürün mikrobiyolojik ve duyuusal kalitesine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada yer alan ısıl işlem kombinasyonları 90°C'de 3,3 dakika, 90°C'de 1,04 dakika ve 70°C'de 5,18 dakika olmak üzere fırınlarda uygulanmıştır. Sous vide tekniğiyle üretilen ürünler 2°C ve 10°C'deki depolarda 45 gün boyunca depolanarak mikrobiyolojik ve duyuusal kalite

araştırılmıştır. Sous vide tekniğiyle üretilen 2°C’de depolanan ürünlerde mezofil ve psikrofil bakteri üremesinin depolama süresi boyunca çok düşük olduğu, ayrıca bakteri sayılarının uygulanan ısı işlem sıcaklık ve süresinin artmasıyla azaldığı tespit edilmiştir. Ürünlerin hiçbirinde 45 gün boyunca depolama periyodunda *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ve *Listeria monocytogenes* saptanamamıştır. Çalışmanın sonucunda 90°C’de 3,3 dakikalık ısı işlem uygulamasının sous vide tekniğiyle üretilen alabalıkta mikrobiyal ve duyuşsal kaliteyi 45 gün boyunca koruyan bir yöntem olduğu bildirilmiştir [95]. Bu çalışmada da benzer şekilde sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeğine 90°C’de pasörizasyon işlemi uygulandıktan sonra soğutma prosesinin ardından ürünler, 2°C’de depolanmıştır. Uygulanan pastörizasyon işlemi ve depolama sıcaklıklarının mikrobiyolojik kalitenin korunmasında tercih edilebileceği sonucuna varılmıştır.

Depolama süresini arttırmaya yönelik yapılan çalışmalardan birinde sous vide tekniğiyle üretilmiş dana etine sake ve/veya sirke eklemesi yapılarak mikrobiyolojik ve duyuşsal kaliteye etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, sirke ve düşük alkollü bir içki olan sakenin birlikte eklendiği ürün grubunda mikrobiyal kalitenin 8°C ve 20°C depolama sıcaklıklarında korunduğu ancak duyuşsal kalitesinin olumsuz yönde etkilendiği saptanmıştır [121]. Sous vide tekniğiyle üretilen geleneksel dana eti yemeğinde vakum paketlere nisin ilavesinin 4°C ve 25°C’de 60 gün boyunca depolama süresine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, nisin ilave edilmeyen paketlerde depolama süresi boyunca mezofilik mikroorganizma sayısının artış gösterdiği, nisin eklemesi yapılan paketlerde ise mikroorganizma sayısında önemli derecede bir artışın olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada, nisin ilave edilmiş ve edilmemiş paketlerin hiçbirinde *Clostridium perfringens* tespit edilmemiştir [133]. Çetinkaya, sous vide tekniğiyle üretilmiş gökkuşığı alabalıkları vakum paketlerine adaçayı, biberiye ve kekik eklemesinin soğuk depolama sırasında kalite özelliklerine etkisini araştırmıştır. Çalışmada, antioksidan özellik gösteren bitkilerin vakum paketli pişirme yöntemiyle pişirilecek alabalıklarda kullanılmasının kalitede olumsuz değişimi önleyebileceği sonucuna varılmıştır [56]. Bu çalışmada kullanılan dana but kuşbaşı etler marınasyon prosesinden geçirilmemiştir. Prosese eklenebilecek marınasyon işleminin, kullanılan malzemelerin olası etkileri nedeniyle ürünün mikrobiyolojik ve duyuşsal kalitesini geliştirebileceği düşünülmektedir.

Sous vide tekniği ülkelere, restoranlara ve Şeflere göre uygulama farklılıkları göstermektedir. Örneğin; sous vide tekniği tanımlamasında pastörizasyon işleminden önce pişirme prosesi bulunmamaktadır. Ancak pastörizasyon işlemi öncesinde ağartma (blanching), mühürleme gibi yarı pişirme işlemlerinin uygulanabileceği ve sonrasında yapılan vakum paketleme prosesini takiben pastörizasyon işleminde sous vide tekniğinin tamamlanacağı da belirtilmektedir [14]. Topal ve arkadaşlarının [132] yaptıkları araştırmada da bu çalışmaya benzer Şekilde pastörizasyon işlemi öncesinde ürüne pişirme işlemi uygulanmıştır. Sous vide üretim tekniğinde pastörizasyon işlemi öncesinde pişirme işlemi yapılması gıdanın güvenilirliğini arttırmakla birlikte toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda iş yükünü arttırabilmektedir. Türkiye’de sous vide tekniğiyle üretilmiş gıdalara yönelik spesifik bir rehber bulunmamakla birlikte pratikte yapılan bu n pişirme işlemini gıda güvenliğini sağlamada daha emin bir yol olması nedeniyle tercih edilebilir.

Yeniden ısıtma işlemi de gıdanın bekletildiği aŐamalardan birisidir. Sous vide tekniğiyle üretildikten sonra soğuk depolara kaldırılarak depolanmış gıdayı yeniden ısıtma aşaması için bekletme süresinin 30 dakikayı geçmemesi gerektiği bildirilmiŐtır. Yeniden ısıtma işlemi sırasında gıdanın i sıcaklığının en az 75°C’ye ulaşması gerektiği ve bu sıcaklığa ulaŐtıktan sonra tüketicinin önüne mümkün olduğu kadar hızlı ulaŐtırılması gerektiği belirtilirken bu aşamada gıdanın i sıcaklığının 65°C’nin altına düŐmesinin önlenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Yeniden ısıtma işlemi uygulanmış sous vide tekniğiyle üretilmiş olan gıda tüketilmeyecekse tekrar yeniden ısıtma işlemi uygulanamayacağı veya yeniden depolanamayacağı bildirilmiŐtır [134]. Çalışmada, sadece depolama süresince üründe meydana gelen mikrobiyolojik değişimler dikkate alınmıştır. Sous vide üretim tekniği kullanılarak hazırlanan yemeklerde son ürün kalitesinin değerlendirilmesinde yeniden ısıtma prosesinde meydana gelebilecek mikrobiyolojik ve duysal kalite değişimlerinin göz önünde bulundurulması da bu teknik ile üretilen ürünlerin genel kalitesinin değerlendirilmesi açısından yararlı olacaktır.

Sous vide tekniğiyle üretilen gıdaların vakum paketlerde depolandığı, vakum paketleme işleminin etkin ve kontrollü yapılması gerektiği ve depolama aşamasında kontaminasyon riskinin bertaraf edilmesi gerektiği birçok kaynakta belirtilmiŐtır. Bu zelliklerin sağlanabilmesi için ise ısıtma, soğutma ve yeniden ısıtma iŐlemlerinde sıcaklığa dayanıklı, oksijen ve nem geçirgenliği en aza indirilmiş, gıdayla temasa uygun olarak seçilmiş bir

ambalaja ihtiyaç duyulmaktadır [48]. Gıdaya ve uygulanacak işlem basamaklarına uygun seçilmiş bir ambalaj malzemesiyle mikroorganizmaların paket içine proliferasyonu önlenirken aroma verici bileşenlerin korunumu sağlanıp besin öğesi kayıpları ise en aza indirilmektedir. Böylece hem gıda güvenliği hem de duyusal kalite korunumu sağlanmaktadır [98, 135]. Çalışmada, sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeğinin porsiyonlanarak paketlenmesi aşamasında kullanılacak ambalaj malzemesi özel bir firmadan (Pal Plastik Ambalaj Sanayi ve Ticaret) temin edilmiştir. Ambalaj malzemesinin (poliamid polietilen-pape) O₂ geçirgenliği 25 cc/m²/gün (24°C), sıcaklık dayanımı - 25/105°C, toplam kalınlık 150 mikron, nem geçirgenliği 6 g/m²/gün'dür. Yapılan analizlerde belirtilen ambalaj malzemesi içinde üretilen ürünün mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinde 20 gün boyunca stabilite sağlanmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, farklı avantajları sebebiyle gün geçtikçe popülerlik kazanan pişirme tekniklerinden birisi olan sous vide tekniğinin geleneksel türk yemeklerinden birisi olan Macar Gulaş yemeğine uygulanması sonucu depolama süresi boyunca üründe gözlemlenen mikrobiyolojik değişimleri tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

- Başlangıç gününde sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin pH'sının yapılan direkt ölçüm sonucunda $5,46 \pm 0,01$ olduğu tespit edilmiştir.
- Beşinci gün analizinde ürünün pH'sının yapılan direkt ölçüm sonucunda $5,44 \pm 0,01$ olduğu saptanmış olup başlangıç gününe göre pH'da belirlenen azalmanın önemli düzeyde olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).
- Onuncu gün analizinde ürünün pH'sı $5,44 \pm 0,01$ olarak ölçülmüştür. Önceki analiz periyotlarıyla karşılaştırıldığında ürünün pH'sında önemli bir değişimin olmadığı saptanmıştır.
- On beşinci gün analiz periyodunda ürünün pH'sı $5,45 \pm 0,02$ olarak ölçülmüştür. Bu ölçüm, diğer analiz periyotlarında yapılan ölçümlerle karşılaştırıldığında önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.
- Son analiz periyodu olan 20.günde ürünün pH'sı $5,45 \pm 0,01$ olarak belirlenmiş ve diğer ölçümlerle karşılaştırıldığında önemli düzeyde değişiklik olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).
- Başlangıç gününde yapılan nem tayini sonucunda sous vide tekniğiyle üretilen Macar Gulaş yemeğinin nem içeriğinin $\%63,69 \pm 0,50$ olduğu saptanmıştır.
- Beşinci gün periyodunda yapılan nem tayini sonucunda sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinin nem içeriği $\%64,40 \pm 0,30$ olarak belirlenmiştir. Başlangıç gününe göre nem içeriğinde gözlemlenen değişimin önemli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).
- Onuncu gün analiz periyodunda nem tayini sonucu $\%63,22 \pm 0,10$ olarak bulunmuştur. Nem içeriğinde önceki analiz periyoduna göre önemli olmayan düzeyde düşme saptanmıştır ($p > 0,05$).

- On beşinci gün analiz periyodunda ürünün nem içeriği $63,72 \pm 0,57$ olarak belirlenmiştir. Nem tayin sonucunda bir önceki analiz periyoduna göre önemli düzeyde bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).
- Yirminci günde ürünün nem içeriği $64,48 \pm 0,23$ olarak bulunmuştur. Diğer analiz periyotlarıyla karşılaştırıldığında nem içeriğinde önemli olmayan düzeyde bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p > 0,05$).
- Çalışma boyunca yapılan analizlerde nem stabilitesinin korunduğu sonucuna varılmıştır.
- Başlangıç gününde yapılan mikrobiyolojik analizlerde üründe toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* tespit edilmemiştir.
- Takip eden periyotlarda depolamanın 5, 10 ve 15. gün analizlerinde üründe toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium perfringens* saptanmamıştır.
- Yirminci gün analizleri İstanbul Turkish DO&CO Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda araştırmacı tarafından önceki periyotlarda kullanılan analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Son analiz periyodu olan 20. gün analizinde sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğinde toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* tespit edilmemiştir.
- Sous vide tekniğiyle üretilmiş Macar Gulaş yemeğine sırasıyla ön pişirme, soğutma, pastörizasyon ve soğutma aşamalarında çalışmadaki sıcaklık-süre kombinasyonları uygulandığında 2°C'de 20 gün depolamayla mikrobiyolojik kalitesinde olumsuz bir değişimin olmadığı belirlenmiştir.

Çalışma verilerine dayanılarak tekniğin sağlayacağı muhtemel yararlar ve geliştirilen öneriler aşağıda özetlenmiştir.

- Farklı tarifelerde farklı pastörizasyon ve soğuk depolama süre-sıcaklık kombinasyonlarının uygulanmasının ürün kalitesine etkilerinin değerlendirildiği daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu araştırmaların yapılmasıyla, ileride sous vide tekniğine yönelik standartların geliştirilmesi ve Türkiye'ye özgü bir

rehber oluşturularak sistemin toplu beslenme hizmetlerinde yaygınlaştırılması sağlanmalıdır.

- Sous vide tekniği kullanılarak üretilen yemeklerin kullanımının yaygınlaştırılması, mikrobiyolojik açıdan güvenli olması sebebiyle gıda kaynaklı hastalıkların görülmesini engileyebileceği için toplu beslenme sistemlerinde avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.
- Paketlerde yer alan ürünün miktarı ve doğranış özellikleri ısıtma işlem etkinliğini değiştirebilmektedir. Sous vide tekniğinin özellikle et yemeklerinden büyük parça et yemekleri yerine küçük parça et yemeklerine uygulanmasının daha uygun olacağı önerilmektedir.
- Sous vide tekniğiyle üretilen yemeklerde gıda güvenliğinin sağlandığından emin olabilmek için işlem basamaklarının her birinde HACCP gerekliliklerinin sağlanması zorunludur. Özellikle toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda HACCP sistemi gereğince gerekli kayıtların tutulması ve denetimlerin yapılmasına önem verilmelidir.
- Sous vide tekniğiyle üretilen ürünlere yönelik rehber Türkiye’de bulunmamaktadır. Dolayısıyla pastörizasyon işlemi için seçilecek olan süre-sıcaklık kombinasyonları geleneksel yöntemle pişirilen gıdalar için uygulanan kriterlerden farklı olmamak koşuluyla uluslararası öneriler göz önünde bulundurularak seçilmelidir. Türkiye’de mevcut rehberler göz önünde bulundurulduğunda sous vide tekniğiyle üretilen gıdanın pastörizasyon işleminin buhar fırınlarında ve en az geleneksel yöntemle pişirilen gıdaya uygulanan süre-sıcaklık kombinasyonu ile yapılması önerilebilir.
- Gıdada mikrobiyal kaliteyi olduğu kadar duyu kaliteyi de etkileyen özelliklerden olan ürünün tuz içeriği, asitlik derecesi, su aktivitesi, besin ögesi içeriklerinin bundan sonraki yapılacak çalışmalarda değerlendirilmesi önerilmektedir.
- Sous vide tekniğiyle üretilen ürünlerin depolama süresinin belirlenmesi amacıyla planlanacak araştırmalarda duyu kriterlerinde meydana gelen değişimlerin de incelenmesi de güncel ve uygulanabilir bilimsel veri açısından önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Diaz, P., Nieto, G., Banon, S., and Garrido, M. D. (2009). Determination of shelf life of sous vide salmon (*Salmo salar*) based on sensory attributes. *Journal of Food Science*, 74(8), 371-376.
2. Tayfur, M. (2009). *Gıda hijyeni, gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve zehirlenmeler*. 2009, Ankara: Kuban Matbaacılık Yayıncılık, 9-15.
3. Topal, Ş. *Gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemleri*. (1996). Gebze-Kocaeli: TÜBİTAK-Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, 63-65.
4. Sebastia, C., Soriano, J. M., Iranzo, M., and Rico, H. (2010). Microbiological quality of sous vide cook-chill preserved food at different shelf life. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(6), 964-974.
5. Creed, P. G. (1998). *A Study of the Sensory Characteristics of Food produced by the Sous Vide System: The Measure of Pleasure*. Published PhD Thesis, Bournemouth University, England.
6. Galimpin-Johan, S. M. C., Rahman, R. A., Jamilah, B., Bin Che Man, Y., and Rusul, G. (2007). Pasteurization development and storage of sous vide rendang (spicy beef stew). *Journal of Foodservice*, 18, 251-263.
7. Myhrvold, N., Young, C., and Bilet, M. (2011). *Modernist cuisine: the art and science of cooking*. England: The Cooking Lab.
8. Church, I. J., and Parsons A. L. (2000). The sensory quality of chicken and potato products prepared using cook–chill and sous vide methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 155-162.
9. Mol, S., Ozturan S., and Cosansu S. (2012). Determination of the quality and shelf life of sous vide packaged whiting (*merlangius merlangus euxinus*, nordman, 1840) stored at cold (4C) and temperature abuse (12C). *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(6), 497-503.
10. Juneja, V. K., and Snyder, O.P. (2008). *Advances in thermal and non-thermal food preservation (Second Edition)*. USA: Wiley Blackwell.
11. Shakila, R., Jeyasekaran, G., Vijayakumar, A., and Sukumar, D. (2009). Microbiological quality of sous-vide cook chill fish cakes during chilled storage (3°C). *International Journal of Food Science & Technology*, 44(11), 2120-2126.
12. Diaz, P., Garrido, M. D., and Banon, S. (2011). Spoilage of sous vide cooked salmon (*Salmo salar*) stored under refrigeration. *Food Science and Technology International*, 17(1), 31-37.

13. Diaz, P., Garrido, M. D., and Banon, S. (2010). The effects of packaging method (vacuum pouch vs. plastic tray) on spoilage in a cook-chill pork-based dish kept under refrigeration. *Meat Science*, 84(3), 538-544.
14. Nissen, H., Rosnes, J. T., Brendehaug, J., and Kleiberg, G. H. (2002). Safety evaluation of sous vide-processed ready meals. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 433-438.
15. Baldwin, D.E. (2012). Sous vide cooking: a review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1(1), 15-30.
16. Göktan, D. and Tunçel, G. (2010). *Temel gıda hijyeni*. İzmir: Mesa Basım Matbaacılık, 107-109.
17. Payne-Palacio, J., and Theis, M. (2009). *Introduction to foodservice* (Eleventh Edition). New Jersey, Columbus, Ohio: Pearson Prentice Hall, 85-90.
18. İnternet: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Confirmation of Foodborne-Disease Outbreaks. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fmmwr%2Fpreview%2Fmmwrhtml%2Fss4901a3.htm&date=2014-09-01> Son Erişim Tarihi: 01.09.2014.
19. Bilici, S., Uyar, F., Beyhan, Y., and Sağlam, F. (2008). *Besin zehirlenmeleri nedenleri korunma yolları*. Ankara: Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 10-13.
20. Özkan, Ü. (2006). Gıda zehirlenmeleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences*, 2(46), 152-159.
21. İnternet: Australian New Zealand Food Authority (ANZFA). Food Safety Standards - Temperature Control Requirements. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.foodstandards.gov.au%2Fconsumer%2Fsafety%2Ffaqsafety%2FPages%2Ffoodsafetyfactsheets%2Ffoodsafetystandardst857.aspx&date=2014-05-17> Son Erişim Tarihi: 17 Mayıs 2014.
22. İnternet: The Council of the European Communities. Council Directive 93/43/EEC of 14 June 1993 on the hygiene of foodstuffs. (1993). URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fec.europa.eu%2Ffood%2Ffood%2Fbiosafety%2Fsalmonella%2Fmr06_en.pdf&date=2014-05-17 Son Erişim Tarihi: 17 Mayıs 2014.
23. Health Canada. (1999). *Model Guideline For Food Safety in Food Banks* (First Edition). Canada: Federal/Provincial/Territorial Committee on Food Safety Policy, 8-12.
24. İnternet: Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2013). Evaluation and Definition of Potentially Hazardous Foods - Chapter 2. Current and Proposed Definitions of "Potentially Hazardous Foods". URL: [http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fda.gov%2FFood%](http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fda.gov%2FFood%2F)

2FFoodScienceResearch%2FSafePracticesforFoodProcesses%2Fucm094143.htm&date=2014-05-17. Son Erişim Tarihi: 17 Mayıs 2014.

25. Meslekî Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi. Yiyecek-İçecek İşletmelerinde HACCP. (2007). http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fhbogm.meb.gov.tr%2Fmodulerprogramlar%2Fkursprogramlari%2Fyiycekicecek%2Fmoduller%2Fyiycek_icecek_isletmelerinde_haccp.pdf&date=2014-05-17 Son Erişim Tarihi: 17 Mayıs 2014.
26. Erkmen, O. (2010). Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53, 220-235.
27. Bilici, S. (2008). *Toplu beslenme sistemleri çalışanları için hijyen el kitabı*. Ankara: Sağlık Bakanlığı-Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 18-35.
28. Bilici, S., Uyar, F., Sağlam, F., ve Beyhan Y. (2008). *Besin güvenliği*. Ankara: Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 11-13.
29. İnternet: Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). Food Quality and Safety Systems - A Training Manual on Food Hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System Annex 2 - The application of risk analysis to food safety control programmes. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fao.org%2Fdocrep%2Fw8088e%2Fw8088e07.htm&date=2014-05-18> Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
30. İnternet: National Food Service Management Institute. The University of Mississippi. Food Safety Fact Sheet. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fnfsmi-web01.nfsmi.olemiss.edu%2Fdocumentlibraryfiles%2FPDF%2F20130806031123.pdf&date=2014-05-18> Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
31. World Health Organization. Chemical risks in food. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.who.int%2Ffoodsafety%2Fchem%2Fen%2F&date=2014-05-18> Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
32. İnternet: U. S. Food and Drug Administration. The Bad Bug Book. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fpdf.usaid.gov%2Fpdf_docs%2FPNADO152.pdf&date=2014-05-18 Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
33. İnternet: U.S. Food and Drug Administration. Evaluation and Definition of Potentially Hazardous Foods - Chapter 3. Factors that Influence Microbial Growth. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fda.gov%2FFood%2FFoodScienceResearch%2FSafePracticesforFoodProcesses%2Fucm094145.htm&date=2014-05-18> Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
34. Jay, J. (2000). *Modern food microbiology* (Sixth Edition). Gaithersburg (MD): Aspen, 630-679.

