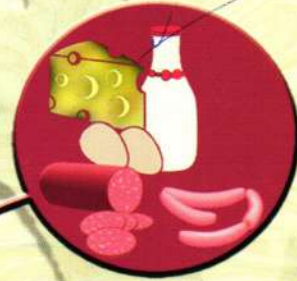




ANKARA ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ



I. ULUSAL VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ



BİLDİRİ KİTABI



29 EYLÜL-1 EKİM 2004







Ank. Ün.
Yılı
Yıl Dikim

I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi

BİLDİRİ KİTABI

29 Eylül - 1 Ekim 2004

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dışkapı Kampusu/ Ankara



İzmit, 1
Tarihçe, Coğrafya, İktisadi Durumu

İKTİSADİ KİTAP

19 Eylül - 1 Ekim 2004

Ankara Üniversitesi Basımevi
Ankara - Türkiye

Kongre Düzenleme Kurulu

Onursal Başkanlar

Prof.Dr. Nusret ARAS, Rektör
Prof.Dr. İbrahim BURGU, Dekan

Başkan

Prof.Dr. İrfan EROL

Genel Sekreter

Uzm.Dr. F.Seda BİLİR ORMANCI

Üyeler

Doç.Dr. Harun AKSU
Araş.Gör. K. Serkan BÜYÜKÖNAL (Sayman)
Doç.Dr. T. Haluk ÇELİK
Dr.Can DEMİR
Araş.Gör. Ahmet KOLUMAN
Doç.Dr. Özlem KÜPLÜLÜ
Doç.Dr. Haydar ÖZDEMİR
Doç.Dr. Belgin SARİMEHMETOĞLU
Doç.Dr. U. Tansel ŞİRELİ

Bilimsel Danışma Kurulu

Prof.Dr. Sadi AKGÜN
Prof.Dr. Şahsene ANAR
Prof.Dr. Özer ERGÜN
Prof.Dr. İrfan EROL
Prof.Dr. Abamüslüm GÜVEN
Prof.Dr. Bahri PATİR
Prof.Dr. Y. Can SANCAK
Prof.Dr. O. Cenap TEKİNŞEN

***Kongre Bilimsel Danışma Kurulu Kongre Bildiri Kitabında yer alan
tebliğ ve posterlerde herhangi bir redaksiyon yapmamış olup,
sorumluluk tamamen yazar(lar)a aittir.***

Kongre Düzenleme Kurulu

ÖNSÖZ

Değerli Meslektaşlarımız,

Günümüzde gıda hijyeni kavramı “çiftlikten sofraya gıda güvenliği” temel yaklaşımı içerisinde, gıdaların ham maddeden başlayarak; üretim, işleme, muhafaza, nakil, dağıtım ve servis aşamalarında her türlü kontrollerinin yapılarak sağlıklı bir şekilde tüketiciye ulaştırılması olarak tanımlanmaktadır. Globalleşen dünyada her yıl milyonlarca insan sağlıklı olmayan gıdaların tüketiminden kaynaklanan infeksiyon ve intoksikasyonlardan etkilenmekte ve bu olgular içerisinde hayvansal gıdalar en önemli payı almaktadır. Hayvansal gıdaların sağlıklı olmayan hayvanlardan elde edilmesi veya uygun olmayan hijyenik ve teknolojik koşullarda üretilmesi halinde, başta zoonotik etkenlerin neden olduğu ve ölümlerle de sonuçlanabilen gıda güvenliği ve halk sağlığı sorunları tüm dünyada önemli gündem maddelerinden birini oluşturmaktadır. Gıda infeksiyonu ve intoksikasyonu etkenleri ile kontaminantlar, sağlık üzerine olan etkilerine ilaveten ülkelerin ekonomilerinde ciddi kayıplara da neden olmaktadır.

Hijyenik standartları yüksek ve kontrol mekanizmaları etkin olan ABD’de ve AB ülkelerinde dahi büyük boyutlarda olayların meydana gelmesi, bu konularda önemli eksiklikleri olan Türkiye’de gıda hijyeni alanında temel ve epidemiyolojik çalışmaların yapılmasının, yasal düzenlemelerin AB mevzuatı ile uyumlu hale getirilmesinin ve uygulamaya aktarılmasının ayrıca toplumun bilinçlendirilmesinin önemini açıkça ortaya koymaktadır. Bu noktadan hareketle, kongre temel konularında belirtilen hususların giderek önem kazanan veteriner hekimliği gıda hijyeni açısından tartışılması amacıyla, tarihi bir sorumluluk duygusu içerisinde bu kongreyi organize etmiş bulunmaktayız. Kongremiz ulusal bir kongre olmakla birlikte, Türkiye’nin en önemli gündem maddesini oluşturan ulusal mevzuatın AB mevzuatı ile uyumu konusu da dikkate alınarak Veteriner Hekimliği Yönünden Avrupa Birliği Gıda Hijyeni ve Kontrolü Mevzuatı konusunu sunmak üzere AB Gıda Kontrol ve Veteriner Mevzuatı uzmanı yabancı bir meslektaşımız da davet edilmiştir.

Bu kongrenin, iki günlük bilimsel programı çerçevesinde son yıllarda yapılan araştırma ve kaydedilen gelişmeler ışığında Türkiye’de gıda güvenliğinin sağlanması konusunda yaşanan sorunların bilimsel platformda tartışılarak ortaya konması ve somut çözüm önerilerine dayalı sonuçların kamuoyuna ve yetkili kuruluşlara duyurulacak olması yönüyle önemli bir adım olacağı inancını taşımaktayız.

Kongremizin bir günlük sosyal programı katılımcılara başkentimizin simgelerinden Anıtkabir, Ankara Kalesi, Anadolu Medeniyetleri Müzesi ve Atakule gezileriyle geçmişten günümüze Ankara’nın tarihsel gelişimini görme ve yoğun bilimsel faaliyetlerle yorulan beyinleri dinlendirme fırsatı sağlayacaktır.

Bundan sonra kongremizin farklı üniversitelerimizde her iki yılda bir yapılması planlanmıştır. Geleceğe yönelik temel amaçlarımızdan birisi de bu kongreyi uluslar arası düzeyde organize etmektir.

Kongremizin gerçekleştirilmesinde her türlü desteği sağlayan başta Rektörümüz sayın Prof. Dr. Nusret ARAS ve Dekanımız sayın Prof. Dr. İbrahim BÜRGÜ ile Veteriner Gıda Hijyenistleri Derneği Genel Başkanı Sn. Dr. Can DEMİR olmak üzere, tüm üniversitelerimizdeki Veteriner Fakülteleri ile gıda hijyeni konusunda çalışan bazı Eczacılık ve Su Ürünleri Fakültelerimizden, Araştırma Enstitülerimizden ve Türk Silahlı Kuvvetleri’nden katılan değerli öğretim üyesi ve araştırmacılara bilimsel çalışma ve katkılarından dolayı, ayrıca TÜBİTAK ile diğer kurum ve kuruluşlara sağladıkları maddi destekten dolayı içtenlikle teşekkür eder, saygılar sunarım.

Ankara, Eylül 2004.

Prof. Dr. İrfan EROL

Kongre Düzenleme Kurulu Başkanı

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	V
Food Hygiene and Control Regulation in European Union from Veterinary Aspect Veteriner Hekimliği Yönünden Avrupa Birliği Gıda Hijyeni ve Kontrolü Mevzuatı <u>Alberto MANCUSO</u>	1
<i>Salmonella</i> PCR-ELISA ve PCR-Reverse Dot Blot Yöntemlerinin Geliştirilmesi Development of Methods of <i>Salmonella</i> PCR-ELISA and PCR-Reverse Dot Blot <u>Ayşegül EYİĞÖR</u> , K. Tayfun ÇARLI	19
Piliç Karkaslarından <i>Salmonella</i>'ların Klasik Kültür ve İmmunomanyetik PCR (IMS-PCR) Teknikleri ile Karşılaştırmalı Olarak Saptanması Detection of <i>Salmonella</i> from Chicken Carcasses Using Cultural Technique and Immuno Magnetic PCR in Comparison İrfan EROL, Ahmet YURTYERİ, Goetz HILDEBRANDT, Josef KLEER, <u>F. Seda BİLİR ORMANCI</u> , Ahmet KOLUMAN.....	29
Türkiye'deki Marketlerden Elde Edilen Deve Sucuklarından <i>Listeria</i> spp.'in İzolasyonu ve <i>Listeria monocytogenes</i>'in RAPD Analizi <i>Listeria</i> spp. Isolation from Camel Sausages in the Turkey Retail Markets and RAPD Analysis of <i>Listeria monocytogenes</i> Strains Gökben ÖZBEY, Hasan Basri ERTAŞ, <u>Filiz KÖK</u>	39
Kıymalardan <i>Escherichia coli</i> O157:H7 İzolasyonu Amacıyla Zenginleştirme ve/veya Sorbitol Bazlı Katı Besi Yerlerinde Kullanılan Safra Tuzları No:3, Novobiosin ve Sefiksim-Tellurit Saplementlerinin Değerlendirilmesi Evaluation of Bile Salt No. 3, Novobiocin, and Cefixime-Tellurite in Enrichment and/or Selective Plating Media for Detection of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 from Ground Beef <u>Abamüslüm GÜVEN</u> , Murat GÜLMEZ	47

Elazığ'da Sığır Karkaslarının Yüzey Kontaminasyonunun Belirlenmesi

Surface Contamination of Beef Carcasses in Elazığ

Mehmet ÇALICIOĞLU, Gülsüm Ateş ÖKSÜZTEPE, İrfan İLHAK, Abdullah DİKİCİ 57

Kesim Aşamalarının Sığır Karkasının Hijyenik Kalitesi Üzerine Etkileri

The Effect of Slaughtering Process on the Carcass Hygienic Quality

Mustafa ALIŞARLI, Süleyman ALEMDAR, Levent AKKAYA 67



Laktik Asit ve Sıcak Su Uygulamalarının Sığır Etlerinde *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi

Effects of Lactic Acid and Hot Water Treatments on *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* Attached on Beef

Haydar ÖZDEMİR, Yeliz YILDIRIM, Özlem KÜPLÜLÜ, Ahmet KOLUMAN, Muammer GÖNCÜOĞLU, Gökhan İNAT 75

Sodyum Laktatın Sosislerin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi

Effects of Sodium Lactate on the Microbiological Quality and Shelf-Life of Sausages

E. Barış BİNGÖL, Kamil BOSTAN 83

Sosislerin Histolojik Muayenelerinde Kullanılacak Uygun Boyama Yöntemlerinin Araştırılması

Study on Staining Methods for the Histological Analysis of Frankfurters

Ali TORUN, İrfan EROL 93

Afyon Bölgesinde Tüketime Sunulan Kıymalarda *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* İnsidensinin Belirlenmesi

Incidence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in Ground Beef

Belgin SIRIKEN, Şebnem PAMUK 101

Kayseri İlinde Satışa Sunulan Sığır Kıymalarının Mikrobiyolojik Kalitesi Microbiological Quality of Ground Beef Retailed in Kayseri <u>Zafer GÖNÜLALAN</u>	111
Kıyma Ortamında Sarımsağın Antimikrobiyel Etkisi Üzerine Bir Araştırma A Study of Antimicrobial Effects of Garlic in Ground Beef Medium <u>Ali AYDIN</u> , M. Emin ERKAN, Barış BİNGÖL, Kamil BOSTAN	119
Esansiyel Yağların Çiğ Köftede <i>Salmonella</i>'nın İnaktivasyonu Üzerine Etkileri Effects of Essential Oils on Inactivation of <i>Salmonella</i> in Cig Kofte <u>Mehmet ÇALICIOĞLU</u> , İrfan İLHAK, Abdullah DİKİCİ	129
Çiğ Köftede <i>Listeria</i> Türlerinin Varlığı Presence of <i>Listeria</i> Species in Cig Kofte <u>Özgür İŞLEYİCİ</u> , Y. Can SANCAK, Emrullah SAĞUN, Kamil EKİCİ	139
Afyon Bölgesinde Üretilen Sucuklarda <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria</i> spp. ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Düzeylerinin Belirlenmesi The Incidence of <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria</i> spp. and <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Serotypes in Turkish Soudjouck, Afyon <u>Belgin SIRIKEN</u> , Şebnem PAMUK, Cüneyt ÖZAKIN, Suna GEDİKOĞLU, Mete EYİĞÖR.....	147
Afyon Bölgesinde Tüketime Sunulan Sucukların Mikrobiyolojik Kalitesi ve Nitrat-Nitrit Kalıntısı Yönünden Araştırılması Microbiological Quality and Residue of Nitrate / Nitrite Levels in Consumed Soudjoucks in Afyon Province <u>Belgin SIRIKEN</u> , Mehmet ÖZDEMİR, Hidayet YAVUZ, Şebnem PAMUK.....	157
Bazı Et Ürünlerinde Kalıntı Nitrat ve Nitrit Düzeyleri Nitrate and Nitrite Residue Levels in Some Meat Products Y. Can SANCAK, <u>Kamil EKİCİ</u> , <u>Özgür İŞLEYİCİ</u>	167

***Escherichia coli* O157'nin İzolasyonunda Salisin-Ramnoz-Sellobiyoz-4 Metilumbelliferil-β-D Glukuronit-Sorbitol Macconkey (SRC-MUG-SMAC) Ayırıcı Agarın Kullanılması**

Use of Salicin-Rhamnose-Cellobiose-4-Methylumbelliferyl-β-D Glucuronide-Sorbitol Macconkey (SRC-MUG-SMAC) Differential Agar for the Isolation of *Escherichia coli* O157

Murat GÜLMEZ, Leyla VATANSEVER, Abamüslüm GÜVEN, Berna DUMAN, Çiğdem SEZER 175

Piliç Kesimhanelerinde Kesim İşleminin Değişik Aşamalarında *Campylobacter jejuni* Kontaminasyonunun Belirlenmesi

Determination of *Campylobacter jejuni* Contamination at the Different Stages of Processing in Poultry Slaughterhouses

Haydar ÖZDEMİR, U.Tansel ŞİRELİ, İrfan EROL 185

Donmuş Tavuk Kıyma ve Hamburgerlerinde *Clostridium perfringens*'in Varlığı ve Kontaminasyon Düzeyi

Occurrence and Enumeration of *Clostridium perfringens* in Frozen Ground Poultry and Poultry Burgers

Ömer ÇAKMAK, F. Seda BİLİR ORMANCI, Muhittin TAYFUR, İrfan EROL . 195

Trisodyum Fosfatın Kanatlı Göğüs Derisine Tutunmuş *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi

Effect of Trisodium Phosphate on *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* Attached to Chicken Breast Skin

Haydar ÖZDEMİR, Yeliz YILDIRIM, Ahmet KOLUMAN 203

Hindi Kıymalarında *Clostridium perfringens*'in Varlığı

Occurrence of *Clostridium perfringens* in Ground Turkey

Devrim SARIGÜZEL, İrfan EROL 213

Ankara'daki Değişik Su Kaynakları ile Kasaplık Sığır ve Koyun Dışkılarında *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Varlığı

Occurrence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in the Different Water Samples and Feces of Slaughtered Cow and Sheep in Ankara

Özen KURSUN, İrfan EROL 221

Cetylpyridinium chloride
x
Left. Appl. Microbiol.

Ankara, Çankırı ve Kastamonu İllerinde Bulunan Bazı Süt İşletmelerinin Atıksularında Çevre Kirliliği Açısından Önemli Parametrelerin Saptanması

Determination of the Important Pollution Parameters in Wastewater of Some Dairy Factories Around Ankara, Çankırı and Kastamonu Provinces

F. Seda BİLİR ORMANCI..... 231

Farklı Depolama Sıcaklığı ve Depolama Süresinin Palamut Balığı Filetosunun Fiziksel ve Kimyasal Kompozisyonlarına Etkisi

The Effects of Different Storage Temperatures and the Storage Time on Chemical and Physical Composition in Bonito Fillets

İlknur MERİÇ, Fikri AYDIN, Nuray KOLSARICI..... 241

Eğirdir Gölü Kerevitlerinin (*Asatcu leptodactylus*) Mikrobiyolojik Kalitesi

Microbiological Quality of Fresh Water Crayfish (*Asatcu leptodactylus*) in Eğirdir Lake

Abdullah DİLER, Soner ALTUN, Öznur DİLER, Behire I. DİDİNEN..... 251

Salamura Otlı Peynirde Olgunlaşma Süresince Mineral Madde Değişimi

Change of Mineral Content in Pickled Herby Cheese During Ripening

Emrullah SAĞUN, Zekai TARAKÇI, Hakan SANCAK, Hisametdin DURMAZ . 261

Pastörize Sütten Yapılan Otlı Peynirlerin Üretim ve Olgunlaşma Aşamalarında *Listeria monocytogenes*'in Seyri

Fate of *Listeria monocytogenes* during Manufacturing and Ripening of Herby Cheeses Made from Pasteurized Milk

Emrullah SAĞUN, Hisametdin DURMAZ, Hakan SANCAK, Zekai TARAKÇI . 269

Otlı Peynirlerde Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* Suşları ve Enterotoksin Varlığı Üzerine Bir Araştırma

A Study on the Presence of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Strains and Enterotoxin in Herby-Cheeses

Y. Can SANCAK, Mustafa ALİŞARLI, Levent AKKAYA..... 277

ASC Heydon H Phet Ben
Effects of Acidified Sodium Chloride
XI
SPC and Hot water on population
of *L. monocytogenes* and *Staph. aureus* on B1

Van ve Çevresi Süt ve Otlı Peynirlerinde *Listeria* Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığı Üzerine Bir Araştırma

The Presence and Prevalence of *Listeria* Species in Milk and Herby Cheese in and Around Van

Emrullah SAĞUN, Y. Can SANCAK, Özgür İŞLEYİCİ, Kamil EKİCİ..... 287



Beyaz Peynir Yapımında Bazı Probiyotik Bakterilerin Kullanılmasının *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi

The Effects of Probiotic Use Against *Listeria monocytogenes* during Manufacture of Turkish White Cheese

Yeliz YILDIRIM, Belgin SARİMEHMETOĞLU..... 295

Rendelenmiş Taze Kaşar Peynirlerinin Farklı Modifiye Atmosferlerde Paketlenmesinin Peynirin Florasına Etkisi Üzerine Bir Araştırma

A Study about the Effect of Using Different MAP Techniques on Minced Kaşar Cheese Flora

M. Emin ERKAN, Harun AKSU..... 305

Elazığ'da Tüketime Sunulan Kaymaklı ve Meyve Aromalı Dondurmalarda Koliform Grubu Mikroorganizmaların Dağılımı

Distribution of Coliform Bacteria in Vanilla or Fruit Flavored Ice-Cream in Elazığ

Bahri PATİR, Gülsüm Ateş ÖKSÜZTEPE, O. İrfan İLHAK..... 313

Asidofiluslu Yoğurdun Üretimi ve Üretim Sonrası Aşamasında *Escherichia coli* O157:H7'nin Canlı Kalabilme Yeteneği

Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in the Processing and Post-Processing Stages of Acidophilus Yogurt

Aylin KASIMOĞLU, Sadi AKGÜN..... 325

Kefirde Laktik Asit Bakterilerinin Tür Düzeyinde Araştırılması

Identification of Lactic Acid Bacteria in Kefir Species Level

Çiğdem SEZER, Abamüslüm GÜVEN..... 335

Ankara'da Tüketilmekte Olan Bazı Süt Ürünleri ve Gıda Ürünlerindeki Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi

Determination of Aflatoxin Levels in Some Dairy and Food Products which Consumed in Ankara

Hasan AYÇİÇEK, Abdurrahman AKSOY, Şahan SAYGI..... 345

ELISA Tekniği ile Et ve Et Ürünlerinde Tür Tayini

Detection of Species in Meat and Meat Products Using ELISA

Yıldız AYAZ, N. Deniz AYAZ, İrfan EROL 355

Kaz Etinin Pastırma Üretiminde Kullanılabilme İmkanları

The Possibility of Using Goose Meat in Pastırma Production

Yusuf DOĞRUER, Ahmet GÜNER, Gürkan UÇAR, Ümit GÜRBÜZ, Abdullah KELEŞ 363

POSTER SUNUMLARI

Türkiye'deki Marketlerden Elde Edilen Deve Sucuklarından *Salmonella* spp.'in İzolasyonu ve PCR ile Teyit Edilmesi

PCR Confirmation and Isolation of *Salmonella* spp. from Camel Raw Sausages in the Turkey Retail Markets

Gökben ÖZBEY, Filiz KÖK..... 373

Farklı Dozlardaki Gamma Işınlamanın Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkisi

Effect of Different Doses of Gamma Irradiation on Microbiological Quality of Meatball

Aydın VURAL, Harun AKSU 379

Isıl İşlem Uygulanmış Sığır Etlerinde Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Yöntemiyle Tür Tayininin Saptanması

Identification of Heat Processed Beef Using Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique

Ali ARSLAN, İrfan İLHAK, Mehmet ÇALICIOĞLU 387

Ankara'da Tüketime Sunulan Mutfaklık Tereyağı, Krema ve Krem Şantili Pastaların *Brucella* spp. Yönünden İncelenmesi

Investigation of Butter, Cream and Whipped Creamy Pastry for *Brucella* spp. Consumed in Ankara

Fulya TAŞCI 397

Dondurmalarda *Brucella* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Isolation and Identification of *Brucella* spp. in Ice Cream

Özlem KÜPLÜLÜ, Belgin SARİMEHMETOĞLU 405

Carra Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi

A Survey on the Microbiological Quality of Carra, a Traditional Turkish Cheese

Osman AYGÜN, Özkan ASLANTAŞ, Süleyman ÖNER 413

Bir Süt Fabrikasında Beyaz Peynir Üretim Aşamalarında Mikrobiyolojik Kontaminasyon Kaynaklarının Belirlenmesi

Determination of Microbiological Contamination Sources White Cheese during Production Stages in Dairy Plant

Seran TEMELLİ, Şahsene ANAR, M.K. Cem ŞEN, Pelin AKYUVA 421

Otlı Lorların Mineral Madde ve Ağır Metal İçerikleri

Mineral and Heavy Metal Contents of Herby Lors

Fevzi KILIÇEL, Zekai TARAKÇI, Hakan SANCAK, Hisamettin DURMAZ... 429

Akdeniz ve Karadeniz'den Sağlanan Bazı Balık Türlerinde Ağır Metallerin Araştırılması

Research of Heavy Metals in Some Fish Species of the Mediterranean Sea and the Black Sea

A. BAYHAN ÖKTEM, Aydın KOÇER, Buket ER 437

Ankara İlindeki Bazı Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*) Çiftliklerine Ait Su, Yem ve Balıkların Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi

Microbiological Investigation of Water, Feed and Fish belong to Some Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Farms in Ankara

Göknur TERZİ 445

Konvansiyonel ve Mikrodalga ile Pişirmenin Van Balığı'nın (*Chalcalburnus Tarichi*, Palas 1811) D₃ Vitamin Düzeyi Üzerine Etkisi

The Effect of Conventional and Microwave Cooking on Vitamin D₃ Levels of Van Lake Fish (*Chalcalburnus Tarichi*, Palas 1811)

Emrullah SAĞUN, Haluk TESTERECİ, İbrahim H. YÖRÜK, Kamil EKİCİ..... 455

Gıda Patojeni *Listeria monocytogenes*'in İdentifikasyonunda Standart Biyokimyasal Testler ile Kromojenik Rapid' L.Mono'nun Karşılaştırılması

Comparative Analysis of Standart Biochemical Tests and Chromogenic Rapid' L.Mono Medium for Identification of Foodborne Pathogen *Listeria monocytogenes*

Recep ÇIBIK, Figen ÇETİNKAYA..... 463

Isırganotu Yaprağının (*Folium Urticae*) Antibakteriyal Aktivitesi

The Antibacterial Activity of Common Nettle (*Folium urticae*)

Nursel DOSTBİL, Sema AĞAOĞLU, Süleyman ALEMDAR 471

Ankara Piyasasından Sağlanan Çikolatalarda Teobromin ve Yağsız Kakao Kitlesi Miktarlarının Araştırılması

Determination of Theobromine and Non-Fat Cocoa Solids Levels in the Chocolate Samples Sold in Ankara Local Markets

Gülderen YENTÜR, Buket ER, Betül ÇELİK 477

İstanbul Garnizonundaki Askeri Birlik ve Kurumlara Ait Suların Mikrobiyolojik Analizi

Microbiological Analysis of Water Samples Obtained from Armed Military Forces in İstanbul

Ömer ÇAKMAK, İrfan EROL, Mustafa ÖZYURT, F. Seda BİLİR ORMANCI, Ahmet YILDIZ, Nurettin ARDIÇ, Ali ERDEMOĞLU 487

Soğuk Olarak Tüketime Sunulan Bazı Hazır Gıdaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi

Microbiological Quality of Some Ready-to-eat Foods

Ercan ÖNER, İrfan EROL..... 495

YAZAR İNDEKSİ 503

Handwritten text at the top of the page, possibly a header or title.

Handwritten text block, likely the beginning of a letter or document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

Handwritten text block, continuing the document.

SÖZLÜ SUNUMLAR

FOOD HYGIENE AND CONTROL REGULATION IN EUROPEAN UNION FROM VETERINARY ASPECT

Alberto MANCUSO

The legislation regarding food safety has been completely rewritten in the last months, following some big crises (BSE, Dioxin) that caused consumer's loss of confidence and were the definitive cause of the change.

In the past, food legislation in the EU was characterized by some aspects:

- legislation particularly detailed;
- the operator was obliged to follow such rules, without many alternatives;
- basic importance assigned to premises and equipments;
- basic importance assigned to the traditional controls, and inspection activity is described in details;
- abundant legislative production with overlap of norms: difficulties to get a clear picture.

Some identified problems of the "old system" were the following:

1. controls were fragmented: each step in food production was considered separately;
2. inefficacy of a legislation that focused on the final product control, providing details that are useless for the food safety goals;
3. the great crises have originated in matters related to animals feeding;
4. absence of specific norms for the products of vegetable origin;
5. primary production not adequately disciplined.

The first step in the EU legislation updating process, was the publication of the "White paper on food safety", that the Commission of the European Communities published on 12th January 2000.

In the "White paper" the problems related to food safety legislation were analyzed, and were included some assumptions:

- great complexity of the food production chain;
- necessity of an integrated approach to food safety;
- differences in the control systems of the various countries and in the way the EU legislation is applied.

In the White paper on food safety were proposed the following solutions: institution of an independent European Food Safety Authority;

- adoption of measures to improve the corpus of the legislation to make coherent all the aspects of alimentary products, "from the fields to the table";
- creation of a new juridical environment that covers the whole food chain, included feed production.

THE NEW LEGISLATION

Following the publication of the White Paper, it was approved the Regulation No. 178/2002 of 28/1/2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.

The main contents of the Regulation 178/2002 are:

- field of application and definitions;
- general principles and requirements of food law;
- European Food Safety Authority;
- Rapid alert system, management of crisis.

General principles of food law

According to the Regulation 178/2002, food law shall:

- pursue general objectives of a high level of protection of human life and health,
- aim to achieve the free movement of food and feed,
- aim at the protection of the interests of consumers,
- be based on risk analysis.

Moreover, risk assessment shall be based on the available scientific evidence and undertaken in an independent, objective and transparent manner and risk management shall take into account the results of risk assessment.

European Food Safety Authority (EFSA) According to the Regulation 178/2002, a European Food Safety Authority is established. EFSA is an independent scientific point of reference in risk assessment, an independent scientific source of advice, information and risk communication in order to improve consumer confidence.

The mission of EFSA is to provide scientific advice and scientific and technical support for the Community's legislation and policies in all fields which have a direct or indirect impact on food and feed safety.

The Commission remains fully responsible for communicating risk management measures.

Main tasks of EFSA are the following:

- to provide scientific and technical support to the Commission;
- to promote and coordinate the development of uniform risk assessment methodologies;
- to search for, collect, analyze and summarize scientific and technical data;

- to undertake action to identify and characterize emerging risks;
- to establish a system of networks of organizations;
- to provide scientific assistance in the crisis management;
- to ensure that the public and interested parties receive rapid, reliable, objective and comprehensible information;
- to express independently its own conclusions and orientations on matters within its mission.

Risk analysis

An important statement included in Reg. 178/2002, is the following: the food legislation, and particularly the measures related to food safety, have to be based on the risk analysis and sustained by scientific data.

The risk analysis consists of three interconnected components:

- *risk assessment*: a scientifically based process consisting of four steps: hazard identification, hazard characterization, exposure assessment and risk characterization;
- *risk management*: the process, distinct from risk assessment, of weighing policy alternatives, considering risk assessment, and, if need be, selecting appropriate prevention and control options;
- *risk communication*: the interactive exchange of information and opinions throughout the risk analysis process, among risk assessors, risk managers, consumers, feed and food businesses and other interested parties, including the explanation of risk assessment findings and the basis of risk management decisions.

Risk assessment and risk management have to be separate.

Rapid Alert System

According to art. 50 of the Regulation, a rapid alert system (RASFF) for the notification of a direct or indirect risk to human health deriving from food or feed is established as a network.

Participants of the RASFF are: the Member States, the Authority and the Commission; the last is responsible of RASFF.

In case of serious direct or indirect food risk for the human health, this information is immediately transmitted to the Committee, which, in its turn, immediately transmits the respective information to the members of the net.

Where a food or feed which has been the subject of a notification under the RAS has been dispatched to a third country, the Commission shall inform the latter.

Traceability

Definition: the ability to trace and follow a food, feed, food-producing animal or substance intended to be, or expected to be incorporated into a food or feed, through all stages of production, processing and distribution.

According to art. 18, every subject in the production food flow has to be able to immediately identify the previous and the following ring of the food chain.

Crisis management

Art. 55 includes specific provisions on crisis management.

The Commission shall draw up, in close cooperation with the Authority and the Member States, a general plan for crisis management in the field of the safety of food and feed. The general plan shall specify the types of situation involving direct or indirect risks to human health deriving from food and feed which are not likely

to be prevented, eliminated or reduced to an acceptable level by provisions in place or cannot adequately be managed.

The general plan shall specify the procedures necessary to manage a crisis, including a communication strategy.

In case of crisis, the Commission shall set up a crisis unit immediately, in which the Authority shall participate. The crisis unit shall be responsible for collecting and evaluating all relevant information and identifying the options available to prevent, eliminate or reduce to an acceptable level the risk to human health as effectively and rapidly as possible. The crisis unit shall keep the public informed of the risks involved and the measures taken.

NEW REGULATIONS Following the publication of Regulation 178/2002, some important regulations were recently approved.

- Regulation (EC) n. 852/2004 on the hygiene of foodstuffs.
- Regulation (EC) n. 853/2004 laying down specific rules on the hygiene of food of animal origin.
- Regulation (EC) n. 854/2004 laying down specific rules for the organization of official controls on products of animal origin intended for human consumption.
- Regulation (EC) n. 882/2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules.
- Directive 2004/41/EC repealing certain Directives concerning food hygiene and health conditions for the production and placing on the market of certain products of animal origin intended for human consumption.

These regulations shall apply no earlier than 1 January 2006 and are going to completely rewrite the rules related to food hygiene and official controls.

The following directives are going to be repealed:

- 89/397/EEC (official control of foodstuffs),

- 93/43/EEC (hygiene of foodstuffs),
- 85/73/EEC (financing of health inspections and controls),
- 64/433/EEC and 72/461/EEC (fresh meat),
- 71/118/EEC and 91/494/EEC (fresh poultry meat),
- 77/96/EEC (examination for trichinae),
- 77/99/EEC and 80/215/EEC (meat products),
- 89/437/EEC (egg products),
- 91/492/EEC (live bivalve molluscs),
- 91/493/EEC and 92/48/EEC (fishery products),
- 91/495/EEC (rabbit meat and farmed game meat),
- 92/45/EEC (wild-game meat),
- 89/362/EEC and 92/46/EEC (milk and milk products),
- 94/65/EC (minced meat and meat preparations).