35. Mossel, D., Corry, J. E. L., Struijk, C. B., and Baird, R. M. (1995). *Essentials of the microbiology of foods: a textbook for advanced studies*. Chichester (England): John Wiley and Sons, 600-650.
36. Roberts, T. A., Baird-Parker, A. C., and Tompkin, R. B. (Editors). (1996). *Characteristics of microbial pathogens, in microorganisms in foods*. London: Blackie Academic & Professional, 513.
37. Food and Drug Administration (FDA). (2007). *Food safety a to z reference guide*. 2007. Amerika: FDA, 30-31.
38. İnternet: Milli Eğitim Bakanlığı. Meslekî Eğitim Ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi. Genel Mikrobiyoloji. http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fhbogm.meb.gov.tr%2Fmodulerprogramlar%2Fkursprogramlari%2Fgida%2Fmoduller%2Fgenel_mikrobiyoloji.pdf&date=2014-05-18 Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
39. Loss, C., and Hotchkiss, J. (2002). *Inhibition of microbial growth by low-pressure and ambient pressure gasses. Control of foodborne microorganisms*. New York: Marcel Dekker, 245-279.
40. Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *Food Microbiology*, 33, 51-64.
41. Schellekens, M. (1996). New research issues in sous-vide cooking. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 256-262.
42. Food and Drug Administration (FDA). (2009). *Food processing criteria-annex 6*. Amerika: FDA, 571-573.
43. Roca, J., and Brugus, S. (2005). *Sous-vide cuisine* (First Edition). Barcelona: Montagud Editores, 130-140.
44. İnternet: Baldwin Douglas. (2014). Sous Vide Cooking. http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.douglasbaldwin.com%2Fsous-vide.html%23Version_History&date=2014-05-19 Son Erişim Tarihi: 19.05.2014.
45. NSW Food Authority. (2012). *Sous vide food safety precautions for restaurants*. New South Wales: NSW Food Authority, 5-20.
46. Özturan, S. (2009). *Vakum Ambalajda Pişirilmiş (Sous Vide) Balıkta Kalite Ve Raf Ömrünün Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 6-16.
47. Armstrong, G. A., and McIlveen, H. (2000). Effect of prolonged storage on the sensory quality and consumer acceptance of sous vide meat-based recipe dishes. *Food Quality and Preference*, 11, 377-385.
48. Schellekens, W., and Martens, T. (1993). "Sous vide" cooking, *Food-Linked Agro-Industrial Research FLAIR-study report*, Luxembourg, 5-180.

49. Light, N., and Walke, A. (1990). *Cook-chill catering: technology and management*. New York: Springer, 143-178.
50. Altuntaş, İ. (2012). *Vakum ve Modifiye Atmosfer Paketlemenin Keten Tohumu ile Zenginleştirilerek Soğukta Depolanan Sığır Eti Köftelerinin Raf Ömrü Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 38-39.
51. İnternet: Baldwin, D. E. (2008). A practical guide to sous vide cooking. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.saberdosabor.com.br%2Fsous-vide.pdf&date=2014-08-02>, Son Erişim Tarihi: 02.08.2014.
52. Bejerholm, C., and Aaslyng, M.D. (2004). *Cooking of meat*. Denmark:Elsevier Ltd, 343-349.
53. Betts, G. D., and Gaze, J. E. (1995). Growth and heat resistance of psychrotrophic *Clostridium botulinum* in relation to 'sous vide' products. *Food Control*, 6(1), 57-63.
54. Bolton, D.J. (1998). The microbiological safety and quality of foods processed by the 'sous vide' system as a method of commercial catering. *The National Food Centre:Dublin Research Report No:1*. Dublin. 3-9.
55. Carlin, F. (1999). Microbiology of sous vide products. *Encyclopedia of food microbiology*, 1338-1344.
56. Çetinkaya, S. (2013). *Vakum Paketli Pişirilen (Sous Vide) Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus Mykiss WALBAUM, 1792)'nin Soğuk Depolanması Sırasında Kalite Özelliklerine Doğal Antioksidanların Etkisi*, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 123-125.
57. Chiavaro, E., Mazzeo, T., Visconti, A., Manzi, C., Fogliano, V., and Pellegrinin, N. (2012). Nutritional quality of sous vide cooked carrots and brussels sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 6019-6025.
58. Alçıçek, Z. (2010). *Farklı Oranlarda Tuzlanarak Sıcak Tütsüleme ve Sıvı Tütsüleme Teknikleri Uygulanmış Alabalık (Oncorhynchus Mykiss) Filetolarının Vakum Paketli ve Buzdolabı Koşullarında Depolanmalarının Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 81-85.
59. Bağdatlı, A. (2008). *Farklı Paketleme Yöntemlerinin Taze Etin Kalite Özellikleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, 89.
60. Nyati, H. (2000). An evaluation of the effect of storage and processing temperatures on the microbiological status of the sous vide extended shelf-life products. *Food Control*, 11, 471-476.

61. Hansen, T.B., Knochel, S., Juncher, D., and Bertelsen, G. (1995). Storage characteristics of sous vide cooked roast beef. *International Journal of Food Science and Technology*, 30, 365-378.
62. Bertelsen, G., and Juncher, D. (1996). *Oxidative stability and sensory quality of sous vide cooked products*. Paper presented at the Second European Symposium on Sous Vide, Alma Sous Vide Competence Centre, Leuven.
63. Rodgers, S. (2007). Innovation in food service technology and its strategic role. *International Journal of Hospitality Management*, 26(4), 899-912.
64. De Baerdemaeker, J., and Nicolai, B. M. (1995). Equipment considerations for sous vide cooking. *Food Control*, 6(4), 229-236.
65. Creed, P. G., and Reeve, W. (1998). *Principles and applications of sous vide processed foods. Sous vide and cook-chill processing for the food industry*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publications Inc, 25-56.
66. Creed, P.G. (2001). The potential of foodservice systems for satisfying consumer needs. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2, 219-227.
67. Yılmaz, I. (1998). *Farklı Ambalajlama Yöntemi ve Depolama Sıcaklığının Tekirdağ Köftesinin Bazı Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü , Edirne, 206.
68. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. (2010). *Gıda satış yerleri için iyi hijyen uygulamaları rehberi*. Ankara: Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 16-25.
69. İnternet: Goodburn, K. Quality Assurance of Chilled Foods. Chilled Food Association. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.chilledfood.org%2FResources%2FChilled%2520Food%2520Association%2FPublic%2520Resources%2FLeeds%2520University%2520Chilled%2520Food%2520QA%25203%252012%252012.pdf&date=2014-05-20> Son Erişim Tarihi: 20 Mayıs 2014.
70. Smith, A. G., and West, A. (2003). *Catering systems*. United Kingdom: Elsevier Science Ltd, 975-982.
71. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. (1992). *Report on vacuum packaging and associated processes*. London: Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, 14-30.
72. Baird-Parker, A. C. (1994). Use of HACCP by the chilled food industry. *Food Control*, 5(3), 167-170.
73. Damez, J. L., and Clerjon, S. (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*, 80(1), 132-149.
74. Graiver, N., Pinotti, A., Califano, A., and Zaritzky, N. (2006). Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *Journal of Food Engineering*, 77, 910-918.

75. Borch, E., Kant-Muemansb, M. L., and Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 103-120.
76. Meldrum, R.J., et al., *Variation in the microbiological quality of commercially produced vacuum-packed cooked sliced meat between production and the end of shelf-life*. *Int J Environ Health Res*, 2014. **24**(3): p. 269-77.
77. İnternet: Food Safety and Inspection Service United States Department of Agriculture. Meat and Poultry Hazards and Controls Guide. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fsis.usda.gov%2FOPPDE%2Frdad%2FFSISDirectives%2F5100.2%2FMeat_and_Poultry_Hazards_Controls_Guide_10042005.pdf&date=2014-05-18 Son Erişim Tarihi: 18 Mayıs 2014.
78. Mol, S., and Ozturan, S. (2009). Sous-vide technology and applications to the seafoods. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 3(1), 68-75.
79. Gould, G. (1996, April). *Conclusion of the ECFE botulinum working party*. Paper presented at the Second European Symposium on Sous Vide, Alma Sous Vide Competence Centre, Leuven.
80. Vaudagna, S.R., Sanchez, G., Neira, M. S., Insani, E. M., Picallo, A. B., Gallinger, M. M., and Lasta, J. A. (2002). Sous vide cooked beef muscles: effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments on their quality characteristics and storage stability. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 425-441.
81. Juneja, V.K. (2003). *Sous-vide processed foods: safety hazards and control of microbial risks. Microbial safety of minimally proceed foods*. USA: CRC-Press, 250-300.
82. Tansey, F., Gormley, R., Carbonell, S., Oliveira, J., Bourke, P., and O'Beirne, D. (2005). Developing sous vide freezing, *The National Food Centre: Dublin Research Report No:70*. Dublin. 11-17.
83. Kılınç, B., and Çaklı , S. (2001). Paketleme tekniklerinin balık ve kabuklu su ürünleri mikrobiyal florası üzerine etkileri . *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* , 18(1-2), 279- 291.
84. Gökoğlu, N. (2002). *Su ürünleri işleme teknolojisi* . İstanbul: Su Vakfı Yayınları, 90-130.
85. İnternet: FSIS Technical Service Center. Compliance Guidelines for Meeting Lethality Performance Standarts for Certain Meat and Poultry Products. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fsis.usda.gov%2FOPPDE%2Frdad%2FFRPubs%2F95-033F%2F95-033F_Appendix_A.htm&date=2014-05-20 Son Erişim Tarihi: 20 Mayıs 2014.
86. İnternet: Is Cooking Sous Vide Safe? URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.sousvidecooking.or>

g%2Fis-sous-vide-cooking-safe%2F&date=2014-05-26 Son Erişim Tarihi: 26 Mayıs 2014

87. Rybka-Rodgers, S. (2001). Improvement of food safety desing of cook-chill foods. *Food Research International*, 34, 449-455.
88. Carlin, F., Girardin, H., Peck, M. W., Stringer, S. C., Barker, G. C., Matinez, A., Fernandez, A., Fernandez, P., Waites, W. M., Movahedi, S., Leusden, F., Nauta, M., Moezelaa, R., Torre, M. D., and Sonia, L. (2000). Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables: a FAIR collaborative project. *International Journal of Food Microbiology*, 60(2-3), 117–35.
89. Callaghan, K. (2008). Food Standards Agency guidance on the safety and shelf-life of vacuum and modified atmosphere packed chilled foods with respect to non-proteolytic *Clostridium botulinum*, *Food Standards Agency guidance*, United Kingdom, 9-16.
90. Diaz, P., Nieto, G., Garrido, M. D., and Banon, S. (2008). Microbial, physical-chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the sous vide method. *Meat Science*, 80(2), 287-292.
91. Roldan, M., Antequera, T., Martin, A., Mayoral, A. I., and Ruiz, J. (2013). Effect of different temperature-time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat Science*, 93(3) 572-578.
92. Mortensen, L.M., Frost, M. B., Skibsted, L. H., and Risbo, J. (2012). Effect of time and temperature on sensory properties in low-temperature long-time sous-vide cooking of beef. *Journal of Culinary Science & Technology*, 10(1), 75-90.
93. Jang, J. D., and Lee, D. S. Development of a sous-vide packaging process for Korean seasoned beef. *Food Control*, 16(3), 285-291.
94. Peck, M. W., Goodburn, K. E., Betts, R. P., and Stringer, S. C. (2006). *Clostridium botulinum* in vacuum packed (VP) and modified atmosphere packed (MAP) chilled foods. *Final Project Report (B13006)*. United Kingdom.
95. Gonzalezfandos, E. (2004). Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. *Food Microbiology*, 21(2), 193-201.
96. González-Fandos, E., Villarino-Rodríguez, A., García-Linares, M. C., García-Arias, M. T., and García -Fernández, M. C. (2005). Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the sous vide method. *Food Control*, 16(1), 77-85.
97. Alen, F. (1992). *Vacuumgaren en nieuwe technieken in de gastronomie*. Zonhoven: BOEK, 284.

98. Gorris, L.G.M. (1996). Second european symposium on sous vide. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 303-306.
99. Gould, G.W. (1999). Sous vide foods: conclusions of an ECFF botulinum working party. *Food Control*, 10, 47-51.
100. Nyati, H. (2000). Survival characteristics and the applicability of predictive mathematical modelling to *Listeria monocytogenes* growth in sous vide products. *International Journal of Food Microbiology*, 56, 123-132.
101. Ghazala, S., Ramaswamy, H. S., Smith, J. P., and Simpsod, M. V. (1995). Thermal process simulations for sous vide processing of fish and meat foods. *Food Research International*, 28(2), 117-122.
102. Hyytia-Trees, E., Skytta, E., Morkkila, M., Kinnunen, A., Lindstrom, M., Lahtenmaki, L., Ahvenainen, R., and Korkeala, H. (2000). Safety evaluation of sous vide-processed products with respect to nonproteolytic *Clostridium botulinum* by use of challenge studies and predictive microbiological models. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 223-229.
103. Marth, E. H. (1998). Extended shelf life refrigerated foods: microbiological quality and safety. *Food Technology*, 52(2), 57-62.
104. Papadopoulou, O. S., Panagou, E. Z., Mohareb, F. R., and Nychas, G. J. E. (2013). Sensory and microbiological quality assessment of beef fillets using a portable electronic nose in tandem with support vector machine analysis. *Food Research International*, 50(1), 241-249.
105. Simpson, M. V., Smith, J. P., Simpson, B. K., Ramaswamy, H., and Dodds, K. L. (1998). Storage studies on a sous vide spaghetti and meat sauce product. *Food Microbiology*, 11, 5-14.
106. Durmuş, M. (2010). *Farklı Mevsimlerde Avlanan Sardalya (Sardinella Aurita Valenciennes, 1847)'Nin 4 C' de Vakum Paketli Olarak Depolanmasında Oluşan Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 55-58.
107. Sanchez Del Pulgar, J., Gazquez, A., and Ruiz-Carrascal, J. (2012). Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat Science*, 90(3), 828-835.
108. Rodgers, S. (2003). Potential applications of protective cultures in cook-chill catering. *Food Control*, 14, 35-42.
109. Rodgers, S. (2004). Novel approaches in controlling safety of cook-chill meals. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 366-372.
110. Creed, P. G. (1995). The sensory and nutritional quality of 'sous vide' foods. *Food Control*, 6(1), 45-52.

111. Dainty, R.H. (1996). Chemical/biochemical detection of spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 19-33.
112. O'Connor-Shaw, R. E., and Reyes, V. G. (1999). *Use of modified atmosphere packaging*. Australia: Academic Press, 410-416.
113. Bilgin, B., ve Erkan, Ü.C. (2008). Bir hazır yemek işletmesinde HACCP sisteminin kurulması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(3), 267-281.
114. Smith, J. P., Toupin, C., Gagnon, B., Voyer, R., Fiset, P. P., and Simpson, V. (1990). A hazard analysis critical control point approach (HACCP) to ensure the microbiological safety of sous vide processed meat pasta product. *Food Microbiology*, 7, 177-198.
115. Olgunoğlu, İ. (2010). Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) marinasyon prosesinde tehlike analizleri ve kritik kontrol noktalarının belirlenmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1), 36-48.
116. Engez, S., ve Ergönül, B. (2009). Kurutulmuş et üretiminde HACCP sisteminin uygulanması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3), 12-19.
117. Church, I. J., and Parsons, A. L. (1993). Review: sous vide cook-chill technology. *International Journal of Food Science and Technology*, 28, 563-574.
118. Yew, B. (1999). *Rasa Malaysia the complete malaysian cookbook*. Shah Alam: Times Books International, 100-120.
119. Rhodehamel, E. (1992). FDA's concerns with sous vide processing. *Food Technology*, 46, 89-94.
120. Ollinger-Snyder, P., Matthews, M., and Unklesbay, N. (1995). Microbiological evaluation of ground pork prepared and stored using the sous vide method of food processing. *Journal of Food Service Systems*, 8, 213-28.
121. Jang, J. D., Seo, G. H., Lyu, E. S., Yam, K. L., and Lee, D. S. (2006). Hurdle effect of vinegar and sake on Korean seasoned beef preserved by sous vide packaging. *Food Control*, 17(3), 171-175.
122. Nychas, G .J., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., and Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1-2), 77-89.
123. Pennacchia, C., Ercolini, D., and Villani, F. (2011). Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. *Food Microbiology*, 28(1), 84-93.
124. Jos, H. J. (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 1-18.

125. Thomas, L. V., and Wimpenny, J. W. T. (1996). Competition between *Salmonella* and *Pseudomonas* species growing in and on agar, as affected by pH, sodium chloride concentration and temperature. *Food Microbiology*, 29, 361-370.
126. Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., and Givskov, M. (2002). Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 79-97.
127. Sheard, M. A., and Rodger, C. (1995). Optimum heat treatments for sous vide cook-chill products. *Food Control*, 6(1), 53-56.
128. Goussault, B. (1988). La cuisson sous vide: utilisation des cuissons a basse temperature. France: RIA.
129. Picoche, B. (1991). Incidence de la cuisson pasteurisation sur les qualités organoleptiques et microbiologiques des poissons et des légumes. *Les journées du sous vide de l'ISVAC*, 133-142.
130. Light, N., Hudson, P., Williams, R., Barrett, J., and Schafheitle, J. (1988). A pilot study on the use of sous-vide vacuum cooking as a production system for high quality foods in catering. *Journal of Hospitality Management*, 7, 21-27.
131. Schafheitle, J. M., and Light, N. D. (1989). Technical note: sous-vide preparation and chilled storage of chicken ballotine. *International Journal of Food Science and Technology*, 24, 199-205.
132. Topal, Ş., Pala, M., ve Saygi, B. (1996). Sous vide teknolojisinin geleneksel yemeklerimize uygulanması. *Gıda*, 21(2), 131-144.
133. Paik, H. D., Kim, H. J., Nam, K. J., Kim, C. J., Lee, S. E., and Lee, D. S. (2006). Effect of nisin on the storage of sous vide processed Korean seasoned beef. *Food Control*, 17(12), 994-1000.
134. Sous Vide Advisory Committee (SVAC). (1991). *Code of practice for sous vide catering systems*. United Kingdom: Sous Vide Advisory Committee, 12.
135. Zhou, G. H., Xu, X. L., and Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat - a review. *Meat Science*, 86(1), 119-128.

EKLER

EK-1. Deney numunelerinin hazırlanması standardı


TÜRK STANDARDI
 TURKISH STANDARD


TS EN ISO 6887-2
 Aralık 2008

ICS 07.100.30

GIDA VE HAYVAN YEMLERİ MİKROBİYOLOJİSİ - DENEY NUMUNELERİNİN, BAŞLANGIÇ SÜSPANSİYONUNUN VE ONDALIK SEYRELTİLERİN MİKROBİYOLOJİK MUAYENE İÇİN HAZIRLANMASI - BÖLÜM 2: ET VE ET ÜRÜNLERİNİN HAZIRLANMASI İÇİN ÖZEL KURALLAR

Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products

TS EN 6887-2 (2008) standardı, EN 6887-2 (2003) standardı ile birebir aynı olup, Avrupa Standardizasyon Komitesi'nin (CEN, rue de Stassart 35 B-1050 Brussels) izniyle basılmıştır.

Avrupa Standardlarının herhangi bir şekilde ve herhangi bir yolla tüm kullanım hakları Avrupa Standardizasyon Komitesi (CEN) ve üye ülkelerine aittir. TSE kanalıyla CEN'den yazılı izin alınmaksızın çoğaltılamaz.