The new legislation: principles

Some basic principles are included in the new regulations:

- the responsible for the food safety are the producers;
- it is necessary to ensure food safety throughout the food chain, starting with primary production;
- it is necessary to consider all aspects of the food production chain (from stable to table);
- within the context of food law it is appropriate to include requirements for feed (if intended for food-producing animals);

- general implementation of procedures based on the HACCP principles, together with the application of good hygiene practice, should reinforce operators' responsibility;

- the traceability of food and food ingredients along the food chain is an essential element in ensuring food safety;

- collecting information and information analysis are essential elements, particularly important for risks identification;

- the use of scientific opinions has to support food safety policies;

- the risk analysis has to constitute the base on which the food safety policies are established;

- risk management must be separated from risk assessment.

Food safety is a result of several factors: legislation should lay down minimum hygiene requirements, official controls should be in place to check food business operators' compliance, food business operators should establish and operate food safety programmes and procedures based on the HACCP principles.

Regarding food safety and responsibility, it is clearly stated that food businesses operators have the prime responsibility for food safety. The competent authorities monitor and enforce this responsibility and the Commission's control services concentrate on evaluating the ability of competent authorities to deliver these systems through audits and inspections.

Food imported into the Community is to comply with the general requirements laid down in Regulation (EC) No 178/2002 or satisfy rules that are equivalent to Community rules.

Also, food exported to third countries from the Community is to comply with the general requirements laid down in Regulation (EC) No 178/2002.

Regulation n. 853/2004 - specific hygiene rules for food of animal origin

The Regulation lays down specific rules on the hygiene of food of animal origin for food business operators. These rules supplement those laid down by Regulation (EC) No 852/2004 and they shall apply to unprocessed and processed products of animal origin.

Regulation n. 853/2004 foresees common rules for all products of animal origin: responsibilities, structural, operational and hygiene requirements, procedures for the approval, requirements for storage and transport and health marks.

Detailed hygiene rules are maintained for products of animal origin. Structural and hygiene requirements laid down in the Regulation have to be applied to all types of establishments, including small businesses.

It is stressed the importance of an adequate communication between the different stakeholders along the food chain, from primary production to retail.

Regulation n. 882/2004 - general rules for the performance of official controls

Regulation (EC) No 882/2004 concerns official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules.

Scope of official controls is to verify compliance with rules aiming at:

- preventing, eliminating or reducing to acceptable levels risks to humans and animals;
- guaranteeing fair practices in feed and food trade and protecting consumer interests.

The frequency of official controls should be regular and proportionate to the risk, taking into account the results of the checks

carried out by feed and food business operators under HACCP based control programmes.

Contents of the Regulation 882/2004: organisation of official controls: general obligations;

- competent authorities: designation, operational criteria and delegation of specific tasks;
- control and verification procedures, reports, control activities, methods and techniques;
- sampling and analysis;
- crisis management;
- financing of official controls;
- control plans;
- import conditions and official controls;
- training of control staff;
- enforcement measures: (non compliance, sanctions).

Definitions

Some important definitions are included in Regulation 882/2004:

"verification": checking, by examination and the consideration of objective evidence, whether specified requirements have been fulfilled;

"audit": systematic and independent examination to determine whether activities and related results comply with planned arrangements and whether these arrangements are implemented effectively and are suitable to achieve objectives;

"inspection": the examination of any aspect of feed, food, animal health and animal welfare in order to verify that such aspects comply with the legal requirements of feed and food law and animal health and animal welfare rules.

Organisation of official controls: general obligations

Official controls shall be carried out regularly, on a risk basis and with appropriate frequency, taking account of:

- identified risks associated with animals, feed or food, feed or food businesses, the use of feed or food or any process, material, substance, activity or operation that may influence feed or food safety, animal health or animal welfare;
- operators' past record as regards compliance with law;
- the reliability of own checks that have been carried out;
- any information that might indicate non-compliance.

Designation of competent authorities and delegation of specific tasks An important part of Regulations 882/2004 concerns Competent Authorities. They shall ensure:

- the effectiveness and appropriateness of official controls;
- that staff carrying out official controls are free from any conflict of interest;
- that they have, or have access to, an adequate laboratory capacity for testing;
- that they have appropriate and properly maintained facilities and equipment;
- that they have the legal powers to carry out official controls and to take measures;
- that they have contingency plans in place, and are prepared to operate such plans in the event of an emergency.

A Member State may confer the competence to carry out official controls on an authority other than a central competent authority, in particular those at regional or local level; in this case, an efficient and effective coordination shall be ensured between all the competent authorities involved.

The competent authority may delegate specific tasks related to official controls to one or more control bodies. In this case, the following conditions must be respected:

- accurate description of the tasks and of the conditions under which it may carry them out;
- control body has the expertise, equipment and infrastructure required, has a sufficient number of qualified and experienced staff, is impartial and free from any conflict of interest;
- the control body works and is accredited in accordance with 45004 and/or another standard if more relevant;
- the control body communicates the results of the controls carried out to the competent authority on a regular basis and whenever the competent authority so requests;
- there is efficient and effective coordination between the delegating competent authority and the control body.

Control procedures, guidelines and reports

Official controls should take place on the basis of documented procedures so as to ensure that these controls are carried out uniformly and are of consistent high quality. These procedures shall contain information and instructions for staff performing official controls.

The competent authority shall draw up reports on the official controls that it has carried out. The reports shall include:

- a description of the purpose of the official controls,
- the control methods applied,
- the results of the official controls,
- action that the business operator concerned is to take.

The competent authority shall provide the business operator concerned with a copy of the report, at least in case of non compliance.

Enforcement measures When the competent authority identifies non-compliance, it shall take action to ensure that the operator remedies the situation, taking account of the nature of the non-compliance and that operator's past record. Action in case of non-compliance include the following:

- the imposition of sanitation procedures or any other action deemed necessary to ensure the safety of feed or food;
- the restriction or prohibition of the placing on the market, import or export of feed, food or animals;
- monitoring and, if necessary, ordering the recall, withdrawal and/or destruction of feed or food;
- the authorization to use feed or food for purposes other than those for which they were originally intended;
- the suspension of operation or closure of the business;
- the suspension or withdrawal of the approval;
- any other appropriate measure.

Financing of official controls Member States shall ensure that adequate financial resources are available to provide the necessary staff and other resources for official controls.

Member States may collect fees or charges to cover the costs occasioned by official controls; fees shall be collected for: slaughter inspection, cutting plants, game processing houses, milk production, fishery products and aquaculture products.

When the detection of non-compliance leads to official controls that exceed the competent authority's normal control activities, the competent authority shall charge the operators responsible for the non-compliance for the expenses arising from the additional official controls.

Activities that exceed normal control activities are for example:

- taking and analysis of samples,

- other controls that are required to check the extent of a problem, to verify whether corrective action has been taken, or to detect and/or substantiate non-compliance.

Multi-annual national control plans

Each Member State shall prepare a multi annual national control plan, containing:

- systems of feed and food control: general information,
- strategic objectives (prioritisation of controls),
- risk categorisation of the activities concerned,
- designation of competent authorities, tasks and resources,
- control systems applied to different sectors: organization,
- methods to ensure compliance with the operational criteria,
- training of staff performing official controls,
- documented procedures,
- organisation and operation of contingency plans,
- organisation of cooperation and mutual assistance.

Regulation n. 854/2004 - official controls on products of animal origin

This Regulation lays down specific rules for the organization of official controls on products of animal origin and it should cover all aspects that are important for protecting public health and, where appropriate, animal health and animal welfare. It is foreseen that the nature and intensity of the official controls should be based on an assessment of risks.

Concerning Competent Authorities, Regulation 854/2004 foresees that official veterinarians carry out audits and inspections of

slaughterhouses, game handling establishments and certain cutting plants. Member States have discretion to decide which are the most appropriate staff for audits and inspections of other types of establishments.

Official Veterinarian

The competent authority may appoint only veterinarians who have passed a test. In addition, each official veterinarian is to undergo practical training for a probationary period of at least 200 hours before starting to work independently.

The official veterinarian is to maintain up-to-date knowledge and to keep abreast of new developments through regular continuing education activities and professional literature. The official veterinarian is, wherever possible, to undertake annual continuing education activities.

Official veterinarian must perform audits of good hygiene practices and HACCP-based procedures.

As a consequence of Regulation 882/2004, appears the new role of official veterinarian.

Indeed, the regulation foresees that: inspection activity can be performed by auxiliaries,

- in specific cases, inspection activity could be carried out by establishment's personnel,
- inspection activity is ONE of the elements of official control,
- audits play a central role in veterinarian's activity.

We can conclude that Official Veterinarian shall be the supervisor of the plant.

Establishment and inspection task In specific cases (meat from poultry and lagomorphs), where the establishment has used good hygiene practice and the HACCP procedure for at least twelve months, the competent authority may authorize staff of the establishment to carry out tasks of the official auxiliaries and form part of the competent authority's independent inspection team, under

the supervision, direction and responsibility of the official veterinarian.

European commission control activities: the inspection service

Within the European Commission, there are 36 General Directions and Services. The General Direction dealing with food safety is DG SANCO (General Direction for Consumers' Health and Protection).

Within DG SANCO operates Food and Veterinary Office (FVO), which main task is to guarantee that the community legislation on food safety and animals health, vegetables health and animals welfare has been put into effect and has been adequately applied.

More in details, FVO tasks are:

- to promote effective control systems for food safety and food quality;
- to check if the provisions of the community legislation are respected in point of food safety, of the veterinary and phytosanitary sectors, within the European Union and in the Third Countries that export toward the UE;
- to contribute to the elaboration of the community policies in food safety, and in the veterinarian and phytosanitary sectors;
- to inform the interested parts on the evaluations results.

FVO's main activity is to conduct inspections in the Member States and in the Third Countries and to verify if the competent authorities apply the community legislation.

The inspections results are contained in the inspection reports and recommendations are made to the competent authorities of the interested country to suggest remedy of the irregularities. It is required to the competent authority to introduce an action plan. The FVO also formulates recommendations to other Committee services on the legislation that is necessary to be clarified or modified.

According to the Regulation n. 882/2004 (art. 46), Community controls in third countries shall have regard to:

- the legislation of the third country;
- the organization of competent authorities, their powers and independence, the supervision to which they are subject and the authority they have to enforce the legislation effectively;
- the training of staff and the resources available;
- the existence and operation of documented control procedures and control systems based on priorities;
- the situation regarding animal health, zoonoses, plant health;
- the extent and operation of official controls on imports;
- the assurances which the third country can give regarding compliance with, or equivalence to, Community requirements.

food safety systems in the world

Globalization requires that different Countries ensure similar guarantees. Food control systems show considerable similarities:

- food safety policy based on a integrated approach;
- food safety responsibility is given to the producer;
- implementation of the farm to table policy, covering all sectors of the food chain;
- stressed the importance of HACCP;
- risk-based food safety policy.

SALMONELLA* PCR-ELISA VE PCR-REVERSE DOT BLOT YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Ayşegül EYİĞÖR¹ K. Tayfun ÇARLI²

¹Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Bursa

²Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Görükle
Kampusu-Bursa

Özet: İnsan salmonellosis olgularını en aza indirmenin birincil basamağı, salmonellanın primer kaynağı olan kanatlı hayvanlar ve ürünlerinde bu bakteriyi azaltacak kontrol önlemlerini almak ve bu ürünleri test etmektir. Kanatlı ve gıda ürünlerinin *Salmonella* yönünden testinde kanatlı işletmeleri ve gıda sanayi için uzun zaman alan standart olarak bakteriyolojiden kullanılmaktadır. Bu deteksiyon zamanını azaltmak, test maliyetlerini düşürmek ve çok sayıda örneği bir arada canlı *Salmonella* varlığı yönünden test edebilmek için, çalışmalarımızda PCR-ELISA ve PCR-reverse dot blot (PCR-RDB) yöntemlerini geliştirdik. ELISA'yı streptavidin kaplı mikopleytlerde, Reverse dot blot'u ise özgün prob ile kaplanmış Karboksi modifiye mikopleytlerde yaptık. Tetrathionate broth birincil zenginleştirmelerinden örneklerle optimize edilmiş invA geninin 281 bp'lık bir parçasına spesifik PCR uyguladık. Saf *Salmonella Enterica* subs. *Enterica* serovar *Enteritidis* kültürü ile her iki yöntemin deteksiyon limitini 200 cfu ml⁻¹ olarak bulduk. Her iki yöntemin relatif sensitivitesini ve spesifitesini %100 olarak saptadık. Geliştirilen yöntemlerin avantaj, dezavantajları ve kullanım yerlerini tartıştık.

Anahtar kelimeler: *Salmonella*, PCR-ELISA, PCR-Reverse Dot Blot

Development of Methods of *Salmonella* PCR-ELISA and PCR-Reverse Dot Blot

Abstract: The first step to reduce the number of human salmonellosis cases is to take measurements that will cause the reducing the number of this bacterium in poultry, poultry environment and poultry food products, which are primary sources of *Salmonella* for human, and

* Bu çalışma, TÜBİTAK-TOGTAG-TARP-2203 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

then to monitor them. Standard bacteriology, which is a time-consuming method for poultry companies and food industry, is used to detect *Salmonella* in poultry and food products. In this study, we developed PCR-ELISA and PCR-Reverse Dot Blot methods for monitoring viable *Salmonella* to shorten the detection time, reduce the test cost and to make ready the test for high throughput sample process. ELISA and Reverse Dot Blot were performed in microplates coated with streptavidin and the probed carboxy-modified microplates, respectively. Optimized PCR targeting a 281 bp part of *invA* gene was performed with samples from tetrathionate broth primary enrichment. Detection limit of the both methods was found to be 200 cfu ml⁻¹ with pure culture of *Salmonella Enterica* subs. *Enterica* serovar *Enteritidis*. Both methods showed 100% relative sensitivity and specificity. Finally, we discussed the advantage, disadvantage of the developed methods.

Key words: *Salmonella*, PCR-ELISA, PCR-Reverse Dot Blot

Giriş

Kanatlılarda *Salmonella* kontrolü büyük ölçüde etkeni erken teşhis etmekle olanaklıdır. Bu amaç için kullanılan standart bakteriyolojik yöntemler kanatlı örneklerinden *Salmonella*'yı izole ve identifiye etmek için 5-11 günlük bir süre gerektirir (Anonim 1996, Andrews and Wallace, 2003). Bu zaman alıcı yöntemlerin PCR ve modifikasyonları gibi hızlı ve güvenilir bir yöntemle desteklenmelerinin büyük avantajları vardır (Rahn ve ark. 1992; Soumet ve ark. 1994; Soumet ve ark. 1999; Carli ve ark. 2000; Eyigör ve ark. 2002). Ancak, kanatlı ve ürünleri sektöründe, *Salmonella* screening ve monitoringi için, ya da çok sayıda numunenin bir arada işleneceği durumlarda yeni bir metoda gerek olmaktadır. Biz, bu problemi bir yönden, daha önce de belirtildiği gibi realtime PCR ile çözdük (Eyigör ve ark. 2002, Eyigör ve Carli 2003). Bununla beraber, amacımız blok ya da hava ısıtıcılı olsun, bir thermal cycler kullanılarak elde edilen çok sayıda PCR ürününü aynı anda, en kısa sürede, ve ekonomik olarak detekte etme yöntemini / yöntemlerini geliştirmekti. Yine, amplifiye olan hedef DNA'nın spesifitesini de aynı test içinde (dizi spesifik oligonukleotid prob kullanarak) belirlemeyi hedefledik. Bu nedenle de DIG-PCR ELISA ve DIG-PCR MTP-RDB'ı geliştirdik.

Materyal ve Metot

Testlerde kullanılan standart bakteri suşları. Çalışmada standart olarak *Salmonella* Enteritidis S5487, Typhimurium S5486, Enteritidis 64K, Typhimurium LT2-CIP60-62, Thompson, Agona, Gallinarum suşları kullanıldı.

PCR testlerinde kullanılan primerler. Rahn ve ark. (1992) tarafından tanımlanan *Salmonella* genus-spesifik primerlerdir. *Salmonella*'nın *invA* geni üzerinde bulunan bu primer çifti Expedite DNA Sentezleyicide (Perseptive Biosystems) sentezlendi ve reverse-faz yüksek basınçlı likit kromatografi kullanarak (BioCAD700E; Perseptive Biosystems) saflaştırıldı. *Salmonella*-genus spesifik primerlerin amplifiye edeceği beklenen PCR ürün büyüklüğü 284 bp olarak bildirilmiştir.

***Salmonella* PCR-'bio-prob'-ELISA testi ve *Salmonella* PCR-MTP-RDB testi için kullanılan problar.** *InvA1* ve *InvA2* primerleri kullanılarak elde edilen DIG- işaretli PCR ürünün ELISA ile Microtiterplate (MTP)'de detekte etmek amacı ile bu bölgeye spesifik bir prob dizayn edildi (Bio-Ayse). Ayrıca, *InvA1* ve *InvA2* primerleri kullanılarak elde edilen DIG- işaretli PCR ürününü herbir kuyucuğunda karboksil kökü bulunan Microtiterplate (MTP)'de (Xenobind covalent) detekte etmek amacı ile bu bölgeye spesifik bir prob dizayn edildi (RDB-Salm).

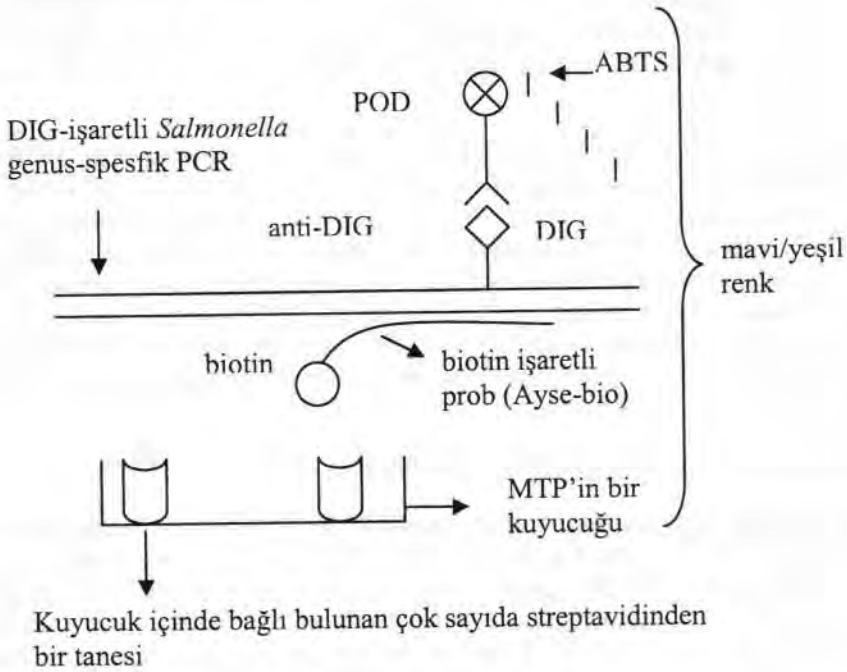
***Salmonella* PCR-'bio-prob'-ELISA Testi.**

DIG-işaretli *Salmonella* genus-spesifik PCR ürünü hazırlama. *Salmonella* DNAsı, *InvA1*, *InvA2*, DIG-dUTP, dNTP mix, buffer ve Taq polimeraz, SYBR green ve $MgCl_2$ kullanılarak ve PCR parametreleri ön denaturasyon: 95 °C'de 30 sn., 40 Siklus: 95 °C'de 0 sn., 55 °C'de 5 sn., ve 72 °C'de 10 sn olacak şekilde PCR yapıldı. PCR ürünü hazırlama sırasında önce ürün varlığı LC-PCR melting curve analizi ile tesbit edildikten sonra, ürün miktar tayini testleri de yapıldı.

DIG-işaretli *Salmonella* genus-spesifik PCR ürününün 'bio-prob' ELISA testi ile deteksiyonu. DIG-işaretli amplifiye edilen spesifik PCR ürünü elde edildikten sonra, biotin işaretli prob bu PCR ürününe bağlandı. Aynı testte paralel olarak test edilen negatif deteksiyon kontrolü (DIG-deteksiyonu sırasında numune yerine su konarak hazırlanmış), ve PCR-ELISA için boş/ negatif kontrol (PCR sırasında su konarak hazırlanan) su kullanıldı. Daha sonra prob-PCR ürünü

hibridi streptavidin kaplı 96 kuyucuklu MTP üzerinde immobilize edildi. Bağlanamayan, spesifik olmayan ürünler yıkandıktan sonra bağlı kalan hibritler Anti-DIG peroksidaz konjugatı ve kolorimetrik substrat ABTS kullanılarak detekte edildi (Şekil 1). Herbir numunenin absorbansı 416 nm’de okundu ve ABTS renk substratının background absorbansı bu değerlerden çıkarıldı. Tüm bu işlemler yaklaşık 5 sa. (inkübasyon süreleri hariç 1 sa.) sürdü.

Şekil 1: *Salmonella* DIG-PCR ELISA yönteminde oluşturulan sistemin şematik görünümü.



DIG-işaretli *Salmonella* genus-spesifik PCR ürününün 'bio-prob' ELISA testi ile deteksiyonunda sensitivite belirlenmesi. *Salmonella* DNAsı ile. Konsantrasyonu belirlenmiş saf *Salmonella* DNAsının (79 µg/ml) 1:2, 1:10, 1:50, 1:100, 1:500, 1:1000, 1:10.000 sulandırması yapıldı. Herbir sulandırmadan alınan templeyt ile PCR ve ELISA yukarıdaki şekilde yapıldı. *Salmonella* saf kültürü ile. Sayıları belirlenmiş *Salmonella* saf kültürünün (5×10^6 kob/ml) 10^{-7} 'ye kadar (1:10.000.000) yapılan sulandırmasından alınan templeytlar ile PCR ve ELISA yukarıdaki şekilde yapıldı. Okunan absorbanslar değerlendirildi.

Bulgular

PCR-ELISA işlemi.

Salmonella PCR-ELISA sonuçları. Bu testte pozitif kontrol olarak *Salmonella* DNAsı (1), paralel olarak test edilen negatif deteksiyon kontrolü (DIG-deteksiyonu sırasında numune yerine su konarak hazırlanmış) (2), ve PCR-ELISA için boş/ negatif kontrol (PCR sırasında su konarak hazırlanan) su (3) kullanıldı. Sonuç olarak 1 nolu numuneden pozitif, 2 ve 3 nolu numuneden negatif sonuç elde edildi (Resim 1). *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Thompson ve *Salmonella* Typhimurium'un saf kültürleri ile yapılan PCR-ELISAlarda da pozitif sonuç elde edildi (Resim 1).

Salmonella PCR-ELISA'da sensitivite belirlenmesi. Saf *Salmonella* DNAsı ile yapılan deneyin sensitivitesinin 1:10.000 (0.0079 µg/ml), *Salmonella* saf kültürü dilusyonları ile yapılan deneyin sensitivitesinin ise 200 kob/ml olduğu belirlendi.

Resim 1: Seçilmiş PCR-ELISA sonuçları.

1, <i>Salmonella</i> Enteritidis pozitif kontrol 1	1
2, deteksiyon negatif kontrolü	2
3, templeyt negatif kontrol	3
4, <i>Salmonella</i> Enteritidis pozitif kontrol 2	4
5, <i>Salmonella</i> Thompson pozitif kontrol	5
6, <i>Salmonella</i> Typhimurium pozitif kontrol	6
7-8, boş kuyucuk	7 8



Salmonella PCR-MTP-RDB test deteksiyon sonuçları.

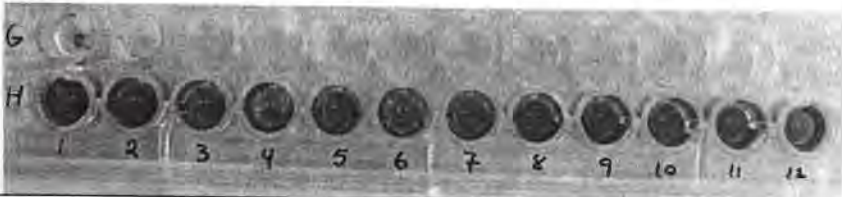
Saf *Salmonella* DNAsı ile PCR-MTP-RDB testi sonuçları. Pozitif kontrol olarak kullanılan *Salmonella* DNAsının templeyt olarak

kullanıldığı DIG-işaretli PCR ürününün koyulduğu kuyucukta mavi renk gözlenirken, suyun templeyt olarak kullanıldığı DIG-işaretli PCR ürününün koyulduğu kuyucukta (negatif kontrol) hiçbir renk oluşumu gözlenmedi. Bu sonuç bize PCR-RDB işleminin başarı ile çalıştığını gösterdi.

Salmonella genus-spesifik PCR-MTP-RDB hibridizasyon testinin saf Salmonella kültürleri ile denenmesi sonuçları: Tüm *Salmonella* türlerine ait kuyucuklarda (H1-H6) mavi renk gözlemlendi. Negatif kontrollerde (G1 ve G2) hiçbir renk oluşumu gözlenmedi (Resim 2). Bu test ile test edilen diğer *Salmonella* türleri de pozitif reaksiyon vermiştir (Resim 2).

Resim 2: Salmonella PCR RDB sonuçları.

G1, PCR DIG işaretleme negatif kontrol	H3, <i>Salmonella</i> Agona
G2, DIG deteksiyon negatif kontrol	H4 <i>Salmonella</i> Thompson
H1, DIG deteksiyon pozitif kontrol	H5 <i>Salmonella</i> Sarajane
<i>Salmonella</i> Enteritidis DNA templeyt	H6 - H12 <i>S. Enteritidis</i> saha izolatları
H2, <i>Salmonella</i> Enteritidis	



Sonuç

Bu çalışmada *Salmonella*-genus spesifik PCR ürünlerini DIG-PCR ELISA ve DIG-PCR RDB deteksiyon yöntemleri ile MTP formatında detekte edildi. Literatürde, bir diğer *Salmonella* PCR ELISA yöntemi Luk ve ark. (1997) tarafından tanımlanmasına rağmen, bizim

yöntemimizin bu yöntemden farkı ve avantajı, biotin işaretli capture-problarla amplikon arama spesifitesinin yüksekliği ve dolayısıyla ürün aramanın ve hibridizasyonun bir arada yapılmasıdır. Luk ve ark. (1997)'nin yönteminde ise sadece ELISA ile PCR ürünü aranmış, fakat ürünün hibridizasyon gibi bir işlemle spesifitesi saptanmamıştır. Sonuç olarak tanımladığımız *Salmonella* DIG-PCR ELISA yöntemi literatürdeki diğer PCR-ELISA yöntemlerine göre daha spesifik bir yöntemdir diyebiliriz.

DIG-PCR ELISA'nın en önemli avantajları metodun 96 kuyucuklu katı-fazlı MTP formatına oturtulmuş olması, ve bu nedenle de çok sayıda numuneyi tek seferde çalışabilme özelliği ve dolayısı ile ekonomikliği, kolaylığıdır. Bu test sonrasında, ileri çalışmalarda kullanılmak üzere, pozitif sonuç veren *Salmonella* numuneleri biyokimyasal, serotiplendirme ve antibiyotik duyarlılık gibi testlere de tabi tutulabilir. DIG-PCR ELISA MTP yöntemine bir alternatif metod olarak geliştirdiğimiz PCR MTP RDB ise gelecekte bu sistemleri kullanacaklara biraz daha farklı bir sistem sunmakta ve esneklik sağlamayı öngörmektedir.

Kaynaklar

- Andrews, W. H., Hammack T. S. 2003. Hypertext Source (<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html>): Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, Chapter 5, (1998).
- Anonim. (1996). The National Poultry Improvement Plan, CFR Part 147 Auxiliary Provisions on National Poultry Improvement Plan. Subpart B- Bacteriological Examination Procedure. § 147-11 Laboratory procedure recommended for the bacteriological examination of *Salmonella*, United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service, p.14
- Carli, K. T., Unal C. B., Caner V. A.Eyigor. (2001). Detection of Salmonellae in Chicken Feces by a Combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR, and Capillary Gel Electrophoresis, *J. Clin. Microbiol.*, 39, 1871-1876
- Eyigor A., Carli K. T., Unal C. B. (2002).Implementation of Real-Time PCR to Tetrathionate Broth Enrichment Step of *Salmonella* Detection in Poultry, *Lett. Appl. Microbiol.*, 34, 37-41
- Eyigor, A., K. T. Carli. (2003).Rapid Detection of *Salmonella* from Poultry by Real-Time Polymerase Chain Reaction with Fluorescent Hybridization Probes, *Avian Diseases*, 47, 380-386

Luk, J. M., Kongmuang U., Tsang R. S. W., Lindberg A. A. (1997). An enzyme-linked immunosorbent assay to detect PCR products of the *rfbS* gene from serogroup D salmonellae: a rapid screening prototype, *J. Clin. Microbiol.*, 35, 714-718.

Rahn, K., De Grandis S. A., Clarke R. C., McEwen S. A., Galan J. E., Ginocchio C., Curtis R. III, Gyles C. L. (1992) .Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*, *Molecular and Cellular Probes*, 6, 271-9

Soumet C., Ermel G., Fach P., Colin P. (1994).Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polymerase chain reaction, *Lett. Appl. Microbiol.*, 19, 294-8

Soumet C., Ermel G., Rose V., Rose N., Droin P., Salvat G., Colin P. (1999).Identification by a multiplex PCR-based assay of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis strains from environmental swabs of poultry houses, *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, 1-6,

**SALMONELLA'LARIN PİLİÇ KARKASLARINDAN KÜLTÜR
TEKNİĞİ VE İMMÜNO
MANYETİK PCR İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
SAPTANMASI**

**İrfan EROL¹ Ahmet YURTYERİ¹ Goetz HILDEBRANDT²
Josef KLEER²
F. Seda BİLİR ORMANCI¹ Ahmet KOLUMAN¹**

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Ankara

²Institute f. Lebensmittelhygiene der Veterinaermedizinischen Fakultät der Freien
Universität Berlin-Almanya

Özet: Bu çalışmada, piliç karkaslarında *Salmonella*'ların varlığının klasik kültür ve immüno manyetik PCR teknikleriyle karşılaştırmalı olarak saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmada, değişik firmalara ait 69 piliç karkası örneği materyal olarak kullanılmıştır. Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek analiz edilmiştir. Örneklerden kültür tekniğiyle *Salmonella*'ların izolasyonu ön ve selektif zenginleştirme ile katı besi yerine ekim, biyokimyasal ve aglütinasyon testleriyle yapılmıştır. İmmüno manyetik PCR tekniğinde, öncelikle immüno manyetik bead'ler kullanılarak örneklerde bulunabilecek *Salmonella*'ların spesifik antijen antikor reaksiyonu ile bead'lere bağlanması, separasyonu ve konsantrasyonu sağlanmış ve bu yolla elde edilen süspansiyon PCR için kullanılmıştır. PCR tekniğinde, DNA replikasyon orijinine spesifik (*oriC*) 163 bp'lik primerler (*Primer 1*: 5'-TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC-3'; *Primer 2*: 5'-AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC-3') kullanılmıştır.

IMS-PCR tekniğiyle incelenen piliç karkas örneklerinin % 86.9'undan, kültür tekniğiyle incelenen örneklerin % 88.4'ünden *Salmonella* saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar itibarıyla, genel olarak kültür tekniği ve

IMS-PCR tekniği arasında büyük bir uyum saptanmış, yalnızca 1 örnekte IMS-PCR tekniğiyle yanlış negatif sonuç elde edilmiştir.

Piliç karkaslarından izole edilen *Salmonella*'lardan % 67.2 *S. Enteritidis*, % 18.0 *S. subsp. I* ve % 14.8 *S. Paratyphi B var. S. Java* olarak serotiplendirilmiştir.

Sonuç olarak, immüno manyetik PCR tekniğinin piliç karkaslarından *Salmonella*'ların saptanmasında hızlı, duyarlı ve uygun bir metot olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Salmonella*, IMS, PCR, Piliç

Detection of *Salmonella* from Chicken Carcasses Using Cultural Technique and Immuno Magnetic PCR in Comparison

Abstract: The objective of this study was to detect of salmonellae in whole chicken carcasses using cultural technique and immuno magnetic polymerase chain reaction (IMS-PCR) in comparison. A total of 69 whole chicken carcasses were obtained from different markets in Ankara. The samples were taken aseptically and transported to the laboratory in refrigerated containers and tested the same day.

For the detection of *Salmonella* from chicken carcass samples the cultural technic and IMS-PCR technique were used in comparison. Coupling of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction was used after preenrichment for the rapid detection of salmonellae in samples. The primers used are specific to the origin of DNA replication (*oriC*) on the *Salmonella* chromosome and produce a 163 bp DNA fragment (*Primer 1*: 5'-TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC-3'; *Primer 2*: 5'-AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC-3').

In general, the results obtained from both of the methods used in this study were in agreement. *Salmonella* was detected from 88.4 and 86.9 % of the samples tested using cultural technic and IMS-PCR respectively. Only one of the samples tested with IMS-PCR showed false negative result.

Three different serotypes were identified among the cultures isolated namely *S. Enteritidis* (67.2%), *S. subsp. I* (18.0%) and *S. Paratyphi B var. S. Java* (14.8%)

From the data presented here, it is concluded that immuno magnetic PCR is a rapid, sensitive and useful method for the detection of salmonellae from chicken carcasses.

Key words: *Salmonella*, IMS, PCR, Chicken

Giriş

Gıda infeksiyonu etkenleri arasında en önemlilerden biri olan *Salmonella*'lar, başta kanatlı eti, yumurta, kırmızı et ve süt ile bunlardan yapılan ürünler olmak üzere, hayvansal gıdalarda sıklıkla bulunarak gıda kaynaklı salmonellozise neden olurlar (D'Aoust, 2000).

Klasik kültür teknikleri ile gıdalardan *Salmonella*'ların saptanması; ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besi yerine ekim, biyokimyasal ve serolojik testlerin yapılması esasına dayanmaktadır. Bu şekilde *Salmonella*'ların gıdalardan izolasyonu 5-7 gün gibi uzun bir süreyi almakta, aynı zamanda laboratuvar personelinin yoğun çalışması ile fazla miktarda malzemeye gereksinim duyulmaktadır. Taze gıdaların çoğunun oldukça sınırlı raf ömrüne sahip olması nedeniyle, klasik yöntemlerle izolasyon prosedürü sona ermeden bu gıdaların tüketildikleri veya raf ömrünü tamamladıkları görülmektedir (Candrian, 1995).

PCR; DNA'nın belirli bir bölümünün in vitro yöntemle hızlı ve çok sayıda çoğaltılmasına yönelik bir tekniktir (Saiki ve ark. 1988). PCR ile gıdalardan *Salmonella*'ların saptanmasında selektif sıvı ve katı besi yerlerine ekim ile biyokimyasal ve serolojik testlere ihtiyaç duyulmadığından, saptama süresi de 1-2 güne indirilebilmektedir. Ayrıca, gıda üretiminin değişik aşamalarında uygulanan teknolojik işlemlere bağlı olarak şekillenen stres faktörlerinin etkisi ile *Salmonella*'ların klasik kültür teknikleri ile gıdalardan izolasyonu her zaman mümkün olamamaktadır. Bu bağlamda gıdalarda canlı olarak bulunan ancak klasik yöntemlerle kültürü yapılamayan (Viable But Non Culturable, VNC) bakteriler de, spesifikliğı ve duyarlılığı yüksek olan in vitro DNA

amplifikasyonu ile daha güvenli saptanabilmektedir (Aabo ve ark. 1995; Bej ve ark. 1994; Docherty ve ark. 1996; Erol ve ark. 1998; Lampel ve ark., 2000; Stone ve ark. 1994).

IMS, bakteri hücrelerinin separasyonu ve konsantrasyonunda kullanılan kısa süreli selektif bir zenginleştirme tekniğidir. Bu amaçla kullanılan bead'ler üniform, süperparamanyetik, polystren özellikte olup, mono ve polivalan *Salmonella* antikorların karışımı yüzeylerine kovalent olarak bağlanmıştır. Gıdalardan *Salmonella*'ların saptanması amacıyla uygulanan ön zenginleştirme sıvı besi yerinde bulunan *Salmonella*'lar, yüzeylerinde antikorlar bulunan paramanyetik bead'lere bağlanarak oluşturulan manyetik alan etkisi ile ayrılırlar ve tekrarlayan yıkama işlemleriyle konsantre edilirler. Metodolojik çalışmalarda, IMS tekniği ile *Salmonella*'ların başta kıyma ve tavuk eti olmak üzere çeşitli hayvansal gıdalardan başarıyla saptandığı ve IMS'nin kültür, ELISA ve PCR teknikleri ile kombine edilerek kullanımının iyi sonuçlar verdiği değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Dyna, 1991; Erol ve ark. 1999; Fluit ve ark. 1993)

Bu çalışmada, piliç karkaslarından *Salmonella*'ların klasik kültür ve immüno manyetik PCR teknikleriyle karşılaştırmalı olarak saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, değişik firmalara ait 69 piliç karkası örneği materyal olarak kullanıldı. Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek analiz edildi. Örneklerde *Salmonella*'ların varlığı klasik kültür tekniği ve immüno manyetik PCR (IMS-PCR) teknikleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak saptandı.

Kültür Tekniği: Örneklerden *Salmonella*'ların izolasyonunda, bütün piliç karkasları steril plastik torbalara alınarak 225 ml steril peptonlu su ile rins yöntemi uygulanarak yıkama ve masere etme işlemi uygulandı ve homojenat ön zenginleştirme için 37°C'de 18-24 inkübe edildi. Selektif zenginleştirme işlemi, Rappaport-Vassiliadis-Mediumda (Merck Art Nr. 7700) 43°C'de 24 saat ve Selenite-Cystine-Brothda (Merck, Art. Nr. 1.07709) 37°C'de 24 saat inkübe edilerek gerçekleştirildi. Daha sonra

selektif zenginleştirme buyyonlarından RAMBACH-Agar (Merck Art. Nr. 7500) ve Brillangreen-Phenolred-Lactose-Sucrose-Agara (BPLS-Agar; Merck Art. Nr. 248/278374) çizme yöntemiyle geçilerek plaklar 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası bu agarlarda üreyen şüpheli koloniler TSIA (Triple Sugar Iron Agar; Merck, Kat. Nr. 1.03915) und LIA (Lysine Iron Agar; Merck, Kat. Nr. 1.11640) geçilip, ilave olarak üre ve diğer biyokimyasal testler de yapıldıktan sonra pozitif reaksiyon veren koloniler polivalan *Salmonella* antiserumları (Difco, Kat. Nr. L8840114-1) ile test edilmiştir. Aglutinasyon veren izolatlar serotiplendirilmek üzere yatık agarda muhafaza edilmiştir (Flowers ve ark. 1992).

İmmüno Manyetik Separasyon (IMS): Herbir örnek için steril ependorf tüplerine önceden homojenize edilen immüno manyetik bead'lerden (Dynabeads, DYNAL AS, Kat. Nr. 710.02, Norvay) 20'şer µl konularak üzerine steril filtrelerden süzölmüş ön zenginleştirme sıvısından 1 ml ilave edilmiş, karışım vorteks ile homojeniz edildikten sonra DYNAL portüpüne yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika sürekli karıştırılarak inkübe edilmiştir. Bu aşamada örneklerde bulunabilecek *Salmonella*'ların spesifik antijen antikor reaksiyonu ile bead'lere bağlanması sağlanmıştır. İnkübasyonu takiben manyetik partikül konsantratörü (MPC-M; DYNAL AS, Kat. Nr. 120.09, Norway) DYNAL portüpünün arka kısmına yerleştirilerek oluşan manyetik alan etkisiyle, *Salmonella*'lar ile bağlanan bead'lerin ependorf tüplerinin iç yüzüne hareketi ve burada yoğunlaşarak tutunmaları sağlanmıştır. Daha sonraki aşamada manyetik olarak bağlanmamış olan kısım mikropipet yardımıyla dikkatlice alınarak atılmıştır. MPC'nin ayrılmasında sonra bead'ler % 0.05'lik Tween 20 içeren PBS (pH 7.5) ile yıkanmıştır. Bu işlemler 2-3 defa tekrar edildikten sonra bead'ler 100 µl PBS ile resüspanse edilip karıştırılarak PCR için hazır hale getirilmiştir (Dynal, 1991).

PCR: İmmüno manyetik PCR için, önceden hazırlanan 100 µl IMS zenginleştirme sıvısı bir ependorf mikrosantrifüjde (Eppendorf; Typ 5402) 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmış ve sediment 1 ml steril Aqua bidest ile resüspanse edilmiştir. Buradan alınan 50 µl resüspansiyon 100 µl steril A. bidest ile homojenize edilip 100 µl'si alınarak bir su banyosunda 95°C'de 5 dakika süreyle bakterilerin lize edilmesi için ısı işlemi uygulanmış ve işlemin sonunda hemen buz üzerine konulmuştur. Hazırlanan bu çözeltiden 10 µl alınarak

40 µl PCR karışımına ilave edilmiştir. PCR karışımı 5xReaksiyon bufer'ı (pH.9.0), 100µM dNTPs (Biometra), 2 U Polymerase (Biometra), herbirinden 0.5 µM Primer ve 1.5 mM MgCl₂ den (Fa. Invitrogen) oluşmuştur. Çalışmada, Widjoatmodjo ve ark. (1991) ile Fluit ve ark. (1993) tarafından kullanılan primer çifti seçilmiş ve aşağıda belirtilen sekans diziliminde Biometra firmasına (Göttingen, Almanya) dizayn ettirilmiştir.

Primer 1: 5'-TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC-3';

Primer 2: 5'-AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC-3' .

Amplifikasyon, bir Thermocycler'da (Biometra, Personal cycler, Almanya) 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 53°C'de 1 dakika primer bağlanması ve 72°C'de 1 dakika primer ekstensiyonu aşamalarını kapsayan 35 siklus ve sonunda 72°C'de 10 dakika ilave ekstensiyon işlemi halinde gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler sonunda amplifikasyon ürünleri bir sonraki aşamaya kadar 4°C'de tutulmuştur.

Amplifiye edilen DNA'ların Saptanması: Bu amaçla, herbir örneğe ait 10 µl PCR-ürünü 2 µl Ficoll-Phenolblue ile boyanmış, pozitif ve negatif kontroller ile DNA markerlarından (50..2000bp; Fa. Biometra) 10'ar µl alınarak 0.5 µg/ml konsantrasyonunda Ethidiumbromid ile boyanmış (1xTBE'de aynı konsantrasyonda boyanmış) olan % 1.5'luk agaroz jelle konularak (Agarose I, Amresco) jel elektroforezde (Biometra, Agagel-Maxi-System) 100 voltda 1.5 saat süreyle yürütülmüştür. Bu işlem sonunda 163 baz çifti (bp) uzunluğunda *Salmonella* için spesifik ampikonlar pozitif kontrol ve DNA marker yardımıyla UV-Transilluminator'de (Biometra Typ T1) görünür hale getirilerek tanımlanmış ve Polaroid kamera (UV Photosystem DS 34, Polaroid, England) ile dokümanite edilmiştir.

***Salmonella*'ların Serotiplendirilmesi:** Klasik kültür tekniği ile izole edilen *Salmonella*'ların serotiplendirilmesi Robert Koch Enstitüsü bünyesindeki Alman Ulusal *Salmonella* ve Diğer Enterit Etkenleri Referans Merkezi'nde (Nationalen Referenzzentrum für Salmonellen und andere Enteritisserreger des Robert Koch Instituts in Wernigereode) yapılmıştır.

Bulgular

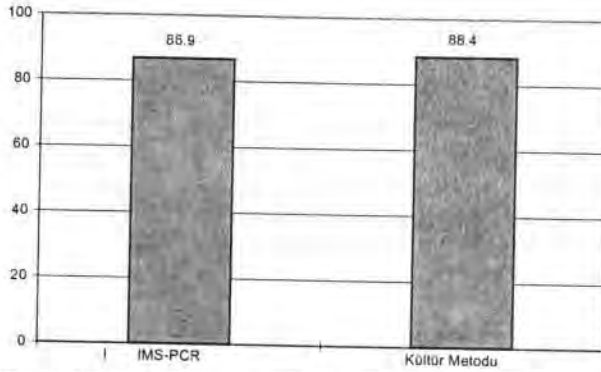
Her iki teknikle incelenen örneklerde saptanan *Salmonella* izolasyon oranları Tablo 1'de karşılaştırmalı izolasyon oranı dağılımları Grafik 1'de ve serotip dağılımları Grafik 2'de verilmiştir. Bu çalışmada, IMS-PCR tekniğiyle incelenen piliç karkas örneklerinin % 86.9'undan, kültür tekniğiyle incelenen örneklerin % 88.4'ünden *Salmonella* saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar itibarıyla, genel olarak kültür tekniği ve IMS-PCR tekniği arasında büyük bir uyum gözlenmiştir. Her iki teknik arasında *Salmonella*'ların saptanması yönünden 1 karkas örneğinde farklılık ortaya çıkmıştır. Farklı çıkan bu örnekte kültür tekniğiyle *Salmonella* izole edilirken, IMS-PCR tekniğiyle yanlış negatif sonuç elde edilmiştir.

Piliç karkaslarından izole edilen *Salmonella*'lardan 41'i (% 67.2) *S. Enteritidis*, 11'i (% 18.0) *S. subsp. I* ve 9'u (% 14.8) *S. Paratyphi B* var. *S. Java* olarak serotiplendirilmiştir.

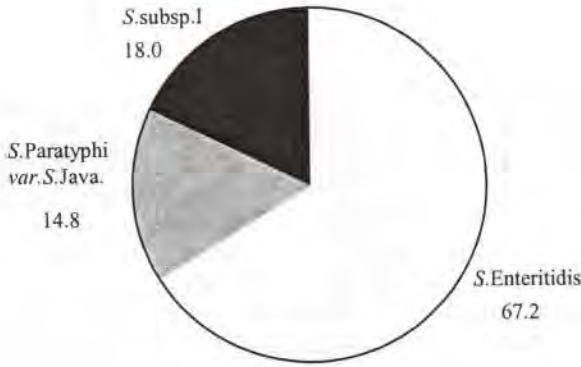
Tablo 1. Piliç Karkaslarında *Salmonella*'ların Kültür ve IMS-PCR Teknikleriyle Karşılaştırmalı Saptanma Oranları

Örnek	IMS-PCR (%)	Kültür Tekniği (%)
PiliçKarkas (n: 69)	60 ¹ (86.9)	61 (88.4)

¹ yanlış negatif



Şekil 1. Piliç Karkaslarında *Salmonella*'ların Kültür ve IMS-PCR Teknikleriyle Karşılaştırmalı Saptanma Oranları (n: 69)



Şekil 2. Piliç Karkaslarında *Salmonella*'ların Serotip Dağılımı (n: 61)

Sonuç

Bu çalışma bulguları ile Aabo ve ark. (1995), Bej ve ark. (1994), Erol ve ark. (1999), Fluit ve ark. (1993) ile Widjoatmodjo ve ark. (1991) çalışma bulguları teyit edilmiştir. Sonuç olarak, immüno manyetik PCR tekniğinin piliç karkaslarından *Salmonella*'ların saptanmasında hızlı, duyarlı ve uygun bir metot olduğu saptanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, bir proje kapsamında (95.9153.8-00.100) sağladığı finansal destekten dolayı Alman Teknik İşbirliği kuruluşuna (Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit; gtz) ve Sn. Dr. Schmoldt'a, izolatların serotiplendirilmesindeki yardımlarından dolayı da Sn. Dr. Rabsch'a içtenlikle teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Aabo, S., Andersenand, J.K., Olsen, J.E. (1995). Research note: Detection of *Salmonella* in minced meat by the polymerase chain reaction. *Lett. Appl. Microbiol.* 21, 180-182.
- Bej, A.K., Mahbubani, M.H., Boyce, M.J., Atlas, R.M. (1994). Detection of *Salmonella* spp. in oysters by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 368-373.
- Candrian, U. (1995). Polymerase chain reaction in food microbiology. *J. Food Microbiol. Methods.* 23, 89-103.
- D'Aoust, J.Y. (2000): *Salmonella*. In: B. M. Lund, T. C. Baird-Parker, G. W. Gould (eds.) *The Microbiological Safety and Quality of Food. Vol II*, Aspen publ. Gaithersburg, Maryland.1233.1299.
- Docherty, L., Adams M.R., Mc Fadden J. (1996). The magnetic immuno-polymerase chain reaction assay for the detection of *Campylobacter* in milk and poultry. *Lett. Appl. Microbiol.* 22, 288-292.
- Dynal, A.S (1991). Dynabeads anti-*Salmonella*: For rapid selective enrichment of *Salmonella*. Oslo, Norway, 1-2 (Manufacturer information).
- Erol, İ., Kleer J., Hildebrandt, G., Yurtyeri, A. (1999). Coupling of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the rapid detection of salmonellae in minced meat and chicken giblets. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 112: 100-103.
- Erol, İ., Yurtyeri, A., Hildebrandt, G., Kleer, J. (1998). Kopplung von immunomagnetischer Separation (IMS) und Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Schnelldachweis von Salmonellen bei Lebensmittelproben in der Türkei. Project number GTZ 95.9153.8.00.100 Project Final Report.
- Flowers, R.S., D'Aoust, J.Y., Andrews, W.H., Bailey, J.S. (1992). *Salmonella*. In: Vanderzant, C. and Splittstoesser (Eds). *Compendium of the Methods for the Microbiological Examinations of Foods.* 3rd ed. D.F. American Public Health Assoc. Washington, D.C pp 371-404.
- Fluit, A.D.C, Widjoatmodjo, M.N., Box, A.T.A., Torensma, R. and Verhoef, J. (1993). Rapid detection of *Salmonella* in poultry with the magnetic immuno-Polymerase Chain Reaction assay. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1342-1346.

Lampel, K.A., Orlandi, P.A., Kornegay, L. (2000). Improved template preparation for PCR-based assays for detection of food-borne bacterial pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 (10) 4539-4542.

Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Ehlich, H.A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.

Stone, G.G., Oberst, R.D., Hays, M.P., Mc Vey, S., Chengappa, M.M. (1994). Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. *J. Clin. Microbiol.* 32, 1742-1749.

Widjoatmodjo, M.N., Fluit, A.C., Torensma, R., Keller, B.H.I., Verhorf, J. (1991).: Evaluation of the Magnetic Immuno-Polymerase assay for the rapid detection of *Salmonella*. *European J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 10 (11) 935-938.

TÜRKİYE'DEKİ MARKETLERDEN ELDE EDİLEN DEVE SUCUKLARINDAN *LISTERIA* SPP.'NİN İZOLASYONU VE *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN RAPD ANALİZİ

Gökben ÖZBEY¹ Hasan Basri ERTAŞ¹ Filiz KÖK²

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı- Elazığ

²Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Aydın

Özet: Bu çalışmada, Aydın ilindeki farklı marketlerden temin edilen toplam 100 deve sucuğu örneğinde kültür yöntemi ile *Listeria* türlerinin varlığı test edildi. Örnekler bir hafta süre ile *Listeria* Enrichment Broth'da zenginleştirildi ve *Listeria* Selective Agar'a ekim yapıldı. Dokuz (9%), 14 (14%) and 2 (2%) oranında sırası ile, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* and *Listeria welshimeri* izole ve identifiye edildi.

L. monocytogenes identifikasyonunun teyiti için listeriolysin O sequence geninin 701 bp'lik fragmenti spesifik primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. Kültür ile pozitif *L. monocytogenes* izolatlarının tümünün PCR ile de pozitif olduğu saptandı.

L. monocytogenes izolatları arasındaki heterojeniteyi saptamak için random amplified polymorphic DNA (RAPD) yöntemi kullanıldı. Bir random primer (OPA-11) kullanılarak RAPD testi ile, *L. monocytogenes* izolatları beş farklı bant profili gösterdi.

Bu çalışma sucuklarda *L. monocytogenes* izolatları arasında farklı genotiplerin var olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Sucuk, *Listeria monocytogenes*, PCR, RAPD, tiplendirme.

***Listeria* spp. Isolation from Camel Sausages in the Turkey Retail Markets and RAPD Analysis of *Listeria monocytogenes* Strains**

Abstract: A total of 100 camel sausage samples from the different retail markets in Aydın province located in the South-west of Turkey were tested for the presence of *Listeria* spp by culture. Samples were enriched for one-week period with using *Listeria* Enrichment Broth and inoculated on to *Listeria* Selective Agar. Nine (9%), 14 (14%) and 2 (2%) were isolated and identified as *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* and *Listeria welshimeri*, respectively.

A 701 bp fragment of listeriolysin O sequence for *L. monocytogenes* was amplified using specific primers by polymerase chain reaction (PCR) for confirmation of the identification. All *L. monocytogenes* isolates that were positive by culture were also detected to be positive by the PCR.

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay was used to detect the heterogeneity among *L. monocytogenes* isolates. Five different band profiles were yielded in the examination of *L. monocytogenes* isolates with RAPD assay using a random primer (OPA-11).

This study suggests that multiple genotypes of *L. monocytogenes* isolates are predominant in sausages.

Key Words: Fermented sausage, *Listeria monocytogenes*, PCR, RAPD, typing.

Giriş

Et ve fermente sucukların da dahil olduğu et ürünlerinin büyük çoğunluğu *Listeria* türleriyle kontaminedir (Johnson et al., 1990; Farber and Peterkin, 1991). Günümüzde *Listeria* cinsinin 6 türü tanınmasına rağmen (Rocourt and Cossat, 1997), *Listeria monocytogenes* halk sağlığı bakımından daha büyük öneme sahiptir. Listeriosis vakalarında *L. monocytogenes* ile kontamine gıdaların tüketimi birincil sebeptir (Farber and Peterkin, 1991). *L. monocytogenes*, ticari kuru fermente sucuk üretim işlemleri sırasında canlılığını sürdürdüğü bilinmektedir (Incze, 1998; Varabioff, 1992).

Bu çalışmanın amacı Aydın ilinde farklı marketlerde tüketime sunulan deve etinden üretilmiş sucuklarda halk sağlığı açısından risk oluşturan *Listeria* türlerinin varlığını ve bir random primer (OPA-11) kullanarak random amplified polymorphic DNA (RAPD) yöntemi ile *L. monocytogenes* izolatları arasındaki heterojeniteyi saptamaktır.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada, Aydın ilindeki farklı marketlerden temin edilen 100 deve sucuğu materyal olarak kullanıldı.

***Listeria* izolasyonu**

Her sucuk numunesinden 25 g miktarında tartılarak steril plastik torbaya konuldu ve üzerine 225 ml *Listeria* Enrichment Broth (LEB, Oxoid) ilave edildi. Örnekler stomacher (Interscience, 78860 St Nom-France)'de 1 dak. homojenize edildikten sonra 30°C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı (ön zenginleştirme). Ön zenginleştirme işleminden sonra 0.1 ml kültür süspansiyonu alınarak, 10'ar ml LEB içeren tüplere aktarıldı ve 30°C'de 24 saat inkube edildi (ikinci zenginleştirme). Zenginleştirme yapılan sıvı besiyerinden bir öze dolusu kültür süspansiyonu alınarak *Listeria*-selective supplement ilave edilmiş *Listeria* Selective Agar (LSA, Oxford Formulation) yüzeyine çizme yöntemiyle ekildikten sonra plaklar 37°C'de 3 gün süreyle inkubasyona bırakıldı. *Listeria* Selective Agar'da üreyen *Listeria* şüpheli kahverengimsi yeşil veya siyah haleli kolonilerden Tryptic Soy Agar-Yeast Extract (Difco) yüzeyine ekim yapıldıktan sonra plaklar 37°C'de 24-48 saat inkube edildi. Üreyen kolonilerden Gram boyama, katalaz, oksidaz, Semisolid İndol Motility Medium'da (SIM) hareket ve kanlı agarda hemoliz testleri yapıldı. Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, SIM mediumda 25°C'de 7 gün içerisinde şemsiye tarzında üreme gösteren ve kanlı agarda β - hemoliz veren koloniler *Listeria* spp olarak değerlendirildi. İzole edilen *Listeria*'ların identifikasyonu amacıyla L- Ramnoz, ksiloz, mannitol, salisin, dulsit, metil red, Voges Proskauer, nitrat redüksiyon ve CAMP testleri yapıldı (Seeliger and Jones, 1986; Lovett, 1988; McKellar, 1994).

DNA ekstraksiyonu

Listeria referans kültüründen bir öze yardımı ile birkaç koloni alınarak 300 µl distile su içeren Eppendorf tüp içerisinde süspanse edildi. Süspansiyon bir vorteks vasıtasıyla karıştırıldıktan sonra 56°C'de 30 dak. su banyosunda inaktive edildi. Daha sonra süspansiyona 300 µl TNES buffer (20 mM Tris pH 8.0, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0.2% SDS) ve 200 µg/ml Proteinase K ilave edildi. Karışım 37°C'de 2 saat inkube edildi ve sonra 30 dakika su banyosunda kaynatıldı. Karışım soğuduktan sonra üzerine eşit hacimde Tris-HCl ile satüre edilmiş fenol ilave edildi ve süspansiyon 5 dak. süreyle elle iyice çalkalandıktan sonra 11.600 g'de 10 dak. santrifüj edildi. Fenollü kısma dokunmadan üstteki sıvı bir mikropipet yardımı ile dikkatli bir şekilde başka bir Eppendorf tüpe aktarıldı. DNA'nın presipitasyonu amacıyla süspansiyona 0.1 hacim (30 µl) 3 M Na-Asetat ve 2.5 hacim (750 µl) saf alkol ilave edilip karıştırıldıktan sonra -20°C'de 1 saat bekletildi. Karışım 11.600 g'de 10 dak. santrifüj edildi ve üst kısım döküldü. Pelet 300 µl miktarındaki %90'lık ve daha sonra da 70%'lik etanol ile her basamaktan sonra 11.600 g'de 5 dak. santrifüj işlemi uygulanarak yıkandı. Alkol döküldükten sonra pelet kurumaya bırakıldı ve 50 µl distile su ile süspanse edildi. Bu süspansiyondan 5 µl alınarak PCR'da hedef DNA olarak kullanıldı.

DNA ekstraksiyonu ve PCR reaksiyonlarında pozitif kontrol olarak Pasteur Enstitüsü'nden temin edilen *L. monocytogenes* serovar 1/2a: CLIP-12498/SLCC 2371/ATCC-35152 referans suşu ve negatif kontrol olarak da distile su kullanıldı.

Primer

Bu çalışmada Border ve ark. (1990) tarafından dizayn edilen primerler kullanıldı. Primer çiftlerinin sekansları aşağıda gösterilmiştir:

LM1 (5'- CCT AAG ACG CCA ATC GAA - 3') ve LM2 (5'- AAG CGC TTG CAA CTG CTC - 3'). Bu primerler *L. monocytogenes*'in listeriolysin O sekans geninden üretilen 701 bp' lik fragmentini amplifiye eder.

PCR

PCR işlemi 50 µl toplam hacimde gerçekleştirildi. Karışım 5 µl 10 x PCR buffer (10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 50 mM KCl, 0.1% Triton® X-100), 5 µl 25 mM MgCl₂, 250 µM dNTP karışımı, herbir pimerden 50 pmol ve 2 U of Taq DNA Polymerase enzimi (Fermentas, Litvanya) ile hazırlandı. 45 µl PZR karışımına 5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 50 µl hacim elde edildi. Amplifikasyon 94°C'de 5 dak. ön ısıtma, 94°C'de 30 s denatürasyon, 52°C'de 1 dak. hibridizasyon ve 72°C'de 1 dak. 30 s polimerizasyon olmak üzere 45 siklus halinde gerçekleştirildi. Son siklustan sonra 72°C'de 7 dak.'lık bir sentez basamağı uygulandı. PZR işlemi Touchdown Thermal Cycler (Hybaid, Middlesex, England)'da gerçekleştirildi. Yaklaşık 10 µl PCR ürünü %1.5'luk agaroz jel içerisinde elektroforez yapıldıktan sonra ethidium bromide (0.5 µg/ml) ile boyandı ve sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi. Oluşan bantların molekül ağırlığını saptamak için 100 bp'lik DNA ladder (Promega, Maddison, USA) kullanıldı.

RAPD analizi

RAPD işlemi 25 µl toplam hacimde gerçekleştirildi. Karışım 2.5 µl 10xPCR buffer (750 mM Tris-HCl, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween 20), 3.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP karışımı, 1 µM OPA-11 primeri (5'-CA AT CG CC GT-3'), 1.25 U Taq DNA Polymerase enzimi (Fermentas, Litvanya) ve 2.5 µl hedef DNA ile hazırlandı. Herbir örneğe 94°C'de 1 dak. denatürasyon, 37°C'de 1 dak. primer bağlanması ve 72°C'de 1 dak. sentez basamaklarından oluşan 50 sikllus uygulanarak çoğaltıldı. Son siklustan sonra 72°C'de 10 dak.'lık bir sentez basamağı uygulandı. Yirmi µl PCR ürünü %2'lik agaroz jel içerisinde elektroforez yapıldıktan sonra ethidium bromide (0.5 µg/ml) ile boyandı ve sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi. Jellerin ultraviyole ışık altında Palaroid film ile fotoğrafı çekildi. Bantların molekül ağırlığını saptamak için 100 bp'lik DNA ladder (Promega, Maddison, USA) kullanıldı.

Bulgular

Kültür ve PCR Sonuçları

Mikroskopta Gram pozitif basil ya da kokobasil şeklinde tipik koloniler gözlemlendi. Şüpheli *Listeria* kolonileri biyokimyasal testler ile *L. monocytogenes* olarak identifiye edildi. Selektif zenginleştirme ve konvansiyonel yöntemler sonucunda incelenen toplam 100 deve

sucuğu örneğinden 9 (%9) *L. monocytogenes*, 14 (%14) *L. innocua* and 2 (%2) *L. welshimeri* izole ve identifiye edildi..

LM1 ve LM2 primerleri ile yapılan PCR işleminde klasik kültür yöntemiyle *L. monocytogenes* olarak identifiye edilen izolatlarda 701 bp uzunluğunda pozitif bantlar elde edildi (Figure 1).

RAPD Sonuçları

RAPD tiplendirme sonuçları Şekil 2’de gösterilmiştir. OPA-11 primeri ile izolatların RAPD analizi sonucunda, beş farklı bant profili (a, b, c, d, e) elde edildi.