TÜRK STANDARDLARI ENSTİTÜSÜ
Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

- Bugünkü teknik ve uygulamaya dayanılarak hazırlanmış olan bu standardın, zamanla ortaya çıkacak gelişme ve değişikliklere uydurulması mümkün olduğundan ilgililerin yayınları izlemelerini ve standardın uygulanmasında karşılaştıkları aksaklıkları Enstitümüze iletmelerini rica ederiz.
- Bu standardı oluşturan İhtisas Grubu üyesi değerli uzmanların emeklerini; tasarılar üzerinde görüşlerini bildirmek suretiyle yardımcı olan bilim, kamu ve özel sektör kuruluşları ile kişilerin değerli katkılarını şükranla anarız.



Kalite Sistem Belgesi

İmalât ve hizmet sektörlerinde faaliyet gösteren kuruluşların sistemlerini TS EN ISO 9000 Kalite Standardlarına uygun olarak kurmaları durumunda TSE tarafından verilen belgedir.



Türk Standardlarına Uygunluk Markası (TSE Markası)

TSE Markası, üzerine veya ambalajına konulduğu malların veya hizmetin ilgili Türk Standardına uygun olduğunu ve mamulle veya hizmetle ilgili bir problem ortaya çıktığında Türk Standardları Enstitüsü'nün garantisi altında olduğunu ifade eder.



Kalite Uygunluk Markası (TSEK Markası)

TSEK Markası, üzerine veya ambalajına konulduğu malların veya hizmetin henüz Türk Standardı olmadığından ilgili milletlerarası veya diğer ülkelerin standardlarına veya Enstitü tarafından kabul edilen teknik özelliklere uygun olduğunu ve mamulle veya hizmetle ilgili bir problem ortaya çıktığında Türk Standardları Enstitüsü'nün garantisi altında olduğunu ifade eder.

DİKKAT!

TS işareti ve yanında yer alan sayı tek başına iken (TS 4600 gibi), mamulün Türk Standardına uygun üretildiğine dair üreticinin beyanını ifade eder. **Türk Standardları Enstitüsü tarafından herhangi bir garanti söz konusu değildir.**

Standardlar ve standardizasyon konusunda daha geniş bilgi Enstitümüzden sağlanabilir.

TÜRK STANDARDLARININ YAYIN HAKLARI SAKLIDIR.

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Ön söz

- Bu standard, CEN tarafından kabul edilen EN ISO 6887-2 (2003) standardı esas alınarak, Türk Standardları Enstitüsü Mamul Gıdalar İhtisas Grubu'nca hazırlanmış ve TSE Teknik Kurulu'nun 25 Aralık 2008 tarihli toplantısında Türk Standardı olarak kabul edilerek yayımına karar verilmiştir.
- Bu standardın kabulü ile TS 8126 standardı iptal edilmiştir.
- Bu standardda kullanılan bazı kelime ve/veya ifadeler patent haklarına konu olabilir. Böyle bir patent hakkının belirlenmesi durumunda TSE sorumlu tutulamaz.

TÜRK STANDARDLARININ TELİF HAKKI TSE'YE AİTTİR. STANDARDIN BU NÜSHASININ KULLANIM IZIN TSE TARAFINDAN
*GAZİ ÜNİVERSİTESİ'NE VERİLMİŞTİR. BAŞILMA TARİHİ: 26.03.2014
TSE'YİN İZİN ALINMADAN STANDARDIN BİR KÖŞE İLMİTİLMAMASI İTİRAZ FİNİMEZ ÇÖZÜMÜ AMAZ

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

İçindekiler

1	Kapsam.....	1
2	Atıf yapılan standard ve/veya dokümanlar	1
3	Terimler ve tarifler	2
4	Prensip	2
5	Seyreltmeler	3
6	Cihazlar ve malzemeler	3
7	Numunelerin hazırlanması.....	4
8	Genel işlemler	4
9	Özel işlemler	5
	Ek A - Yüzeyden alınan numunenin yapısı.....	10
	Ek B - Dondurulmuş ya da derin dondurulmuş numune parçalarının ve bloklarının incelenme metotları.....	11
	Kaynaklar.....	12
	Ek ZA - Atıf yapılan uluslararası standardlar ile bu standartlara karşılık gelen Avrupa standartları	13

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Deney numunelerinin, başlangıç süspansiyonunun ve ondalık seyreltilerin mikrobiyolojik muayene için hazırlanması - Bölüm 2: Et ve et ürünlerinin hazırlanması için özel kurallar

Uyarı: Bu standard tehlikeli maddeleri, işlemleri ve donanımları içerebilir. Uygulanmasından önce ilgili güvenlik ve sağlık önlemlerini almak ve uygun yasal sınırları belirlemek bu standardı uygulayanların sorumluluğundadır.

1 Kapsam

Bu standardda ISO 6887-1'de belirtilen metottan farklı olarak, mikrobiyolojik deneyler için et ve et ürünlerinin örnekleri ve süspansiyonlarının hazırlanması için özel kuralları kapsar. ISO 6887-1'de başlangıç süspansiyonu ve ondalık seyreltilerin hazırlanması için genel kuralları belirtilmiştir. Bu standardda aynı anda birkaç mikroorganizmaya uygulanabilen hazırlama metotları tanımlanmıştır. Bu standard ilgili uluslararası standartlarda tanımlanan ve sadece tek bir mikroorganizmanın teşhisinin ve sayımının yer aldığı hazırlama yöntemini kapsamaz.

Bu standard işlem görmüş ve işlem görmemiş etler ve kanatlı hayvan etleri ile bunlardan elde edilen aşağıdaki ürünlere uygulanabilir:

- Soğutulmuş veya dondurulmuş,
- Küklenmiş veya fermente edilmiş,
- Doğranmış ya da kıyma hâline getirilmiş gıda,
- Şarküteri etleri,
- On pişirmeye tabi tutulmuş yemekler veya kanatlı hayvan esaslı yemekler,
- Farklı oranlarda nem içeren kurutulmuş ve dumanlanmış etler,
- Konsantre edilmiş et ekstraktları,

Uluslararası Standardda tanımlanan mikrobiyolojik denemeler bu standard kapsamında aşağıdaki ürünlere uygulanamaz:

- Konserve ürünler
- Diğer ürünler (ISO 6887-4)

Not 1 - Süt ve süt ürünlerinden ISO 8261'de bahsedilmiştir.

Not 2 - Yabani hayvanların etleri (hayvanın kesilmesi veya avlanması) bu standardda belirtilen benzer ürünler için tanımlanmış uygun teknikler kullanılarak analiz edilebilir.

2 Atıf yapılan standard ve/veya dokümanlar

Bu standardda tarih belirtilerek veya belirtilmeksizin diğer standard ve/veya dokümanlara atıf yapılmaktadır. Bu atıflar metin içerisinde uygun yerlerde belirtilmiş ve aşağıda liste hâlinde verilmiştir. Tarih belirtilen atıflarda daha sonra yapılan tadil veya revizyonlar, atıf yapan bu standardda da tadil veya revizyon yapılması şartıyla uygulanır. Atıf yapılan standard ve/veya dokümanın tarihinin belirtilmemesi hâlinde en son baskısı kullanılır (tadillerde dahil).

EN,ISO,IEC vb. No	Adı (İngilizce)	TS No ¹⁾	Adı (Türkçe)
ISO 6887-1: 1999	Microbiology of food and animal feeding stuffs-Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination-Part 1:General rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions	TS 6235 EN ISO 6887-1	Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Deney numunelerinin, başlangıç süspansiyonunun ve ondalık seyreltilerin hazırlanması için mikrobiyolojik muayene - Bölüm-1:Başlangıç süspansiyonu ve ondalık seyreltilerin hazırlanması için genel kurallar
ISO 7218	Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations	TS 7894 ISO 7218	Gıda ve hayvan yemlerinin mikrobiyolojisi - Mikrobiyolojik deneyler için genel kurallar
ISO 17604	Microbiology of food and animal feeding stuffs - Carcass sampling for microbiological analysis ²⁾		Gıda ve hayvan yemlerinin mikrobiyolojisi - Mikrobiyolojik analizler için karkas örnekleri

¹⁾ **TSE Notu :** Atıf yapılan standartların TS numarası ve Türkçe adı 3. ve 4. kolonda verilmiştir. * İşaretili olanlar bu standardın basıldığı tarihte İngilizce metin olarak basılan Türk Standardlarıdır.

²⁾ Revizyon ISO 3100-1:1991

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

3 Terimler ve tarifler

Bu standardın amaçları için, aşağıdaki terimler ve tarifler geçerlidir.

3.1 Laboratuvar numunesi

Muayene veya deney için ve laboratuvara göndermek için hazırlanmış numune

[ISO 7002]

3.2 Deney numunesi miktarı

Başlangıç süspansiyonun hazırlanmasında kullanmak için laboratuvar numunesinden alınan temsili numune miktarı (hacim ya da kütle olarak).

3.3 Başlangıç süspansiyonu (ilk seyreltme)

Muayene edilecek ürünün (veya üründen hazırlanmış deney numunesinin) tartılmış veya ölçülmüş bir miktarının, dokuz katı miktarda seyreltme sıvısı ile karıştırılarak, varsa iri parçacıkların çökmesi için beklenerek, hazırlanan süspansiyon, çözelti veya emülsiyon.

Not - Yüzey numuneleri için başlangıçtaki seyreltme gösterilmelidir. Örneğin, toplam 25 mL seyreltici hacminde seyreltilmiş 25 cm² lik yüzeye sahip bir numune (swab veya diğer), bu başlangıç süspansiyonun 1 mL'si 1 cm² yi temsil eder.

3.4 İleri ondalık seyreltiler

Belirli hacimdeki başlangıç süspansiyonunun (Madde 3.3) dokuz katı hacimdeki seyreltme sıvısı ile karıştırılması ve bu işlemin besiyerine ekimi için uygun bir seyrelti elde edilinceye kadar ileri seyreltmelerin tekrarlanması ile elde edilen süspansiyon ve çözeltiler.

3.5 Blok Parça

Bileşimi ve boyutuyla (yüzey ve kalınlık, özellikle kalınlık) yeterli sterilitenin sağlandığı derinlikten alındığı belli olan numune.

3.6 Kısım, İnce dilim

Elektrikli matkap veya ağaç matkabi monte edilmiş el matkabi ile dondurulmuş etin yüzeyinden derince alınmış parça veya deney numunesi olarak ayrılmış etin iç kısmından alınan parça et.

3.7 Dilim

Yaklaşık olarak paralel kısımlardan birkaç cm inceliğinde kesilmiş et.

3.8 Karkas Kesilmiş

Satışa sunulan benzer ürünler (kanatlı hayvanları ürünleri, tavşan eti).

4 Prensip

Deney numunesinin içerdiği olası mikroorganizmaların homojen dağılımını sağlayacak şekilde bir başlangıç süspansiyonu (Madde 3.3) hazırlanır.

Her bir ürünün ilgili bölümlerinde söz edilen özel durumlar hariç, analizi oluşturan metotta tavsiye edilen ortam kullanılarak zenginleştirme öncesi veya zenginleştirilmiş süspansiyon aynı şekilde hazırlanır.

İlgili standartlarda yer aldığı gibi inkübasyon sonrasında herhangi bir gelişme olduğunda (sıvı ortamda) veya koloni oluşumu (agar ortamında) gözlemlendiğinde gerekiyorsa izin verilen her bir hacimde mikroorganizma sayısını azaltmak için ondalık seyreltiler (Madde 3.4) hazırlanır.

Gerekirse, verilen sayım aralığını sınırlandırmak için veya öngörülen mikroorganizma sayısı çok fazla ise, ISO 7218'de verilen hesaplama göre sadece gerekli ondalık seyreltileri (en az iki başanlı seyrelti) yapmak mümkün olabilir.

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

5 Seyreltmeler

5.1 Temel malzemeler

ISO 6887-1'de verilenler

5.2 Genel kullanım için seyreltmeler

5.2.1 Pepton tuz çözeltisi

ISO 6887-1:1999, Madde 5.2.1.

5.2.2 Tamponlanmış peptonlu su

ISO 6887-1:1999, Madde 5.2.2.

5.3 Özel amaçlar için seyreltmeler

5.3.1 Bromkresol moru ile peptonlu tuz çözeltisi

5.3.1.1 Bileşimi

Peptonlu tuz çözeltisi (Madde 5.2.1)	1 000 mL
Bromkresol moru (% 0,04 alkol çözeltisi örneğin, etanol çözeltisi)	0,1 mL

5.3.1.2 Hazırlanması

Peptonlu tuz çözeltisinin (Madde 5.2.1) 1000 mL' sine 0,1 mL bromkresol moru ilave edilir.

5.3.1.3 Uygulama

Bu çözelti belli asitliğe sahip ürünlerde kullanılabilir, pH ayarlaması steril bir pH elektrodu (Madde 8.4) kullanılmaksızın yapılabilir.

Bromkresol moru asidik pH'da sarıdır, pH 6,8'de mor renge dönüşür.

5.4 Seyreltme sıvısının dağıtılması ve sterilizasyonu

ISO 6887-1: 1999, Madde 5.4.

6 Cihazlar ve malzemeler

Genel (ISO 6887-1 ve ISO 7218) kullanım için bilinen mikrobiyoloji laboratuvarı cihazları ve özellikle aşağıdakiler:

6.1 Steril tepsi, uygun boyutlarda

6.2 Steril makas, küçük veya büyük maşalar, düz bıçaklar veya spatüller

6.3 Mekanik kıyma makinası; laboratuvar boyutlarında, sterilize edilebilen ve delik aparat içeren, en fazla 4 mm çapında delikleri olan donanım.

6.4 Etin yüzeyini dağlamak için cihaz (örneğin; taşınabilir gazla çalışan püremüz)

6.5 Yüzey örneği için kalıp; numune alınacak yüzeyin şeklini belirleyebilmek için uygun boyutlarda, alkole batırılarak ya da alevden geçirilerek sterilize edilmiş metal donanım.

Ek A'da bu yapıya bir örnek gösterilmiştir. Bu maddede belirtilen özellikleri karşılayabilecek başka araçlarda kullanılabilir. Bazı sporlar ateşte de yaşamını sürdürebilir. Bazı sporlaşmış mikroorganizmalar için, fırında yapılan sterilize işleminden sonra, steril metal donanım kullanımı önerilmektedir.

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

6.6 Donmuş laboratuvar numunesini toplamak için kullanılan donanım

6.6.1 Çeşitli hızlarda elektrikli matkap, en fazla 900 devir/min hızında matkap ya da el matkabı

6.6.2 Elektrikli matkap için steril tahta parçası, 14 mm ya da 16 mm çapında

6.6.3 Steril tahta keski, 20 mm eninde

6.6.4 Çekiç veya plastik tokmak

6.6.5 Numunenin aşırı ısınmasına veya kirlenmesine sebebiyet vermeyecek diğer araçlar

7 Numunelerin hazırlanması

7.1 Dondurulmuş ürünler

Dondurulmuş olarak muhafaza edilen ürünler numune almaya uygun hâle getirilmelidir. Örneğin, en fazla 3 saat için (laboratuvar sıcaklığında) 18-27°C'ta depolama veya en fazla 24 saat $2 \pm 2^\circ\text{C}$ 'ta depolama. Bu aşamadan sonra, numune mümkün olduğunca hızlı bir şekilde analiz edilmelidir (ISO 6887-1:1999, Madde 9.3.).

Ayırma işlemi yapılırken ürün donmuş hâlde ise, laboratuvar sıcaklığında bazı seyreltme sıvıları çözündürme işlemini kolaylaştırması için kullanılabilir.

7.2 Katı ve kuru ürünler

Katı veya kuru ürünleri, dönen karıştırıcıyla bir defasında 2,5 dakikadan fazla karıştırılmamalıdır.

Kuru, katı veya heterojen ürünlerde laboratuvar numunesini kıymak ya da öğütmek gerekebilir. Böyle bir durumda, sıcaklığının artmasını önlemek için kıyma veya öğütme işlemi 1 dakikadan uzun yapılmamalıdır.

7.3 Sıvı ve katı olmayan ürünler

Analiz öncesinde, mikroorganizmaların sabit bir şekilde dağıldığından emin olabilmek için analiz numunesi elle veya mekanik olarak çalkalandıktan sonra deney numunesi alınmalıdır (örneğin 25 cm'lik dairesel hareketlerle 25 kez çalkalanır; ISO 8261)

7.4 Heterojen ürünler

Heterojen ürünlerde (farklı yiyeceklerden parçalar içeren), numune alma işlemi, ürünün bütününden, içerdiği her bir yiyecek için bir kısım sıvı numune alınarak gerçekleştirilmelidir.

Homojen hâle getirilmiş deney numunesini ayırmak için tüm laboratuvar numunesini homojen hâle getirmekle mümkündür.

Laboratuvar örneğini kıymak veya öğütmek gerekebilir. Böyle bir durumda sıcaklık artışını önlemek için, kıyma ya da öğütme işlemi 1 dakikadan fazla süreyle yapılmamalıdır.

8 Genel işlemler

8.1 Genel

Tüm hazırlıklar ve işlemler, numunelerin dış etkenlerden mikrobiyel bulaşmayı önlemek için iyi aseptik tekniklerle ve steril araçlarla gerçekleştirilmelidir (ISO 7218).

İşlem ISO 6887 bölümünde tarif edilenden farklıysa, analiz için hangi işlemin kullanıldığı raporda belirtilir.

8.2 Laboratuvara gönderilen numune tipleri

Et ve et ağırlıklı ürünlerin tipleri aşağıda verilen tiplerden oluşmaktadır;

- Et ve et ağırlıklı ürünler, farklı boyutlarda hazırlanmış veya işlenmiş
- 2 kg' dan az olan etlerden alınan parça et,
- Karkaslardan alınmış et numuneleri ya da 2 kg' dan büyük kesilmiş et parçaları,

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Zararsız bir yöntem kullanılarak numune alınması için (ISO 17604) laboratuvara ince kumaşlar ve bezlerle (ya da diğerleri, ISO 17604) gönderilmelidir.

Gelen numunelerin fiziksel durumu şu faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir:

- a) Sıcaklık, aşağıdaki ürünler için,
 - Dolapta soğutulmuş ya da
 - Dondurulmuş veya derin dondurma işlemi uygulanmış
- b) Su aktivitesi (a_w), aşağıdaki ürünler için,
 - İşlenmemiş ya da
 - Kısmi oranda suyunun alınması sonucu mikroorganizmaların çoğalmasının engellendiği et ürünleri (azaltılmış a_w)

8.3 Analizin amacı

ISO 7218

Mikrobiyolojik analizin amacı tespit etmek ya da saymak olabilir:

- iç kısımlardaki mikrobiyolojik flora
- yüzeyel mikrobiyolojik flora
- yüzeyel ve iç kısımlardaki mikrobiyolojik flora (ikisinin toplamı)

Deney numunesinin hazırlanması sırasında, analizin amacı ve numunenin içeriği hesaba katılmalıdır.

8.4 Asidik ürünlerde genel durum

Asidik ürünler süspansiyon çözeltisi kullanıldığında pH seviyesinin nötral pH'ya düştüğünden emin olmak önemlidir. pH indikatörü (Madde 5.3.1) ilave edilmiş seyrelti çözeltisi kullanımı, pH elektrotunun kullanımı ve sterilize edilmesine ihtiyaç duyulmasını önleyebilir; bu indikatör süspansiyonun başlangıç rengine dönüştürülünceye kadar sodyum hidroksit (NaOH) ilave edilir.

Tamponlanmış seyreltici kullanımında, alkali bileşiminin tamponlanma kapasitesini artırmak için sodyum hidroksit eklemek gerekir. İlave edilen sodyum hidroksidin konsantrasyonu ürünün asit düzeyine bağlıdır. En uygun konsantrasyon düzeyi 9'da 1 oranına yakın olan konsantrasyondur (0,1 mol/L ya da 1 mol/L).

8.5 Çok yağlı gıdalar, (kütlece % 20'den daha fazla yağ içeren gıdalar)

Sorbitan monooleat (Tween 80) 'in 1 g/L ve 10 g/L arasında seyrelti kullanımı yağ seviyesine göre (örneğin; % 40 oranında yağa 4 g/L eklenebilir) süspansiyon esnasında emülsiyonu güçlendirebilir.

9 Özel işlemler

9.1 Farklı tipteki numunelerin ön hazırlığı

9.1.1 Tüm kütlesinin 50 g'a eşit ya da 50 g' dan daha az olan laboratuvar numunesi

Numune kütlesi 50 g'a eşit ya da 50 g' dan az ise süspansiyonun ön hazırlığı için laboratuvar numunesinin tümü kullanılır.

Not - Yüzeyel ve iç kısımlardaki mikrobiyel floranın yalnızca tespiti edilmesi ve sayılması mümkündür.