Kaynaklar

- Boerlin, P., Bannerman, E., Ischer, F., Rocourt, J., Bile, J. (1995). Typing *Listeria monocytogenes*: a comparison of random amplification of polymorphic DNA with 5 other methods. *Research in Microbiology*. 146: 35-49.
- Border, P.M., Howard, J. J., Plastow, G.S. Siggins K.W. (1990). Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. *Lett. App. Microbiol.* 11: 158-162.
- Breer, C., Schopfer, K. (1989). [listeria in food]. *Schweiz medicine wochenschr.* 119: 306-311.
- Farber, J.M., Sanders, G.W., Johnston, M.A. (1989). A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *J.Food. Protect.* 52: 456-458.
- Farber, J.M., Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological reviews.* 55: 476-511.
- Incze K. (1998). Dry fermented sausages. *Meat science.* 49: 169-177.
- Johnson, J. L., Doyle, M. P., Cassens, R.G. (1990). *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. in meat and meat products. A review. *J. Food Protect.* 53: 81-91.
- Johnson, W.M., Tyler, S. D., Ewan, E. P., Ashton, F. E., Wang, G., Rozee, K.R. (1992). Detection of genes coding for listeriolysin and *Listeria monocytogenes* antigen a (*imaa*) in *Listeria* spp. by the polymerase chain reaction. *Microbial pathogenesis.* 12: 79-86.

Lovett, J. (1988). Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. *J. Assoc off Anal Chem.* 71: 658-660.

Mckellar, R.C. (1994). Use of the camp test for identification of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 4219-4225.

O'donoghue, K., Bowker, K., Mclauchlin, J., Reeves, D.S., Bennett, P.M., Macgowan A.P. (1995). Typing of *Listeria monocytogenes* by random amplified polymorphic DNA (rapd) analysis. *Int. J. Food Microbiol.* 27: 245-252.

Rocourt, J., Cossart, P. (1997). *L. Monocytogenes*. (In): Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (eds), food microbiology. Fundamentals and frontiers. Asm pres, washington. Pp. 337-352.

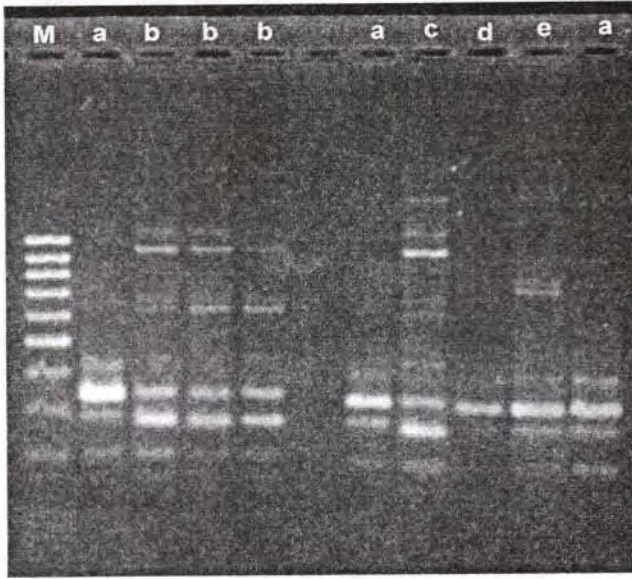
Seeliger, H. P. R., Jones, D. (1986). Genus *Listeria*. In: kandler, o., weiss, n. (eds.), regular, nonsporing gram-positive rods. Bergey's manual of systematic bacteriology, 2. Williams and wilkins, baltimore. Pp. 1235-1245.

Varabioff, Y. (1992). Incidence of *Listeria* in smallgoods. *Lett. Appl. Microbiol.* 14: 167-169.

Şekil 1. Referans *L. monocytogenes* izolatlarıyla yapılan PCR sonuçlarının %1.5'luk agaroz jeldeki görüntüsü (**M**: 100 bp DNA ladder, **1**: pozitif kontrol, **2**: negatif kontrol, **3-10**: *Salmonella* izolatları).



Şekil 2. *L. monocytogenes* izolatlarının RAPD analizleri (**M:** 100 bp DNA ladder, **lanes a, b, c, d, e:** profiles).



**KIYMALARDAN *ESCHERICHIA COLI* O157:H7
İZOLASYONU AMACIYLA ZENGİNLEŞTİRME VE/VEYA
SORBİTOL BAZLI KATI BESİYERLERİNDE KULLANILAN
SAFRA TUZLARI NO. 3, NOVOBİOSİN VE SEFİKSİM-
TELLURİT SAPLEMENTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ***

Abamüslüm GÜVEN Murat GÜLMEZ

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Kars

Özet: Bu çalışmada sığır eti kıymalarından *E. coli* O157:H7 tayininde en sık kullanılan saplementlerin etkinliği, sorbitol negatif floranın desteklenmesi ve sorbitol pozitif floranın (rekabetçi flora) en iyi şekilde baskılanması esasına göre araştırıldı. Safra tuzu ilave edilmemiş besiyeri (bile free modified *E. coli* broth, b-mEC)*'ne safra tuzu (bile salts no.3, 1,12 mg/mL), novobiosin (20 µg/mL), sefiksim (0,05 µg/mL)-tellurit (2,5 µg/mL) saplementlerinin ayrı ayrı veya kombine olarak ilave edilmesi besiyerinin etkinliğini artırmadı. Sorbitol pozitif floranın bu saplementlere sorbitol negatif floradan daha dirençli olduğu gözlemlendi. Sorbitol MacConkey agar ve *E. coli* O157:H7 agar yaklaşık olarak aynı düzeyde selektif özellik gösterdi. Bu besiyerlerine sefiksim (0,05 µg/mL)-tellurit (2,5 µg/mL) saplementi ilave etmekle selektiflikleri oldukça arttı ve saplement kullanımının uygun olduğu görüldü. Sonuç olarak, b-mEC gibi bir zenginleştirme besiyeri ve sefiksim-tellurit saplementi içeren sorbitol bazlı bir katı besiyerinin kullanımının güvenilir olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: *E. coli* O157:H7, sığır kıyması, safra tuzu, novobiosin, sefiksim-tellurit.

**Evaluation of Bile Salt No. 3, Novobiocin, and Cefixime-Tellurite
in Enrichment and/or Selective Plating Media for Detection of
Escherichia coli O157:H7 from Ground Beef**

Abstract: Efficacy of commonly used selective supplements for detection of *E. coli* O157:H7 from ground beef was evaluated for

* Bu çalışma Turkish Journal of Veterinary and Animal Science dergisinde yayına kabul edilmiştir.

suppression of sorbitol positive flora while supporting recovery of sorbitol negative flora. Selectivity of bile free modified *E. coli* broth (b-mEC) was not improved by the single addition of bile salts no.3 (1.12 mg/mL), novobiocin (20 µg/mL), cefixime (0.05 µg/mL)-tellurite (2.5 µg/mL), or their combinations. The sorbitol positive flora was more resistant to the selective agents than sorbitol negatives. Sorbitol MacConkey agar and *E. coli* O157:H7 agar had almost equal selectivity. Adding the cefixime (0.05 µg/mL)-tellurite (2.5 µg/mL) into the selective plating media highly enhanced the selectivity, and using a general sorbitol based plating medium without cefixime-tellurite is not appropriate for this purpose due to its nonselectivity. As a result, a bile-free enrichment broth such as b-mEC and a sorbitol based selective plating medium containing cefixime-tellurite appeared to be reliable.

Key words: *E. coli* O157:H7, ground beef, bile salt, novobiocin, cefixime-tellurite.

Giriş

Escherichia coli O157:H7 önemli bir gıda patojeni olup tanımlanmasında hızlı ekonomik ve basit tekniklere ihtiyaç vardır (MacRae ve ark. 1997, Blains ve ark. 1997). Bu konudaki araştırmalar hızla devam etmektedir (Chapman, 1998). Gıda örneklerinde mevcut floranın çeşitliliği nedeniyle örneklerin öncelikle zenginleştirilmesi ve daha sonra katı besiyerlerine ekilmesi genellikle zorunludur (Restaino ve ark. 1996, Johson ve ark. 1998). Novobiocin ilave edilen modifiye *E. coli* (mEC) broth (mEC+n) ve sefiksim-tellurit (CT) ilave edilen Sorbitol MacConkey (SMAC) agar (CT-SMAC) en sık kullanılan besiyeridir (Hitchins ve ark. 1998). *E. coli* O157:H7 medium (EOH)'un *E. coli* O157:H7'nin diğer *E. coli* suşlarından koloni morfolojisi ile ayırımında daha etkili olduğu bildirilmiştir (Kang ve Fung 1999). Gıda örneklerinde sorbitol, 1,4-Methylumbelliferyl glucuronide (MUG) ve salisin negatif floranın fazla olması *E. coli* O157:H7'nin gıdalardan kültürel yöntemlerle izolasyonunu zorlaştırır (MacRae ve ark. 1997, Johson ve ark. 1998, Fujisawa ve ark. 2002). Bir diğer sorun da besiyeri üzerinde yoğun üreyen sorbitol pozitif floranın tipik koloni ve besiyeri rengini bozmasından kaynaklanır (Weagant 1995, Restaino ve ark. 1996, Feldsine ve ark. 1997, Kang ve Fung 1999). Bu nedenle ilk izolasyon besiyerinden kolonilerin seçilerek salisin içeren CT-SMAC agar gibi ikinci bir selektif katı besiyerinde tekrar test edilmesi gerekmektedir. (Chikthimmah ve

Knabel, 2001). Ancak bu işlem için 24 saatlik bir süreye daha ihtiyaç vardır. Bu bilgiler ışığında yapılan bu çalışmada zenginleştirme besiyeri olarak mEC'nin dört farklı formülasyonu b-mEC, mEC+novobiyosin (mEC+n), mEC+sefiksim-tellurit (mEC+ct) ve mEC+ novobiyosin +sefiksim-tellurit (mEC+nct) ve ilk izolasyon besiyeri olarak sorbitol bazlı iki farklı besiyerinin ikişer formülasyonu sorbitol MacConkey agar (SMAC, Oxoid), *E.coli* O157:H7 agar (EOH; Kang ve Fung formülasyonu) (Kang ve Fung 1999), sefiksim-tellurit (Oxoid) ilaveli SMAC (CT-SMAC) ve sefiksim-tellurit (Oxoid) ilaveli EOH (CT-EOH) kullanılarak kıymalarda CT dirençli sorbitol negatif kolonilerin (SNK) en etkili şekilde izolasyonuna çalışıldı.

Materyal ve Metot

***E. coli* O157:H7 standart inokulumu hazırlama**

Bir *E. coli* O157:H7 (no. 937) suşu Dr. Y. Özbaş (Hacettepe Üniversitesi, Ankara)'tan diğer kendi laboratuvarımızda kıymalardan izole edilen iki suş (H71 and H72) referans olarak kullanıldı. Suşlar %0.6 oranında maya özütü içeren triptik soya agar (TSA-YE, Oxoid) içerisinde 4 °C'de muhafaza edilirken, maya özütü içeren tripton soya buyyon (TSB-YE, BBL) içerisinde 37 °C'de 20 saat inkübe edilerek canlandırıldı. Suşların buyyon kültürü 9.000 d/d olmak üzere 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen tortu üzerine 5 ml %0.85'lik FTS ilave edilerek 3 defa yıkandı. Son tortusu üzerine 5'er ml FTS ilave edilen her suştan eşit miktarlar alınarak ayrı bir steril tüp içerisinde suş kokteyli hazırlandı (11). Bu kokteylin seri seyreltileri sorbitol MacConkey agar (SMAC)'a ekilerek her ml'deki bakteri sayısı tespit edildi. Test edilen her sıvı besiyeri 6-12 kob/ml oranında *E. coli* O157:H7 karışık suş kültürü ile inokule edildi.

Besiyerleri

Sıvı besiyeri olarak ticari modifiye EC buyyon (mEC, Oxoid) yanı sıra aynı besiyerinin üç farklı modifikasyonu hazırlandı (Hara-Kudo ve ark, 2000). Bunlar mEC+n (Oxoid, 20µg/mL), mEC+ct (Oxoid, 0.05µg/mL -2.5µg/mL), ve mEC+nct (Oxoid) şeklinde hazırlandı. İlk izolasyon besiyeri olarak; SMAC, EOH (Kang ve Fung formülasyonu-Kang ve Fung 1999), CT-SMAC ve CT-EOH kullanıldı.

Örneklerin hazırlanması ve analizi

Mart-Mayıs 2001 tarihleri arasında 4 farklı defada ve her defasında 5 örnek (her biri 1 kg) Kars ili perakende satış yerlerinden alınarak soğuk zincir altında 1 saatte laboratuara getirildi. Her bir örnek steril poşetler içerisinde iyice karıştırıldıktan sonra 100'er g alınarak üzerine 900 ml b-mEC buyyon ilave edildi. İyi bir karışın sağlandıktan sonra buradan 12 adet 50 ml.'lik porsiyonlar alındı ve 4'er örnekli 3 grup oluşturuldu. Diğer işlemler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Deneysel zenginleştirme örneklerinin hazırlanışı.

Örnek grupları/ Zenginleştirme besiyerleri	A Kontamine edilmemiş	B Kontamine edilmiş	C* Isı uygulanmış, suşlu
b-mEC: Safrasız modifiye <i>E. coli</i> buyyon	A1	B1	C1
MEC+n: Novobiyosinli mEC buyyon	A2	B2	C2
MEC+ct: Sefiksim-telluritli mEC buyyon	A3	B3	C3
mEC+nct: Novobiyosin ve sefiksim-telluritli mEC buyyon	A4	B4	C4

*: Bu grup 85 °C'de 2 dakika süreyle ısıtılarak doğal vejetatif flora yıkımlandı ve 20 °C'de test suşları ilave edildi.

Örnekler 42°C'de 22 saat inkübe edildikten sonra buzlu su içerisinde 2 dakikada soğutuldu, daha sonra FTS içerisinde seri seyreltileri hazırlanarak 4±2 °C'de ekimleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edildi. Her bir seri seyreltiden alınan 25 µL'lik kısımlar test edilecek 4 ilk izolasyon besiyerinin (SMAC, EOH, CT-SMAC ve CT-EOH) yüzeyine ekildi. Petriler 42°C'de 18- 24 saat inkübe edildikten sonra sorbitol negatif ve sorbitol pozitif koloniler sayıldı. Koloni sayıları kob/ml'ye çevrildikten sonra tekrarların ortalama değerleri ve standart sapmaları grafikler halinde gösterildi.

E. coli O157'nin suş katılmamış örneklerde varlığının araştırılması için (Grup A) seçilen 100 adet koloni standart FDA, Bacteriological Analytical Manual (BAM)'da bildirildiği şekilde test edildi (Hitchins ve ark. 1998). Özetle, Eosine Methylene Blue (EMB) agar (BBL) üzerindeki koloni morfolojileri, Triple Sugar Iron (TSI) agar (Merck)

içerisindeki fermentasyon reaksiyonları, indol testi ve *E. coli* O157 lateks aglutinasyon testleri yapıldı.

İstatistiki analizler

Deneyler 4 tekrarlı yapılarak zenginleştirme ve ilk izolasyon besiyeri kombinasyonları arasındaki farklar varyans analizi (ANOVA) ile tespit edilerek %5 ve %1 ($P<0.05$ ve $P<0.01$) düzeyinde önemlilikleri ortaya kondu.

Bulgular

A grubu örneklerin hiç birinde *Escherichia coli* O157:H7 bulunamadı. Sorbitol negatif koloniler SMAC ve CT-SMAC besiyerlerinde renksiz-grimsi renkte, pozitif koloniler ise pembe-kırmızı renkte ürerken; EOH ve CT-EOH besiyerlerinde sırasıyla pembe ve sarı renkte ürediler. C grubu örneklerde saf olarak tipik koloniler üretilir. Bu grubun suş katılmadan yapılan zenginleştirmelerinde üreme gözlenmemesi ısı işleminin yeterli olduğunu doğruladı. Aralarında *E. coli* O157 kolonisi bulunmamasına rağmen A grubu örneklerde sorbitol pozitif floranın negatif floradan daha yoğun ürettiği gözlemlendi (Şekil. 1a, 1b). Aynı durum B grubu örnekler için de geçerli idi (Şekil. 2a, 2b). Bu durum sonucunda, sorbitol pozitif koloni renginin sorbitol negatif kolonilerin ve besiyerlerinin rengini değiştirdiği gözlemlendi.

SMAC ve EOH besiyerleri arasında sorbitol negatif ve pozitif koloni popülasyonu bakımından istatistiki fark gözlemlenmedi (Şekil. 1a, 1b, 2a, 2b). Yine b-mEC buyyonun da en az mEC+n, mEC+ct, ve mEC+nct buyyonlar kadar etkili olduğu gözlemlendi. Herhangi bir zenginleştirme buyyonu (b-mEC, mEC+n, mEC+ct, mEC+nct) SMAC veya EOH ile kombine edildiğinde, hem A grubu hem de B grubu örneklerde yakın değerlerde sorbitol negatif ve pozitif popülasyon verdiler (Şekil. 1a, 1b, 2a, 2b). Bunun aksine, saplementli katı besiyerleri (Ct-SMAC ve CT-EOH) kullanıldığında her iki popülasyonun da önemli düzeyde baskılandığı gözlemlendi ($P<0.01$) (Şekil. 1a, 1b, 2a, 2b). A grubu örneklerde özellikle sorbitol negatif floranın baskılandığı gözlemlendi ($P<0.05$) (Şekil. 1a, 1b). Fakat B grubu örneklerde aynı durum gözlemlenmedi (Şekil. 2a, 2b). Yine diğer iki gruba kıyasla C grubu örnekler için CT-SMAC ve CT-EOH besiyerlerinde önemsiz düzeyde bir baskılanma gözlemlendi (Şekil. 1a, 2a, 3).

Sorbitol negatif popülasyonun mEC+nct hariç diğer sıvı kültürlerde iyi gelişebildiği gözlemlendi (Şekil 1a, 2a.). Ancak bu fark C grubu örneklerde net olarak gözlenemedi (Şekil. 3).

Sonuç

Kang ve Fung SMAC'ın aksine, EOH üzerinde sorbitol pozitif kolonilerin sorbitol negatiflerin rengini baskılamadıkları bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada, sorbitol negatif ve pozitif popülasyon farkı gözlenmemekle birlikte bildirilen tarzda bir üstünlük de gözlenmedi (Şekil. 1a,1b,2a,2b). Araştırmacıların doğal örnekler yerine seçilmiş test suşlarını kullanmaları bu sonucu almalarına neden olmuş olabilir.

E. coli O157:H7'nin kıymalarda selektif zenginleştirmesinde kullanılan besiyerlerine katılan farklı selektif ajanların farklı sonuçlar alınmasına neden olduğu bildirilmiştir (Chapman 1998, Manafi ve Kremsmaier, 2001). Yine, antibiyotiklerin hatalı negatif sonuçlar alınmasına neden olabileceği de belirtilmiştir. (MacRae ve ark. 1997). Restaino ve ark. modifiye tamponlu peptonlu suyun (mBPW) mEC+n'e üstünlüğünü ortaya koymuştur. Bu araştırma sonuçlarına göre de kıymalardan *E. coli* O157:H7 araştırmak için zenginleştirme besiyerlerine safra tuzları, novobiyosin, sefiksime-tellurit ilave etmenin gerekli olmadığı, ancak ilk izolasyon besiyerlerini sefiksime-tellurit ile zenginleştirmenin selektifliği artırdığı gözlemlendi. Bulgularımız, bu antibiyotik kombinasyonunun katı besiyerinde diğer sorbitol negatif florayı baskılayarak *E. coli* O157:H7'nin izolasyon şansını artırabileceğini ortaya koydu. Her ne kadar MacRae ve ark. *E. coli* O157'nin bu antibiyotiklere duyarlılığını belirtmiş ise de, araştırmacılar bu duyarlılığın 10- 16 saatlik inkübasyonlardan sonra 24. saatte ortadan kalktığını bildirmiştir.

Bu çalışmada, hem sıvı, hem de katı besiyerine CT ilave etmenin sorbitol negatif flora üzerinde önemli baskı oluşturduğu A grubu (Şekil 1a, 2a.) örneklerde gözlenirken, C grubunda bu baskı önemli düzeyde gözlenmedi (Şekil. 3). Dolayısıyla bu çalışma saf kültürle yapılan benzer çalışmaların saha örnekleri ile desteklenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Aynı konuya Duffy ve ark. da dikkat çekmişlerdir.

E. coli O157:H7 izolasyonu ve identifikasyonu yöntemleri De Boer ve Heuvelink ile Harrison ve ark. tarafından iyi bir şekilde derlenmiştir.

Bir takım besiyerlerinin strese maruz kalan *E. coli* O157:H7'ni izolasyonunda SMAC'tan daha başarılı bulunmasına rağmen (Calevero ve ark. 1995, Calevero ve ark 1998), CT-SMAC agarın muadillerinden daha iyi olduğu da bildirilmiştir (Onoue ve ark. 1999). Bu çalışma sonucunda ilk izolasyon besiyeri olarak CT içeren ve içermeyen iki katı besiyerinin paralel kullanılması, ve koloni seçiminde CT içeren besiyerinden izolasyona öncelik verilmesinin yararlı olacağı sonucuna varıldı. Buna ilave olarak, katı besiyerlerinin bazı renk veren maddelerle takviye edilmesi de önerilmiştir (Hitchins ve ark., 1998).

Sonuç olarak, besiyeri ve yöntem seçimi araştırmacıların iradesinde olmakla birlikte, bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında zenginleştirme besiyeri olarak b-mEC katı besiyeri olarak ise CT içeren ve içermeyen iki besiyerinin birlikte kullanılması önerilebilir niteliktedir. Yine de çok daha detaylı çalışmalar ve gelişen tekniklerin ışığında konunun güncellenmesi gerekebilir.

Teşekkür: Dr. Y. Özbaş'a *E. coli* O157:H7 suşu için teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Blains, B.W., Booth, R.A., Phillippe, L.M., Yamazaki, H (1997): Effect of temperature and agitation on enrichment of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef using modified EC broth with novobiocin. *Int. J. Food Microbiol.* 36:221-225.

Chapman, P.A. (2000) .Methods available for the detection of *Escherichia coli* O157 in clinical, food and environmental samples. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16:733-740.

Chikthimmah, N., Knabel, S.J.(2001). Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in and on vacuum packaged Lebanon bologna stored at 3.6 and 13.0 °C. *J. Food Prot.* 64:958-963.

Clavero, M. R. S., Beuchat, L.R., Doyle, M.P.(1995). Suitability of selective plating media for recovering heat- or freeze-stressed *Escherichia coli* O157:H7 from tryptic soy broth and ground beef. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:3268-3273.

Clavero, M.R.S., Beuchat, L.R., Doyle, M.P. (1998)Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from ground beef and bovine feces, and suitability of media for enumeration. *J. Food Prot.* 61:285-289.

De Boer, E., Heuvelink, A.E (2000) Methods for the detection and isolation of Shiga toxin –producing *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 88:133-143.

Duffy, G., Whiting, R.C., Sheridan, J.J. (1999).The effect of a competitive microflora, pH and temperature on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.* 16:299-307.

Feldsine, P.T., Forgey, R.L., Falbo-Nelson, M.T., Brunelle, S.L. (1997). *Escherichia coli* O157:H7 visual immunoprecipitate assay: A comparative validation study. *J. AOAC Int.* 80:43-48.

Fujisawa, T., Sata, S., Aikawa, K., Takahashi, T., Yamai, S., Shimada, T.(2002). Evaluation of sorbitol-salicin MacConkey medium containing cefixime and tellurite (CT-SSMAC medium) for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from raw vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 74:161-163.

Hara-Kudo, Y., Ikedo, M., Kodaka, H., Nakagawa, H., Goto, K., Masuda, T., Konuma, H., Kojima, T., Kumagai, S (2000). Selective enrichment with a resuscitation step for isolation of freeze-injured *Escherichia coli* O157:H7 from food. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2866-2872.

Harrison, J.A., Harrison, M.A., Rose, R.A.(1998). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef jerky assedded on two plating media. *J. Food Prot.* 61:11.

Internet material (<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4a.html>, 10.08.2002): Hitchins A. D., Feng, P., Watkins, W.D., Rippey, S.R., Chandler, L.A. (1998).Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Revision A, Chapter 4. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition.

Johnson, J.L., Brooke, C.L. Fristchel, S.J. (1998). Comparison of the BAX for screening/*E. coli* O157:H7 method with conventional methods for detection of extremely low levels of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef . *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4390-4395.

Kang, D.H., Fung, D.Y. (1999). Development of a medium for differentiation between *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7. *J. Food Prot.* 62:313-317.

Macrae, M., Rebate, T., Johnson, M., Ogden, I.D. (1997). The sensitivity of *Escherichia coli* O157 to some antimicrobials by conventional and conductance assays. *Lett. Appl. Microbiol.* 25:135-137.

Manafi, M., Kremsmaier, B.(2001). Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Int. J. Food Microbiol.* 30:257-262.

Onoue, Y., Konuma, H., Nakagawa, H., Hara-Kudo, Y., Fujita, T., Kamugai, S.(1999). Collaborative evaluation of detection methods for *Escherichia coli* O157:H7 from radish sprouts and ground beef. *Int. J. Food Microbiol.* 46:27-33.

Restaino, L., Castillo, H. J., Stewart, D., Tortorello, M. L .(1996). Antibody-direct epifluorescent filter technique and immunomagnetic separation for 10-h screening and 24 h confirmation of *Escherichia coli* O157:H7 in beef. *J. Food Prot.* 59:1072-1075.

Weagant, S.D., Bryant, J.L., Jinneman, K.G. (1995). An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods. *J. Food Prot* 58:7-12.

ELAZIĞ'DA SIĞIR KARKASLARININ YÜZEY KONTAMİNASYONUNUN BELİRLENMESİ

Mehmet ÇALICIOĞLU **Gülsüm Ateş ÖKSÜZTEPE** **İrfan İLHAK**
Abdullah DİKİCİ

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Elazığ

Özet: Bu çalışma, lokal bir mezbahada kesilmiş ve + 4°C de 24 saat soğutulmuş sığır karkaslarının yüzeylerindeki mikrobiyolojik kontaminasyon seviyesini belirlemek amacıyla yapıldı. Mezbahaya haftada bir kez gidilerek tesadüfi olarak seçilmiş karkaslardan 7-8 örnek eksizyon yöntemiyle alındı. Birbirini takip eden 6 hafta boyunca örneklerin toplanmasına devam edildi ve böylece toplam olarak 44 örnek elde edildi. Her bir örnek karkasların but, kavram ve döş bölgelerinden steril bir şablon yardımıyla ölçülerek ince birer tabaka halinde kesilen 100'er cm² lik yüzey dokularının kombinasyonundan oluştu (toplam 300 cm²/karkas). Örnekler, toplam aerobik mezofil bakteri sayısı (TAMBS), *Escherichia coli* tip I sayısı ve *Salmonella* varlığı yönünden incelendi. Analiz sonuçlarına göre, incelenen 44 örneğin TAMBS ortalaması 4.10 log₁₀ kob/cm² olarak bulundu. Haftalık toplanan örneklerin ortalamalarının ise 3.70 ile 4.90 log₁₀ kob/cm² arasında değiştiği tespit edildi. TAMBS, bütün örneklerin %45.4'ünde ≥ 4.0 log₁₀ kob/cm² seviyesinde bulundu. İncelenen 44 örneğin % 82'sinde *E. coli* tip I tespit edildi. Bu örneklerde ortalama *E. coli* tip I sayısı 11.6 EMS kob/cm² olarak bulunurken haftalık toplanan örneklerin ortalamalarının da 0.94 – 3.10 EMS kob/cm² arasında değiştiği belirlendi. Örneklerin %43.3'ünde *E. coli* tip I seviyesinin 1-1000 EMS kob/cm² arasında olduğu bulundu. Örneklerin %18'inde ise *E. coli* tip I tespit edilemedi (< 0.33 EMS kob/cm²). Örneklerin hiç birinde *Salmonella* bulunamadı. Bu sonuçlar, çalışmanın yapıldığı kesimhanedeki soğutulmuş sığır karkaslarında fekal kontaminasyonun yaygın ve mikrobiyolojik kirliliğin fazla olduğunu, kesimle ilgili hijyenik ölçütler geliştirilmedikçe bu durumun tüketici sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Sığır karkası, eksizyon, fekal kontaminasyon, *E. coli* tip I, *Salmonella*

Surface Contamination of Beef Carcasses in Elazığ

Abstract: Objective of the present study was to determine the level of microbiological surface contamination on 24 h-chilled beef carcasses slaughtered at a local slaughterhouse in Elazığ. The slaughterhouse was visited once a week and 7 to 8 samples were taken by excision method from randomly selected carcasses. Samples were collected for 6 consecutive weeks resulting in a total of 44 surface samples. Each sample was a composite of 100 cm² excised-area by a sterile template from each of rump, flank and brisket areas of the carcasses. Samples were analyzed for numbers of total aerobic mesophile bacteria (TPC) and *Escherichia coli* type I, and for presence of *Salmonella*. The average number of TPC from 44-analyzed samples was found as 4.10 log₁₀ cfu/cm². The average TPC of weekly-collected samples varied from 3.70 to 4.90 log₁₀ cfu/cm². The TPC were found $\geq$ 4.0 log₁₀ cfu/cm² in 45.4% of the total samples. *E. coli* type I were present in 82% of all samples. The average number of *E. coli* type I from these samples was found as 11.6 MPN cfu/cm². The average of weekly-collected samples varied from 0.94 to 3.10 MPN cfu/cm². Level of contamination with *E. coli* type I was between 1.0 and 1000 MPN cfu/cm² in 43.3% of the samples. No *E. coli* type I was detected (< 0.33 MPN cfu/cm²) from 18% of the samples. No *Salmonella* was isolated from any of the 44 samples. Results of the present study indicate that fecal contamination of the chilled beef carcasses is common, microbiological cleanliness is poor within the slaughterhouse where these study was conducted and these carcasses may present a health risk to consumers unless hygienic measures are improved.

Key words: Beef carcass, excision, fecal contamination, *E. coli* type I, *Salmonella*

Giriş

Kasaplık hayvanların kesim aşamalarında karkas yüzeylerinin mikroorganizmalarla kontamine olması kaçınılmazdır. Bu kontaminasyonun kaynağı genel olarak hayvanın kendisi ve mezbaha ortamıdır. Kesim aşamalarında, bu kaynaklardaki mikroorganizmalar bıçaklar, kirli önlükler, personel gibi çeşitli yollarla karkas yüzeyine taşınır. Bu mikrobiyel kontaminasyonun seviyesi, hijyenik kesim

prosedürlerinin uygulanmasıyla azaltılabilir. Bu nedenle, karkasların mikrobiyolojik analizlerinin yapılarak mezbahadaki hijyenik durumun belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması arzu edilir (İnal, 1992; Armitage, 1997; Untermann et al, 1997; Zweifel et al, 2004).

Karkas yüzeyindeki bu mikroorganizmaların oldukça küçük bir bölümü patojen olmasına rağmen, bu seviye bile halk sağlığı açısından oldukça önemli sonuçlar doğurabilmektedir. Örneğin, gıda kaynaklı zehirlenme ve enfeksiyonların yaklaşık 2/3'ünün et ve et ürünlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Clark et al., 2000). Hastalıklı hayvan etlerinin gıda zincirine girmesini önlemede oldukça etkili olmasına rağmen, veteriner et muayenesi yoluyla halk sağlığının karkas yüzeyinde bulunan patojen bakterilerden korunması düşük bir olasılıktır. Bu nedenle, Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) "Patojenlerin Azaltılması, Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları" isimli bir program hazırlayarak gıda güvenliği alanında önemli değişiklikler yapmıştır (Federal Register, 1996). Bu programa göre, veteriner et muayenesinden geçen karkaslar için *Salmonella* ve *Escherichia coli* tip I bakımından mikrobiyolojik performans kriterleri getirilmiştir. Bir başka deyişle, et muayenesinde görsel temizlik yerini mikrobiyolojik temizlik esaslarına bırakmıştır.