9.1.2 Deney parçası veya karkas

İç kısımlarda ve/veya yüzeyden numune alınır.

Yüzeyin analizi için (tahta bezi ya da küçük bez parçaları kullanılarak) zararsız bir yöntem uygulanabilir. (ISO 17604)

9.1.3 Dilim şeklinde pişmemiş ve pişmiş et

Ortasından küçük bir parça alınır.

9.1.4 Dilim şeklinde dondurulmuş et

Et, iyice homojen hâle getirilir.

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

9.1.5 Sarılmış et ürünleri

Dış yüzey (sargı) sentetikse, pişmiş ya da çiğ sosis üzerindeki geçirimli ya da geçirimsiz plastik derisinden arındırılır, yani dış yüzeyi çıkarmak için steril maşa ile uzaklaştırılır.

Sosis dilimlenir.

Islı işlem görmüş (mature) çiğ sosisin kılıfı soyulmamalıdır.

9.1.6 Önceden pişirilmiş yiyecekler

Önceden pişirilmiş ambalajlı yiyecekler için; ambalaj Madde 9.2'deki talimatlara göre açılır.

Her bir bileşenin oranlarını göz önüne alarak sıvı kısımları alınır.

Homojen hâle getirilmiş bir deney numunesini elde etmek için laboratuvar numunesini homojen hâle getirmekle mümkündür.

9.2 Soğutucularda muhafaza edilen hazır ürünler için işlemler

9.2.1 Genel

Ambalajlı ürünler için aşağıdakiler uygulanır:

- Yumuşak ambalajlar: makasla ya da neşter ile açılır (Madde 6.2).
- Sert ambalajlar (cam gibi): Dış yüzeyi alkol kullanılarak temizlenir ve dezenfekte edilir, daha sonra steril koşullarda açılır.

Sert veya yarı sert ambalajların yüzeyleri deterjan veya sabun kullanarak temizlenir, ardından temiz bir havlu veya emici bir kağıt yardımıyla kurulanır.

Ambalajın dış yüzeyini açarken bulaşmalara karşı dezenfekte edilir. Bu dezenfeksiyon işlemi büyük bir titizlikle uygulanmalıdır.

Ambalaj veya ambalaj işlevi gören malzeme çok ince olduğunda ve temizlik sırasında zarar görebilecekse, dezenfeksiyon işlemi yürütülemez.

İçindekiler dıştan gelebilecek bulaşmalara maruz kalmayacak durumda çıkarılabilecek durumda ise ambalajın temizlenmesine ya da dezenfekte edilmesine gerek yoktur.

Açma işleminden önce veya sonra yapılan tüm uygulamalar dışarıdan gelebilecek bulaşmaları önlemek amacıyla yapılacaktır.

Tepsilerin içinde satılan et parçalarının üzerindeki jelatinler tepsinin altından çekilmek suretiyle açılır.

Kontrollü atmosfer veya vakumlu ambalajlanmış etlerin dış yüzeyini saran jelatin steril bıçak, makas veya maşa kullanılarak açılır.

9.2.2 Deney numunesinin iç kısmından numune almak

Bu numune et parçasının yalnızca içini incelemek içindir ve numune alma işlemi, yüzeyi dağlama işlemi yapıldıktan sonra gerçekleştirilir. Yabani hayvanlardan alınan et parçalarının üzerindeki derilerin uygun bölümlerini ayırmak için maşa ya da neşter (Madde 6.2) kullanılır. (Bu durum, bu tip etlerin derileriyle birlikte sunulduğu durumlar için geçerlidir).

Ambalajlı ise, steril bıçak, neşter ya da aseptik bir teknik kullanılarak numune alınır ve steril bir tepsinin üzerine konulur. Yanlardan 5'er cm açmak için pümpüz (Madde 6.4) kullanılarak dış tabaka üst yüzeyden 2 mm kalınlığında ayrılır. Açılan alan kararına kadar dağlanır. Yeni sterilize edilmiş bıçak veya neşter (Madde 6.2) kullanılarak kararmış bölümün alt tarafından yanlardan 4'er cm, derinlemesine 1 cm olacak şekilde bir tabaka çıkartılır. Steril maşa ve neşter kullanılarak ayrılan alandan istenilen numune alınır ve steril kaba ya da plastik torbaya konulur.

Numune tartılır ve 9 kez seyreltilmiş karışıma ilave edilir (Madde 5.2).

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

9.2.3 Etin dış yüzeyinden numune alma

Numuneler ön dağlama yapılmadan alınır.

Ambalajlı ise, et numunesi aseptik bir teknik kullanılarak makasla ve neşter ile alınır ve steril bir tepsiye konulur (Madde 6.1). Sterilize ve dezenfekte edilmiş tepsi (Madde 6.5) kullanılır ve bu iş için belirli ortamlar tercih edilir (Ek A).

Steril neşter kullanılarak belirlenen alan iç kenarları boyunca kesilir. Daha sonra numuneyi kaldırmak için maşa kullanılarak belirlenen alan iç kenarları boyunca kesilir. Numuneyi kaldırmak için maşa kullanılarak tüm alanın etrafı 2 mm' den 3 mm' ye kadar kesilir. Parçalanmış etler seyrelti içinde numune homojen hâle getirileceğinden steril bir kap veya plastik bir torbaya konulur.

Numune tartılır ve üzerine 9 kez seyreltilmiş seyreltme çözeltisi ilave edilir (Madde 5.2).

Numune alınan alanla başlangıç süspansiyonun bütününi kolayca bir araya getirebilmek için eğer mümkünse eklenen seyreltme çözeltisinin miktarı ayarlanır (25 cm²'lik alana 250 mL süspansiyon gibi).

9.2.4 Ayı ayrı dilimlenmiş kısımlardan numune alma

Numuneler ön dağlama yapılmadan alınır.

Ambalajlı ise et aseptik bir teknik kullanılarak makasla ya da neşter (Madde 6.2) ile alınır ve steril bir tepsiye yerleştirilir (Madde 6.1). Numune düz bir şekilde konulur.

Steril neşter ve maşa kullanılarak en uzun alanın ortasından 1 cm genişliğinde bir şerit kesilir. Şerit küçük parçalara ayrılır ve seyrelti içinde numune homojen hâle getirileceğinden steril bir kap ya da plastik bir torbaya konulur (Madde 5.2).

Numune tartılır ve üzerine 9 kez seyreltilmiş seyreltme çözeltisi eklenir (Madde 5.2).

9.2.5 Kanatlı hayvan karkaslarından numune alma

9.2.5.1 Genel

Genelde numune aşağıdaki gibi alınır.

- Pektoral kasın içinden
- Deriden alınan yüzey numunesi
- Karkasların seyreltme çözeltisi içerisinde durulanması şeklinde (bu yöntem zarar verici boyutlarda değildir).

9.2.5.2 Pektoral kastan numune alma

Bu numune yüzey dağlandıktan sonra pektoral kasın içinden alınır. Kuşların belirli alanlardaki tüyleri yolunur (tüylü oldukları zaman).

Ambalajlı ise ambalajı çıkarmak için makas ve neşter (Madde 6.2) ile gerçekleştirilebilecek aseptik bir teknik kullanılır ve hayvan steril bir tepsiye (Madde 6.1) sırt üstü yerleştirilir.

Pürmüz (Madde 6.4) kullanılarak pektoral kasın üzerindeki deri dağlanır.

Dağlanmış deriyi atmak için neşter ve maşa (Madde 6.2) kullanılır.

Pürmüz (Madde 6.4) kullanılarak pektoral kasın ayrılmış parçası dağlanır.

Maşa ve neşter kullanılarak iç kısımlardan numune alınır.

Numune homojen hâle getirilmek üzere steril kaba veya plastik torbaya konulur.

Numune tartılır ve üzerine 9 kez seyreltilmiş seyreltme çözeltisinden ilave edilir (Madde 5.2)

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

9.2.5.3 Boyun derisinden numune alma

Numuneler ön dağılama yapılmadan alınır.

Et ambalajlı ise, makas ve neşter (Madde 6.2) kullanılarak aseptik bir biçimde alınır ve numune bölgeleri en üstte duracak biçimde steril bir tepsiye (Madde 6.1) yerleştirilir.

Steril maşa ve neşter veya makas (Madde 6.2) kullanılarak boyundan 5 ila 10 g arasında deri kesilir.

Trake ya da ozofagus hâlâ mevcutsa kesilerek atılır ve derinin iç yüzeyindeki fazla olan yağ da uzaklaştırılır. Seyreltilmiş içinde numune homojen hâle getirileceğinden steril bir kap ya da plastik bir torbaya konulur.

Numune tartılır ve üzerine 9 kez seyreltilmiş seyreltme çözeltisinden ilave edilir (Madde 5.2)

9.2.5.4 Yıkama tekniğiyle karkasın tümünden numune alma

Numuneler ön dağılama yapılmadan alınır.

Et ambalajlı ise, makas ve neşter (Madde 6.2) kullanılarak aseptik bir biçimde çıkartılır ve içinde çalkalanabilecek genişçe bir plastik torbaya konulur.

500 mL seyreltme çözeltisinden ilave edilir ve etin bütünüün yıkanması için 30 saniye çalkalanır. Seyreltme çözeltisi steril bir kaba aktarılır.

9.2.6 Kanatlı hayvan etinden numune alma

Madde 9.2.2 veya Madde 9.2.3'teki aşamalar takip edilir.

9.2.7 Tavşan etinden numune alma

Tüyuyle sunulan hayvanlar için, etlerinin belirli bölgelerindeki derilerini almak için neşter ve maşa (Madde 6.2) kullanılır.

Madde 9.2.3 ve Madde 9.2.5.4'teki işlemler takip edilir, fakat bu kez uyluk kasından bir numune almak için dağılama işlemi uygulanır.

Dağılama yapmadan belirli yüzeylerden numune almak için steril maşa ve neşter kullanılır ve numuneyi daha sonraki işlemler için steril bir kaba konulur.

Numune tartılır ve üzerine 9 kez seyreltilmiş seyreltme çözeltisinden ilave edilir.

9.3 Dondurulmuş etler için işlemler

9.3.1 Genel

Madde 9.3.2 veya Madde 9.3.3'deki durum dikkate alınır.

9.3.2 Önceden çözülmeyen dondurulmuş büyük parçalardan veya bloklardan alınan numuneler

9.3.2.1 Genel

Numune makas ve neşter (Madde 6.2) kullanılarak ambalajından ayrılır ve düz yüzeyi yukarıya gelecek şekilde bir tepsinin (Madde 6.1) üzerine konulur.

Madde 9.3.2.2, Madde 9.3.2.3, ve Madde 9.3.2.4'teki hususlar dikkate alınır.

9.3.2.2 Bütün numune (yüzey ve iç kısımlar)

Uygun parçalarla (Madde 6.6.2) veya diğer parçalarla (Madde 6.6.5) donatılmış elektrikli matkap (Madde 6.6.1) veya belirli noktalarda (Ek B) çukurlar açabilen el matkabı kullanılır. Bu işlem için kırntıların erimesini ve dağılmasını önlemek amacıyla matkabın hızı (Madde 6.6.1) ve gereçlerin (Madde 6.6.5) hızı (900 devir/min) ayarlanır.

Spatüla (Madde 6.2) kullanılarak oluşan kırntılar toplanır ve karışımda kullanmak üzere ziftli kaba veya plastik torbaya konulur. Karışım 50 g' dan fazlaysa homojen karışıma bir örnek oluşturabilmek için plastik torbanın içinde tekrar karıştırılır.

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Bu işlem, numunenin sıcaklığında bir artışa neden olmamalıdır.

9.3.2.3 İç kısımlardan numune alma

Odun keski (Madde 6.6.3) ve çekiç (Madde 6.6.4) kullanılarak 6 cm kalınlığındaki bir alandan 3 mm kalınlığında şerit şeklinde bir yüzey kesilir. Pürmüz (Madde 6.4) kullanılarak daha önce temiz olan yüzey karbonlaşmaya kadar dağlanır. Daha sonra parça etler, alt kısmına dokunmadan dağlanmış kısımda delikler açarak Madde 9.2.2' deki talimatlar dahilinde işlem sürdürülür.

9.3.2.4 Yüzeyden numune alma

Tepsi (Madde 6.5) ve odun keski (Madde 6.6.3) alkole batırılarak ve alevden geçirilerek sterilize edilir. Tepsi henüz sıcakken dondurulmuş etin yüzeyine uygulanır. Steril keski (Madde 6.6.3) ve çekiç (Madde 6.6.4) kullanılarak 2 mm' lik tepsi içerisindeki etin üst tabakası sıyrılır. Parça etleri aseptik bir şekilde küçük bir şişeye ya da stomaher kabı içerisine alınır.

Seyrelti içinde numune homojen hâle getirileceğinden steril bir kap ya da plastik bir torbaya konulur.

Numune tartılır ve üzerine 9 kez seyreltilmiş seyreltme çözeltisinden ilave edilir (Madde 5.2).

9.3.3 Çözünmeye hazır küçük numuneler

Bu numuneler, küçük küpler hâlinde kesilmiş etler ile kanatlı hayvan ve tavşan etlerini kapsar.

Numune ambalajın içerisinde ise içleri tamamen çözülünceye kadar ve eriyen buzun suyu kalmayacak şekilde uygun bir sıcaklıkta çözündürülür. Bu işlem 2 - 3 saati aşmamalıdır.

Çözündürme işlemi 3 saatten fazla sürerse, numune en fazla 18 saat içinde 2°C±2 sıcaklıkta kapalı bir odada yavaşça çözülür.

Duruma göre, Madde 9.2.4, Madde 9.2.5, Madde 9.2.6 ve Madde 9.2.7'de belirtilen talimatlar uygulanır.

Sıcaklık kontrollü su banyosu içerisinde yapılan çözündürme işlemleri, ürünün ambalajının tamamen su geçirmez özelliklere sahip olmadığı durumlarda örneğin bulaşma riski taşıyacağı göz önüne alınarak tavsiye edilmemektedir.

Not - Kanatlı hayvan ve tavşan etlerinin 15 saat ile 16 saat arasında 0°C ile 2°C arasında sıcaklığa sahip olan soğuk odalarda çözündürülmesi doğal bir işlemdir. Kanatlı hayvan etlerinin suya bastırılarak eritilmesi çoğu kez çözündürme aşamasında gözle görülebilir su kaybına neden olabilir.

9.4 Kısmen suyu alınmış et ekstraktları için uygulanacak işlemler

Madde 9.2'de olduğu gibi ambalaj açılır.

Spatula (Madde 6.2) kullanılarak belirli bir parça alınır ve Madde 9.3'de dondurulmuş ürünlere uygulanan metodu kullanarak işlemler gerçekleştirilir.

Suyu alınmış etler için ISO 6887-4'e bakılır.

9.5 Yüzey numuneleri (Pamuklar ve küçük bezler)

Numune alma işlemleri ISO 17604'de verilmiştir.

Pamuğun üzerinde bulunan mikroorganizmaları yok etmek için daha önce onların emdirildiği aynı pamuk seyreltme çözeltisi içerisinde kanştırılır.

Bu işlemi yapmak için, pamukların kolaylıkla çalkalanabilmesi amacıyla, ölçülü miktarda seyreltilmiş çözelti ve cam boncuk bulunan şişenin içerisine bir miktar pamuk ilave edilir.

Sonuç daha sonra ondalıklı oranlarda seyreltilebilir.

10 Daha sonraki seyreltme işlemleri

Daha sonra uygulanacak seyreltme işlemleri ISO 6887-1'e göre yapılır.

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Ek A (Bilgi için)

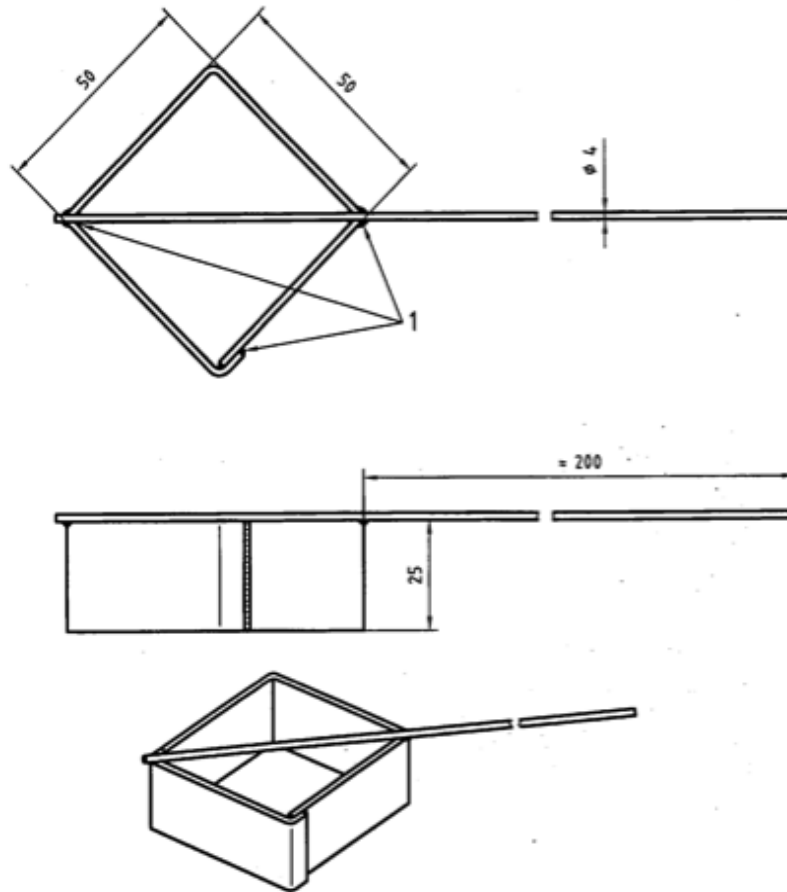
Yüzeyden alınan numunenin yapısı

Malzemeler şu şekilde olabilir;

- Çerçeve: 3/10 mm kalınlığında paslanmaz çelik levha,
- Sap: 4 mm çapında paslanmaz çelik silindirik sap,

Taslağın uygun bir numunealacakları örneği Şekil A.1'de gösterilmiştir.

Ölçüler, mm'dir.



Açıklama

1. Kaynak noktaları

Şekil A.1

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Ek B

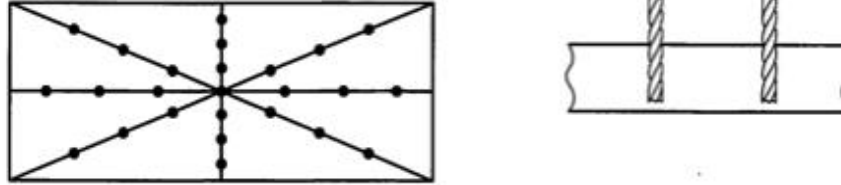
Dondurulmuş ya da derin dondurulmuş numune parçalarının ve bloklarının incelenme metotları

B.1 Homojen olmayan bloklar

25 ila 30 kg arasındaki homojen olmayan bloklar (sıkıştırılmış, çeşitlendirilmiş donmuş ya da derin dondurulmuş parçalar) için numunede delik açma işlemi Şekil B.1'de gösterildiği gibi olmalıdır.

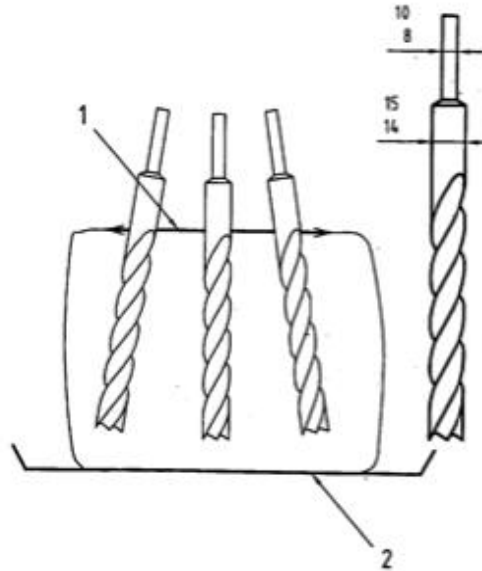
B.2 Homojen numune parçaları

Homojen bloklar için numunedeki delik noktaları ve ölçüsü Şekil B.2'de gösterildiği gibi olmalıdır.