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı tarafından yapılan bir çalışmada (USDA/FSIS, 1994), ülke genelinde 2089 soğutulmuş sığır karkasından alınan örneklerin %8.2 sinde farklı seviyelerde *E. coli* tip I tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, örneklenen karkasların %93'ünde 10^2 - 10^4 kob/cm² seviyesinde toplam aerobik mezofil bakteri bulunduğu rapor edilmiştir. Benzer sonuçlar Sofos ve ark. (Sofos, 1999) tarafından da rapor edilmiştir. Avusturalya'da, 4 mezbaha ve 13 küçük işletmeyi kapsayan bir çalışmada, toplam 523 soğutulmuş sığır ve kuzu karkası incelenerek, karkaslarda 200 cm²'lik alanda aerobik genel canlı sayısı ve *E. coli* sayısı tespit edilmiştir. İncelenen 159 sığır karkasında ortalama aerob mezofil bakteri sayısı 1.82 log₁₀ kob/cm² bulunmuş ve karkasların % 18.8 inde *E. coli* tespit edilmiştir (Sumner et al., 2003). Hollanda'da sığır ve buzağı mezbahalarının hijyenik performanslarını ortaya koymak için yapılan bir çalışmada (Heuvelink et al, 2001), incelenen mezbahaların %52'sinde karkasların deri, kıl yada feçesle kontamine olduğu, yaklaşık %45'inde ise mezbahaların yapısal eksikliklerinden kaynaklanan çapraz kontaminasyonların olduğu görülmüştür. Bu çapraz kontaminasyonların, direk karkas-karkas temasından kaynaklanan kontaminasyonlar ve indirek olarak ta karkasların duvarlara ve zemine olan temasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada mezbahaların %39'unda temizlik ve dezenfeksiyon işleminin yetersiz olduğu saptanmıştır.

Bu kısa literatür bilgileri, ülkeler arasında farklılıklar olmakla birlikte mezbaha sektöründe karkasların mikrobiyel kontaminasyonunun, özellikle fekal kontaminasyonun yaygın bir sorun olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmanın amacı Elazığ'da ki bir 1. sınıf bir mezbahadaki soğutulmuş karkasların yüzey kontaminasyonunu toplam aerobik mezofil bakteriler, *E. coli* tip I ve *Salmonella* yönünden incelemektir.

Materyal ve Metot

Örneklerin toplanması: Mezbahaya haftada bir kez gidilerek soğutma odasında bulunan, 4°C'de 24 saat süreyle ön soğutmaya tabi tutulmuş sığır karkaslarının yaklaşık %20'si rasgele seçilerek örnekledi. Seçilen her bir yarım sığır karkasının but, kavram ve döş bölgesinden 10x10 cm (100cm²) ebadında, toplam 300 cm²'lik yüzeyel karkas kısımları steril bir bistürü ve şablon yardımıyla alınarak steril stomacher poşetlerine konuldu ve poşetler soğuk zincirde laboratuara getirilerek 1 saat içerisinde analize alındı. Mezbahadan örnekler aynı şekilde 6 hafta boyunca toplandı.

Mikrobiyolojik analizler: Örnekler 100 ml %0.1'lik steril pepton water ilave edilerek 5 dakika süreyle stomacherde homojenizasyon işlemi yapıldı. Homejenizasyondan sonra desimal seyreltileri hazırlandı.

Toplam aerobik mezofil bakteri sayımı: Plate Count Agar (Oxoid CM 85) besi yeri kullanılarak dökme plak yöntemiyle çift seri plak kullanarak yapıldı. 37 ± 1°C'de 2 gün inkübe edildi (FDA, Bacteriological analytical manual, 2000).

***Escherichia coli* tip I' in sayımı:** Bu amaçla standart En Muhtemel Sayı (EMS) tekniği kullanıldı. Kısaca, Laktoz broth besiyeri ve durham tüpcüğü içeren deney tüplerine 3 seri olacak şekilde -1, -2 ve -3'lük seyreltileri hazırlanmış numunelerden 1'er ml inokule edildi. İnokulasyonu takiben tüpler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnküasyon sonunda gaz oluşumu (+) olan tüplerden öze ile kültürler alınarak IMVIC testi için gerekli besiyerlerine (trypton buyyon, glikoz fosfat buyyon, Simmon's Citrate agar) ve 44.5°C'de 24 saat inkübe edilmek üzere durham tüpcüğü içeren BGB broth (Oxoid) besiyeri tüplerine geçildi. IMVIC test sonuçları (+ + - -) olan ve 44,5 °C'de gaz oluşumu (+) olan tüpler *E. coli* tip I kabul edilerek EMS indekleri

oluşturuldu ve uygun EMS tablosu kullanılarak sayılar belirlendi (FDA, Bacteriological analytical manual, 2000).

Salmonella tespiti: Toplam mezofil aerob ve *E. coli* tip I bakterilerinin analizleri için örnekler alındıktan sonra geriye kalan homojenat, 37 ± 1 °C'de 1 gün inkübe edildi. İnkübasyonu takiben örneklerinin her birinden 0.1 ml Rappaport-Vassiliadis broth'a ve 0.5 ml Tetrathionate broth'a inoküle edildi ve tüpler 42 ± 1 °C'de ortalama 20 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda brothlardan XLD agara (Acumedia) öze ile çizimler yapıldı ve plaklar 37 ± 1 °C'de 1 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonunda siyah renkteki koloniler alınarak API 20E (Biomeriux) test kiti ile identifikasyonları yapıldı (USDA/FSIS's Microbiology laboratory guidebook).

Toplam aerobik mezofil bakteri ve *E. coli* tip I sayıları aşağıdaki formüller kullanılarak kob/cm² ye çevrildi.

$$\log_{10} \text{ kob/cm}^2 = \log_{10} ((\text{kob/ml} \times 100)/300))$$

$$\text{EMS kob/cm}^2 = (\text{EMS kob/ml} \times 100)/300$$

Mirosoft Excel® programı kullanılarak bakteri sayılarının haftalık ve genel ortalamaları ve standart sapma değerleri hesaplandı.

Bulgular

İncelen mikroorganizmaların sayıları ve dağılımları Şekil 1-4'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre, incelenen 44 örneğin toplam aerobik mezofil bakteri sayısı ortalaması $4.10 \log_{10} \text{ kob/cm}^2$ olarak bulundu. Haftalık toplanan örneklerin ortalamalarının ise 3.70 ile $4.90 \log_{10} \text{ kob/cm}^2$ arasında değiştiği tespit edildi (Şekil 1). TAMBS, bütün örneklerin %45.4'ünde $\geq 4.0 \log_{10} \text{ kob/cm}^2$ seviyesinde bulundu (Şekil 2). İncelenen 44 örneğin % 82'sinde *E. coli* tip I tespit edildi. Bu örneklerde ortalama sayı $11.6 \text{ EMS kob/cm}^2$ olarak bulunurken haftalık toplanan örneklerin ortalamalarının ise $0.94 - 3.10 \text{ EMS kob/cm}^2$ arasında değiştiği belirlendi (Şekil 3). Örneklerin %43.3'ünde *E. coli* tip I seviyesinin $1-1000 \text{ EMS kob/cm}^2$ arasında olduğu bulundu. Örneklerin %18'inde ise *E. coli* tip I tespit edilemedi ($< 0.33 \text{ EMS kob/cm}^2$) (Şekil 4). Sonuçlara göre, 44 örneğin hiç birinde *Salmonella* tespit edilemedi.

Sonuç

Bu çalışma ülkemizde var olan 800'e yakın kesimhanenin en iyilerinden sayılabilecek 1. sınıf bir kesimhanede yapılmıştır. Sonuçlar, karkas gövde etlerinde fekal kontaminasyonun yaygın olduğunu ve mikrobiyel yükün yoğun olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda sınırlı sayıda örneğin analizi yapıldığı göz önünde tutularak, bu tespitleri genelleştirmek mümkün değildir. Ülkemiz kesimhanelerinde üretilen kasaplık hayvan gövdelerinin mikrobiyel kirlilik seviyesinin belirlenmesi için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır. Karkasların hijyenik kalitesini iyileştirilmesi için alınması gereken önlemler arasında, mezhabahalarda kalifiye personel istihdamının, zorunlu kılınması, karkas gövdeleri için mikrobiyolojik kriterlerin geliştirilmesi ve denetlenmesi, ve ülkemizdeki gelenekselleşmiş kesim prosedürlerinin özafagusun bağlanması, anusun plastik torba ile izole edilmesi, sindirim kanalının tek parça halinde çıkarılması ve karkas dekontaminasyon yöntemlerinin uygulanması gibi yöntemlerle modifiye edilmesi sayılabilir.

Kaynaklar

- Armitage N H. (1997). Use Of Predictive Microbiology in Meat Hygiene Regulatory Activity. *Int. J. Food Microbiol.* 36. 102-109.
- Clark J, Sharp M, Reilly W.J. (2000). Surveillance of Foodborne Disease. In: Lund Bm, Baird-Parker Tc, Gould Gw (Ed), *The Microbiological Safety and Quality of Food. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, Usa.*
- Fda Bacteriological Analytical Manual. (2000). In: *Compendium of Microbiological Methods For The Analysis of Food and Agricultural Methods. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, Usa*
- Federal Register. (1996). Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule. *Federal Register.* 61: 38806-38989.
- Heuvelink A E, Roessink G L, Bosboom K, Boer E. (2001). Zero-Tolerance For Faecal Contamination of Carcasses as a Tool in the Control of O157 Vtec Infections. *Int. J. Food Microbiol.* 66. 13-20.
- İnal T. (1992). *Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset. İstanbul.*

Sofos J N, Kochevar S H, Bellinger G R, Buege D R, Hancock D D, Ingham S C, Morgan J B, Reagan J O, Smith G C. (1999). Sources and Extent of Microbiological Contamination of Beef in Seven United States Major Slaughtering Plants. *J. Food Prot.* 62:140-145.

Sumner J, Petrenas E, Dean P, Dowsett P, West G; Wiering R, Raven G. (2003). Microbial Contaminasyon on Beef and Sheep Carcasses in South Australia. *Int. J. Food Microbiol.* 81. 255-260.

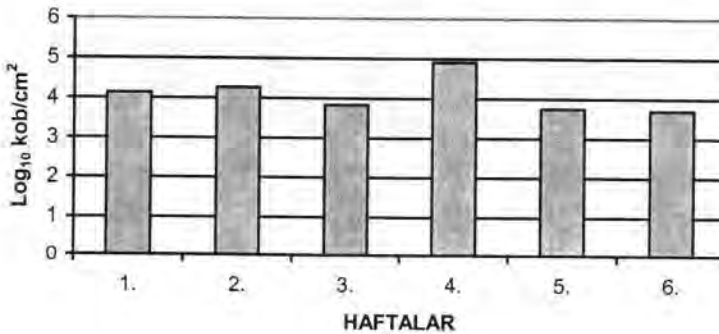
Untermann F, Stephan R, Dura U, Hofer M, Heimann P. (1997). Reliability and Practicability of Bacteriological Monitoring of Beef Carcass Contamination and Their Rating Within a Hygiene Quality Control Programme af Abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* 34. 67-77.

USDA/FSIS. (1994). Nationwide Beef Microbiological Baseline Data Collection Program: Steers and Heifers. October 1992-September 1993. United States Department of Agriculture, FSIS, Science and Technology, Microbiology Division, Washington, Dc.

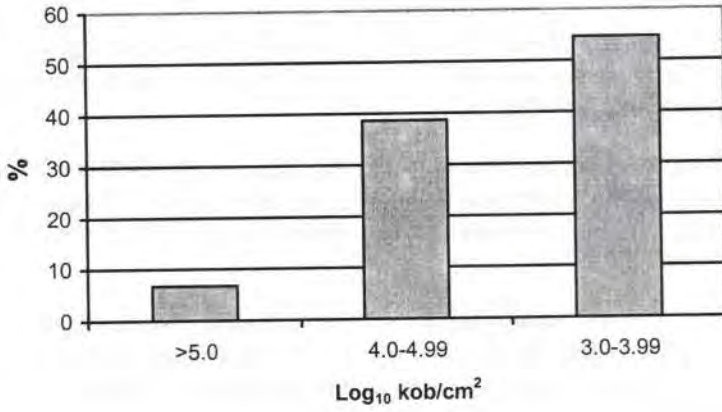
USDA/FSIS's Microbiology Laboratory Guidebook. (2000). In: Compendium of Microbiological Methods for the Analysis of Food and Agricultural Methods. Association of Official Analytical Cemists, Arlington, Virginia, Usa

Zweifel C, Zychowska M A, Stephan R. (2004). Prevalence and Characteristics of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. Isolated from Slaughtered Sheep in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* 92/1. 45-53.

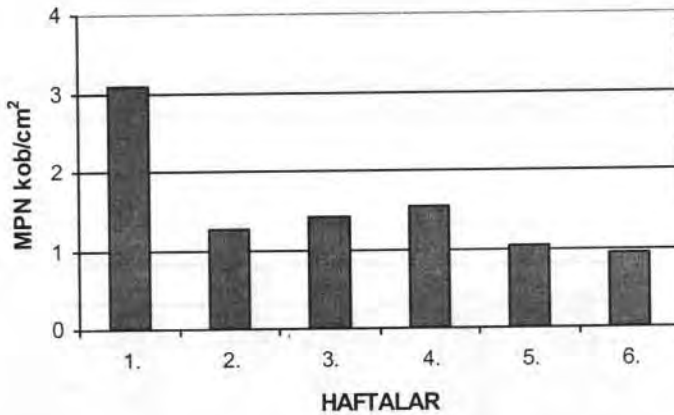
Şekil 1: Soğutulmuş (4°C, 24 saat) sığır karkas yüzeylerinden 6 hafta boyunca alınan örneklerde belirlenen ortalama toplam aerobik mezofil bakteri sayıları (n=44).



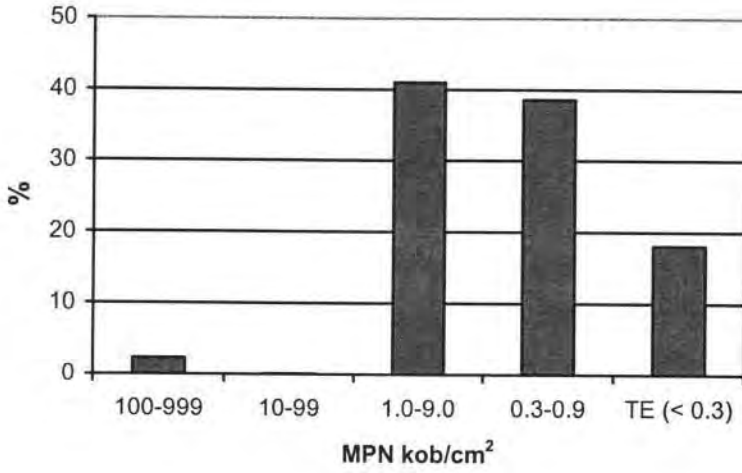
Şekil 2: Soğutulmuş sığır karkaslarında toplam aerobik mezofil bakteri seviyesinin dağılımı (n=44).



Şekil 3: Soğutulmuş (4°C, 24 saat) sığır karkas yüzeylerinden 6 hafta boyunca alınan örneklerde belirlenen ortalama *E. coli* tip I sayıları (n=44).



Şekil 4: Soğutulmuş sığır karkaslarında *E. coli* tip I seviyesinin dağılımı (n=44).



KESİM AŞAMALARININ SIĞIR KARKASININ HİJYENİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ*

Mustafa ALIŞARLI¹ Süleyman ALEMDAR¹ Levent AKKAYA²

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Van

² Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Afyon

Özet: Bu çalışma, bir siğir mezbahasında etin mikrobiyal kontaminasyonunda kesim aşamalarının rolünü belirlemek amacıyla yapıldı. Bunun için, 50 siğir karkasından toplam 1000 svab örneği mikrobiyolojik (aerob genel canlı, enterobakteriler, fekal streptokoklar, pseudomonas, maya/küf, mikrokok/stafilokok ve sülfid indirgeyen anaerob) analiz edildi. Analiz örnekleri; deri üzerinden ve karkas yüzeyinden deri yüzüldükten sonra, barsakların çıkarılmasından sonra ve son yıkama işlemi tamamlanıp damgalandıktan sonra yaş-kuru svab metodu ile alındı.

Analiz bulgularına göre, karkasların mikrobiyal kontaminasyonunda kesim aşamalarının rol oynadığı belirlendi. Deri en önemli kontaminasyon kaynağı olarak belirlendi. Özellikle iç organların çıkarılması aşaması mikrobiyal kontaminasyonda önemli ($P<0.05$) bulundu. Karkas bölgesi içerisinde, mikrobiyal yük en fazla kol ve kürek yüzeyinden alınan örneklerde tespit edildi ve bunu döş ve karın bölgesi izledi. Çalışmada, yıkama işleminin etkisi önemsiz ($P>0.05$) bulundu.

Teknik kesim donanımı ile kontaminasyonu tamamen engellemek mümkün olmazsa bile, kontaminasyon düzeyi ve oranı üzerine etkili olunabilmektedir. Bunun için, kesim hattının her aşamasında olabilecek mikrobiyal kontaminasyonu bilmek zorunludur. Kritik noktaların kontrol altında olduğundan emin olmak için, sadece vizuel kontroller değil, aynı zamanda sürekli ve periyodik olarak mikrobiyolojik kontrollerin de yapılması oldukça önemli olmaktadır.

Anahtar kelimeler: Mezbaha hijyeni, HACCP

* TÜBİTAK tarafından desteklenmiş (TARP-2350) çalışmanın bir bölümüdür.

The Effect of Slaughtering Process on the Carcass Hygienic Quality

Abstract: This study was carried out to investigate role of the slaughterhouse conditions and slaughtering stages on meat contamination in a cattle slaughterhouse. In this study, a total of 1000 swab samples from 50 carcasses were subjected to bacteriological (total anaerobic bacteria, enterobacteriaceae, fecal streptococci, pseudomonas, yeasts-moulds and micrococci-staphylococci and sülfid reduced anaerobe) examination. The swab samples were taken from a 40 square cm area on each slaughtered bovines before and after skinning, after eviscerating, washing and branding. For collecting from the surface of skin and carcasses, the wet-dry double swab technique was used.

According to the findings, it was determined the significant role of the slaughtering stages in meat contamination. It was found that the skin was the most important contamination source. Especially the stage removing internal organs was found to be significant in contamination ($p<0.05$). The heaviest microbiological contaminations were found to be present on the samples taken from the surfaces of forarm and scapula and these followed breast and abdomen regions. In the study, the effect of washing process on contamination was found insignificant ($p>0.05$).

However, over through it is not possible to eliminate contamination completely by applying the technical slaughtering equipment, it is a fact that contamination rate and level can be controlled effectively. For that purpose, it is necessary to know the possible contamination stages during the slaughtering process. For being able to make sure the critical points are under control, not only visual inspection but also consistent and periodical microbiological controls are very important.

Key words: Cattle slaughterhouse hygiene, carcasses sampling, HACCP

Giriş

Diğer bütün gıda maddelerinin hazırlanmasında olduğu gibi etin elde edilmesi ve işlenmesi sırasında da alınacak mikrobiyolojik hijyen tedbirlerinden amaç, tüketicileri hastalık etkenlerinden korumak ve gıdalarda mikrobiyal kontakt sonucu oluşabilecek hızlı kalite kaybının önüne geçerek raf ömürlerini azami düzeye çıkarmaktır (Untermann, 1988). Sağlıklı hayvanlardan elde edilen etin mikroorganizmalarla ilk

kontaminasyonu kesim esnasındaki hijyen önlemlerinin yetersizliğinden kaynaklanır. Mezbaha, personel ve su hijyeni önlemlerinin yetersiz oluşu da buna eklenince, et başlangıçtan itibaren oldukça yüksek bir mikroorganizma yükü içerir. Bu mikroorganizma yükü de devam eden çalışmayı ağır bir şekilde etkiler ve daha sonra alınacak hijyen önlemleri, başlangıçtaki hijyen yetersizliğinden kaynaklanan veya hijyen kurallarına dikkatsizlikten dolayı açılan gediği kapamaya yetmez. Bu nedenle üretimin başından itibaren tüketime kadar olan bütün aşamalarda etkin hijyen önlemlerinin alınması gerekmektedir. Bu da kesimhane ve personel hijyeninin önemini ve de düzenli hijyen kontrolünün gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır (Heimann, 1990).

Bu çalışma ile, mikroorganizma gelişimi için uygun bir ortam oluşturan ve yüksek risk kategorisindeki gıdalar arasında yer alan taze etin, kesim hattındaki hijyence zayıf noktalarını kesim işlemi sırasında belirlemek ve bunların mümkün olduğunca önlenmesi için öneriler sunmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

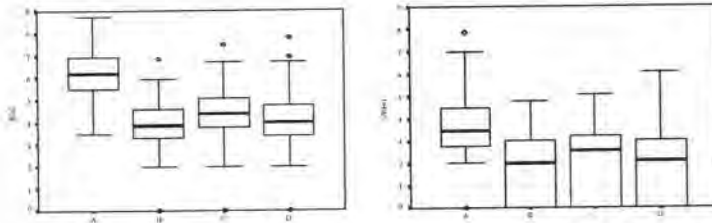
Van Et ve Balık Kurumu mezbahasında yürütülen bu çalışmada, kesime tabi tutulan sığırların karkas yüzeyinden kesimin belli aşamalarında analiz örnekleri alınmıştır. Bu kesim aşamalarını; **A.**Deri yüzülmeden önceki aşama (boyun, kol ve karın), **B.**Deri yüzüldükten sonraki aşama (boyun lateral, kol, kürek, karın ve döş), **C.**İç organlar çıkarıldıktan sonraki aşama (döş, kol ve boyun) ve **D.**Son yıkama işlemi tamamlanıp damgalandıktan sonraki aşama (boyun lateral ve medial, kol, kürek, karın, döş, kuyruk bitimi, but lateral ve medial) oluşturmuştur. Bu bölümde toplam 50 sığır karkasından; derileri üzerinden 150 ve kesim işlemi esnasında ise farklı aşamalarda karkas yüzeyi üzerinden 850 olmak üzere toplam 1000 svab örneği analiz edildi. Deri ve karkas yüzeyinden (40 cm²) örnek alınmasında ıslak-kuru svab yöntemi kullanıldı (Commission of the European Communities, 1987). Analiz örnekleri Nisan 2000 ve Haziran 2001 tarihleri arasında alındı. Mikrobiyolojik analizler kapsamında aerob genel canlı, enterobakteriler, fekal streptokoklar, pseudomonas, maya/küf ve mikrokok/stafilokok sayıları damla plak tekniği ile tespit edilmiştir. Sülfid indirgeyen anaerob (clostridium) sayımında Roll-tüp tekniği ile ekim yapılmıştır (Pichhardt, 1993).

İstatistiksel Analizler: Çalışmada, gruplar arası farkın önemi varyans analizi ve gruplar arası farklılığın belirlenmesinde ise Duncan testi kullanılmıştır. Gruplar içerisinde incelenilen bakterilere ait verilerin istatistiksel dağılımları ise saplı kutu grafiği (boxplot) ile verilmiştir (Akgül, 1997).

Bulgular

Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda (Gill ve Newton, 1978; Gratz 1982), deri ile mezbahaya taşınan mikroorganizmaların karkasın kontaminasyonunda birinci derecede rol oynadığı ve bunlara kesim işleminin her basamağında rastlanıldığı bildirilmektedir. Hess ve Lott (1970) yaptıkları çalışmada, sığırların postu üzerindeki ve turnak aralarındaki pisliklerde 10^8 /g proteolitik ve 10^6 /g enterobakteri bulunduğunu ve ayrıca ayakların ve postun uzaklaştırılmasından sonra işçi ellerindeki bakteri sayılarının öncekine göre 1000 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada da kesim hayvanının derisi oldukça kirli bulunmuştur. Deriden alınan örneklerde, aerob genel canlı sayısı ortalama $6,21 \log \text{ kob.cm}^{-2}$ diğer hijyen indeksi mikroorganizmalarda 2 ila $3,55 \log \text{ kob.cm}^{-2}$ düzeyinde bulunmuştur. (Tablo 1).

Deri (post) florası; yemin bileşimi, mevsimler ve yetiştirme ortamına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Aran, 1997). Örneğin, yaz aylarında 10^3 ve 10^5 /g düzeyindeki mikroorganizma sayıları, kış aylarında 10^8 - 10^9 /g'a çıkabilmektedir. Bunun aksine, yürütülen bu çalışmada, özellikle yaz ve sonbahar mevsimlerinde deri üzerinde daha yoğun mikroorganizma bulunmuştur.



Şekil 1. Her bir kesim aşamasına ait örneklerin bulguları kendi içlerinde birleştirilip incelenen mikroorganizmaların bulunma düzeylerinin ($\log_{10}$) kesim aşamalarına (A, B, C, D) göre karşılaştırılması

Etlere mikroorganizmaların bulaşmalarını tamamen önlemek özellikle kesim sırasında mümkün olmamakta, yapılan araştırmalarda yeni yüzülmüş etlerin yüzeyinde az da olsa bakteri tespit edilmektedir (Hess ve Lott, 1970; Yücel, 1976). Bu da, karkasların yüzeysel kontaminasyonunda etlerin hazırlanması sırasındaki işlemlerin hijyen derecesini yansıtmaktadır (Yücel, 1976). Hijyenik gerçekleştirilen kesimlerde yeni kesilmiş sığır karkaslarının yüzeylerindeki bakteri sayısı cm^2 'de 1000 ila 10000 arasında olmaktadır (Mackey ve Roberts, 1990). Bununla birlikte, modern işletmelerde bile etin raf ömrünü kısıtlayacak düzeyde olan 10^6 kob. cm^{-2} seviyesindeki bakteri sayısı oldukça sık olarak bulunabilmektedir (Hesse, 1991). Yürütülen çalışmada da, deri yüzüldükten sonra karkas yüzeyinden alınan örneklerde aerob genel canlı sayısı ortalama olarak 3,71 log. cm^{-2} ve enterobakteriler ise 1,78 log. cm^{-2} düzeyinde tespit edilmiştir (Tablo 1).

Çalışmalarda mikroorganizmaların karkasa bulaşmasında özellikle iki kesim aşamasından sıkça bahsedilmektedir. Bunlar derinin yüzülmesi aşaması ve iç organların çıkarılması aşamalarıdır. Happe (1993), et muayenesi sırasında yapılan vizuel kontrollerde dahi karkasların %3 ila %8 oranında işkembe içeriği ile kirlendiğini gözlemlemiştir. Bu çalışmada da, özellikle anüs yakın kısımlarda bulunan kas eti barsak içeriği ile kirliliği olduğu gözlemlenmiştir. Yürütülen bu araştırmada, karkasların mikrobiyal kontaminasyonunda kesim aşamalarının rol oynadığı görülmektedir. Özellikle iç organların çıkarılması aşaması mikrobiyal kontaminasyonda önemli ($P<0.05$) bir yer almış ve bu aşamadan sonra alınan örneklerde bakteri düzeylerinde bir artış belirlenmiştir (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo 1. Her bir kesim aşamasındaki örnekler kendi içlerinde birleştirilerek incelenen mikroorganizmaların yalnızca kesim aşamalarına göre bulunma düzeyleri ($\log_{10}/\text{cm}^2$)

Örnek		A	B	C	D	
Genel canlı	x	6,21a	3,71 c	4,18 b	3,94 c	A. Deri yüzülmeden önceki aşama.
	Sx	1,16	1,40	1,40	1,40	B. Deri yüzüldükten sonraki aşama.
	min	3,45	<2,30	<2,30	<2,30	C. İç organlar çıkarıldıktan sonraki aşama ve
	mak	8,72	6,83	7,46	7,78	D. Son yıkama işlemi tamamlandıktan sonraki aşama.
entrobakter	x	3,55 a	1,78 c	2,05 b	1,85 c	
	Sx	1,30	1,50	1,50	1,50	
	min	<2,30	<2,30	<2,30	<2,30	
	mak	7,83	4,78	5,08	6,08	

Aynı satır içerisinde farklı harfler ile gösterilenler istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$).

Anderson ve ark. (1977) ve Kayaardı (1998) hijyenik su ile yapılan etkili bir yıkama işlemi ile karkaslarda yüzeysel bakteri sayısının azaltılabileceğini belirtmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada ise, yıkama işleminin etkisi önemsiz ($P>0,05$) bulunmuştur. Bu, işletme atmosferinin mikrobiyal kirlilik düzeyinin yüksek olması ile yada işletme suyunun hijyenik kalitesinin kötü olması ile açıklanabilir.

Mezbahane işletmesine yönelik hijyen kontrolleri için karkas yüzeyinden örnek alınacak alanlar sıklıkla kol, but, omuz ve göğüs bölgesi sayılmıştır (Stolle, 1986; Heimann, 1990; Commission of the European Communities, 1987). Yürütülen bu araştırmada da, mikrobiyal yük en fazla kol ve kürek yüzeyinden alınan örneklerde tespit edilmiş ve bunu döş ve karın bölgesi izlemiştir. Bu sonuçlar, bazı araştırmacıların (Stolle, 1986; Heimann, 1990; Fries ve ark., 2002) tespitleri ile uyumlu bulunmuştur. Bu bölgelerde kontaminasyonun yüksek bulunması, personelin karkas ile ilk temasının gerçekleştiği alan olması ile açıklanabilir. Nitekim Fries ve ark. (2002), eğer karkas arka ayaklarından yüksekçe bir yere asılırsa karkasın ön kısımlarına olan elle teması engellenmenin mümkün olmayacağını bildirmişlerdir.

Avrupa Topluluğu Komisyonu, sığır karkas yüzeyinde mikrobiyal kabul görür değerleri; genel canlı sayısını $<3,5 \log.cm^{-2}$, enterobakteri sayısını $<1,5 \log.cm^{-2}$ olarak, kabul edilemez/uygun olmayan değerleri ise; genel canlı için $>5 \log.cm^{-2}$ ve enterobakteri için $2,5 \log.cm^{-2}$ olarak belirtmiştir. Bu çalışmada da, yukarıdaki kriterler göz önüne alınırsa genel canlı sayısı örneklerin %50'sinde (Şekil 1) kabul görür bulunmuştur. Nitekim enterobakteriler de aynı oranlarda tespit edilmiştir (Şekil 1). Ancak çalışmanın bu değerleri yıkama işlemi tamamlandıktan hemen sonra elde edilen bulgulardır. Yani, soğuk depoda mikroorganizmaların kısmi bir artış göstereceği düşünülürse bu çalışmanın bulguları tatmin edici değildir.

Kesim işlemi, gelişen günümüz teknolojisinde de manuel birçok basamaktan oluşmaktadır. Bundan dolayı, kesim işletmesinde çalışan personelin kabiliyetli ve dikkatli olması mümkün olduğunca temiz karkasın temininde büyük rol oynamaktadır. Kabiliyetli ve dikkatli çalışan personel ile, primitif şartlarda dahi mikrobiyolojik açıdan tatmin edici ürünler elde etmek mümkün olabilmektedir (Mackey ve Roberts, 1993).