Şekil B.1

Milimetrik boyutlar



Şekil B.2

Açıklama

1. Dağılanmış bölge
2. Tepsi

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Kaynaklar

- [1] ISO 6887-4, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products
- [2] ISO 7002, Agricultural food products - Layout for a standard method of sampling from a lot
- [3] ISO 8261, Milk and milk products - General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination

EK-1. (devam) Deney numunelerinin hazırlanması standardı

ICS 67.050

TÜRK STANDARDI

TS EN ISO 6887-2/Aralık 2008

Ek ZA

Atıf yapılan uluslar arası standardlar ile bu standartlara karşılık gelen Avrupa standartları

Bu standardda, tarih belirtilerek veya belirtilmeksizin diğer standartlara atıf yapılmaktadır. Bu atıflar metin içerisinde uygun yerlerde belirtilmiş ve aşağıda liste halinde verilmiştir. Tarih belirtilen atıflarda daha sonra yapılan tadil veya revizyonlar, atıf yapan bu standardda tadil veya revizyon yapılması şartı ile uygulanır. Atıf yapılan standardın tarihinin belirtilmemesi hâlinde ilgili standardın en son baskısı kullanılır (tadiller dâhil).

Not - Uluslar arası bir yayının (mod.) olarak gösterilen yeni düzenlemelerle değiştirildiği yerlerde, ilgili EN/HD standartları uygulanır.

<u>Standard numarası</u>	<u>Yılı</u>	<u>Adı</u>	<u>EN/HD</u>	<u>Yılı</u>
ISO 6887-1	1999	Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions	EN ISO 6887-1	1999

EK-2. Enterobacteriaceae'nin aranması standardı



TÜRK STANDARDI
TURKISH STANDARD

TS ISO 21528-2:2011
Nisan 2012



ICS 07.100.01

**GIDA VE HAYVAN YEMLERİ MİKROBİYOLOJİSİ-
ENTEROBACTERİACEAE'NİN ARANMASI VE SAYIMI İÇİN
YATAY YÖNTEM-BÖLÜM 2:KOLONİ SAYIM YÖNTEMİ**

Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal
methods for the detection and enumeration of
Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count method

TÜRK STANDARDLARI ENSTİTÜSÜ
Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04

**INTERNATIONAL
STANDARD**

**ISO
21528-2**

First edition
2004-08-15

**Microbiology of food and animal feeding
stuffs — Horizontal methods for the
detection and enumeration of
Enterobacteriaceae —**

**Part 2:
Colony-count method**

*Microbiologie des aliments — Méthodes horizontales pour la recherche
et le dénombrement des Enterobacteriaceae —*

Partie 2: Méthode par comptage des colonies



Reference number
ISO 21528-2:2004(E)

TÜRK STANDARDLARININ TELİF HAKKI TÜRKİYE STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ (TSE) TARAFINDAN BU NÜSHASININ KULLANIM İZİNİ TSE TARAFINDAN © ISO 2004
*GAZİ ÜNİVERSİTESİ'NE VERİLMİŞTİR. BASILMA TARİHİ: 26.03.2014
TSE'DEN İZİN ALINMADAN STANDARTIN BİR KÖPÜKÜ TAMAMI İLE YENİDEN YAYINLANMASI İÇİN İZİN ALINMALI DİR.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04
ISO 21528-2:2004(E)

Contents	Page
Foreword	iv
Introduction	v
1 Scope	1
2 Normative references	1
3 Terms and definitions	2
4 Principle	2
4.1 Preparation of initial suspension and decimal dilutions	2
4.2 Isolation	2
4.3 Confirmation	2
4.4 Calculation	2
5 Diluent, culture media and reagent	3
6 Apparatus and glassware	5
7 Sampling	5
8 Preparation of test sample	6
9 Procedure	6
9.1 General	6
9.2 Test portion, initial suspension and dilutions	6
9.3 Inoculation and incubation	6
9.4 Counting and selection of colonies for confirmation	6
9.5 Subculturing selected colonies	7
9.6 Biochemical confirmation tests	7
10 Expression of results	7
11 Test report	8
Annex A (normative) Confidence limits for the estimation of small numbers of colonies	9
Bibliography	10

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

ISO 21528-2:2004(E)

TS ISO 21528-2 : 2012-04

Foreword

ISO (the International Organization for Standardization) is a worldwide federation of national standards bodies (ISO member bodies). The work of preparing International Standards is normally carried out through ISO technical committees. Each member body interested in a subject for which a technical committee has been established has the right to be represented on that committee. International organizations, governmental and non-governmental, in liaison with ISO, also take part in the work. ISO collaborates closely with the International Electrotechnical Commission (IEC) on all matters of electrotechnical standardization.

International Standards are drafted in accordance with the rules given in the ISO/IEC Directives, Part 2.

The main task of technical committees is to prepare International Standards. Draft International Standards adopted by the technical committees are circulated to the member bodies for voting. Publication as an International Standard requires approval by at least 75 % of the member bodies casting a vote.

Attention is drawn to the possibility that some of the elements of this document may be the subject of patent rights. ISO shall not be held responsible for identifying any or all such patent rights.

ISO 21528-2 was prepared by Technical Committee ISO/TC 34, *Food products*, Subcommittee SC 9, *Microbiology*.

This first edition of ISO 21528-2, together with ISO 21528-1:2004, cancels and replaces the following standards:

- ISO 5552:1997, *Meat and meat products — Detection and enumeration of Enterobacteriaceae without resuscitation — MPN technique and colony-count technique*;
- ISO 7402:1993, *Microbiology — General guidance for the enumeration of Enterobacteriaceae without resuscitation — MPN technique and colony-count technique*;
- ISO 8523:1991, *Microbiology — General guidance for the detection of Enterobacteriaceae with pre-enrichment*.

ISO 21528 consists of the following parts, under the general title *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae*:

- Part 1: *Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment*
- Part 2: *Colony-count method*

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04
ISO 21528-2:2004(E)

Introduction

This part of ISO 21528 is intended to provide general guidance for the examination of products not dealt with by existing International Standards and to be taken into account by organizations preparing microbiological test methods for application to foods or animal feeding stuffs. Because of the large variety of products within this field of application, these guidelines may not be appropriate in every detail for certain products, and for some other products it may be necessary to use different methods. Nevertheless, it is hoped that in all cases every attempt will be made to apply the guidelines provided as far as possible and that deviations from them will only be made if absolutely necessary for technical reasons.

When this part of ISO 21528 is next reviewed, account will be taken of all information then available regarding the extent to which the guidelines have been followed and the reasons for deviation from them in the case of particular products.

The harmonization of test methods cannot be immediate, and for certain groups of products International Standards and/or national standards may already exist that do not comply with this horizontal method. It is hoped that when such standards are reviewed they will be changed to comply with this part of ISO 21528 so that eventually the only remaining departures from this horizontal method will be those necessary for well-established technical reasons.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

INTERNATIONAL STANDARD	TS ISO 21528-2 : 2012-04 ISO 21528-2:2004(E)
------------------------	---

Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae —

Part 2: Colony-count method

1 Scope

This part of ISO 21528 specifies a method, without pre-enrichment, for the enumeration of Enterobacteriaceae. It is applicable to

- products intended for human consumption and the feeding of animals, and
- environmental samples in the area of food production and food handling.

Enumeration is carried out by counting colonies in a solid medium after incubation at 37 °C (or 30 °C)¹⁾.

This technique is recommended when the number of colonies sought is expected to be more than 100 per millilitre or per gram of the test sample.

2 Normative references

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

ISO 6887-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1 : General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*

ISO 6887-2, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products*

ISO 6887-3, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products*

ISO 6887-4, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products*

1) The temperature of 37 °C is generally used when the enumeration of Enterobacteriaceae is for a hygienic indicator. Alternatively, a temperature of 30 °C can be chosen when the enumeration of Enterobacteriaceae is conducted for technological purposes and includes psychrotrophic Enterobacteriaceae.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04

ISO 21528-2:2004(E)

ISO 7218:1996, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations*, and Amendment 1:2001.

ISO 8261, *Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO/TS 11133-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory*

ISO/TS 11133-2:2003, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media*

3 Terms and definitions

For the purposes of this document, the following terms and definitions apply.

3.1

Enterobacteriaceae

microorganisms that form characteristic colonies on violet red bile glucose agar and that ferment glucose and show a negative oxidase reaction when the tests are carried out in accordance with the methods specified in this part of ISO 21528

3.2

count of Enterobacteriaceae

number of Enterobacteriaceae found per millilitre or per gram of the test sample when the test is carried out according to the method specified in this part of ISO 21528

4 Principle

4.1 Preparation of initial suspension and decimal dilutions

An initial suspension and decimal dilutions are prepared from the test sample.

4.2 Isolation

Violet red bile glucose agar contained in two Petri dishes (poured-plate technique) is inoculated with a specified quantity of the test sample if the product is liquid, or of the initial suspension in the case of other products. An overlay of the same medium is added.

Other pairs of plates are prepared under the same conditions, using decimal dilutions of the test sample or of the initial suspension.

The dishes are incubated at 37 °C (or 30 °C)¹⁾ for 24 h ± 2 h.

4.3 Confirmation

Subculture of colonies of presumptive Enterobacteriaceae on non-selective medium, and confirmation by means of tests for fermentation of glucose and presence of oxidase.

4.4 Calculation

The number of Enterobacteriaceae per millilitre or gram of the test sample is calculated from the number of confirmed typical colonies per dish.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04
ISO 21528-2:2004(E)

5 Diluent, culture media and reagent

For current laboratory practice, see ISO 7218, ISO/TS 11133-1 and ISO/TS 11133-2.

5.1 Diluent

See ISO 6887-1.

5.2 Culture media

5.2.1 Violet red bile glucose (VRBG) agar

5.2.1.1 Composition

Enzymatic digest of animal tissues	7,0 g
Yeast extract	3,0 g
Bile salts No. 3	1,5 g
Glucose	10,0 g
Sodium chloride	5,0 g
Neutral red	0,03 g
Crystal violet	0,002 g
Agar	9 g to 18 g ^a
Water	1 000 ml

^a Depending on the gel strength of the agar.

5.2.1.2 Preparation

Dissolve the components or the dehydrated complete medium in the water by boiling.

Adjust the pH, if necessary, so that after boiling it is $7,4 \pm 0,2$ at 25 °C.

Dispense the culture medium into sterile tubes or flasks (6.5) of capacity not more than 500 ml.

Do not sterilize the medium.

Prepare the medium just before use. Use the molten medium within 4 h of its preparation.

5.2.1.3 Performance testing for the quality assurance of the culture medium

For the definition of selectivity and productivity refer to ISO/TS 11133-1. For the performance criteria, refer to ISO/TS 11133-2:2003, Table B.1.

5.2.2 Nutrient agar

5.2.2.1 Composition

Meat extract	3,0 g
Enzymatic digest of animal tissues	5,0 g
Sodium chloride	5,0 g
Agar	9 g to 18 g ^a
Water	1 000 ml

^a Depending on the gel strength of the agar.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

ISO 21528-2:2004(E)

TS ISO 21528-2 : 2012-04

5.2.2.2 Preparation

Dissolve the components or the dehydrated complete medium in the water, by heating if necessary.

Adjust the pH, if necessary, so that after sterilization it is $7,3 \pm 0,2$ at 25°C .

Dispense the culture medium into sterile tubes or flasks (6.5) of capacity not more than 500 ml.

Sterilize for 15 min in an autoclave (6.1) set at 121°C .

5.2.2.3 Preparation of agar plates

Transfer portions of about 15 ml of the culture medium, melted and cooled to approximately 47°C , to Petri dishes (6.6) and allow to solidify.

Just before use, dry the plates, preferably with the lids off and the agar surface downwards, in a drying cabinet (6.3) until the agar is dry.

If prepared in advance, the undried plates may be stored in conditions that do not change their composition for up to 2 weeks at $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$.

5.2.2.4 Performance testing for the quality assurance of the culture medium

For the definition of selectivity and productivity refer to ISO/TS 11133-1. For the performance criteria, refer to ISO/TS 11133-2:2003, Table B.6.

5.2.3 Glucose agar

5.2.3.1 Composition

Enzymatic digest of casein	10,0 g
Yeast extract	1,5 g
Glucose	10,0 g
Sodium chloride	5,0 g
Bromocresol purple	0,015 g
Agar	9 g to 18 g ^a
Water	1 000 ml

^a Depending on the gel strength of the agar.

5.2.3.2 Preparation

Dissolve the components or the dehydrated complete medium in the water by heating if necessary.

Adjust the pH, if necessary, so that after sterilization it is $7,0 \pm 0,2$ at 25°C .

Dispense the culture medium into sterile tubes or flasks (6.5) of appropriate capacity.

Sterilize for 15 min in an autoclave (6.1) set at 121°C . Leave the tubes in a vertical position.

The medium may be stored for up to 1 week at $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$.

Just before use, heat in boiling water or flowing steam for 15 min, then cool rapidly to the incubation temperature.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04
ISO 21528-2:2004(E)

5.3 Oxidase reagent

5.3.1 Components

<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- <i>p</i> -phenylenediamine dihydrochloride	1,0 g
Water	100 ml

5.3.3 Preparation

Dissolve the component in the cold water.

Prepare the reagent just before use.

Commercially available disks or sticks may be used. In this case, follow the manufacturer's recommendations.

6 Apparatus and glassware

Usual microbiological laboratory apparatus and, in particular, the following (see ISO 7218).

6.1 Apparatus for dry sterilization (oven) or wet sterilization (autoclave)

See ISO 7218.

6.2 Incubator, capable of operating at $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.3 Drying cabinet (ventilated by convection) or incubator, capable of operating between $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.4 Water bath, or similar apparatus, capable of being maintained at between $44\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $47\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.5 Containers (e.g. test tubes), of dimensions $16\text{ mm} \times 160\text{ mm}$ and $20\text{ mm} \times 200\text{ mm}$, or flasks or bottles of capacity between 150 ml and 500 ml, suitable for the sterilization and storage of culture media.

6.6 Petri dishes, made of glass or plastics, of diameter 90 mm to 100 mm.

6.7 Loops (of diameter approximately 3 mm) and wires, made of platinum/iridium or nickel/chromium, and/or glass rods, or equivalent sterile disposable loops or inoculating needles.

6.8 Total-delivery graduated pipettes, of 1 ml nominal capacity, graduated in divisions of 0,1 ml with an outflow opening of 2 mm to 3 mm in diameter.

6.9 pH-meter, accurate to within $\pm 0,1$ pH unit at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.10 Homogenizer

See ISO 7218.

7 Sampling

It is important that the laboratory receive a sample which is truly representative of the product and has not been damaged or changed during transport or storage.

Sampling should be carried out in accordance with the specific International Standard appropriate to the product concerned. If there is no specific International Standard, it is recommended that agreement be reached on this subject by the parties concerned.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

ISO 21528-2:2004(E)

TS ISO 21528-2 : 2012-04

8 Preparation of test sample

Prepare the test sample in accordance with ISO 6887-1, ISO 6887-2, ISO 6887-3, ISO 6887-4 or ISO 8261 and/or the specific International Standard appropriate to the product concerned. If there is no specific International Standard, it is recommended that agreement be reached on this subject by the parties concerned.

9 Procedure

9.1 General

For guidance in carrying out the procedure, see ISO 7218.

9.2 Test portion, initial suspension and dilutions

See ISO 6887-1, ISO 6887-2, ISO 6887-3, ISO 6887-4 and/or ISO 8261.

Prepare a single decimal dilution series from the test sample if the product is liquid, or from the initial suspension in the case of other products.

9.3 Inoculation and incubation

9.3.1 Take two sterile Petri dishes (6.6). Using a sterile pipette (6.8), transfer to each dish 1 ml of the test sample if the product is liquid, or 1 ml of the initial suspension in case of other products.

Take two other sterile Petri dishes. Using a fresh sterile pipette, transfer to each dish 1 ml of the first decimal dilution (10^{-1}) of the test sample if the product is liquid, or 1 ml of the first decimal dilution of the initial suspension (10^{-2}) in case of other products.

Repeat the procedure described with the further dilutions, using a fresh sterile pipette for each dilution.

9.3.2 Pour into each Petri dish approximately 10 ml of the violet red bile glucose medium (5.2.1) which has been prepared then cooled to 44 °C to 47 °C in the water bath (6.4). The time elapsing between inoculation of the Petri dishes and the moment when the medium is poured into the dishes shall not exceed 15 min.

Carefully mix the inoculum with the medium by horizontal movements and allow the medium to solidify, with the Petri dishes standing on a cool surface.

9.3.3 After complete solidification of the mixture, add a covering layer of approximately 15 ml of the violet red bile glucose medium (5.2.1), prepared then cooled as described in 9.3.2, to prevent spreading growth and to achieve semi-anaerobic conditions. Allow to solidify as described above.

9.3.4 Invert the prepared dishes and incubate them in the incubator (6.2) set at 37 °C for 24 h ± 2 h.

9.4 Counting and selection of colonies for confirmation

Characteristic colonies are pink to red or purple (with or without precipitation haloes).

Select the dishes (see 9.3.4) containing less than 150 characteristic colonies; count these colonies. Then choose at random five such colonies for subculturing (see 9.5) for the biochemical confirmation tests (see 9.6).

Consider the determination to be void if half or more than half of the surface area of a dish is overgrown. If less than half of the surface of a dish is overgrown, count the colonies on the clear part and extrapolate so that the number corresponds to the total surface area of the dish.

Certain Enterobacteriaceae may cause decoloration of their colonies or of the medium. Therefore, when no characteristic colonies are present, choose five whitish colonies for confirmation.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04
ISO 21528-2:2004(E)

9.5 Subculturing selected colonies

Streak onto nutrient agar plates (5.2.2) each of the colonies selected for confirmation (see 9.4).

Incubate these plates at 37 °C for 24 h ± 2 h.

Select a well-isolated colony from each of the incubated plates for the biochemical confirmation tests (see 9.6).

9.6 Biochemical confirmation tests

9.6.1 Oxidase reaction

Using a loop or wire or a glass rod (6.7), take a portion of each well-isolated colony (see 9.5) and streak onto a filter paper moistened with the oxidase reagent (5.3) or onto a commercially available disc. A nickel/chromium loop or wire shall not be used.

Consider the test to be negative when the colour of the filter paper does not turn dark within 10 s.

Consult the manufacturer's instructions for ready-to-use discs.

9.6.2 Fermentation test

Stab, using a wire (6.7), the same colonies selected in 9.5 that gave a negative oxidase test into tubes containing glucose agar (5.2.3).

Incubate these tubes at 37 °C for 24 h ± 2 h.

If a yellow colour develops throughout the contents of the tube, regard the reaction as being positive.

9.6.3 Interpretation of biochemical tests

Colonies that are oxidase-negative and glucose-positive are confirmed as Enterobacteriaceae.

10 Expression of results

See ISO 7218/Amd.1.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

ISO 21528-2:2004(E)

TS ISO 21528-2 : 2012-04

11 Test report

The test report shall specify:

- all information necessary for the complete identification of the sample;
- the sampling method used, if known;
- the test method used, with reference to this part of ISO 21528;
- the incubation temperature used;
- all operating details not specified in this part of ISO 21528, or regarded as optional, together with details of any incidents which may have influenced the test results;
- the test results obtained.

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

TS ISO 21528-2 : 2012-04
ISO 21528-2:2004(E)

Annex A

(normative)

Confidence limits for the estimation of small numbers of colonies

The confidence limits at the 95 % level for the estimation of small numbers, when the number of colonies retained is less than 15, are given in Table A.1.

Table A.1 — Confidence limits for the estimation of small numbers of colonies

Number of microorganisms	Confidence limits at the 95 % level	
	lower	upper
1	<1	2
2	<1	4
3	<1	5
4	1	6
5	2	9
6	2	10
7	2	12
8	3	13
9	4	14
10	4	16
11	5	18
12	6	19
13	7	20
14	7	21
15	8	23

EK-2. (devam) Enterobacteriaceae'nin aranması standardı

ISO 21528-2:2004(E)

TS ISO 21528-2 : 2012-04

Bibliography

- [1] COWELL N.D. and MORISETTI M.D. *J. Sci. Fd. Agric.*, **20**, 1969, p. 573

EK-3. Salmonella spp. analiz yöntemi

Salmonella Assays

PCR Assay for *Salmonella* – Kit #D11000133

PCR Assay for *Salmonella* 2 – Kit #D14368501

1. Enrich Samples

 This test kit's performance was reviewed by AOAC Research Institute and was found to perform to the manufacturer's specifications. The AOAC Research Institute has validated the BAX® System for detecting <i>Salmonella</i> in meat, poultry, fruit and vegetable products, dairy products, chocolate/bakery products, pasta, dry pet food and environmental. AOAC International has also validated the BAX® System on raw ground beef, raw ground chicken, raw frozen fish, mozzarella cheese, frankfurters and orange juice as AOAC International Official MethodSM 2003.09.		
Sample type	Primary enrichment	Secondary enrichment
Standard media		
Meat and poultry	Blend (if ground or processed) or gently massage (if not ground) 25 g sample in 225 mL pre-warmed (35°C) buffered peptone water. Incubate at 35°C for 20-24 hours.	none
Mozzarella cheese	Blend 25 g sample in 225 mL pre-warmed (35°C) buffered peptone water. Incubate at 35°C for 20-24 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Liquid eggs	Blend 25 g sample in 225 mL pre-warmed (35°C) buffered peptone water. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Peanut butter	Blend 25 g sample with 225 mL lactose broth. Let stand at room temperature 55-65 minutes. Adjust pH to 6.8±0.2. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	Add 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Alfalfa sprouts	Blend 25 g sample in 225 mL pre-warmed (42°C) buffered peptone water with novobiocin (20 mg/L). Incubate at 42°C for 20-24 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Raw frozen fish	Blend 25 g sample in 225 mL lactose broth for 2 minutes. Let stand at room temperature 55-65 minutes. Adjust pH to 6.8±0.2. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	none
Orange juice	Blend 25 g sample in 225 mL universal pre-enrichment broth. Let stand at room temperature 55-65 minutes. Do not adjust pH. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.

EK-3. (devam) Salmonella spp. analiz yöntemi

Chapter II – Protocols for Standard Assays

Enrich Samples (continued)

Sample type	Primary enrichment	Secondary enrichment
Milk chocolate	Blend 25 g sample in 225 mL reconstituted nonfat dry milk. Let stand at room temperature 55-65 minutes. Adjust pH to 6.8±0.2. Add 0.45 ml 1% brilliant green dye solution. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Nonfat dry milk	Pour 25 g sample over 225 mL brilliant green water (2 ml 1% brilliant green dye solution/L deionized water). Let stand at room temperature 55-65 minutes. Without mixing or adjusting pH, incubate at 35°C for 22-26 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Black pepper	Blend 25 g sample in 225 mL trypticase soy broth. Let stand at room temperature 55-65 minutes. Adjust pH to 6.8±0.2. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Custard, 2% milk, chilled ready meal, cooked fish, prawns, macaroni, pizza dough, frozen peas and dry pet food	Blend 25 g sample with 225 mL pre-warmed (35°C) lactose broth. Incubate at 35°C for 22-26 hours.	Add 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Soy protein flour	Pour 25 g sample over the surface of 225 mL lactose broth in a flask. Let stand for 55-65 minutes at room temperature. Cap loosely. Incubate at 37°C for 18-22 hours.	Add 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
Environmental sponges	Use a sponge pre-moistened in 10 mL D/E Neutralizing Broth or equivalent to sample a 4x4 inch (10x10 cm) environmental area. Finished Product Areas – Place sponge in 225 mL pre-warmed (35°C) lactose broth and incubate at 35°C for 22-26 hours. Raw Materials Areas – Place sponge in 225 mL pre-warmed (35°C) BPW and incubate at 35°C for 22-26 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL pre-warmed (37°C) BHI. Incubate at 37°C for 3 hours.
BAX® System MP media		
Ground beef	Stomach 25 g sample with 225 mL pre-warmed (42°C) prepared BAX® System MP media. Incubate at 42°C for 8-24 hours.	none
Beef trim	Massage 65 g sample in 585 mL pre-warmed (42°C) prepared BAX® System MP media. Incubate at 42°C for 8-24 hours.	none
Spinach and lettuce	Stomach 25 g sample with 225 mL pre-warmed (42°C) prepared BAX® System MP media. Incubate at 42°C for 8-24 hours.	none

EK-3. (devam) *Salmonella* spp. analiz yöntemi

Enrich Samples (continued)

 The French Association of Normalization (AFNOR) has certified the BAX® System in the scope of NF VALIDATION for detecting <i>Salmonella</i> in all human food products, animal feed and environmental samples (except primary production stage environmental). Certificate: QJA 1803 – 11/03 Expiration: 2014.11.28 Alternative ANALYTICAL methods for AGRIBUSINESS www.afnor-validation.com		
Sample type	Primary enrichment	Secondary enrichment
Standard media		
Unseasoned raw meats and poultry	Blend sample in 1:10 dilution of room-temperature buffered peptone water. Incubate at 37°C for 16-20 hours.	none
Dairy (except powdered milk)	Blend sample in 1:10 dilution of room-temperature buffered peptone water with novobiocin (20 mg/L). Incubate at 42°C for 20-24 hours.	none
Other foods and environmental	Blend sample in 1:10 dilution of room-temperature buffered peptone water. Incubate at 37°C for 16-20 hours.	Transfer 10 µL enriched sample to 500 µL room-temperature BHI. Incubate at 37°C for 3-4 hours.
BAX® System MP media		
Raw beef, including seasoned and frozen beef	Blend sample in 1:10 dilution of pre-warmed (42°C) BAX® System MP media. Incubate at 42°C for 9-24 hours.	none
Other raw meat	Blend sample in 1:10 dilution of pre-warmed (42°C) BAX® System MP media. Incubate at 42°C for 24 hours.	none

NordVal has certified the BAX® System for detecting *Salmonella* in all foods, feed and environmental samples. See NordVal Certificate #30 (<http://www.nmkl.org/NordVal/Sertifikater/NordVal030.pdf>) for details.

The **USDA Food Safety and Inspection Service (USDA-FSIS)** has adopted the BAX® System for detecting *Salmonella* in raw carcass sponges, whole bird rinses, ready-to-eat meat and poultry products and pasteurized liquid egg products with a modified enrichment protocol. See Laboratory Procedure #MLG 4C.03 (http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_4C_03.pdf) for details and protocols.

The **USDA National Poultry Improvement Plan (USDA-NPIP)** has developed an alternative protocol for detecting *Salmonella* in environmental samples, including drag swabs, fecal samples, dust, chick pads and meconium. Contact DuPont Nutrition & Health Diagnostics Customer Support for details and protocols.

The **U.S. Food and Drug Administration (US-FDA) Egg Safety Action Plan** has determined the BAX® System to be equivalent to the FDA-BAM method (Chapter 5: *Salmonella*) for detecting *Salmonella* Enteritidis in pooled liquid eggs, without the 96-hour hold time recommended by the BAM. See <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Eggs/ucm228796.htm> for details or contact DuPont Nutrition & Health Diagnostics Customer Support for protocols.

EK-3. (devam) Salmonella spp. analiz yöntemi

Chapter II – Protocols for Standard Assays

2. Prepare Equipment

1. Turn on the heating blocks, and set temperatures to 37°C and 95°C.
2. Make sure that the cooling blocks have been refrigerated overnight or otherwise chilled at 2-8°C. If you find that they have NOT been adequately chilled, call for technical assistance.
3. Create a rack file (see "Creating a Rack File" in Chapter VIII: BAX® System Software for details).

3. Perform Lysis

Prepare cluster tubes

1. Break cluster tubes apart. Label and arrange cluster tubes in the rack, according to your rack file.
 2. Prepare the lysis reagent by adding 150 µL of protease to one 12-mL bottle of lysis buffer.
 3. Transfer 200 µL lysis reagent to each of the cluster tubes.
 4. Transfer 5 µL enriched sample to the corresponding cluster tubes, using new pipette tips for each sample.
- Note: Do not shake or mix the enrichment before transferring samples to cluster tubes.*
5. After all transfers have been completed, secure the caps.

Heat the cluster tubes

1. Place the rack of cluster tubes on the heating block pre-warmed to 37°C for 20 minutes.
2. Transfer cluster tubes to heating block pre-warmed to 95° for 10 minutes.
3. After lysis is complete, set a chilled (2-8°C) cluster tube insert into the cooling block.
4. Place the cluster tubes into the insert and allow to cool for at least five minutes.

Note: Minimize the time between removing the cooling block inserts from the refrigerator and using them to keep them as chilled as possible. Remember that you must finish using the cooling blocks within 30 minutes of removing them from the refrigerator.

Note: These steps can also be performed using the DuPont™ Thermal Block. See the Thermal Block User Guide for details and instructions.

4. Hydrate PCR Tablets with Lysate

1. Initialize the BAX® System instrument (see "Running a Full Process" in Chapter VIII: BAX® System Software for details).
 2. Select a chilled (4°C) PCR cooling block.
- Note: Remember that you must finish using the cooling blocks within 30 minutes of removing them from the refrigerator.*
3. Place a PCR tube rack over the insert.
 4. Place PCR tubes in the holder. Mark the top of each strip to maintain orientation when placing strips in the instrument.
 5. Verify that the instrument has reached the correct load temperature and prompts you to continue, then remove the caps from the first strip of tubes with the decapping tool and transfer 50 µL lysate to PCR tubes.
 6. Place new optical caps on the strip of tubes, and secure tightly.
 7. Repeat from step 4 for the next strip of tubes, continuing until all tubes have been resealed.
 8. Take the rack of tubes in the cooling block to the BAX® System Q7 instrument. Load samples as described in Chapter VIII.

Note: Samples must remain chilled at 2-8°C until loaded into the instrument.

EK-3. (devam) *Salmonella* spp. analiz yöntemi

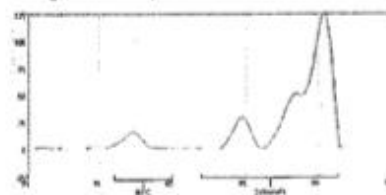
5. Review Results

Positive *Salmonella* Melting Curve Profiles

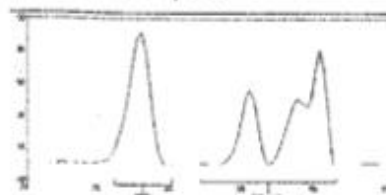
- Three target peaks at approximately 85, 88 and 90°C.
- Approximately 5°C distance between the first and the third peak.
- Target peak range 82 to 91°C.
- Control peak range 76 to 80°C.

When the *Salmonella* level in a sample is very high, the 88°C and the 90°C peaks may merge, so that you see only two distinct peaks. In this case, the merged peak is very large and the control peak may be very small or absent.

Strong *Salmonella* positive

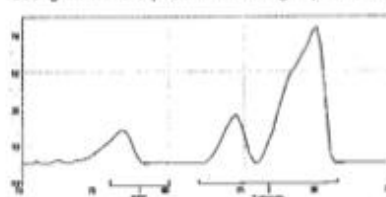


Moderate *Salmonella* positive

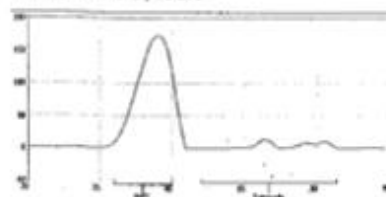


(notice the increased height of the control peak)

Strong *Salmonella* positive with merged peaks 2&3



Weak *Salmonella* positive

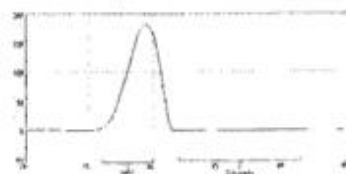


Negative *Salmonella* Melting Curve Profile

- No target peaks; large control peak is present.

In some cases, you may see very small non-specific peaks in the 84 to 92°C temperature range, but they will not appear as described above for positive results.

Salmonella negative



EK-3. (devam) Salmonella spp. analiz yöntemi

6. Confirm Positive Results

If following a method approved by AOAC, AFNOR or other third-party organizations, you can confirm results as described below for that particular method. Otherwise, results can be confirmed from the primary enrichment according to your laboratory SOP or the appropriate reference method for your sample type, if desired.

AOAC Confirmation Method

Positive results can be confirmed according to the AOAC confirmation method by following the reference culture method appropriate for the sample type. To confirm results with the FDA-BAM method, see the protocol described in the Bacteriological Analytical Manual. To confirm results with the USDA-FSIS method, see the protocol described in the Microbiology Laboratory Guidebook.

AFNOR Confirmation Method

In the context of AFNOR validation, samples identified as positive by the BAX® System can be confirmed in one of the following ways:

ISO method: Use the conventional tests described in the standardized methods by CEN (<http://www.cen.eu>) or ISO (<http://www.iso.org>), including purification. The confirmation step must start from the primary enrichment broth or (in the case of chromogenic media) from typical colonies identified on selective media. See NF EN ISO 7218 for the confirmation protocol of standardized methods.

Other reference method: Use another specific method, such as the FDA-BAM reference method, to confirm results.

AFNOR validation certified method: Use any test method that has been certified according to the AFNOR validation rules. The protocol of the certified test method must use the same preparation (enrichment, medium, etc.) as the BAX® System protocol and be followed in its entirety when used for confirmation.

In the event of discordant results (positive with the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure validity of the result obtained. See the AFNOR website (www.afnor.org) for more details.

EK-4. *Listeria monocytogenes* analiz yöntemi

Listeria monocytogenes 24E Assay

Kit #D13608125

1. Enrich Samples

 The AOAC Research Institute has validated the BAX® System 24E assay for detecting <i>Listeria monocytogenes</i> in frankfurters, spinach, shrimp, queso fresco cheese and stainless steel. This test kit's performance was reviewed by AOAC Research Institute and was found to perform to the manufacturer's specifications.	
Sample type	Enrichment
Frankfurters, spinach, shrimp and queso fresco cheese	Stomach 25 g sample with 225 mL room-temperature prepared 24 LEB. Incubate at 37°C for 24-28 hours.
Stainless steel	Stomach sponge with 90 mL room-temperature prepared 24 LEB. Incubate at 37°C for 24-28 hours.

Note: Some third-party studies suggest that samples that experience a drop in pH during enrichment (such as smoked fish, salami or other charcuteries) may require the addition of buffer supplement to the 24 LEB enrichment broth. However, this addition has not been validated by AOAC. Before testing any food types that have not been certified by AOAC, it is strongly recommended that you internally validate your samples to determine if the buffer supplement is required.

 The French Association of Normalization (AFNOR) has certified the BAX® System according to the AFNOR validation rules for detecting <i>Listeria monocytogenes</i> in environmental samples and all human food products. Certificate: QJA 1610 - 10/04 Expiry date: 2012/07/01 Alternative PRACTICAL methods for AGRI-FRANCE www.afnor-validation.com	
Sample type	Enrichment
Meat, seafood, dairy, vegetables (except smoked fish and charcuteries)	Homogenize samples 1:10 in room-temperature prepared 24 LEB using filterless stomacher bags. Incubate at 37°C for 24-28 hours
Smoked fish and charcuteries	Homogenize samples 1:10 in room-temperature prepared 24 LEB with buffer supplement . Incubate at 37°C for 24-28 hours
Environmentals	Wipe a 4 x 4 in (10 x 10 cm) area with sponge pre-moistened in D/E neutralizing broth. Add wipe to 90 mL room-temperature prepared 24 LEB and mix. Incubate at 37°C for 24-28 hours

EK-4. (devam) *Listeria monocytogenes* analizi

Chapter III – Protocols for 24E Assays

2. Prepare Equipment

1. Turn on the heating blocks, and set temperatures to 37°C, 55°C and 95°C.
2. Make sure that the cooling blocks have been refrigerated overnight or otherwise chilled at 2-8°C. If you find that they have NOT been adequately chilled, call for technical assistance.
3. Create a rack file (see "Creating a Rack File" in Chapter VIII: BAX® System Software for details)

3. Perform Lysis

The 24E assays require a two-part lysis procedure.

Perform Part One of Lysis

1. Dilute bottle of Lysing agent 1 at room temperature with 1.8 mL sterile water.
Note: Lysing agent 1 is solid below room temperature.
2. For each sample, combine diluted Lysing agent 1 (40 µL) with Lysing agent 2 (10 µL) in 4:1 ratio. Prepare slightly more than required (see chart on Ready Reference for 24E PCR assays) to compensate for pipetting loss.
3. Transfer 50 µL combined lysing agents and 0.5 mL sample to cluster tubes.
Note: Remove samples from stomacher bag below the fatty layer that may be floating on top, as this layer may interfere.
4. Place tubes in a heating block at 37°C for 30 minutes.

Perform Part Two of Lysis

1. Label and arrange a second set of cluster tubes in the rack, according to your rack file.
2. Prepare the lysis reagent by adding 150 µL of protease to one 12-mL bottle of lysis buffer.
3. Transfer 200 µL lysis reagent to each of the cluster tubes.
4. Transfer 5 µL heated sample from Part One of lysis to prepared lysis reagent in corresponding cluster tubes, using new pipette tips for each sample.
5. After all transfers have been completed, secure the caps.

Heat the cluster tubes

1. Place the rack of cluster tubes on the heating block pre-warmed to 55°C for 30 minutes.
2. Transfer cluster tubes to heating block pre-warmed to 95° for 10 minutes.
3. After lysis is complete, set a chilled (2-8°C) cluster tube insert into the cooling block.
4. Place the cluster tubes into the insert and allow to cool for at least five minutes.
Note: Minimize the time between removing the cooling block inserts from the refrigerator and using them to keep them as chilled as possible. Remember that you must finish using the cooling blocks within 30 minutes of removing them from the refrigerator.
Note: These steps can also be performed using the DuPont™ Thermal Block. See the Thermal Block User Guide for details and instructions.

4. Hydrate PCR Tablets with Lysate

1. Initialize the BAX® System instrument (see "Running a Full Process" in Chapter VIII: BAX® System Software for details).
2. Select a chilled (4°C) PCR cooling block.
Note: Remember that you must finish using the cooling blocks within 30 minutes of removing them from the refrigerator.

EK-4. (devam) *Listeria monocytogenes* analizi

3. Place a PCR tube rack over the insert.
4. Place PCR tubes in the holder. Mark the top of each strip to maintain orientation when placing strips in the instrument.
5. Verify that the instrument has reached the correct load temperature and prompts you to continue, then remove the caps from the first strip of tubes with the decapping tool and transfer 30 μ L lysate to PCR tubes.
6. Place new optical caps on the strip of tubes, and secure tightly.
7. Repeat from step 4 for the next strip of tubes, continuing until all tubes have been resealed.
8. Take the rack of tubes in the cooling block to the BAX® System Q7 instrument. Load samples as described in Chapter VIII.

Note: Samples must remain chilled at 2-8°C until loaded into the instrument.

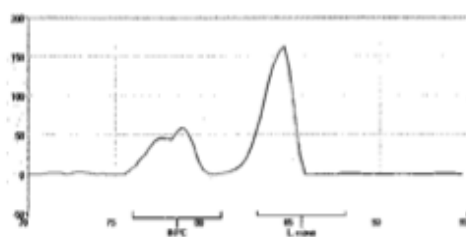
5. Review Results

Positive *L. monocytogenes* 24E Melting Curve Profiles

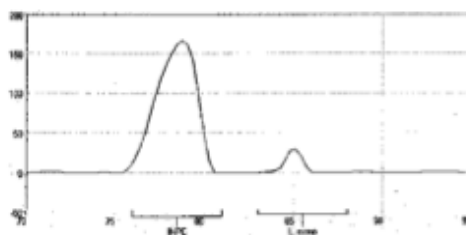
- One target peak at approximately 85°C.
- Target peak range 83 to 88°C.
- Control peak range 76 to 81 °C.

Often, the control peak for *L. monocytogenes* appears as a double peak.

Strong *L. monocytogenes* positive with double control peak



Weak *L. monocytogenes* positive



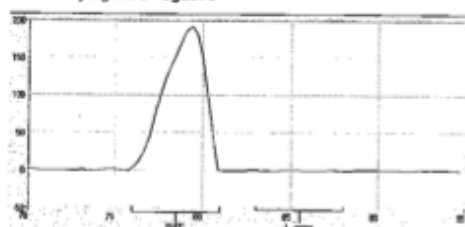
EK-4. (devam) *Listeria monocytogenes* analizi

Chapter III – Protocols for 24E Assays

Negative *L. monocytogenes* 24E Melting Curve Profile

No target peak; large control peak is present

L. monocytogenes negative



6. Confirm Positive Results

If following a method approved by AOAC, AFNOR or other third-party organizations, you can confirm results as described below for that particular method. Otherwise, results can be confirmed from the primary enrichment according to your laboratory SOP or the appropriate reference method for your sample type, if desired.

AOAC Confirmation Method

Positive results can be confirmed according to the AOAC confirmation method by following the reference culture method appropriate for the sample type. To confirm results with the FDA-BAM method, see the protocol described in the Bacteriological Analytical Manual. To confirm results with the USDA-FSIS method, see the protocol described in the Microbiology Laboratory Guidebook.