Sonuç

Teknik kesim donanımı ile kontaminasyonu tamamen engellemek mümkün olmazsa bile, kontaminasyon düzeyi ve oranı üzerine etkili olunabilmektedir. Kritik noktaların kontrol altında olduğundan emin olmak için, sadece vizuel kontroller değil, aynı zamanda sürekli ve periyodik olarak mikrobiyolojik kontrollerin de yapılması oldukça önemli olmaktadır. Yinede, vizuel kontroller kesim işlemi aşamasındaki kritik noktaların belirlenmesi için yardımcı önemli bir araçtır. Eğer temizlik ve dezenfeksiyon işlemi sonrası hala kir vizuel olarak gözlemlenebiliyorsa, mikrobiyolojik araştırmaların hiçbir önemi yok demektir.

Kaynaklar

- Akgül, A. (1997). Tıbbi araştırmalarda istatistiksel analiz teknikleri, SPSS uygulamaları, YÖK Matbaası, Ankara.
- Anderson, M.E., Marshall, T.R., Stringer, W.C., Nauman, H.D. Combined and individual effects of washing and sanitizing on bacterial counts of meat-A model system. *J Food Prot.*, 40: 668-670, 1977.
- Aran, N. (1997) .Et üretiminde mikrobiyolojik kalite korunumu. Dünya Gıda, Aralık, 28-32.
- Commission of The European Communities. (1987).Code of good hygienic practices. EG-Dokument: VI/5938/87 (PVET/2140).
- Fries, R., Hitz, T., Buschulte, A. (2002).Hygienestatus von Rinderkarkassen aus regionaler Vermarktung. *Fleischwirtsch.* 2: 91-93.
- Gill, C.O., Newton, K.G. (1978).The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at cill temperatures. *Meat Sci.* 2: 207-217
- Grätz, H. (1982). Saubarkeit der Schlachtiere. *Fleishwirtsch.* 62: 1046-1016.
- Happe, B. (1993) .Hygienestatus von Rinderschlachttierkörpern nach Vorenthäutung auf einem Schragenförderband im Vergleich zur vertikalen Bandschlachtung. Inaug. Diss. FU Berlin.
- Heimann, P.(1990).Bewertung der Schlachthygiene durch Keimzahlbestimmungen an Schlachttierkörpern. Inaug. Diss. Zürich,
- Hess, E., Lott, G. (1970).Kontamination des Fleisches während und nach der Schlachtung. *Fleischwirtsch.* 50: 96-98,

Hesse, S.(1991). Mikrobiologische Prozeßkontrolle am Rinderschlachtband unter besonderer Berücksichtigung technologisch bedingter hygieneschwachstellen. Inaug. Diss. FU Berlin.

Kayaardı, S. (1998).Sığır karkaslarının mikrobiyel kalitesi üzerine duşlama işlemlerinin etkileri. Gaziantep Üniversitesi Gıda Mühendisliği Kongresi 16-18 Eylül, Gaziantep.

Mackey, B.M., Roberts, T.A.(1993).Verbesserung der Schlachthygiene durch HACCP und Überwachung. *Fleischwirtsch.* 73(1): 34-37.

Pichhardt, K.(1993).Lebensmittel-mikrobiologie. 3. Auflage, Springer-Verlage, Germany.

Stolle, F.A.(1986).Mikrobiologische Profile auf Rinderschlachtkörpern als Grundlage für die betriebsinterne Hygienekontrolle. 27 Arbeitstag. des Arbeitsgeb. Lebensmittelhyg. der DVG Garmisch.

Untermann, F.(1988). Hygiene der Fleischgewinnung und -verarbeitung. *Fleischwirtschaft.* 68(9): 102-108.

Yıldırım, Y. (1976). Et endüstrisinde hijyen ve bakteriyolojik kontrol. *Et ve Balık End. Derg.* 1(3): 19-29.

Yücel, A. (1976).Yerde ve Askıda Yüzülen Sığır Gövde Etlerinin Mikrobiyel Kontaminasyon Durumları ile İlgili Araştırmalar, Doktora Tezi, A.Ü. Sağlık Bil. Enst., Ankara.

LAKTİK ASİT VE SICAK SU UYGULAMALARININ SIĞIR ETLERİNDE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM VE *LISTERIA MONOCYTOGENES* ÜZERİNE ETKİSİ

**Haydar ÖZDEMİR Yeliz YILDIRIM Özlem KÜPLÜLÜ
Ahmet KOLUMAN Muammer GÖNCÜOĞLU Gökhan İNAT**

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
06110, Dışkapı/Ankara.

Özet: Bu çalışma farklı konsantrasyondaki laktik asit (LA) ile sıcak suyun (SS) yalnız veya kombine uygulamalarının, *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* ile kontamine edilen sığır etlerinde muhafaza süresince redüksiyon etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla deneysel olarak *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* ile kontamine edilen sığır etleri % 1 ve 2 konsantrasyonunda LA ile 82°C'deki SS'ya yalnız ve kombine olarak 15 s daldırılarak 4°C'de muhafaza edilmiştir. Muhafaza süresinin 0, 1, 3 ve 5. günlerinde örneklerde farklı uygulamaların *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerindeki etkisi ile pH değerleri saptanmıştır. Mikrobiyolojik analizler sonucu, işlemlerden hemen sonra (0. gün) örneklerde *S. Typhimurium* redüksiyonu 0.05-1.19 log, *L. monocytogenes* redüksiyonu ise 0.09-1.14 log düzeyinde saptanmış olmasına karşın, muhafaza süresinin 5. gününde redüksiyonun sırasıyla 0.43-1.78 log, 1.69-3.84 log düzeye ulaştığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, laktik asit ve sıcak su uygulamalarının bakteriler üzerindeki redüksiyon etkisinin LA'nın konsantrasyonu ($P<0.05$), işlemlerin sırası ($P<0.05$) ve muhafaza süresine ($P<0.001$) bağlı olarak artış gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Sığır eti, laktik asit, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, sıcak su

Effects of Lactic Acid and Hot Water Treatments on *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* Attached on Beef

Abstract: The aim of this study is to determine alone and combined effect of lactic acid (LA) and hot water (HW) treatments at different concentrations on reduction of *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*

on contaminated beef during refrigerated storage. Artificially *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* contaminated beef samples were immersed alone and combined in 1 to 2 % LA and HW at 82°C for 15 sec and were stored at 4°C. The reduction effect of different treatments on *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* and pH values were determined on days 0, 1, 3 and 5 of storage. The results of microbiological analysis immediately after the treatment (day 0) showed that the reductions were 0.05-1.19 log and 0.09-1.14 log for *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* respectively while it was 0.43-1.78 and 1.69-3.84 log on day 5 of storage for microorganisms of concern respectively.

In summary, the effect of LA and HW treatments in reducing numbers of *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* increased due to the concentration ($P<0.05$) of LA, order ($P<0.05$) of treatment and duration ($P<0.001$) of refrigerated storage.

Key words: Beef, lactic acid, hot water, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*.

Giriş

Sığır karkaslarının *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *E. coli* 0157:H7 gibi patojen mikroorganizmalarla kontamine olduğu ve kontaminasyonda kesim işleminin deri yüzme ve iç organ çıkartma aşamasının önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Gracey ve ark.1999; Vanderlinde ve ark. 1998). Sığır karkaslarında, patojen mikroorganizmaların eliminasyonuna yönelik olarak değişik uygulamalar bulunmakta olup, bunlardan en sık kullanılanı sıcak su, sıcak su buharı ve laktik asit uygulamalarıdır. Bu amaçla genelde sığır karkaslarının soğutma öncesi 74-82°C'de sıcak su ve % 1-2.5 konsantrasyonunda laktik asit solusyonu ile sprey tarzında yıkanması önerilmektedir. Laktik asidin antibakteriyel etkisinin solusyonun konsantrasyonu, sıcaklık derecesi, uygulama şekli ile zamana bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Huffman 2002; Sofos ve Smith 1998).

Yapılan çalışmalarda (Calicioglu ve ark. 2002; Castillo ve ark. 1998; Castillo ve ark. 1999; Ellebracht ve ark. 1999; Ikeda ve ark. 2003; Stivarius ve ark. 2002) laktik asit ve sıcak su uygulamalarının, sığır karkas ve etlerinde toplam aerob bakteri, enterobakteri, koliform,

Pseudomonas, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *E. coli* üzerinde değişik düzeyde redüksiyon etkisi oluşturduğu bildirilmektedir.

Bu alışma, farklı konsantrasyondaki laktik asit solusyonu ile sıcak suya yalnız veya kombine olarak daldırma işleminin, sığır etlerinde *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* üzerindeki redüksiyon etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bakteri solusyonunun hazırlanması

Bu alışmada, *S. Typhimurium* (RSKK 95091) ve *L. monocytogenes* (RSKK 472, 1/2 a) stok kültür suşları kullanıldı. Bu amaçla suşlardan birer lob brain heart infusion broth'a (BHI broth, 10 ml) geçilerek, *S. Typhimurium* 37°C'de, *L. monocytogenes* 35°C'de 18-20 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası bakteri solusyonlarından tekrar 0.1 ml BHI (10 ml) broth'a geçilerek, aynı koşullarda inkübe edildi. Başlangıçta yaklaşık 8.2×10^8 kob/ml olan *S. Typhimurium* ve 4.6×10^8 kob/ml düzeyinde bulunan *L. monocytogenes* sayısını 1 log düzeyinde düşürmek için, bakteri solusyonları 90 ml steril peptonlu (0.1%) su ile dilue edildi.

Bakterilerin örneklere inokulasyonu

Bu çalışmada örnek olarak, soğutulmuş sığır karkasından aseptik koşullarda alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen *M. Longissimus dorsi* kasi kullanıldı. Bu amaçla *M. Longissimus dorsi* kasi, laboratuvarda steril bir bıçak yardımıyla 5x5 cm büyüklüğünde ve 2 mm eninde (yaklaşık 25-30 g) kesilerek, 5'erli gruplar halinde 20 ml bakteri solusyonu ve 180 ml steril peptonlu su karışımı bulunan steril kavanozlar içerisinde, oda sıcaklığında 5 dakika daldırıldı. Bunu takiben bakteriyel tutunma amacıyla, örnekler solusyondan çıkarılıp steril poşetlerde 30 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi (Capita ve ark. 2002).

Antimikrobiyel işlemler ve örneklerin gruplandırılması

Bu çalışmada laktik asit (LA) uygulamaları % 1 (pH-2.53) ve % 2 (pH-2.40) konsantrasyonunda ve 24-25°C sıcaklıktaki laktik asit (Merck.1.00366.2500) solusyonuna 15 saniye süreyle daldırılarak, sıcak su (SS) işlemi ise 82°C'deki suya 15 saniye süreyle daldırılarak yapıldı. Bu amaçla bakteri inokulasyonu yapılan örnekler 10'arlı sekiz gruba ayrılarak, yalnız veya kombine olarak 8 farklı işlem uygulandı; 1) steril eşme suyuna (kontrol, 24-25°C), 2) % 1 LA, 3) % 1 LA+ SS,

4) SS+ % 1 LA, 5) % 2 LA, 6) % 2 LA+SS, 7) SS+ % 2 LA, 8) SS. Daldırma işlemi sonrası örnekler, oda sıcaklığında 5 dakika süreyle süzülerek, steril kavanozlarda 4°C'de analiz amacıyla muhafaza edildi. Örneklerin yarısı mikrobiyolojik analizlerde, yarısı pH-değerlerinin saptanması için kullanıldı.

Mikrobiyolojik analizler ve pH-değerlerinin ölçülmesi

Bakteri inokulasyonu yapılan örneklerde, yalnız veya kombine laktik asit ve sıcak su uygulamalarının *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerine redüksiyon etkisini saptamak amacıyla, muhafaza süresinin 0., 1., 3., ve 5. günlerinde her dilüsyondan paralel mikrobiyolojik ekimler yapıldı. Bu amaçla örneklerden aseptik koşullarda 10 g alınarak, üzerine 90 ml steril peptonlu su ilave edilip, stomacherde (Lab-Blender 400 Seward, London, UK) 2 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası örneklerden steril peptonlu su ile desimal dilüsyonlar hazırlanarak, *S. Typhimurium* için BPLS (Brillant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar-Merck 1.07237) ve XLD agara (Xylose Lysine Deoxycholate-Merck 1.0528), *L. monocytogenes* için Palcam agara (Merck, 1.11755, supplement Merck, 1.12122) 0.1 ml ekilerek, BPLS ve XLD plakları 37°C'de 24 saat, Palcam plakları ise 35°C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı (Baumgart, 1997). Örneklerin pH değerleri, elektronik pH metre (Mettler Toledo, Inlab-427) ile ölçüldü. Bu amaçla 5 g örnek alınarak, üzerine 15 ml steril distile deiyonize su ilave edilip stomacherde 2 dakika homojenize edildi (Capita ve ark. 2002).

İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen mikrobiyolojik analiz bulgularının, istatistiksel olarak değerlendirilmesi varyans analizi (GLM) kullanılarak yapıldı. Bunun için SPSS ver. 10.0 istatistik paket programı kullanıldı.

Bulgular

Kontrol ve işlem görmüş örneklerde, muhafaza süresince *S. Typhimurium* popülasyonunun seyri Tablo 1'de gösterilmiştir. Uygulamalardan hemen sonra yapılan (0.gün) mikrobiyolojik analizlerde *S. Typhimurium* redüksiyonunun, kontrol grubuna oranla sırasıyla 0.05, 0.26, 0.79, 0.70, 0.86, 1.19 ve 0.54 log düzeyde bulunduğu saptanmıştır. Muhafaza süresinin 5. gününde ise özellikle

5., 6. ve 7. gruplarda redüksiyon düzeyinin artarak, 1.14, 1.45 ve 1.78 log düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Yalnız veya Kombine Laktik asit ve sıcak su uygulamalarının, *Salmonella* Typhimurium ile kontamine sığır etlerinde muhafaza süresince etkisi (log₁₀ kob/g).

Grup	İşlem	Muhafaza süresi (gün, 4°C)			
		0	1	3	5
1	Kontrol (çeşme suyu)	6.90±0.02 f ^a	6.90±0.01 e	6.94±0.01 e	6.89±0.02 e
2	% 1 LA ^b	6.85±0.05 f	6.75±0.01 d	6.62±0.11 d	6.46±0.04 d
3	% 1 LA+ SS ^c	6.64±0.02 e	6.66±0.02 d	6.59±0.03 d	6.38±0.07 d
4	SS+ % 1 LA	6.11±0.06 bc	6.38±0.05 c	6.20±0.17 c	6.28±0.02 d
5	% 2 LA	6.20±0.03 c	6.14±0.06 b	5.88±0.03 b	5.75±0.02 c
6	% 2 LA+ SS	6.04±0.03 b	5.62±0.02 a	5.62±0.02 a	5.44±0.06 b
7	SS+ % 2 LA	5.71±0.01 a	5.61±0.01 a	5.50±0.03 a	5.11±0.01 a
8	SS	6.36±0.02 d	6.36±0.05 c	6.43±0.01 d	6.30±0.04 d

^a: Aynı sütünde farklı harfler önemlidir (P<0.05).

^b: Laktik asit, ^c: Sıcak su.

Sonuçlar ortalama olarak verilmiştir (n=4).

Tablo 2. Yalnız veya Kombine Laktik asit ve sıcak su uygulamalarının, *Salmonella* Typhimurium ile kontamine sığır etlerinde muhafaza süresince ortalama redüksiyon^a etkisi (log₁₀ kob/g).

Grup	İşlem	Muhafaza süresi (gün, 4°C)			
		0	1	3	5
1	Kontrol (çeşme suyu)	-	-	-	-
2	% 1 LA ^b	0.05	0.15	0.32	0.43
3	% 1 LA+ SS ^c	0.26	0.24	0.35	0.51
4	SS+ % 1 LA	0.79	0.52	0.74	0.61
5	% 2 LA	0.70	0.76	1.06	1.14
6	% 2 LA+ SS	0.86	1.28	1.32	1.45
7	SS+ % 2 LA	1.19	1.29	1.44	1.78
8	SS	0.54	0.54	0.51	0.59

^a: Log redüksiyon= (log₁₀ kob/g işlem öncesi) - (log₁₀ kob/g işlem sonrası).

^b: Laktik asit, ^c: Sıcak su.

Bu çalışmada % 1'lik LA'din 0. günde *S. Typhimurium* üzerinde redüksiyon etkisi saptanmamıştır. Aynı şekilde çalışmada, sıcak su uygulamalarının LA ile birlikte uygulandığında oluşan redüksiyon etkisinin, LA yalnız kullanıldığında oluşan redüksiyon etkisinden fazla olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. Buna ilaveten SS uygulamalarının, LA uygulamalarından önce yapıldığı 4. ve 7. gruptaki redüksiyon düzeylerinin 3. ve 6. gruplara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde muhafaza süresine bağlı olarak, oluşan redüksiyon düzeyinin özellikle 5., 6. ve 7. gruplarda, 5. günde sırasıyla 0.44, 0.59 ve 0.59 log düzeyinde artış gösterdiği saptanmıştır.

Kontrol ve işlem görmüş örneklerde, muhafaza süresince *L. monocytogenes* populasyonunun seyri Tablo 3'de gösterilmiştir. Uygulamalardan hemen sonra yapılan (0. gün) mikrobiyolojik analizlerde, *L. monocytogenes* redüksiyonunun kontrol grubuna oranla sırasıyla 0.69, 0.78, 0.89, 1.09, 1.05, 1.14 ve 0.09 log düzeyde bulunmasına karşın, muhafaza süresinin 5. gününde redüksiyonun artarak 1.69-3.84 log düzeye ulaştığı belirlenmiştir (Tablo 4). Muhafaza süresinin 5. gününde ise özellikle 7. gruptaki populasyonun, 0. gündeki popülasyona oranla 0.92 log kob/g düzeyinde daha az olduğu saptanmıştır. Buna ilaveten, çalışmada muhafaza sırasında kontrol grubu örneklerinde *L. monocytogenes* sayısının 0. güne oranla 1.78 log düzeyinde artış gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 3. Yalnız veya Kombine Laktik asit ve sıcak su uygulamalarının, *Listeria monocytogenes* ile kontamine sığır etlerinde muhafaza süresince etkisi ($\log_{10}$ kob/g).

Grup	İşlem	Muhafaza süresi (gün, 4°C)			
		0	1	3	5
1	Kontrol (çeşme suyu)	6.52± 0.01 e ^a	7.04± 0.03 f	7.11± 0.03 g	8.30± 0.13 f
2	% 1 LA ^b	5.83± 0.02 d	5.92± 0.01 d	5.97± 0.01 e	6.14± 0.03 d
3	% 1 LA+ SS ^c	5.74± 0.07 cd	5.69± 0.01 c	5.76± 0.03 d	5.92± 0.06 cd
4	SS+ % 1 LA	5.63± 0.03 bc	5.68± 0.01 c	5.85± 0.01 d	5.62± 0.08 bc
5	% 2 LA	5.43± 0.04 a	5.34± 0.04 b	5.52± 0.04 c	5.76± 0.04 bc
6	% 2 LA+ SS	5.47± 0.03 ab	5.32± 0.02 b	5.36± 0.02 b	5.44± 0.03 b
7	SS+ % 2 LA	5.38± 0.11 a	5.07± 0.07 a	4.53± 0.05 a	4.46± 0.01 a
8	SS	6.43± 0.04 e	6.43± 0.11 e	6.49± 0.01 f	6.61± 0.22 e

^a: Aynı sütünde farklı harfler önemlidir ($P<0.05$).

^b: Laktik asit, ^c: Sıcak su.

Sonuçlar ortalama olarak verilmiştir (n=4).

Tablo 4. Yalnız veya Kombine Laktik asit ve sıcak su uygulamalarının, *Listeria monocytogenes* ile kontamine sığır etlerinde muhafaza süresince ortalama redüksiyon^a etkisi (log₁₀ kob/g).

Grup	İşlem	Muhafaza süresi (gün, 4°C)			
		0	1	3	5
1	Kontrol (çeşme suyu)	-	-	-	-
2	% 1 LA ^b	0.69	1.12	1.14	2.16
3	% 1 LA+ SS ^c	0.78	1.35	1.35	2.38
4	SS+ % 1 LA	0.89	1.36	1.26	2.68
5	% 2 LA	1.09	1.70	1.59	2.54
6	% 2 LA+ SS	1.05	1.72	1.75	2.86
7	SS+ % 2 LA	1.14	1.97	2.58	3.84
8	SS	0.09	0.61	0.62	1.69

^a: Log redüksiyon= (log₁₀ kob/g işlem öncesi)- (log₁₀ kob/g işlem sonrası).

^b: Laktik asit, ^c: Sıcak su.

Kontrol grubu ile SS işlemi görmüş örneklerde pH değerlerinin, diğer gruplardaki örneklerle oranla daha yüksek olmasına karşın, diğer gruplardaki örneklerde pH değerleri arasında uygulanan LA'din konsantrasyonuna bağlı olarak çok düşük düzeyde farklılık bulunduğu saptanmıştır (sonuçlar gösterilmemiştir).

Sonuç olarak, LA ve SS uygulamalarının sığır etlerinde *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerinde etkili olmakla beraber, etkinin LA'ın konsantrasyonu, uygulanan işlemlerin sırası ve muhafaza süresine bağlı olarak değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle dekontaminasyon işlemlerinde, bu özelliklerin dikkate alınarak en etkili parametrelerin uygulanması halk sağlığı açısından önem taşımaktadır.

Kaynaklar

- Baumgart, J. (1997). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag, Hamburg.
- Calicioglu, M., Kaspar, C. W., Buege, D. R. And Luchansky, J. B. (2002). Effectiveness of spraying with Tween 20 and lactic acid in decontaminating inoculated *Escherichia coli* 0157:H7 and indigenous *Escherichia coli* biotype 1 on beef. *J. Food Prot.* 61, 623-625.
- Capita, R., Calleja, C. A., Fernandez, M. C. G., Moreno, B. (2002). Activity of trisodium phosphate compared with sodium hydroxide wash solutions against

Listeria monocytogenes attached to chicken skin during refrigerated storage. *Food Microbiol.* 19, 57-63.

Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W., Acuff, G. R. (1998). Use of hot water for beef carcass decontamination. *J. Food Prot.* 61 (1), 19-25.

Castillo, A., Lucia, L. M., Mercado, I., Acuff, G. R. (1999). Decontamination of beef carcass surface tissue by steam vacuuming alone and combined with hot water and lactic acid sprays. *J. Food Prot.* 62 (2), 146-151.

Ellebracht, E. A., Castillo, A., Lucia, L. M., Miller, R. K., Acuff, G. R. (1999). Reduction of pathogens using hot water and lactic acid on beef trimmings. *J. Food Sci.* 64 (6), 1094-1099.

Gracey, J. F., Collins, D. S., Huey, R. J. (1999). Meat Hygiene. Tenth Edition. Harcourt Brace and Company.

Huffman, R. D. (2002). Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Sci.* 62, 285-294.

Ikeda, J. S., Samelis, J., Kendall, P. A., Smith, G. C., Sofos, J. N. (2003). Acid adaptation does not promote survival or growth of *Listeria monocytogenes* on fresh beef following acid and nonacid decontamination treatments. *J. Food Prot.* 66 (6), 985-992.

Sofos, N. J., Smith, G. C. (1998). Nonacid meat decontamination technologies: Model studies and commercial applications. *Int. J. Food Microbiol.* 44, 171-188.

Stivarius, M. R., Pohlman, F. W., Mcelyea, K. S., Waldroup, A. L. (2002). Effects of hot water and lactic acid treatment of beef trimmings prior to grinding on microbial, instrumental color and sensory properties of ground beef during display. *Meat Sci.* 60, 327-334.

Vanderlinde, P. B., Shay, B., Murray, J. (1998). Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. *J. Food Prot.* 61 (4), 437-443.

SODYUM LAKTATIN SOSİSLERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Enver Barış BİNGÖL **Kamil BOSTAN**

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-İstanbul

Özet: Bu çalışma organik asitlerden laktik asidin bir tuzu olan sodyum laktatın değişik konsantrasyonlarda sosislerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü üzerine etkisinin araştırılması ve aynı zamanda nitrit ile karşılaştırılarak bir nitrit alternatifi olup olamayacağının belirlenmesi için gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla klasik yöntemlere göre hazırlanan sosis örneklerine %0, %0.6, %1.2 ve %1.8 sodyum laktat ile %0.125 NaNO_2 ilave edilmiştir. Sosis örnekleri hazırlandıktan sonra vakum paketlenmiş ve 4°C'de 60 gün süreyle muhafaza edilmiştir. Muhafaza sırasında örnekler periyodik olarak duyuusal özellikleri, mikroorganizma sayıları ve pH değerleri yönünden analiz edilmiştir.

Sodyum laktat ilavesi ürünün duyuusal özelliklerini değiştirmemiş, hatta tadda kısmen iyileşme sağlanmış; bununla birlikte nitritli ürünlerdeki kırmızı-pembe rengin yerine doğal et rengi muhafaza edilmiştir. Sodyum laktat ilavesi kullanılan konsantrasyona bağlı olarak mikrobiyel üremeyi geciktirmiştir. Sodyum laktat içeren örneklerin raf ömründe, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir artış kaydedilmiştir. Kontrol grup sosis örnekleri 30. günden itibaren bozulma belirtileri göstermeye başlamışken, %0.6 ve %1.2 sodyum laktat içeren örneklerde sırasıyla 45. ve 60. günlerde bozulma belirtileri başlamıştır. Sodyum laktat seviyesi %1.8 olan örnekler ise muhafazanın 60. gününde dahi bozulma belirtileri görülmemiştir. Sodyum laktat, muhafaza süresi boyunca deneysel sosis örneklerinin mikrobiyel kalitesi üzerine etki edecek bir pH değişikliğine sebep olmamıştır.

Sonuçlar sosislere sodyum laktat ilavesinin konsantrasyona bağlı olarak mikrobiyolojik kaliteyi iyileştirdiğini, raf ömrünü uzattığını, incelenen mikroorganizmalar bakımından antimikrobiyel ajan olarak nitritten daha iyi performans gösterdiğini ve bu anlamda bir nitrit alternatifi olarak düşünülebileceğini; duyuusal olarak anormal bir değişime yol açmadığını hatta tadda kısmen iyileşme sağladığını, bununla birlikte tek başına kullanıldığında nitritli ürünlerdeki tipik

sosis rengi olarak bilinen kırmızı-pembe rengin oluşmamasından dolayı tüketici beğenisini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Sosis, sodyum laktat, mikrobiyolojik kalite, raf ömrü

Effects of Sodium Lactate on the Microbiological Quality and Shelf-Life of Sausages

Abstract: This study was performed to investigate the effects of various levels of sodium lactate on the microbiological quality and shelf-life of sausages, and also to compare it with NaNO_2 in order to establish whether it can be used as a nitrite alternative. For this purpose, 0%, 0.6%, 1.2% and 1.8% sodium lactate and also 0.125% NaNO_2 were added to sausage samples prepared in accordance with classical methods. The samples of sausages were vacuum packaged and stored at 4°C for 60 days. Samples were periodically analyzed for their sensorial properties, microbial counts and pH values.

Sensorial characteristics of the samples were not altered with NaL addition; and even moreover, their flavours were partially improved. However, in contrast to red-pinkish color in the samples containing NaNO_2 , the natural meat color was preserved in lactate containing samples. Sodium lactate delayed microbial growth depending on the level used. There was a significant increase in the shelf-lives of samples containing sodium lactate compared to control group. The sausage samples in the control group showed features of spoilage starting from 30th day of storage; on the other hand, samples containing 0.6%, and 1.2% sodium lactate showed spoilage features in 45th and 60th day of storage respectively. Samples containing 1.8% sodium lactate established no signs of spoilage even on 60th day of storage.

Sodium lactate did not cause any change in pH values during storage that would affect the microbial quality of sausage samples.

The results of this study indicated that addition of sodium lactate to sausages improved their microbiological quality depending on the concentration used ; extended their shelf-lives; established better performance than NaNO_2 from the point of the microorganisms

examined and could therefore be evaluated as a NaNO₂ alternative; caused no abnormal sensorial changes, and even partially improved the sensorial quality; and yet could negatively influence the consumers as no red-pinkish color known as the typical sausage color of NaNO₂ containing sausages occurred.

Key words: Sausage, sodium lactate, microbiological quality, shelf-life

Giriş

Günümüzde pişirilmiş ya da pişirilmeye hazır ürün halinde tüketiciye sunulan gıda maddelerine büyük bir talep vardır. Kolay tüketilebilir olmaları nedeniyle salam ve sosis gibi et ürünleri de en çok tercih edilenler arasında yer almaktadır. Ancak sosisler her ne kadar üretim prosesi gereği ısıtılardan geçmiş olsalar da kolayca bozulabilmektedirler. Ürünlerde ısıtılardan sonrası birçok mikroorganizma hayatta kalabilmekte ve bu mikroflora ürünün raf ömrünü azaltabileceği gibi depolama sırasında çoğalarak tüketici sağlığı açısından da risk oluşturmaktadır (Fraizer 1988, Uğur 1998, Uğur 2001).

Gıda maddelerinin mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü artırmak için yaygın kullanılan yöntemler arasında antimikrobiyel katkı maddeleri kullanımı yer almaktadır. Nitrat ve nitritler en önemli gıda patojenlerinden *Clostridium botulinum* üzerine etkili olması ve ürünün renk özelliklerini iyileştirmesi nedeniyle tercih edilmektedir (Gökalp 1994, Uğur 1998, Yıldırım 1996). Ancak bu maddelerin kanserojen etkili nitrozaminlerin oluşumuna yol açtığından saptanmasından sonra alternatif yöntemler araştırılmaya başlanmıştır. Son yıllarda antimikrobiyel olarak doğal olmaları itibariyle organik asitler ve tuzlarının kullanımını gündeme getirmiştir (Pegg 2000, Jensen 2003). Laktik asit ve tuzu olan laktatlar ette ve birçok fermente gıdada doğal olarak bulunmaları, birçok bozulma yapıcı ve patojen mikroorganizma üzerine etkili oluşları, tüketiciler için sağlık riski oluşturmamaları, ürünün duysal özelliklerini değıştirmemeleri gibi özellikleri nedeniyle katkı maddesi olarak önerilmektedir (de Wit 1990, Brewer 1991, Papadopoulos 1991, Koos 1992, Nnanna 1994, Jensen 2003).

L(+) laktik asidin tuzu olan laktatlar ilave edildikleri gıda maddelerinin su aktivitesini (a_w) düşürerek ve spesifik inhibitör etki göstererek prezervatif etkili olmaktadır (Cubina 1995, de Wit 1990, Den Urjl 1990, Shelef 1994, Jensen 2003). Bu çalışma sodyum laktatın sosislerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü üzerine etkisinin araştırılması ve belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Deneyisel sosis üretimi

Önceden doğranmış ve kıyma haline getirilmiş yağsız sığır etinden (%85) ve sığır et yağından (%15) oluşan ana karışım kuterde birlikte çekilmiştir. Kuter çalışırken ana karışıma buz (%25), şeker (%0.25), nişasta (%4), sodyum kazeinat (%1.0), sodyum polifosfat (%0.4), soya proteini (%0.5), tuz (%1.2) ve baharat (%3.0) ilave edilmiştir. Sosis hamuru yeteri kadar incelendiğinde 10'ar kg'lık 5 eşit gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol olarak ayrılmıştır. İkinci gruba %0.125 sodyum nitrit ilave edilmiştir. Diğer gruplara sırasıyla %0.6, %1.2 ve %1.8 oranlarında sodyum laktat ilave edilmiştir. Katkı maddesi ilave edilmiş her gruba ait sosis hamuru kuterde tekrar ayrı ayrı çekilerek iyice karışması sağlanmıştır. Her gruba askorbik asit (% 1.0) ilave edilmiş, dolum makinasında doldurularak uç kısımlarından bağlanmıştır. Sosisler 50°C'de 10 dakika kurutma; 65°C'de 10 dakika dumanlama ve 80°C'de 15 dakika pişirme işlemine tabi tutulmuştur. Sosisler daha sonra soğuk su ile duşlanmıştır. Soğutulan sosisler 5'li porsiyonlar halinde vakumlu olarak paketlenmiş ve 60 gün süreyle 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Laboratuvar analizleri

Deneyisel sosis örnekleri soğuk muhafazanın 1, 5, 10, 20, 30, 45 ve 60.günlerinde mikrobiyolojik (aerob mezofil toplam mikroorganizma, aerob sporlular, anaerob sporlular, küf-maya, laktik asit bakterileri), fiziko-kimyasal (pH) ve duyuşsal olark analiz edilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler için sosis örnekleri 1:10 suspansiyon (w/v) verecek şekilde steril peptonlu su ile homojenize edilmiş ve aynı sulandırma sıvısı ile 10^6 basamağına kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu sulandırmalardan genel ve selektif besi yerlerine ekim yapılmıştır. Toplam aerob meofil mikroorganizma sayımı için Plate Count Agar (Merck); aerob sporlu mikroorganizma sayımı için

Plate Count Agar (Merck); anaerob sporlu mikroorganizma sayımı için Perfringens Selective Agar (Merck); laktik asit bakterilerinin sayımı için de Man, Rogosa, Sharpe Agar (Oxoid); küf-maya sayımı için Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (Merck) kullanılmıştır. Ekim yapılan plaklar uygun sıcaklıklarda inkübe edilmiş ve süre sonunda koloni oluşumu yönünden incelenmiştir (FDA 1995, Harrigan 1998).

Duyusal olarak sosis örnekleri görünüm, renk, lezzet ve kıvamdaki değişiklikler yönünden incelenmiş ve gruplar arasındaki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Kötü koku, renkte soluklaşma, kıvamda yumuşama, küflenme ve sosis yüzeyinde yapışkan tabaka oluşumu bozulma başlangıcı olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel değerlendirme

Deneysel sosis üretimi farklı tarihlerde üç kere tekrarlanmıştır. Mikroorganizma koloni sayıları logaritmik değerlere çevrilmiştir. Mikroorganizma sayıları bakımından gruplar arasında farklılıkların önemli olup olmadığı SPSS istatistik programı ile hesaplanmış ve tablolar halinde belirlenmiştir.

Bulgular

Sosis örneklerine sodyum laktat ilavesi ürünün duyusal özelliklerini değiştirmemiş; hatta tadda kısmen iyileşme sağlamıştır. Bununla birlikte nitritli örneklerdeki kırmızı-pembe rengin yerine doğal et rengi muhafaza edilmiştir.

Sodyum laktat ilavesi kullanılan konsantrasyona bağlı olarak mikrobiyel üremeyi geciktirmiştir. Sodyum laktat içeren örneklerin raf ömründe, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir artış kaydedilmiştir. Kontrol sosis örnekleri 30. günden itibaren bozulma belirtileri göstermeye başlamışken, %0.6 ve %1.2 sodyum laktat içeren örnekler sırasıyla 45. ve 60. günlerde bozulma belirtileri göstermiştir. Sodyum laktat seviyesi %1.8 olan örneklerde ise muhafazanın 60. gününde dahi bozulma belirtileri görülmemiştir.

Sodyum laktat ilavesi, deneysel sosis örneklerinin mikrobiyel kalitesi üzerine etki edecek bir pH değişikliğine sebep olmamıştır.

Sosis örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizlerde toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısında kontrol grubuna göre daha yavaş bir artış olduğu saptanmış; mezofil mikroorganizma sayısının NaNO_2 içeren örneklerde belirlenen sayıya benzer olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Gerek depolamanın ilk günü, gerekse depolama süreci boyunca gruplar arasında aerob sporlu mikroorganizma sayısı bakımından önemli bir farklılık oluşmamış, muhafazanın 20. gününe kadar tüm grupların mikroorganizma sayısında bir artış, daha sonraki günlerde ise sürekli bir azalma görülmüştür (Tablo 2). Sodyum laktat konsantrasyonundaki artışın anaerob sporlu mikroorganizma sayısında azalma sağladığı belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, NaL miktarı arttıkça, anaerob sporlu mikroorganizmalardaki redüksiyon oranının arttığını göstermiştir. Başlangıç düzeyleri düşük olmakla birlikte, kontrol grubu dahil bütün örneklerde anaerob sporlu mikroorganizma sayısında bir redüksiyon gözlenmiştir. % 1.2 ve 1.8 NaL içeren örneklerde bu redüksiyon çok daha hızlı gerçekleşmiş; depolamanın 5. günü yapılan analizlerde anaerob sporlu mikroorganizma üremesine rastlanmamıştır (Tablo 3). Laktik asit bakterileri bütün gruplarda depolama periyodu boyunca sürekli bir artış göstermiştir. Laktat içeren örneklerde laktik asit bakteri sayısındaki artış diğer gruplara göre kısmen daha yavaş gerçekleşmiştir. Bütün gruplar 10. ile 20. gün arasında hızlı bir artış kaydetmiş, bunu takiben muhafazanın son gününe kadar mikroorganizma sayısındaki artış 10^6 kob/g düzeyi içinde kalmıştır (Tablo 4). Araştırmamızda sodyum laktatın küf ve mayalar üzerinde etkisi 30. günden sonra görülebilmektedir. Sayılan mikroorganizmalar yönünden gruplar arasında farklılaşmalar Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Muhafaza sırasında sosis örneklerinin toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısındaki değişimler ($\log_{10}$ kob/g).

Grup	1.gün	5.gün	10.gün	20.gün	30.gün	45.gün	60.gün
Kontrol	3,23 ^a	4,01 ^a	5,43 ^a	6,35 ^a	6,51 ^a	5,58 ^a	5,13 ^a
NaNO_2	3,47 ^a	4,41 ^a	4,98 ^a	5,58 ^a	6,67 ^a	5,64 ^a	5,47 ^a
% 0.6 NaL	3,40 ^a	4,03 ^a	5,06 ^a	5,73 ^a	6,56 ^a	5,61 ^a	5,47 ^a
% 1.2 NaL	3,31 ^a	3,59 ^a	4,72 ^a	5,87 ^a	6,54 ^a	5,70 ^a	5,43 ^a
% 1.8 NaL	2,84 ^a	3,40 ^a	4,20 ^a	5,50 ^a	6,02 ^a	6,35 ^a	6,27 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar diğerinden farklıdır ($P<0,05$)

Tablo 2: Muhafaza sırasında sosis örneklerinin aerob sporlu mikroorganizma sayısındaki değişimler ($\log_{10}$ kob/g).

Grup	1. gün	5. gün	10. gün	20.gün	30. gün	45. gün	60. gün
Kontrol	3,40 ^a	3,48 ^a	4,16 ^a	4,33 ^{bc}	3,49 ^a	3,63 ^a	3,40 ^a
NaNO₂	3,47 ^a	3,60 ^a	4,04 ^a	4,50 ^{ab}	3,50 ^a	3,56 ^a	3,30 ^a
% 0.6 NaL	3,64 ^a	3,70 ^a	4,17 ^a	4,60 ^a	3,53 ^a	3,67 ^a	3,42 ^a
% 1.2 NaL	3,80 ^a	3,74 ^a	4,10 ^a	4,50 ^{ab}	3,40 ^a	3,62 ^a	3,51 ^a
% 1.8 NaL	3,70 ^a	3,81 ^a	4,07 ^a	4,24 ^c	3,22 ^a	3,79 ^a	3,56 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır (P<0,05)

Tablo 3: Muhafaza sırasında sosis örneklerinin anaerob sporlu mikroorganizma sayısındaki değişimler ($\log_{10}$ kob/g).

Grup	1. gün	5. gün	10. gün	20.gün	30. gün	45. gün	60. gün
Kontrol	1,79 ^a	1,21 ^a	0,24 ^a	0,00	0,00	0,00	0,00
NaNO₂	1,70 ^a	0,92 ^a	0,00 ^b	0,00	0,00	0,00	0,00
% 0.6 NaL	1,20 ^b	0,33 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00	0,00	0,00
% 1.2 NaL	1,08 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00	0,00	0,00
% 1.8 NaL	0,63 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00	0,00	0,00

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır (P<0,05)

Tablo 4: Muhafaza sırasında sosis örneklerinin laktik asit bakterileri sayısındaki değişimleri ($\log_{10}$ kob/g).

Grup	1. gün	5. gün	10. gün	20.gün	30. gün	45. gün	60. gün
Kontrol	3,30 ^a	3,44 ^a	4,91 ^a	5,80 ^a	6,17 ^a	6,73 ^a	6,88 ^a
NaNO₂	3,16 ^a	3,50 ^a	4,81 ^a	5,28 ^b	5,97 ^{ab}	6,48 ^{ab}	6,56 ^{ab}
% 0.6 NaL	3,33 ^a	3,44 ^a	4,74 ^a	5,09 ^{bc}	5,70 ^{bc}	5,90 ^{bc}	5,97 ^{bc}
% 1.2 NaL	3,18 ^a	3,58 ^a	4,50 ^a	4,90 ^{bc}	5,30 ^{cd}	5,64 ^c	5,73 ^c
% 1.8 NaL	3,26 ^a	3,33 ^a	4,48 ^a	4,75 ^c	4,93 ^d	5,37 ^c	5,59 ^c

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır (P<0,05)

Tablo 5: Muhafaza sırasında sosis örneklerinin küf-maya sayısındaki değişimler ($\log_{10}$ kob/g).

Grup	1. gün	5. gün	10. gün	20.gün	30. gün	45. gün	60. gün
Kontrol	2,14 ^a	2,47 ^a	2,73 ^a	3,50 ^a	3,77 ^a	5,01 ^a	4,50 ^a
NaNO₂	2,32 ^a	2,57 ^a	2,86 ^a	2,69 ^a	2,61 ^b	2,78 ^b	2,87 ^c
% 0.6 NaL	2,46 ^a	2,64 ^a	2,88 ^a	3,26 ^a	3,39 ^{ab}	3,60 ^{ab}	3,83 ^{ab}
% 1.2 NaL	2,33 ^a	2,43 ^a	2,70 ^a	2,84 ^a	3,03 ^{ab}	3,30 ^b	3,43 ^{bc}
% 1.8 NaL	2,51 ^a	2,74 ^a	2,91 ^a	3,26 ^a	3,37 ^{ab}	3,49 ^{ab}	3,27 ^{bc}

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar diğerinden farklıdır (P<0,05)

Sonuç

Bu çalışmada elde edilen bulgular, laktatların sosislerde bozulmayı geciktirdiğini, konsantrasyona bağlı olarak mikrobiyel gelişmeyi yavaşlattığını, incelenen mikroorganizmalar bakımından antimikrobiyel ajan olarak nitritten daha iyi performans gösterdiğini ve bu anlamda bir nitrit alternatifi olarak düşünülebileceğini; duyuusal olarak anormal bir değişime yol açmadığını, hatta tadda kısmen iyileşme sağladığını; bununla birlikte tek başına kullanıldığında nitritli ürünlerdeki tipik sosis rengi olarak bilinen kırmızı-pembe rengin oluşmamasından dolayı tüketici beğenisini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir.

Kaynaklar

Brewer, M.S., McKeith, F., Martin, S.E., Dallmier, A.W., Meyer, J. (1991). Sodium Lactate Effects on Shelf-Life, Sensory and Physical Characteristics of Fresh Pork Sausage. *J. Food Sci.*, 56(5), 1176-1178.

Cubina, I. Natural Sodium and Potassium Lactates. The Versatile Ingredients For the Meat and Fish Industry. "New Aspects On Food Processing" Kuşadası, Turkey, 23-28 April 1995

De Wit, J.C., Rombouts, F.M. (1990). Antimicrobial Effect of Sodium Lactate. *Food Microbiol.*, 7, 113-120

Den Urjl, C.H., Van Burik, A.M.C. (1990).The Preserving and Lactates, *Int.Food Ing. and Add*, 2, 34-38.

Fda. Bacteriological Analytical Manual. (1995) (6th Ed.) Food and Drug Administration Aoac Int. Gaithersburg,.

Fraizer, W.C., Westhoff, D.C. (1988). Food Microbiology, Contamination, Preservation, and Spoilage of Meat and Meat Products. 4th Ed. Mcgrow Hill, London.

Gökalp,H.Y., Kaya, M., Zorba, Ö. (1994). Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Ata. Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 320, S.213-216, Erzurum.

Harrigan, W.F. (1998).Laboratory Methods In Food Microbiology. Academic Press, London.

Jensen, J.M., Robbins, K.L., Ryan, K.J., Homco-Ryan, C., Mckeith, F.K., Brewer, M.S. (2003).Effects of Lactic and Acetic Acid Salts on Quality Characteristics of Enhanced Pork during Retail Display. *Meat Sci*. 63, 501-508.

Koos, J.T. (1992). Preservation of Food Products with Natural Ingedients. *Food Marketing & Technology*, 3, 5-11.

Nnanna, I.A., Ukuku, D.O., Mcvann, K.B., Shelef, L.A. (1994). Antioxidant Activity of Sodium Lactate in Meat and Model Systems. *Lebensm.Wiss.U.Technol*, 27, 78-85

Papadopoulos, L.S., Miller, R.K., Ringer, L.J., Cross, H.R. (1991). Sodium Lactate Effects on Sensory Characteristics, Cooked Meat Colour and Chemical Composition. *J. Food Sci*. 56(3), 621-635.

Pegg, R.B., Shahidi, F. Nitrite (2000). Curing of Meat. The N-Nitrosamine Problem and Nitrite Alternatives. Food and Nutrition Press,.

Shelef, L.A.(1994). Antimicrobial Effects of Lactates: A Review. *J. Food Prot.*, 57(5), 445-450.

Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K., Aksu, H. Et Ve Et Ürünleri Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 99, 1998, İstanbul.

Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K. (2001). Gıda Hijyeni, Teknik Yayınları

Yıldırım Y. (1996). Et Endüstrisi.4.Ed. Remzi Ofset, Ankara.

SOSİSLERİN HİSTOLOJİK MUAYENELERİNDE KULLANILACAK UYGUN BOYAMA YÖNTEMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ali TORUN

İrfan EROL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Ankara

Özet: Bu çalışma, ısı işlemi görmüş et ürünlerinden sosislerin kalite kontrolü için gerekli olan histolojik analizlerinde, teşhisi kolaylaştıracak uygun boyama yöntemlerinin saptanması amacıyla yapılmıştır. İki aşamalı olarak gerçekleştirilen çalışmanın piyasa analizlerine yönelik birinci aşamasında Ankara'daki marketlerden alınan 50 sosis örneği ile, çalışmanın ikinci aşamasını oluşturan deneysel kısımda ise % 5 ve % 20 oranlarında karaciğer, akciğer, rumen, dalak, bağırsak ve baş eti ilave edilerek yapılan sosis örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada Haematoxylin Eosin (HE), Aniline Blue-Orange Gold (AB-OG) ve Van Gieson (VG) boyama teknikleri ile karşılaştırmalı olarak boyanan örneklerden hazırlanan preparatlar histolojik yönden muayene edilmiştir.

Araştırma bulgularına göre, piyasadan alınan örneklerin % 30'unda kıkırdak doku, % 12'sinde iç organ parçaları, % 16'sında diğer dokular (deri, glandular yapı, sinir doku) az veya çok az oranda tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında; örneklerin 8'i (% 16) iyi kaliteli, 26'sı (% 52) orta kaliteli, 16'sı (% 32) düşük kaliteli sosis olarak değerlendirilmiştir.

Araştırmanın deneysel aşamasında ise % 5 ve % 20 oranlarında sosis içeriğine hile amaçlı katılabilecek yabancı dokuların (karaciğer, akciğer, rumen, dalak, bağırsak, baş eti) teşhisinin % 5 oranlarında ilave edilerek hazırlanan örneklerde bile mümkün olabileceği görülmüştür. Ayrıca bu çalışma sonucunda HE boyama metodunun sosis içeriklerinin belirlenmesinde ve katılabilecek yabancı dokuların teşhisinde iyi sonuç verdiği, buna karşın bağ doku, damar, sinir ve kıkırdak doku tanısında AB-OG ile VG boyama metodlarının birbirini tamamlayıcı olarak uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler:Sosis, histolojik muayene, boyama teknikleri, HE, AB-OG, VG

Study on Staining Methods for the Histological Analysis of Frankfurters

Abstract: This study was performed to determine better staining technics for diagnostic analysis and quality control of frankfurters. The study was undertaken at two stages. In the first stage of the study, a total of 50 frankfurter samples obtained from supermarkets in Ankara were used as material. In the second stage of the study, experimental frankfurters were prepared which contain 5% and 20% of liver, lung, rumen, spleen, intestines and fascial meat were used as material. For the histological examination of the samples three staining technics such as Haematoxylin Eosin (HE), Aniline Blue-Orange Gold (AB-OG) and Van Gieson (VG) were used in comparasion.

In the first stage of this study, 30% cartigle tissue, 12% edible offals and 16% other inedible tissues (skin, glandular tissue and nerve tissue) were found in samples tested. The evaluation of the results obtained in the study showed that, 16% of the samples were good quality, where as 52% medium and 32% low quality.

In the second stage, histological examination of the sections of experimental samples prepared from various tissues mixed at different preportions showed that it was possible to detect foreign tissues (liver, lung, rumen, spleen, fascial meat) even at amount of 5% that might have been added deceively in to frankfurters. In addition, for the determination of the content and detection of possible foreign tissues in frankfurters HE staining method provided reliable result in frankfurters, where as AB-OG with VG staining methods can be used to detect connective tissue, blood vessels, nerve and cartilage tissues additionally.

Key words: Frankfurters, staining methods, histological analysis, HE, AB-OG, VG

Giriş

Güvenli, kaliteli, ekonomik ve her türlü hileden arındırılmış gıdaların insan tüketimine sunulması tüm ülkelerde öncelikli konular arasında yer almaktadır. Beslenme fizyolojisi açısından ayrı bir yere sahip olan et ve et ürünlerinden özellikle sosis, salam gibi ısı işlemi görmüş ürünler çoğu kez haksız kazanç ve rekabet koşulları içerisinde her türlü taklit ve hileye açık durumdadır.

Sosislerde bulunabilecek kusurların saptanmasında ve kalite kontrolünde çoğunlukla mikrobiyolojik, kimyasal ve duyusal analiz yöntemleri tercih edilmektedir. Ancak birçok araştırmacı, ileri işlenmiş et ürünlerinin kompozisyonunun ve olası hilelerin kesin olarak tanımlanabilmesi için histolojik analizlerin yapılmasının gerekli olduğunu bildirmişlerdir (Anon, 1989; Utkun, 1982).

Gelişmiş ülkelerin çoğunda bu konuyla ilgili çok sayıda yönlendirici çalışma ve tüketici haklarını korumaya yönelik yasal düzenlemeler bulunmaktadır (Anon, 1989; Carey ve ark. 1984; Hildebrandt ve Hirst, 1985). Türkiye’de medyada da et ürünlerine yapılan hilelerin sıklıkla gündeme gelmesine karşın, konuyla ilgili çalışmaların çok az olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada, hileli sosislerin tespiti ve kalite kontrolü amacıyla uygulanan histolojik muayenelerde farklı boyama teknikleri karşılaştırılarak, en iyi sonucu verebilecek boyama tekniğinin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

İki aşamalı olarak gerçekleştirilen bu çalışmanın birinci aşamasında, Ankara piyasasında tüketime sunulan değişik firmalara ait toplam 50 sosis örneği ile çalışmanın ikinci aşamasında, deneysel olarak farklı dokuların ilave edilmesiyle 12 parti halinde üretilen sosis örnekleri materyal olarak kullanılmıştır.

Deneysel Sosis Yapımı: Sosis yapımında kullanılacak etler kemik, tendo, lenf bezleri ve kaba yağlarından ayırt edilip kuşbaşı şeklinde doğranarak hazırlanmıştır. Her bir parti için kıyma makinasında çekilen 2500 g sığır eti ve 500 g kuyruk yağı-et yağı karışımına, 15 g nişasta, 3 g kırmızı biber, 6 g karabiber, 3 g kişniş, 1.5 g zencefil, 6 g şeker (sakkaroz), 0.3 g sodyum nitrit, 1 g askorbik asit, 60 g tuz ve 400 g buz karıştırılarak tekniğine uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu şekilde hazırlanan karışım içerisinde araştırılması istenen ve hile amaçlı olarak en çok katılabileceği düşünülen karaciğer, akciğer, rumen, dalak, baş eti ve bağırsak doku örneklerinin her birinden ayrı ayrı % 5 ve % 20 oranlarında olmak üzere ilave edilmiştir (Anon, 1984; Prophet ve ark., 1992). Örnekler grup I (% 5) ve grup II (% 20) olarak ayrılmış ve her grupta içerdikleri dokuya göre 6 partiye ayrılmıştır. Bu şekilde her bir grupta 6 parti olmak üzere toplam 12 parti halinde deneysel sosis üretimi gerçekleştirilmiştir.

Tablo1'de gösterilen organ ve doku parçaları ilave edildikleri sosis hamuru ile homojen bir şekilde masa tipi kuterde (Philips HR 2811, Hollanda) karıştırılarak hamur haline getirilmiştir. Hazırlanan sosis hamuru doldurma makinası (Polyclip CY 11774, Almanya) yardımıyla koyun ince bağırsaklarına doldurularak her biri 10-12 cm uzunlukta olacak şekilde hazırlanmıştır (Anon, 1984).

Tablo 1: Deneysel olarak yapılan sosislerin içerikleri

1. Grup (% 5)	2. Grup (% 20)
Sosis hamuru+ Karaciğer :1900 g + 100 g	Sosis hamuru+ Karaciğer : 1600g + 400g
Sosis hamuru+ Akciğer : 1900 g + 100 g	Sosis hamuru+Akciğer : 1600g + 400g
Sosis hamuru+ Dalak : 1900 g + 100 g	Sosis hamuru+ Dalak : 1600g + 400g
Sosis hamuru+ Baş eti : 1900 g + 100 g	Sosis hamuru+ Baş eti : 1600g + 400g
Sosis hamuru+ Rumen : 1900 g + 100 g	Sosis hamuru+ Rumen : 1600g + 400g
Sosis hamuru+Bağırsak : 1900 g + 100 g	Sosis hamuru+ Bağırsak : 1600g + 400g

Deneysel olarak hazırlanan sosisler ısı işlemi uygulanmak üzere klima cihazına (Heraeus KT 500, Almanya) alınmıştır. Bu çerçevede sosisler gürge talaşı ile 45 dakika 70-75°C'de dumanlandıktan sonra 80°C'lik basınçlı sıcak su ile 15 dakika ısı işlemine tabi tutulmuştur. Pişirilen sosislere 5-6 dakika süreyle soğuk duş uygulandıktan sonra 3-4°C'de 1-1.5 saat kurumaya bırakılmıştır. Bu şekilde hazırlanan örnekler analiz edilmek üzere 2°C'deki soğuk depoda muhafaza edilmiştir (Anon, 1984).

Numune Tespit ve Takibi: Piyasadan temin edilen veya deneysel olarak üretilen sosislerin 8 ayrı yerinden 1-1.5 cm kalınlığında alınan örneklerin tespiti, % 10'luk formaldehit (9 kısım su- 1 kısım formol) içerisinde 18-24 saat tutularak yapılmıştır (Anon, 1974; Escher, 1931).

Daha iyi bir doku yapısı elde etmek ve daha düzgün kesit alabilmek amacıyla parafin ile doku takibine geçirilerek sırasıyla kesit alma, boya solüsyonlarının hazırlanması ve boyama işlemleri yapılmıştır (Aykaç, 1977; Haug, 1959; Hildebrandt ve ark., 1984; Linke, 1961; Schönberg, 1958; Tanabe ve ark., 1980). Bu işlemleri takiben standart Shandon Finesse mikrotom kızaklarına blokajlama yapılmıştır (Aykaç, 1977; Prophet ve ark., 1992; Uğurlu, 1989; 1990).

Kesit Alma: Mikrotom haznesine yerleştirilen her bloğun değişik bölümlerinden olmak üzere en az 9 kesit alınmıştır. Alınan kesitlerin kalınlığının 6–8 μ olmasına özen gösterilmiştir. Lam üzerine tespit edilen kesitler deparafinizasyon işlemi için 70°C'lik etüvde parafinler eriyinceye kadar yaklaşık 15 dakika bekletildikten sonra boyama işlemlerine geçilmiştir (Carey ve ark. 1984; Hildebrandt ve ark. 1978; Prophet ve ark., 1992; Uğurlu, 1990).

Boya Solüsyonlarının Hazırlanması, Boyama İşlemi ve Mikroskobik Muayene: Bu çalışma kapsamında Haematoxylin Eosin (HE), Aniline Blue-Orange Gold (AB-OG) ve Van Gieson (VG) boyama teknikleri kullanılmıştır (Aykaç, 1977; Haug, 1959; Luna, 1978). Bu tekniklerle boyanan preparatlar mikroskopta (Olympus CK 2) önce küçük büyültme ile, daha sonra ayrıntılı değerlendirme amacıyla 250, 400 ve 625'lik büyültmeler kullanılarak incelenmiştir. İncelenen örneklerin fotoğrafları AD Exposure Control Unit sistemiyle çekilmiştir. Piyasadan alınan örneklerin histolojik muayenelerine ilişkin değerlendirmeler Schönberg (1959) ile Ziegler'in (1941) bildirdiği yöntem esas alınarak yapılmıştır.

Bulgular

Çalışmanın birinci aşamasında piyasadan alınan örneklerden hazırlanan kesitlerin mikroskobik muayenesi sonucu yapılan değerlendirmelerinde; çizgili kas, düz kas, bağ doku, kan damarı, kıkırdak doku, iç organ parçaları ve diğer dokular (deri, sinir, glandular yapılar vb.) araştırılmış ve elde edilen sonuçlar dokuların saptanma durumlarına göre çok fazla, fazla, normal, az, çok az ve görülmedi şeklinde değerlendirilmiştir. Piyasadan temin edilen sosise örneklerinden tespit edilen dokuların oransal dağılımları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Piyasadan alınan sosis örneklerinde saptanan dokuların oransal dağılımı

	Çizgili Kas		Düz Kas		Bağ Doku		Kan Damarı		Kıkırdak Doku		İç organ Parçaları		Diğer Dokular	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Çok fazla	8	16	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Fazla	26	52	0	0	7	14	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal	12	24	2	4	15	30	0	0	0	0	0	0	0	0
Az	3	6	5	10	17	34	3	6	2	4	1	2	0	0
Çok az	1	2	10	20	8	16	17	34	13	26	5	10	8	16
Görülmedi	0	0	33	66	2	4	30	60	35	70	44	88	42	84
TOPLAM	20	100	50	100	0	100	50	100	50	100	50	100	50	100

Tablo 2’de görüldüğü gibi histolojik yönden incelen sosis örneklerinin değerlendirilmesinde, örneklerin % 68’inde çizgili kas oranının, % 16’sında bağ doku oranının fazla-çok fazla olduğu, % 66’sında düz kas dokusuna, % 60’ında kan damarına, % 70’inde kıkırdak dokuya, % 88’inde iç organ parçalarına, % 84’ünde ise diğer dokulara (deri, glandular yapı, sinir doku vb.) rastlanmadığı görülmüştür. İç organ ve diğer dokular arasında ise örneklerin % 6’sında karaciğer, % 4’ünde akciğer, % 2’sinde rumen, % 8’inde sinir doku, % 4’ünde deri ve % 6’sında glandular doku saptanmıştır. Bu veriler ışığında; örneklerin 8’i (%16) en iyi kaliteli, 26’sı (% 52) orta kaliteli, 16’sı (% 32) düşük kaliteli sosis olarak değerlendirilmiştir.

Araştırmanın ikinci aşamasında değişik oranlarda farklı dokular katılarak hazırlanan deneysel sosis örneklerinin üç ayrı boyama tekniği kullanılarak boyanmaları, mikroskopta incelenmeleri ve fotoğraflarının çekilerek sonuçların değerlendirilmesi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu çerçevede, sosislere % 5 ve % 20 oranında iç organ ilave edilmesi durumunda her üç boyama tekniği ile boyanan örneklerde yabancı dokular saptanabilmiş, ancak % 20 oranında iç organ içeren örneklerden daha net sonuçlar alınmıştır. Ayrıca bu çalışma kapsamında uygulanan farklı boyama tekniklerinin karşılaştırılmasında, HE ile boyanan kesitlerde doku ayrımı ve teşhisinin daha kolay yapılabilirdiği, buna karşın AB-OG boyamada doku ayrımının güç olduğu ve yeterince iyi sonuçlar vermediği görülmüştür. Buna rağmen AB-OG boyama tekniğiyle bağ doku, sinir doku ve damarların kolayca tanımlanabildiği görülmüştür. VG boyama tekniği ile boyanan sosis örneklerinde ise bağ doku ve kas tellerinin rahatlıkla ayrılabilirdiği ve bu özelliğinden dolayı da bağ doku teşhisinde başarıyla kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Sonuç

Histolojik analizlerde kullanılacak uygun boyama tekniklerinin değerlendirilmesinde genel olarak HE boyama metodunun sosis içeriklerinin belirlenmesinde ve katılabilecek yabancı dokuların teşhisinde iyi sonuç verdiği, buna karşın bağ doku, damar, sinir ve kıkırdak doku tanılarında AB-OG ile VG boyama metodlarının birbirini tamamlayıcı olarak uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

Anon. (1984). Sosis Standardı TS 980. UDK: 637. 524. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anon.(1989). Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach 35 Lmbg Untersuchung von Lebensmitteln Bestimmung der Geweblichen Zusammensetzung von Fleisch, Fleischerzeugnissen und Wurstwaren. Routine Verfahren zur Qualitativen und Quantitativen histologischen Untersuchung.

Aykaç, İ. (1977). Histolojik ve Histoşimik Boya Teknikleri. Atatürk Ü. Tıp Fak. Yayınları No:26 Atatürk Ü. Basımevi. Erzurum.

Bancroft, J. D., Cook, H. C. (1984). Manuel of Histological Techniques. Churchill Livingstone-Edinburgh.

Carey, M. A., Archer, J. N., Priore, J. D., Kotula, A. V., Stein, L. A.(1984). Histologic detection of cardiac musculature, soy flour and partially defatted tissue in ground beef. Interlaboratory study. J.Assoc. Official. Anal. Chem. 67(1):16.

Haug, H. (1959). Leitfaden der mikroskopischen Technik. Mikroskopische, praeparative und farberische Verfahren in der Histologie. Verlag Georg. Thieme, Stuttgart,144-168.

Hildebrandt, G., Konigsmann, R., Berner, H.(1978). Quantitative Fernsehbildanalyse wertmindernder Gewebe in Fleischerzeugnissen. Fleischwirtsch. 12, 1985-1989.

Hildebrandt, G., Dornheim, L., Hirst, R., Konigsmann, R., Müller, W.(1984). Reality of histometric determination of connectivity tissue in meat products. Fleischwirtsch. 62(9):1464-1491.

Hildebrandt, H., Hirst, L. (1985). Determination of the collagen elastin and bone content in meat products using television image analysis. J. Food Sci. 50, 568-572.

Luna, L. G. (1978). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute. The Blakiston Division Mcgraw-Hill Book Company New York.

Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B., Sobin, L.H.(1992). Methods in Histotechnology. Armed Forces Institute of Pathology Laboratory. Washington, D.C.20,306-600.