AFNOR Confirmation Method

In the context of AFNOR validation, samples identified as positive by the BAX® System can be confirmed in one of the following ways:

ISO method: Use the conventional tests described in the standardized methods by CEN (<http://www.cen.eu>) or ISO (<http://www.iso.org>), including purification. The confirmation step must start from the primary enrichment broth or (in the case of chromogenic media) from typical colonies identified on selective media. See NF EN ISO 7218 for the confirmation protocol of standardized methods.

Other reference method: Use another specific method, such as the FDA-BAM reference method, to confirm results.

AFNOR validation certified method: Use any test method that has been certified according to the AFNOR validation rules. The protocol of the certified test method must use the same preparation (enrichment, medium, etc.) as the BAX® System protocol and be followed in its entirety when used for confirmation.

In the event of discordant results (positive with the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure validity of the result obtained. See the AFNOR website (www.afnor.org) for more details.

EK-5. Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı



TÜRK STANDARDI
TURKISH STANDARD



TS 3136 ISO 2917
Aralık 2002

ICS 67.120.10; 67.120.20

**ET VE ET ÜRÜNLERİ – pH ÖLÇÜLMESİ –
REFERANS YÖNTEM**

Meat and meat products – Measurement of pH –
Reference method

TÜRK STANDARDLARI ENSTİTÜSÜ
Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

- Bugünkü teknik ve uygulamaya dayanarak hazırlanmış olan bu standardın, zamanla ortaya çıkacak gelişme ve değişikliklere uydurulması mümkün olduğundan ilgililerin yayınları izlemelerini ve standardın uygulanmasında karşılaştıkları aksaklıkları Enstitümüze iletmelerini rica ederiz.
- Bu standardı oluşturan Hazırlık Grubu üyesi değerli uzmanların emeklerini; tasarımlar üzerinde görüşlerini bildirmek suretiyle yardımcı olan bilim, kamu ve özel sektör kuruluşları ile kişilerin değerli katkılarını şükranla anarız.



Kalite Sistem Belgesi

İmalât ve hizmet sektörlerinde faaliyet gösteren kuruluşların sistemlerini TS EN ISO 9000 Kalite Standardlarına uygun olarak kurmaları durumunda TSE tarafından verilen belgedir.



Türk Standardlarına Uygunluk Markası (TSE Markası)

TSE Markası, üzerine veya ambalajına konulduğu malların veya hizmetin ilgili Türk Standardına uygun olduğunu ve mamulle veya hizmetle ilgili bir problem ortaya çıktığında Türk Standardları Enstitüsü'nün garantisi altında olduğunu ifade eder.



Kalite Uygunluk Markası (TSEK Markası)

TSEK Markası, üzerine veya ambalajına konulduğu malların veya hizmetin henüz Türk Standardı olmadığından ilgili milletlerarası veya diğer ülkelerin standardlarına veya Enstitü tarafından kabul edilen teknik özelliklere uygun olduğunu ve mamulle veya hizmetle ilgili bir problem ortaya çıktığında Türk Standardları Enstitüsü'nün garantisi altında olduğunu ifade eder.

DİKKAT!

TS işareti ve yanında yer alan sayı tek başına iken (TS 4600 gibi), mamulün Türk Standardına uygun üretildiğine dair üreticinin beyanını ifade eder. **Türk Standardları Enstitüsü tarafından herhangi bir garanti söz konusu değildir.**

Standardlar ve standardizasyon konusunda daha geniş bilgi Enstitümüzden sağlanabilir.

TÜRK STANDARDLARININ YAYIN HAKLARI SAKLIDIR.

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

ICS 67.120.10;67.120.20

TÜRK STANDARDI

TS 3136
ISO 2917/Aralık 2002**Ön söz**

- Bu standard, ISO tarafından kabul edilen ISO 2917:1999 standardı esas alınarak TSE Mamul Gıdalar Hazırlık Grubu'nca TS 3136 (1978)'in revizyonu olarak hazırlanmış ve TSE Teknik Kurulu'nun 18 Aralık 2002 tarihli toplantısında kabul edilerek yayımına karar verilmiştir.
- Bu standardın daha önce yayımlanmış bulunan baskıları geçersizdir.

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

ICS 67.120.10;67.120.20

TÜRK STANDARDI

TS 3136

ISO 2917/Aralık 2002

Et ve et ürünleri- pH ölçümü – Referans yöntem

1 Kapsam

Bu standard, kümes hayvanları dahil bütün et ve et ürünü çeşitlerinin pH'sının ölçülmesi için bir referans yöntemi kapsar.

Bu yöntem homojen hale getirilebilen ürünlere ve karkas etleri, çeyrek gövdeler ve kaslar üzerinde tahrip edici olmayan ölçmelere de uygulanabilir.

2 Atıf yapılan standard ve/veya dokümanlar

Aşağıda verilen atıf yapılan standard ve/veya dokümanın hükümleri bu standardın hükümleri sayılır. Tarih belirtilen atıflarda daha sonra yapılan tadil ve revizyonlar uygulanmaz. Bununla birlikte bu standardda dayalı anlaşmalarda taraflara, aşağıda verilen standard ve/veya dokümanın en yeni baskılarını uygulama imkanını araştırmaları önerilir. Tarih belirtilmeyen atıflarda, ilgili standard ve/veya dokümanın en son baskısı kullanılır. Bütün standard ve/veya dokümanın yürürlükte bulunan baskıları TSE'den temin edilebilir.

EN, ISO, IEC vb. no.	Adı (İngilizce)	TS No. ¹⁾	Adı (Türkçe)
ISO 3696	Water for analytical laboratory use- Specification and test methods	TS EN ISO 3696	Su- Analitik laboratuvarında kullanılan- Özellikler ve deney metodları

3 Terim ve tarif

Bu standardın amaçları için aşağıdaki terim ve tarif uygulanır.

3.1 Et ve et ürünlerinin pH'sı

Bu standardda belirtilen işleme uygun olarak yapılan ölçmelerin sonucu.

4 Prensipte

Et veya et ürünlerinin numunesine veya numune özütüne yerleştirilen, cam elektrot ile referans elektrot arasındaki gerilim farkının ölçülmesi.

5 Reaktifler

Aksi belirtilmedikçe sadece analitik saflıktaki kimyasal reaktifler kullanılır.

5.1 Su, ISO 3696 'ya uygun en az Sınıf 3 su.

Tampon çözeltilerini hazırlamada kullanılan su, buna ilave olarak yeni kaynatılmış veya karbon dioksiti uzaklaştırmak için karbon dioksit içermeyen azot ile temizlenmiş olmalıdır.

5.2 Tampon çözeltiler, pH metre'yi kalibre etmek için.

Aşağıdaki tampon çözeltiler kullanılabilir:

- En az 0,01 pH birimi doğrulukla, pH değeri garanti edilen ticari olarak kullanıma hazır tampon çözeltiler,
- Ticari olarak uygun kuru karışımlardan hazırlanmış tampon çözeltiler,
- Madde 5.2.1'den Madde 5.2.3'e kadar belirtildiği gibi hazırlanan tampon çözeltiler.

5.2.1 Tampon çözelti, 20 °C'da pH = 4,00 olan.

Potasyum hidrojen ftalat sabit bir kütleye ulaşınca kadar 110 °C-130 °C arasında kurutulur. Desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulur.

1) TSE NOTU : Atıf yapılan standartların TS numarası ve Türkçe adı 3. ve 4. kolonda verilmiştir.

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

ICS 67.120.10;67.120.20

TÜRK STANDARDI

TS 3136

ISO 2917/Aralık 2002

10,21 g kuru potasyum hidrojen ftalat 1000 mL'lik tek işaretli bir ölçülü balonda yaklaşık 800 mL suda çözülür. Su ile işaret çizgisine kadar seyreltilir ve karıştırılır.

Bu çözeltinin pH'sı 0 °C'da ve 10 °C'da 4,00 ve 30 °C'da 4,01'dir.

5.2.2 Tampon çözelti, 20 °C'da pH = 6,88 olan.

Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 , susuz) ve disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4 , susuz) sabit bir kütleye ulaşınca kadar 110 °C-130 °C arasında kurutulur. Desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulur.

3,40 g kuru KH_2PO_4 ve 3,55 g kuru Na_2HPO_4 1000 mL'lik tek işaretli bir ölçülü balonda yaklaşık 800 mL suda çözülür. Su ile işaret çizgisine kadar seyreltilir ve karıştırılır.

Bu çözeltinin pH'sı 0 °C'da ve 10 °C'da 6,98 ve 30 °C'da 6,85'dir.

Bu çözelti buzdolabında 3 ay muhafaza edilebilir.

5.2.3 Tampon çözelti, 20 °C'da pH = 5,45 olan.

7,01 g sitrik asit monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 1000 mL'lik tek işaretli bir ölçülü balonda yaklaşık 500 mL suda çözülür. 375 mL sodyum hidroksit çözeltisi (Madde 5.3) ilave edilir, su ile işaret çizgisine kadar seyreltilir ve karıştırılır.

5.3 Sodyum hidroksit çözeltisi, $c(\text{NaOH}) = 1,0 \text{ mol/L}$.

40 g sodyum hidroksit suda çözülür ve 1000 mL'ye seyreltilir.

5.4 Potasyum klorür çözeltisi, $c(\text{KCl}) = 0,1 \text{ mol/L}$.

7,5 g potasyum klorür 1000 mL'lik tek işaretli bir ölçülü balonda suda çözülür. Su ile işaret çizgisine kadar seyreltilir ve karıştırılır.

Ölüm sertliği öncesi şartlarda kas etinde ölçme yapılacaksa, çözeltinin litresi başına 925 mg iyodoasetik asit eklenerek glikoliz durdurulur. Sodyum hidroksit çözeltisi (Madde 5.3) ile çözeltinin pH'sı 7,0'a ayarlanır.

5.5 Temizleme sıvıları

5.5.1 Dietil eter, su ile doyurulmuş.

5.5.2 Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), hacim kesri % 95.

6 Cihaz ve malzemeler

Genel laboratuvar malzemeleri ve özellikle aşağıdakiler:

6.1 Mekanik veya elektrikli cihaz, laboratuvar numunesini homojenleştirebilen.

Yüksek hızlı döner kesici veya 4,0 mm çapını geçmeyen göz açıklıklı delikli plâk tutturulmuş kıyıcı içeren.

6.2 pH metre, sayısal veya benzeri işlev yapan, 0,01 pH birimi doğrulukta.

Sıcaklık düzeltme sistemi yok ise, ölçmeler 20 °C'da yapılmalıdır. Cihaz, ölçmeler sırasında dış elektrik yükleri ve akımlar nedeniyle indüksiyon akımlarından yeterli derecede korunmalıdır.

6.3 Kombine elektrot, tek bir gövdede birleşmiş cam indikatör elektrot ile Ag/AgCl veya Hg/HgCl_2 referans elektrottan oluşan.

Cam elektrot küresel, konik, silindirik veya herhangi bir biçimde olabilir.

Not - Yağlı numunelerin neden olduğu problemleri önlemek için kolaylıkla yenilenebilir sıvı temaslı ayrı cam ve referans elektrotlar da kullanılabilir.

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

ICS 67.120.10;67.120.20

TÜRK STANDARDI

TS 3136
ISO 2917/Aralık 2002

6.4 Şaftlı homojenleştirici, dakikada 20 000 devirlik dönme frekansı olan.

6.5 Manyetik karıştırıcı

7 Numune alma

Numune alma bu standardda belirtilen yöntemin bir parçası değildir. Tavsiye edilen numune alma yöntemi ISO 3100-1'de verilmiştir [1].

Laboratuvarın aldığı numunenin bütün numuneyi temsil etmesi, taşıma veya depolama sırasında hasar görmemesi ve değişmemesi önemlidir.

En az 200 g temsili numune alınır.

8 Deney numunesinin hazırlanması

8.1 Tahribatsız ölçmeler

pH ölçülmesi için numuneden temsili bir nokta seçilir. Madde 9'a göre işleme devam edilir.

8.2 Tahribatlı ölçmeler

Laboratuvar numunesi uygun cihaz (Madde 6.1) ile homojen hale getirilir. Numune sıcaklığının 25 °C'un üstüne çıkmamasına dikkat edilir. Kıyıcı kullanılıyorsa numune en az iki kere cihazdan geçirilir.

Hazırlanan numune, uygun hava geçirmeyen bir kaba doldurulur. Kabin kapağı kapatılır ve yapısında bir hasar veya değişiklik olmayacak şekilde saklanır. Numune mümkün olan en kısa sürede veya homojenleştirmeden sonra 24 saat içerisinde analiz edilir.

9 İşlem

Not - Tekrarlanabilirlik sınırının karşılanıp karşılanmadığı kontrol edilmek isteniyorsa (Madde 11.2 Madde 9.2'den Madde 9.4'e göre iki tek tayin yapılır.

9.1 pH metrenin kalibrasyonu

Manyetik karıştırıcı (Madde 6.5) ile karıştırırken ölçme sıcaklığında, beklenen numune pH değerini içine alan pH değerine sahip iki tampon çözelti kullanılarak pH metre (Madde 6.2) kalibre edilir.

pH metrenin sıcaklık düzeltme sistemi yok ise, tampon çözeltinin sıcaklığı (20 ± 2) °C aralığında olmalıdır.

Homojenleştirilmiş ürünler için Madde 9.2'de belirtilen işlemler uygulanır.

Tahribatsız ölçmeler için Madde 9.4'de belirtilen işlemler uygulanır.

9.2 Deney numunesi

Hazırlanan deney numunesinin (Madde 8.2) gerçek kütlelerinin 10 katı potasyum klorür çözeltisinde (Madde 5.4) şaftlı homojenleştirici (Madde 6.4) ile homojen hale getirilir.

Bakınız Madde 5.4.

9.3 Numune özütünde ölçme

Numune özütüne elektrotlar daldırılır ve özütün sıcaklığına göre pH metrenin (Madde 6.2) sıcaklık düzeltme sistemi ayarlanır. Sıcaklık düzeltme sistemi yok ise, numune özütünün sıcaklığı (20 ± 2) °C aralığında olmalıdır.

Manyetik karıştırıcı (Madde 6.5) ile karıştırılırken pH metreye uygun bir işlem uygulanarak pH ölçülür. Sabit bir değere ulaşıldığı zaman, pH değeri 0,01 pH birimi yaklaşımla doğrudan cihazdan okunur.

Madde 9.5'de belirtilen işlemler uygulanır.

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

ICS 67.120.10;67.120.20

TÜRK STANDARDI

TS 3136
ISO 2917/Aralık 2002

9.4 Numunede ölçme

Bıçak veya keskin uçla numunede delik açılır ve elektrot kırılma riski olmaksızın delik içine batırılır.

Numunenin sıcaklığı için pH metrenin sıcaklık düzeltme sistemi ayarlanır. Sıcaklık düzeltme sistemi yok ise, numunenin sıcaklığı (20 ± 2) °C aralığında olmalıdır.

pH metreye uygun bir işlem uygulanarak pH ölçülür. Sabit bir değere ulaşıldığı zaman pH değeri 0,01 pH birimi yaklaşımla doğrudan cihazdan okunur.

Genelde 0 °C ile 5 °C arasında saklanan sıcaklıklardaki taze etler üzerindeki ölçmeler için sıcaklık düzeltme sistemi olan bir pH metre kullanılması gereklidir.

Açılan deliğin aynı noktasından ölçme işlemi tekrarlanır.

Numunenin bir kaç noktasında yapılan pH ölçümleri arasında farklılıklar olduğunu bilmenin yararlı olduğu düşünülüyorsa, farklı noktalarda ölçmeler tekrarlanır. Ölçme noktalarının sayısı numunenin doğal yapısının ve büyüklüğünün bir fonksiyonu olmalıdır.

9.5 Elektrotların temizlenmesi

Elektrotlar sırasıyla dietil eter (Madde 5.5.1) ve etanol (Madde 5.5.2) ile ıslatılmış ham pamuk parçaları ile silinerek temizlenir. Elektrotlar son olarak su (Madde 5.1) ile yıkanır ve üreticinin talimatlarında belirtildiği gibi muhafaza edilir.

10 Sonuçların gösterilmesi

10.1 Tahribatsız ölçmeler

Aynı noktadan elde edilen iki pH değerinin aritmetik ortalaması sonuç olarak alınır. Her bir nokta için ortalama pH değeri 0,05 pH birimi yaklaşımla belirtilir.

Ölçmeler numunede farklı yerlerde yapıldığında bir şema yapılır ve ölçme noktalarına karşılık gelen ortalama pH değerleri ile birlikte bu şemada gösterilir.

10.2 Homojen ürünler

Sonuç 0,05 pH birimi yaklaşımla belirtilir.

11 Kesinlik

11.1 Laboratuvarlar arası deneyler

Yöntemin kesinliği ISO 5725'e göre uygulanmış laboratuvarlar arası deneylerle belirlenmiştir [2].

11.2 Tekrarlanabilirlik

Özdeş deney numunesi üzerinde, aynı kişi tarafından, aynı laboratuvarda, aynı yöntem ve aynı donanım kullanılarak, kısa zaman aralığında bulunan iki tek deney sonucu arasındaki mutlak fark, sonuçların % 5'inden daha fazlasında 0,04 pH birimini geçmemelidir.

Tekrarlanabilirliğin standard sapması (s_r) 0,014 pH birimi olacaktır.

11.3 Uyarlık

Özdeş deney numunesi üzerinde, farklı kişiler tarafından, farklı laboratuvarlarda, farklı donanım kullanılarak, aynı yöntemle bulunan iki tek deney sonucu arasındaki mutlak fark, sonuçların % 5'inden daha fazlasında 0,12 pH birimini geçmemelidir.

Uyarlığın standart sapması (s_R) yaklaşık 0,042 pH birimi olacaktır.

EK-5. (devam) Et ve et ürünlerinde pH ölçülmesi standardı

ICS 67.120.10;67.120.20

TÜRK STANDARDI

TS 3136

ISO 2917/Aralık 2002

12 Deney raporu²⁾

Deney raporu aşağıdaki bilgileri içermelidir:

- Numunenin tam olarak tanıtılması için gerekli bütün bilgiler,
- Numune alma yöntemi, biliniyorsa,
- Tahribatlı veya tahribatsız ölçme yönteminden hangisinin uygulandığı ile birlikte deney yöntemi,
- Sonuçları etkilemiş olabilecek herhangi bir işlem ile birlikte, bu yöntemde belirtilmeyen veya isteğe bağlı olarak dikkate alınan bütün işlem ayrıntıları,
- Elde edilen deney sonucu veya tekrarlanabilirlik kontrol edilmişse elde edilen iki deney sonucu.

Kaynaklar

- [1] ISO 3100-1, Meat and meat products- Sampling and preparation of test samples- Part 1: Sampling.
- [2] ISO 5725:1986, Precision of test methods- Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.
- [3] ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results- Part 1: General principles and definition.
- [4] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results- Part 2: Basic method for determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.

2) TSE Notu : Deney raporu, burada istenilen bilgilere ilâveten, TS EN ISO/IEC 17025'de verilen bilgileri de ihtiva edecek şekilde düzenlenebilir.

EK-6. Nem tayini yöntemi

39. Meat and Meat Products

William Trujillo, Chapter Editor
Covance Laboratories

39.1.01

AOAC Official Method 983.18

Meat and Meat Products

Preparation of Test Sample

Procedure

First Action 1983

Codex-Adopted—AOAC Method*

To prevent water loss during preparation and subsequent handling, do not use small test samples. Keep ground material in glass or similar containers with air- and water-tight covers. Prepare test samples for analysis as follows:

(a) *Fresh meats, dried meats, cured meats, smoked meats, etc.*—Separate as completely as possible from any bone; pass rapidly 3 times through food chopper with plate openings $\leq \frac{1}{8}$ in. (3 mm), mixing thoroughly after each grinding; and begin all determinations promptly. If any delay occurs, chill test sample to inhibit decomposition.

Alternatively, use a bowl cutter for test sample preparation (benchtop model, $\frac{1}{2}$ HP; 14 in. (35.6 cm) bowl, 22 rpm; two 3.5 in. (9 cm) knives, 1725 rpm; Model 84145, Hobart Corp., 701 S. Ridge Ave, Troy, OH 45374, USA; www.hobartcorp.com, or equivalent). Chill all cutter parts before use.

Food processor (First Action 1990).—Benchtop model, 110/120 V, 60 Hz, 1 hp, 7.5 A; 1725 rpm, fan-cooled motor, 4 qt bowl; Model R4Y (Robot Coupe, USA, Inc., Jackson, MS, USA; www.robotcoupeusa.com), or equivalent.

Precut test sample, ≤ 2 lb (0.9 kg), to ≤ 2 in. (5 cm), and transfer to bowl for processing. Include any separated liquid. Process 30 s, then wipe down inner side wall and bottom of bowl with spatula (use household plastic or rubber spatula with ca 2 × 4 in. (5 × 10 cm) straight-edge blade) and transfer gathered material to body of test sample. Continue processing another 30 s and wipe down as before. Repeat sequence to give total of 2 min processing and 3 wipe downs.

Take particular care with certain meat types such as ground beef to assure uniform distribution of fat and connective tissue. At each wipe-down interval, reincorporate these by using spatula to remove fat from inside surfaces of bowl and connective tissue from around blades. If test sample consolidates as ball above blades, interrupt processing and press test sample to bottom of bowl with spatula before continuing.

Reference: *JAOAC* 72, 777(1989).

(b) *Canned meats.*—Pass entire contents of can through food chopper, bowl cutter or food processor, as in (a).

(c) *Sausages.*—Remove from casings and pass through food chopper, bowl cutter or food processor, as in (a).

Dry portions of (a), (b), and (c) not needed for immediate analysis, either in vacuo $<60^\circ\text{C}$ or by evaporating on steam bath 2–3 times with alcohol. Extract fat from dried product with petroleum ether (bp $<60^\circ\text{C}$) and let petroleum ether evaporate spontaneously, finally expelling last traces by heating short time on steam bath. Do not heat test sample or separated fat longer than necessary because of tendency to decompose. Reserve fat in cool place for examination as in chapter on oils and fats and complete examination before it becomes rancid.

Reference: *JAOAC* 66, 759(1983).

* Codex Stan 166-1989, Rev. 1-1995, Codex Standard for Quick Frozen Fish Sticks (Fish Fingers), Fish Portions, and Fish Fillets-Breaded or in Batter. Codex Stan 190-1995, Codex General Standard for Quick Frozen Fish Fillets.

39.1.02

AOAC Official Method 950.46

Moisture in Meat

First Action 1950

A. Drying in vacuo at $95^\circ\text{--}100^\circ\text{C}$ (Final Action)*

Proceed as in 934.01 (see 4.1.03). (Not suitable for high fat products such as pork sausage.)

* Codex Stan 166-1989, Rev. 1-1995, Codex Standard for Quick Frozen Fish Sticks (Fish Fingers), Fish Portions, and Fish Fillets-Breaded or in Batter. Codex Stan 190-1995, Codex General Standard for Quick Frozen Fish Fillets.

B. Air Drying (Final Action 1991)

(a) With lids removed, dry test portion containing ca 2 g dry material 16–18 h at $100^\circ\text{--}102^\circ\text{C}$ in air oven (mechanical convection preferred). Use covered Al dish ≥ 50 mm diameter and ≤ 40 mm deep. Cool in desiccator and weigh. Report loss in weight as moisture, g.

(b) With lids removed, dry test portion containing ca 2 g dry material to constant weight (2–4 h depending on product) in mechanical convection oven or in gravity oven with single shelf at ca 125°C . Use covered Al dish ≥ 50 mm diameter and ≤ 40 mm deep. Avoid excessive drying. Cover, cool in desiccator, and weigh. Report loss in weight as moisture, g. (Dried residue is not satisfactory for subsequent fat determination.)

References: *JAOAC* 33, 749(1950); 36, 279(1953).

39.1.03

AOAC Official Method 985.14

Moisture in Meat and Poultry Products

Rapid Microwave Drying Method

First Action 1985

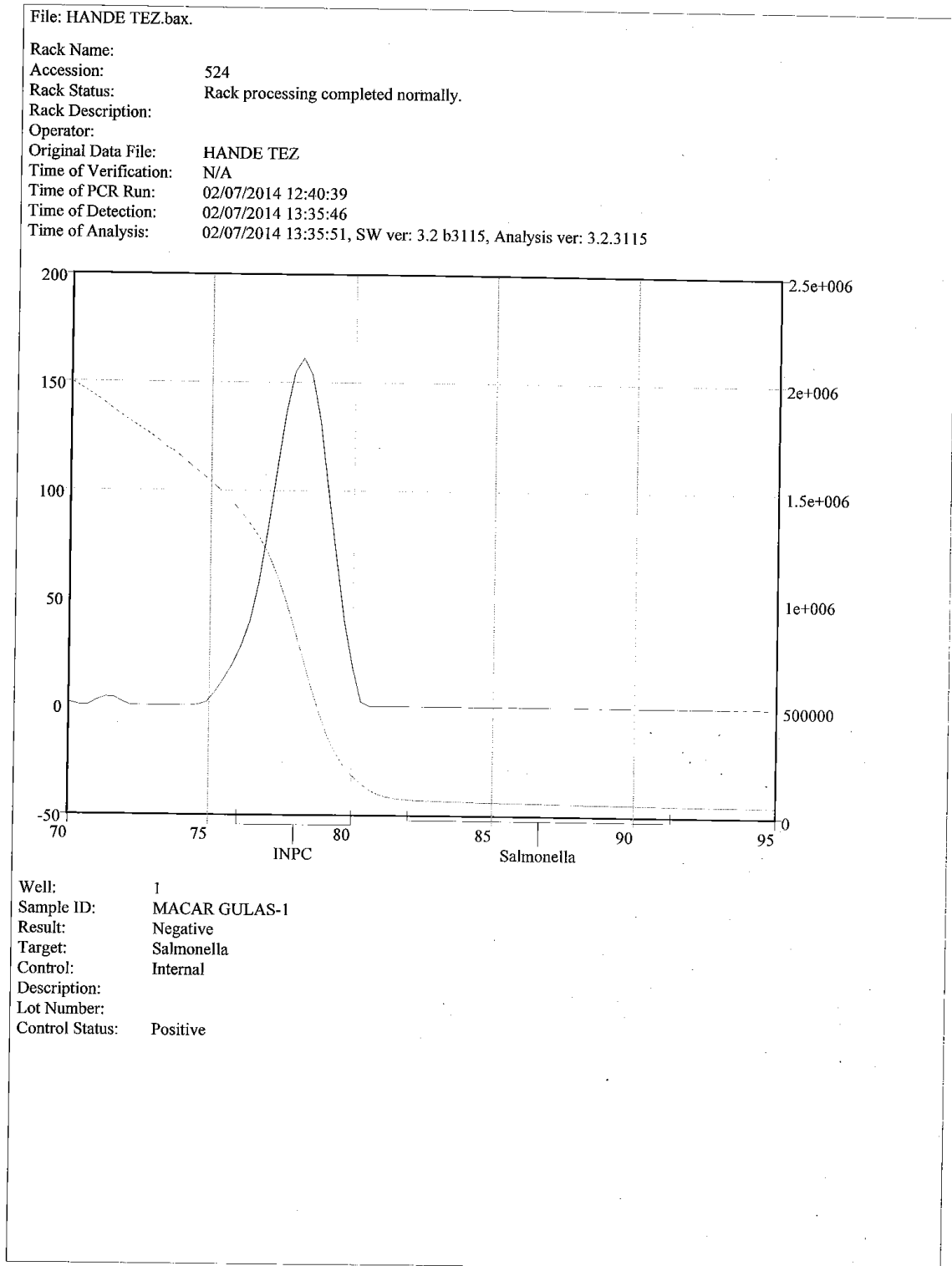
Final Action 1991

A. Principle

Moisture is removed (evaporated) from test portion by using microwave energy. Weight loss is determined by electronic balance readings before and after drying and is converted to moisture content by microprocessor with digital percent readout.

B. Apparatus

(a) *Microwave moisture analyzer.*—0.2 mg H_2O sensitivity, moisture/solids range of 0.1–99.9%, 0.01% resolution. Includes automatic tare electronic balance, microwave drying system, and microprocessor digital computer control. Electronic balance pan is

EK-7. Başlangıç günü Salmonella spp. analiz sonuçları

EK-8. Başlangı gn Listeria monocytogenes analiz sonuçları

File: HANDE TEZ.bax.

Rack Name:

Accession: 524

Rack Status: Rack processing completed normally.

Rack Description:

Operator:

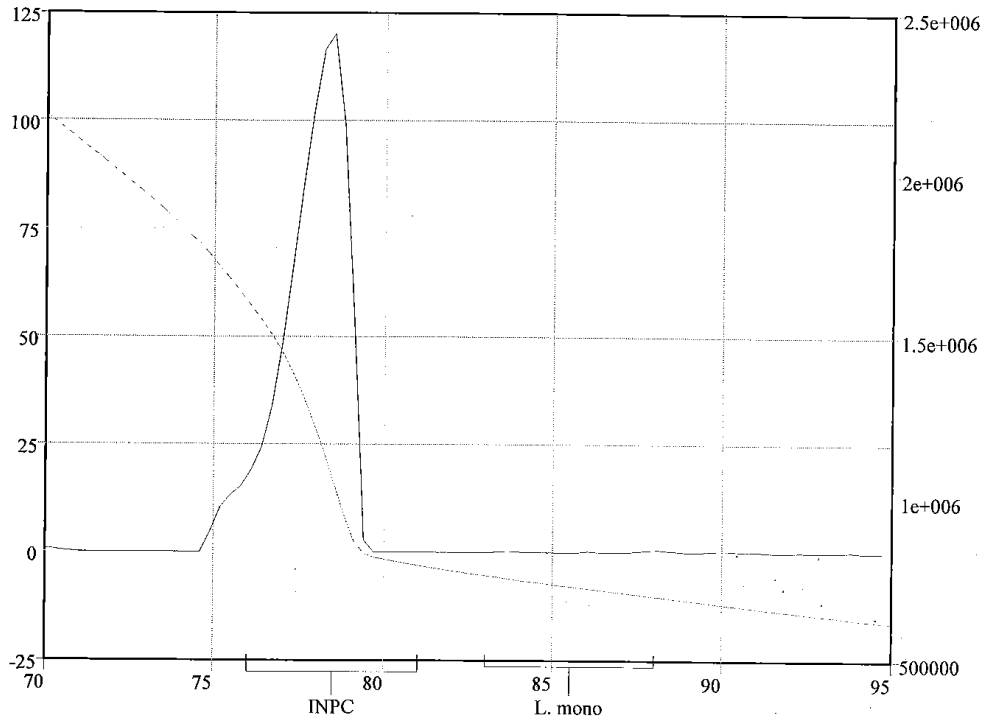
Original Data File: HANDE TEZ

Time of Verification: N/A

Time of PCR Run: 02/07/2014 12:40:39

Time of Detection: 02/07/2014 13:35:46

Time of Analysis: 02/07/2014 13:35:51, SW ver: 3.2 b3115, Analysis ver: 3.2.3115



Well: 18
Sample ID: MACAR GULAS-2
Result: Negative
Target: Listeria monocytogenes
Control: Internal
Description:
Lot Number:
Control Status: Positive

EK-9. Depolamanın 20. günü Salmonella spp. analiz sonuçları

File: 27.02.2014 HANDE.bax.

Rack Name:

Accession: 547

Rack Status: Rack processing completed normally.

Rack Description:

Operator:

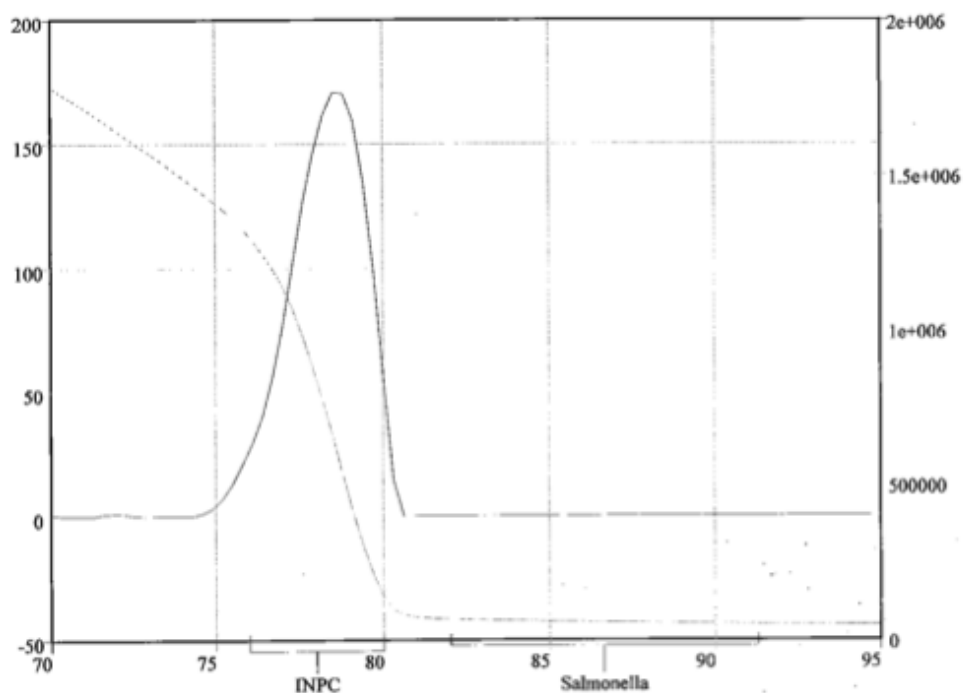
Original Data File: 27.02.2014 HANDE

Time of Verification: N/A

Time of PCR Run: 02/27/2014 13:47:25

Time of Detection: 02/27/2014 14:42:31

Time of Analysis: 02/27/2014 14:42:46, SW ver: 3.2 b3115, Analysis ver: 3.2.3115

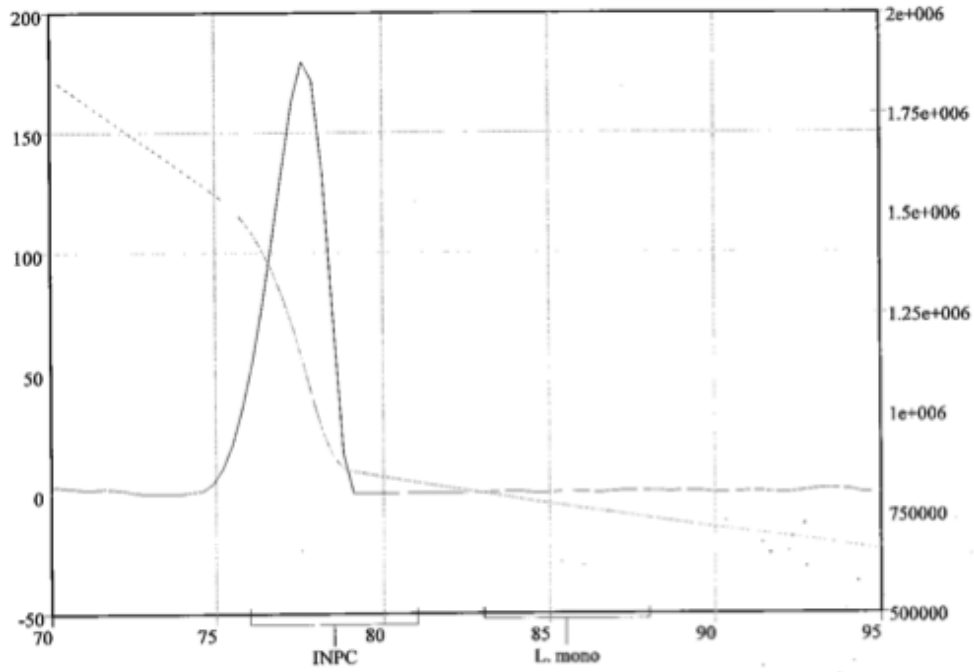


Well: 19
Sample ID: MACAR GULAS - 3
Result: Negative
Target: Salmonella
Control: Internal
Description:
Lot Number:
Control Status: Positive

EK-10. Depolamanın 20. günü *Listeria monocytogenes* analiz sonuçları

File: 27.02.2014 HANDE.bax.

Rack Name:
 Accession: 547
 Rack Status: Rack processing completed normally.
 Rack Description:
 Operator:
 Original Data File: 27.02.2014 HANDE
 Time of Verification: N/A
 Time of PCR Run: 02/27/2014 13:47:25
 Time of Detection: 02/27/2014 14:42:31
 Time of Analysis: 02/27/2014 14:42:46, SW ver: 3.2 b3115, Analysis ver: 3.2.3115

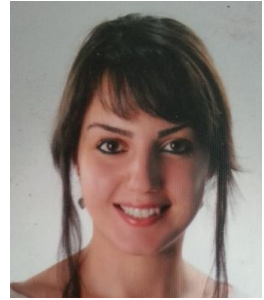


Well: 25
 Sample ID: MACAR GULAS -I
 Result: Negative
 Target: *Listeria monocytogenes*
 Control: Internal
 Description:
 Lot Number:
 Control Status: Positive

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı :YILMAZ, Hande
 Uyuğu :T. C.
 Doğum tarihi ve yeri :23/04/1990 - Kayseri
 Medeni hali :Bekar
 Telefon :0 (312) 216 26 14
 Faks :0 (312) 216 26 36
 e-posta :handeyilmaz@gazi.edu.tr



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
-----------------	--------------	----------------

Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2012
Lise	Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi	2008

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
------------------	---------------	-------

2012-devam ediyor	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
-------------------	-------------------	---------------------

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Yılmaz, H., ve Bilici, S. (2013). Yemeğin kimyası: moleküler gastronominin dünü, bugünü ve yarını. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 4, 20-25.
2. Yılmaz, H., ve Şanlıer, N. (2014). Baharat ışınlama. *GIDA*, 39(2), 111-118.

3. Bilici, S., Sanlier, N., Yilmaz, H., Navruz, S., Ayhan, B., and Kose, S. (2014). Assessment of central obesity among university students by using weight to height ratio. *The European Journal of Obesity*, 7, 58-59.
4. Yilmaz, H., ve Bilici, S. toplu beslenme hizmetlerinde alternatif pişirme yöntemi: "Sous Vide". *GIDA*. doi: 10.15237/gida.GD14044.

Bilimsel Kongre ve Toplantılarda Sunulan Bildiriler

1. Bilici, S., Yılmaz, H., Navruz, S., Köksal, E., Ayhan, B. 2014. Genç Yetişkinlerde Ana Öğünlerle Birlikte Tüketilen İçecek Çeşitlerinin Beden Kütle İndeksi (BKİ) ile İlişkisi, IV. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Ankara, Türkiye.
2. Bilici, S., Yılmaz, H., Navruz, S., Köksal, E., Ayhan, B. 2014. Üniversite Öğrencilerinde Ev Dışı Tüketim Nedenleri Ve Seçimlerini Belirleyen Faktörler Üzerine Bir Araştırma, IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Ankara, Türkiye.
3. Bilici, S., Navruz, S., Yılmaz, H., Köksal, E., Ayhan, B. 2014. Üniversite Öğrencilerinde Ev Dışı Tüketim Alışkanlıkları ile Bazı Antropometrik Ölçümler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi, IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Ankara, Türkiye.
4. Yılmaz, H., Navruz, S., Ertaş, Y., Kara, A. D., Bilici, S., Köksal, E. 2014. Assessment of body fat percentage by using bioelectrical impedance analysis and its association with some anthropometric measurements, International Conference on Developmental Origins of Adiposity and Long-Term Health Munich, Germany.
5. Navruz, S., Yılmaz, H., Kara, A. D., Ertaş, Y., Bilici, S., Köksal, E. 2014. Investigation of the relationship between fat percentage from bioelectrical impedance analysis and fat percentage calculated by various equations, International Conference on Developmental Origins of Adiposity and Long-Term Health Munich, Germany.
6. Yılmaz, H., Akyol, A., Çelik, N., Coşkun, N. G., Kaçaranoğlu, F., Küçükaşçı, Y., Özbilir, A., Uzun, Ş., Yılmaz, B., Yılmaz, Ö., Ünal, R.N. 2012. 6-12 Aylık Bebeklerde Ek Besinlerin Şeker Tüketimi Üzerine Etkisi, VIII. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Antalya, Türkiye.

7. Ünal, R.N., Coşkun, N.C., Küçükaşçı, Y., Özbilir, A., Yılmaz, Ö., Çelik, N., Kaçaranoğlu, D., Uzun, Ş., Yılmaz, B., Yılmaz, H., Akyol, A., 2012. 6-12 Aylık Bebeklerde Uygun Olmayan Tamamlayıcı Beslenme Yüksek Sodyum Alımına Neden Olmaktadır, VIII. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Antalya, Türkiye.