Schönberg. F. (1958). Atlas der Histologischen Wurstuntersuchung. Verlag. Schaper, Hannover.

Schönberg,F. (1959). Die Untersuchung von Tieren stammender Lebensmittel. 7.Aufl. Verlag, Schaper, Hannover.

Uğurlu, S. (1989). Histolojik yöntemlerle sucuklardaki hayvansal kaynaklı katkı maddelerinin (doku ve organ parçaları) tespiti ve histolojik değerlendirmelerin etki alanı. İ.Ü. Vet. Fak. Derg.15(2) 71-90.

Uğurlu, S. (1990). Isı işlemi görmüş çeşitli Türk ve Alman tipi et ürünlerinin histolojik olarak incelenmesi. Ege Üniversitesi Müh. Fak. Gıda Müh. Derg. 8(1-2):77-83.

Utkun, H. (1982). Bölgemiz sucuklarında iç organların katımının tespiti için uygulanacak histolojik çalışmalar. Tübitak, Proje Raporu, Proje No: VHAG.583.

Ziegler, M. (1941). Zur histologischen Wurstuntersuchung. Berl. Münch. Tieraerztl. Wschr.297-321.

AFYON BÖLGESİNDE TÜKETİME SUNULAN KIYMALARDA *E. COLI* O157:H7 VE *L. MONOCYTOGENES* İNSİDENSİNİN BELİRLENMESİ

Belgin SIRIKEN Şebnem PAMUK

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Afyon

Özet: Afyon İli'nde tüketime sunulan kıymalarda *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* insidensini belirlemek amacıyla bu çalışma yapıldı. Bu amaçla, toplam 70 kıyma örneği analiz edildi. Analiz bulguları çerçevesinde, örneklerin % 39.47'den *Listeria* spp. izole edilirken, bu izolatların %13.15'i *L. monocytogenes*, % 10.52'si *L. innocua*, %7.89'u *L. ivanovii*, % 5.26'sı *L. Seeligeri* ve % 2.65'i *L. welshimeri* olarak tanımlandı. Bu sonuçların aksine, *E. coli* O157:H7 ise izole edilemedi. Kıymada *L. monocytogenes*'in izole edilmesi mezbahalarda ve kıyma üretimi sırasında ekipman ve işletme sanitasyonun ilerletilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. *E. coli* O157:H7 izolasyonu amacıyla geleneksel kültür yöntemi yerine daha hassas metotlar kullanılmalıdır. Ayrıca tüketiciler, hayvansal kaynaklı gıdaların az pişmiş veya çiğ olarak tüketilmesiyle ilişkili riskler konusunda uyarılması gerekir

Anahtar kelimeler: Kıyma, *Escherichia coli* O157:H7, *L. monocytogenes*

Incidence of *Escherichia coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* in Ground Beef

Abstract: The survey was undertaken to determine the incidence of *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* in raw ground beef. For this purpose, a total of 70 ground beef samples were analysed according to method of FDA 2001 and FDA 2002, respectively. As a result, *E. coli* O157:H7 was not isolated from raw ground beef. However, *Listeria* spp. were detected in 39.47 % of the samples. Of these, 13.15 % was identified as *L. monocytogenes*, 10.52 % as *L. innocua*, 7.89 % as *L. ivanovii*, 5.26 % as *L. seeligeri* and 2.65 % as *L. welshimeri*. In conclusion, The incidence of *L. monocytogenes* in raw ground beef indicated a need for improved equipment and facility sanitation in

ground beef preparation facilities aimed to prevention of listeriosis and of other food borne diseases. Improved detection methods for the detection of *E. coli* and HACCP-based internal control should be used to improve the safety of ground beef.

Key words: Ground beef, *E. coli* O:157:H7, *L. monocytogenes*

Giriş

Pişmemiş kıyma da özellikle *Escherichia coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* kökenli infeksiyonların ortaya çıkmasında en önemli kaynağı oluşturmaktadır (Fantelly and Stephan, 2001; RFAO, 1999).

Escherichia coli O157:H7 en önemli gıda kaynaklı patojen bir mikroorganizma olup, hemorajik kolitis, hemolytik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpuraya neden olur (Griffin and Tauxe, 1991; Swinsbanks, 1996).

Pek çok sporadik olguların yanı sıra Amerika'da (1994), İskoçya'da (1998) ve Japonya'da (Izumiya ve ark.1997; Swinsbank, 1996; Watanabe ve Ozasa, 1997) *E. coli* O157:H7 nedeniyle ortaya çıkan toplu zehirlenmelerin en önemli etkeni olarak belirlenmiştir (Griffin and Tauxe, 1991; Tuttle et al., 1999). 1993 yılında *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş kıyma nedeniyle 500 kişi zehirlenmiş ve 4 çocuğun ölümüne neden olmuştur.

Bütün dünyada düşük düzeydeki *E. coli* O157:H7 perakende satılan etlerden izole edilmiştir. Kıymadan Kuzey Amerika'da % 0-3.7 oranında (Griffin and Tauxe, 1991; Griffin, 1995), Fransa'da % 0.12 (3450 örneğin 4'ünden) (Vernozy Rozand et al., 2002), Arjantin'de % 3.8 (160 örnek) (2001), İsviçre'de % 2.3 (211 örnek) (Fantelly and Stephan, 2001), İngiltere'de % 1.1 (3216 örnekten) (Chapman et al., 2000) ve Hollanda'da % 1.1 (571 örnek) *E. coli* O157:H7 izole edildiği, Amerika'da yapılan çalışmada Washington eyaletinde %16.8 oranında, Seattle eyaletinde ise 1400 kıyma örneğinin hiçbirinden izole edilmediği (Samadpour et al., 2002) bildirilmiştir.

Diğer bir gıda kaynaklı patojen mikroorganizma olan *Listeria monocytogenes*, 60 yılın üzerinde patojen olarak bilinmese rağmen, ancak 1980'lilerden sonra gıda-kaynaklı patojen olarak identifiye edilmiştir (Jacquet et al., 1995; Pinner et al., 1992; Trussel, 1989).

Etken, Amerika ve Avrupa'da pek çok epidemilere neden olmuştur (Fleming et al., 1985; Franciosa et al., 1998; Jacquet et al., 1995; Loncarevic et al., 1997; Mclauchlin, 1997). 2001 yılında, 12 Avrupa Birliği eyaletinde 860, 2002 yılında ise 636 listeriosis olgusu bildirilmiştir (Online Report, 2001). Türkiye'de ise Doğanay (2003) tarafından 1987'den 2001'e kadar toplam 32 listeriosis olgusu (6 rapor edilmeyen olgu dahil) bildirilmiştir.

Genel olarak, listeriosis olgularında predominant klinik formu santral sinir sistemi, sepsiz, abortus ve ölü doğum şeklindedir. Diyare formu ise genelde kontamine gıdaların sindirilmesi sonucu görülür (Dalton et al., 1997; Heitmann et al., 1997).

L. monocytogenes serotipleri arasında virulenslik bakımından farklılıklar bulunmakta olup, 1/2a, 1/2b ve 4b insan listeriosislerin % 95'inden sorumludur (Vines and Swaminthan, 1997).

Afyon, et ve et ürünleriyle ünlü bir şehir olmasına rağmen, kıymalarda *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* prevalansı ile ilgili çok az bilgi mevcuttur. Bu nedenle, bu çalışma Afyon'da bulunan kasap ve marketlerde satışa sunulan kıymalarda *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 ile kontaminasyon düzeyini belirlemek amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Afyon ilinde mevcut market ve kasaplardan toplam 70 kıyma kıyma örneği satın alınarak, soğuk zincir altında laboratuara getirildi ve örnekler *Listeria* spp. ve *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden analiz edildi.

***E. coli* O157:H7 izolasyonu:** FDA 2001'e göre yapıldı. Bu amaçla zengineştirme sıvısı olarak modifiye Tryptone Soya Broth (mTSB, Oxoid-CM 989, Basingstoke, England, Novobiocine suppl. Sigma) ve katı agar olarak TC-SMAC Agar (Oxoid-CM 813, Supl. SR 172 E, Basingstoke, England) kullanıldı. *E. coli* O157:H7 şüpheli koloniler seçilerek TSA-YE Agar'da (Oxoid CM 131-L21, Basingstoke, England) subkültüre edildi ve ilgili testler yapıldı. Sorbitol fermentasyonu negatif, indol pozitif, MUG-negatif, cellobiose fermentasyon-negatif koloniler değerlendirmeye alınarak, O157 ve H7 antiserumları kullanılarak serotiplendirme yapıldı (Denka Seiken, Tokyo, Japonya).

***Listeria spp.* ve *L. monocytogenes* izolasyon ve identifikasyonu:** FDA 2002'ye göre yapıldı. Bu amaçla *Listeria* Enrichment Broth (LEB –UVM Formulation, Oxoid, CM 863, Supl. SR 142, Basingstoke, England)'da ön zenginleştirme, Fraser Broth içeren tüplere (FB-Oxoid-CM 895., Supl. SR 156, Basingstoke, England)'da selektif zenginleştirme ve katı agar olarak *Listeria* Selective Agar (Oxford Formülasyonu) kullanıldı. İzolasyon ve identifikasyon amacıyla Gram boyama, oksidase ve katalase testleri, hemoliz, indol, metil red, voges proskauer, nitrate redüksiyon ve hareketlilik testleri yapıldı. Daha sonrada CAMP testi ile karbonhidrat fermentasyon testleri (rhamnose, dulcitol, salisin, mannitol ve xylose) yapıldı.

Sonuç

Analiz bulguları çerçevesinde, örneklerin % 39.47'den *Listeria spp.* izole edilirken, bu izolatların %13.15'i *L. monocytogenes*, % 10.52'si *L. innocua*, %7.89'u *L. ivanovii*, % 5.26'sı *L. seeligeri* ve % 2.65'i *L. welshimeri* olarak identifiye edildi.

E. coli O157:H7 ise örneklerin hiçbirisinden izole edilemedi. Bu çalışma bulguları ile paralel olarak Akkuş (1996)'da 80 kıyma örneğinin hiçbirinden bu bakteriyi izole edemezken, Noveir ve ark. (2000) 255 kıyma örneğinin % 0.4'ünden *E. coli* O157 izole ettiklerini ancak bu izolatların hiçbirisi H7 serotipi olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışma bulguları ile paralel olarak Hinton et al.,(1998) İngiltere'de satışa sunulan donmuş kıyma örneklerinden *E. coli* O157:H7'yi izole edemediklerini bildirmişlerdir. Buna karşın, Doyle and Schoeni (1987) 146 kanatlı ve sığır etlerini *E. coli* O157:H7 yönünden analiz etmişler ve sonuçta % 3.7 oranında izole ettiklerini, Canada'da yapılan çalışmada ise sığırlardan bu etkeni %0.3 ila %1.5 oranında izole edildiği bildirilmiştir (Hinton et al., 1998).

Bu çalışmada *E. coli* O157:H7 serotipi analiz edilen kıyma numunelerinden izole edilememesinin nedenlerinden biri geleneksel kültür tekniğinin kullanılmış olması olabilir. *E. coli* O157:H7 sporadik olarak çok düşük düzeyde bulunduğu ve dolayısıyla çok yüksek yarışmacı mikroorganizmaların bulunduğu ortamdan izole etmenin oldukça güç olduğu bilinmektedir. Yüksek düzeyde bulunan florada eğer düşük düzeylerde *E. coli* O157 var ise bu mikroorganizmalar O157 'yi maskeleyebilir. Yine, kıyma örneklerinde özellikle yüksek düzeyde koliform bakteriler var ise SMAC Agar'da mevcut olabilecek O157:H7 serotipini yine maskeleyebilir (Anon, 1994; Hitchins et al., 1998). Vold et al. (2000)'da normal mikrofloranın

özellikle de Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) *E. coli* O157:H7 gibi gıda kaynaklı patojen bakterilerinin üremelerini kontrol etmede önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Ayrıca Öz ve ark. çiğ köftelerden % 1 oranında *E. coli* O157:H7 'yi izole ettiklerini bildirmiştir. Bu nedenle *E. coli* O157:H7 'nin termal inaktivasyonu için kıymaların iç sıcaklıkları 71.1 C'ye ulaşması sağlanmalıdır.

Türkiye'de yapılan iki çalışmada *L. monocytogenes* kıymalardan %10 ve % 28 oranında izole edilmiştir (Çiftçioglu,1992). Inoue et al. (2000) Japonya'da , Breer and Schopfer (2000) İsviçre'de karışık kıyma örneklerinden sırasıyla % 12.2 ve % 15 oranlarında izole ettiklerini sırasıyla bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise 44 örneğin 3'ünden (% 6.81) ve *L. innocua*'yı ise 44 örneğin 21'inden (% 48) izole edildiği bildirilmiştir (Marinek and Grebenc, 2002).Yapılan başka çalışmalarda da, Avrupa ülkelerinde 1973-1989 yılları arasında sığır kıymalarının *L. monocytogenes* ile kontaminasyon düzeylerinin, Avusturya'da % 36, Danimarka'da % 28 oranlarında, Fransa'da ise donmuş kıyma örneklerinden % 22 izole edildiği bildirilmiştir (Ryser and Marth,1991). Belçika'da ise, 2000 yılında % 16 ve 2001 yılında ise % 14.8 oranında izole edildiği bildirilmiştir (Online Report, 2001).

Sonuç olarak, örneklerdeki değişik mikroflora nedeniyle, kıymalardan mevcut olan potansiyel tehlikeli bakterileri izole etmek amacıyla daha güvenli metotlar kullanılmalıdır. Kıymada *L. monocytogenes*'in izole edilmesi mezbahalarda ve kıyma üretimi sırasında ekipman ve işletme sanitasyonun ilerletilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. *E. coli* O157:H7 izolasyonu amacıyla geleneksel kültür yöntemi yerine daha hassas metotlar kullanılmalıdır. Ayrıca tüketiciler, hayvansal kaynaklı gıdaların az pişmiş veya çiğ olarak tüketilmesiyle ilişkili riskler konusunda uyarılması gerekir (RFAO, 1999).

Kaynaklar

Ahmed S., Donaghy S. (1998) An Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in Central Scotland. In: Kaper J.P., O'brien, A.D. (Eds) *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains" Asm Pres, Washington Dc, , Pp: 59-65.

Akkuş F.(1996) Isolation of Verocytotoxin Producing *E. coli* O157:H7 in Minced Beef. Phd Thesis, Graduate School of Health Sciences, University of Ankara ,

Anon. (1994) In: J. Holt Et Al. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. Md: Williams & Wilkins Co,

Bell B.P., Goldoft M, Griffin P.M., Davis M.A, Gordon D.C., Tarr P.I., Bartleson C.A., Lewis J.H., Barrett T.J., Wells J.G., Baron R. And Kobayashi J.(1994). A Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7-Associated Bloody Diarrhea and Hemolytic Uremic Syndrome From Hamburger" The Washington Experience. *Journal Of American Medicine Association*, 272, 1349-1353.

Breer, C., And Schopfer, K.(1988). *Listeria* in Food. *Lancet* *It*, 8618,1022.

Chapman, P., Siddons, C.A., Cerdan, A.T., Malo And Harkin, M.A.(2000). A One Year Study of *Escherichia coli* O157 in Raw Beef and Lamb Products. *Epidemiological Infections*, 124, 207-213.

Chinen I., Tanoro J.D., Miliwebsky E., Lound L.H., Chilemi G., Ledri S., Baschkier A., Scarpin M., Manfredi E. Rivas M.(2001). Isolation and Characterisation of *Escherichia coli* O157: H7 from Retail Meats in Argentina. *J Food Prot.*, 64, 1346-1351.

Çiftçioglu G.(1992). "Kıyma, Sucuk ve Tavuk Etlerinde, *Listeria monocytogenes*'in Mevcudiyeti Üzerine Araştırmalar" Istanbul University, Doctoral Thesis,

Dalton C.B., Austin C.C., Sobel J., Hayes P.S., Bibb W.F., Graves L.M., Swaminathan B., Proctor M.E. and Griffin P.M.(1997). An Outbreak of Gastroenteritis and Fever Due to *Listeria monocytogenes* in Milk. *New England Journal Of Medicine*, 336: 100-105.

Doganay M.(2003). Listeriosis: Clinical Presentation. *Immunol. Medical Microbiol.*, 35: 173-175.

Doyle M.P. And Schoeni J.L.(1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Retail Fresh Meats and Poultry. *Appl. Environ. l Microbiol.*, 53, 2394-2396.

Fantelly K. And Stephan R.(2001) Prevalence and Characteristics of Shigatoxin-Producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Minced Meat in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.*, 70, 63-69.

Fleming D.W., Cochi S.L., Macdonald K.L., Hayes P.S., Plikaytis B.D., Holmes M.B., Audurier A., Broome C.V. And Reingold A.L.(1985). Pasteurized Milk as Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *New England Journal Of Medicine*, , 312, 404-407.

Food & Drug Administration (FDA) (2001) *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Chapter 4, Online Bacteriological Analytical Manual.

Food & Drug Administration (FDA) (2002). *Listeria monocytogenes*. Chapter 10, Online Bacteriological Analytical Manual.

Franciosa G., Pourshaban M, Gianfranchesi M. Aureli P. (1998). Genetic Typing of Human and Food Isolates of *Listeria monocytogenes* from Episodes of Listeriosis. *European Journal Epidemiology*, 14, 205-210.

Griffin P.M. And Tauxe R.V.(1991). The Epidemiology of Infections Caused by *Escherichia coli* O157:H7, Other Enterohemorrhagic *E. coli*, and the Associated Hemolytic Uremic Syndrome. *Epidemiological Review*, 13, 60-98.

Griffin, P.M.: "*Escherichia coli* O157:H7 and Other Enterohemorrhagic *Escherichia coli*" P.739-761. In: M.J.Blaser, P.D. Smith, J.I.Ravdin H.B. Greenberg, And R.L. Guerrant (Ed.), (1995). *Infections of the Gastrointestinal Tract*. Raven Pres, Ltd., New York, N.Y.,

Guidelines For Raw Ground Beef Products Found Positive for *Escherichia coli* O157:H7 (Rfao) 1999. http://Www.Hc-Sc.Gc.Ca/Food-Aliment/Mh-Dm/..E_Guidelines_Raw_Ground_Beef.Htm.Er. Tar. 2004

Heitmann M., Gerner-Smidt P. And Heltberg O.: Gastroenteritis Caused By *Listeria monocytogenes* in a Private Day-Care Facility. *Pediatric Infections Disease Journal*, 1997 ,16, 827-828.

Hinton M., Combs E., Tucker V., Jones S., Allen V., Hudson W.R. And Corry J.E.L.(1998). The Bacteriological Quality of British Beef 2. Frozen Minced Beef. *Meat Sci.*, 50, 395-402.

Hitchins A. D., Feng P., Watkins W.D., Rippey S.R. Chandler L.A.: *Escherichia coli* and Coliform Bacteria. In: Bacteriological Analytical Manual (8th Ed.. Revision A), Pp. 4.01–4.29. Gaithersburg: Aoac International, 1998.

Inoue S., Nakama A., Arai Y., Kokubo Y., Maruyama T., Saito A., Yoshida T., Terao M., Yamamoto S. And Kumagai S. : Prevalence and Contamination Levels of *Listeria monocytogenes* in Retail Foods in Japan. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, 59, 73-77.

Izumiya H., Terajima J., Wada A., Inagaki Y., Itoh K., Tamura K.D., Watanabe H.(1997). Molecular Typing Of Enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 Isolates in Japan by Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *J.Clin. Microbiol.* 35, 1675-1680.

Jacquet C., Catimel B., Brosch R., Burchrieser C., Dehaumont P., Goulet V., Lepoutre A., Veit P. And Rocourt J. (1995). Investigation Related to the Epidemic Strain Involved in the French Listeriosis Outbreak in 1992. *Applied Environmental Microbiology*, 61, 2242-2246.

Loncarevic S., Danielsson-Tham M.L., Martensson L., Ringner A., Runeheden A., Tham W (1997). A Case of Foodborne Listeriosis in Sweden. *Lett. Appl. Microbiol.*, 24, 65-68.

Lukinmaa S., Miettinen M., Nakari U.M., Korkeala H. And Sitonen A.: *Listeria monocytogenes* Isolates from Invasive Infections: Variation of Sero-and Genotypes During an 11-Year Period in Finland. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41, 1694-1700.

Majjala R., Lyytikäinen O., Autio T., A., Alto T., Haavisto L., Honkanen-Buzalski T. (2001). Exposure of *Listeria monocytogenes* within an Epidemic Caused by Butter in Finland. *Int. J Food Microbiol.* 70, 97-109.

Marinek J. Grebenc S.: (2002). *Listeria monocytogenes* in Minced Meat and Thermally Untreated Meat Products in Slovenia. *Slovenia Veterinary Research*, 39, 131-136.

Mclauchlin J. (1997). The Pathogenicity of *Listeria monocytogenes*: A Public Health Perspective. *Reviewe. Med. Microbiol.*, 8, 1-14.

Noveir M.R., Dogan H.B. Halkman A.K. (2000). A Note on *Escherichia coli* O157:H7 Serotype in Turkish Meat Products. *Meat Sci.* 56, 331-335.

Ortel S. (1980). La Listériose En République Démocratique D'Allemagne. *Med. Mal. Infect.*, 10, 465-471.

Öz V., Çakan H., Kocazeybek B. Aslan M.: *E. coli* O157:H7 'Nin Çiğ Köftelerde Araştırılması" X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. 15-19 Ekim, Adana, Turkey. Pp: 292-293.

Pinner R.W., Schuchat A., Swaminathan B, Hayes P.S., Deaver K.A., Weaver R.E., Plikaytis B.D., Reeves M. Broome C.: *Listeria* Study Group and J.D. Wengler.: Role of Foods in Sporadic Listeriosis II. Microbiologic and Epidemiologic Investigation. *J. American Med. Ass.*, 1992, 266, 2046-2050.

Online Report: Trends and Sources of Zoonotic Agents in the European Union and in Norway, 2001. [Http://Www. Europa.Eu.Int/Comm/Food/Biosafety/Salmonella/07-Listeria-2001.Pdf](http://Www.Europa.Eu.Int/Comm/Food/Biosafety/Salmonella/07-Listeria-2001.Pdf).

Ryser T.E. Marth E.H.(1991).*Listeria*, Listeriosis and Food Safety. New York Dekker.

Samadpour M., Kubler M, Buck F.C., Depavia G.A., Mazengia E., Stewart J., Yang P., Alfi D.(2002). Prevalence of Shiga Toxin Producing *Escherichia coli* in Ground Beef and Cattle Faeces from King Country, Washington. *J. Food Prot.*, 65,1322-1325.

Scanga J.A., Belk E., Sofos J.N., Bellinger G.R., Smith G.C. (2000).Microbiological Contamination of Raw Beef Trimmings and Ground Beef. *Meat Sci.*, 56, 145-152.

Swinsbanks D.(1996).Outbreak of *E. coli* infection in Japan Renews Concerns" *Nature*, 382, 290.

Trussel M.(1989).The Occurrence of *Listeria* in Production of Processed Meat, Salami and Mettwurst. *Schweiz. Archiv. Tierheilkd.*, 131, 409-412.

Tuttle J. Gomez T., Doyle M.P., Wells J.G., Zhao T., Tauxe R.V., Griffin P.M.(1999).Lessons From a Large Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections: Insight into the Infectious Dose and Method of Widespread Contamination of Hamburger Patties. *Epidemiological. Infectious.*, 122, 185-192.

Vernozy-Rozand C., Ray-Gueniot S., Ragot C., Bavi C., Mazuy C., Montet M.P., Bouvet J., Richard Y.(2002). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Industrial Mince Beef. *Lett. Appl. Microbiol.*, 35, 7-11.

Vines A., Swaminthan B.(1997). Nucleotide Sequence Analysis of Two Virulence-Associated Genes in *Listeria monocytogenes* Serotype 1/2b and Comparison with the Same Genes in Other Serotype Important in Human Disease. *Lett. Appl. Microbiol.*,24, 166-168.

Vold L., Holck A., Wasteson Y. Nissen H.(2000). High Levels of Background Flora Inhibits of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Beef. *Int. J. Food Microbiol.*, 56, 219-225.

Watanabe Y.,Ozasa K. (1997).An Epidemiological Study on an Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infection, Rinsho Byori. *Japan J. Clin. Pathol.*, 45, 869-874.

KAYSERİ İLİNDE SATIŞA SUNULAN SIĞIR KIYMALARININ MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ

Zafer GÖNÜLALAN

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Kayseri

Özet : Kayseri ilindeki perakende et satışı yapan marketlerden rastlantısal olarak 100 siğir eti kıyması örneği toplanarak, mikrobiyolojik kalitesi yönünden, incelendi. Mikrobiyolojik analizi yapılan kıyma örneklerinin ortalama, koliform bakteri, *E. coli*, maya ve küf, aerob mezofilik - psikrofilik mikroorganizma, *Staphylococcus* sp., koagülase pozitif *Staphylococcus*, sülfid indirgeyen *clostridium* ve *C. perfringens* sayıları sırası ile 1.8×10^7 , 1.0×10^5 , 5.1×10^7 , 6.0×10^8 , 1.9×10^6 , 1.7×10^6 , 8.7×10^5 ve 1.8×10^4 kob/g olarak tespit edildi. *Salmonella* sp. 11 örnekte belirlendi. Mikrobiyolojik yönden analizleri yapılan kıyma örneklerinin kalitesinin yeterli olmadığı ve gıda zehirlenmeleri bakımından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler : Kıyma, mikrobiyoloji, kalite, Kayseri.

Microbiological Quality of Ground Beef Retailed in Kayseri

Abstract: A hundred samples of ground beef were randomly collected from retail markets in the city center of Kayseri and tested for the microbiological quality. Average numbers of total coliform bacteria, *E. coli*, yeast and moulds, aerob mesophilic microorganisms, psychrophilics, *Staphylococcus* sp., coagulase positive *Staphylococcus*, sulfite reducing clostridia and *C. perfringens* were 1.8×10^7 , 1.0×10^5 , 5.1×10^7 , 6.0×10^8 , 1.9×10^6 , 1.7×10^6 , 8.7×10^5 and 1.8×10^4 cfu/g respectively in tested ground beef samples. Of 11 samples were found to be positive for *Salmonella* sp..The microbiological quality of ground beef analyzed was unsatisfactory and product could be an potential cause of food poisoning.

Key words : Ground beef , microbiology, quality, Kayseri.

Giriş

Bu çalışma, Kayseri ilinde tüketime sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek, halk sağlığı açısından önem taşıyan bazı patojen mikroorganizmaların varlığını incelemek ve Türk Gıda Kodeksine uygun olup olmadıklarını saptamak amacı ile yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal olarak, Kayseri ilindeki kasaplardan, 2002 yılı Haziran ayını kapsayan bir aylık süreçte alınan, 100 sığır eti kıyması örneği kullanılmıştır. Örnekler aseptik koşullarda steril torbalara alınarak, soğuk koşullarda laboratuvara getirilmiş ve hemen analize alınmıştır.

Örneklerin Analize Hazırlanması: *Salmonella* sayımı için her bir örnekten alınan 3 adet 25'er g'lık kıyma numunesi incelenmiştir. Diğer mikroorganizmaların sayımı için 2 adet 10 g'lık kıyma numunesi Stomacherin (Bagmixer 400, Interscience), steril poşetine (Bag Filter 400) konulmuştur. Kıyma numunesini içeren poşete 90 ml %0.1'lik steril peptonlu su ve % 1 Tween 80 (Sigma P 8074) ilave edildikten sonra örnek homojenize edilmiş, böylece 10^{-1} 'lik seyrelti elde edilmiştir. Numunenin 10^{-1} 'lik dilüsyonundan, %0.1'lik steril peptonlu su ile 10^{-10} kadar seyreltiler hazırlanmıştır (Anon., 1978).

Numunelerden hazırlanan seyreltiler dökme plak yöntemine göre her seyrelti basamağı için 2 petri kutusuna 1'er ml uygun besi yerine ekildikten sonra gereken koşullarda inkübe edildikten sonra 30-300 koloni bulunduran seyrelti basamağı esas alınarak sayım sonuçları değerlendirilmiştir.

Koliform Grubu Mikroorganizma ve *E.coli* Sayımı : Koliform bakterilerinin sayımında violet red bile agar (Merck) kullanılmıştır. Ekimi yapılan petri plakları 37 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra laktöz pozitif koloniler sayılmıştır. Fekal kaynaklı *E. coli* sayımında, violet red bile agar'da üreyen tipik kolilerden 5 tanesi *E.C.* buyyona inoküle edildikten sonra 44.5 ± 0.2 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üreme ve gaz oluşumu pozitif olan tüp sayısı, koliform grubu mikroorganizma sayısı ile çarpıldıktan sonra sonuç 5' e bölünerek fekal *E.coli* sayısı belirlenmiştir (Anon., 1978).

Maya – Küf Sayımı : Patato dekstrose agar (Merck) besi yeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekimi yapılan petri plakları 22 ± 2 °C'de 5 gün inkübe edildikten sonra üreyen koloniler sayılmıştır (Anon., 1978; Halkman, 1995).

Aerob Mezofilik ve Psikrofilik Mikroorganizmaların Sayımı: Plate count agar (Merck) kullanılmıştır. Petri plakları ekimi takiben aerob mezofilik mikroorganizma sayımı için 37 ± 1 °C'de 48 saat, Psikrofilik mikroorganizmalar için 5 ± 2 °C'de 10 gün inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir (Anon., 1978; Halkman, 1995).

Salmonella Türlerinin İzolasyonu : *Salmonella* izolasyonu International Comission on Microbiological Specifications for Foods (ICMFS) of the International Association of Microbiological Societies 'in (Anon., 1978) önerdiği metoda göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre, 25 g kıyma örneği ön zenginleştirme amacıyla 225 ml tamponlanmış peptonlu su içerisine konularak stomacherde 2-3 dk homojenize edilmiştir. Homojenat 36 ± 1 °C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra selektif zenginleştirme için 1 ml ön zenginleştirme homojenatı 10 ml Tetrathionat Brilliant Green Broth ve Selenite Cystine Broth besi yerinde 43 ± 0.05 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda her bir besi yerinden brilliant green agar, Bismuth Sülfite Agar ve S.S. agar besi yerine ekimler yapılarak sırasıyla 36 ± 1 °C'de 24 saat, 36 ± 1 °C'de 48 saat ve 35 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda şüpheli koloniler yatık olarak hazırlanan Triple Sugar İron Agar ve Lysine İron Agar besi yerlerine ekilmiştir. Tüpler 36 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edilmesinin ardından tahmini pozitif suşlara gram boyama, KCN, jelatin hidroliz testi ve karbonhidrat fermentasyon testleri uygulandıktan sonra biyokimyasal reaksiyonu pozitif veya şüpheli olan örneklerle poly A *Salmonella* antiserumu (Difco 2534-47) ile yapılan test sonucu aglütinasyon veren koloniler *Salmonella* olarak değerlendirilmiştir (Anon., 1984; Anon., 1978; Bekar, 1997; Noveir, Doğan ve Halkman, 2000).

Staphylococcus ve Koagulaz Pozitif Staphylococcus Türlerinin Sayımı: *Staphylococcus* sayımı için baird parker agar (Oxoid) kullanılmıştır. Ekimden sonra petri plakları 36 ± 1 °C'de 30 saat inkübasyondan sonra etrafı açık renkli bir alanla çevrili siyah renkli koloniler sayılmıştır.

Koagulaz pozitif *Staphylococcus*' lar, Baird Parker agar'da tipik 5 koloniye koagulaz test uygulanması ile tespit edilmiştir. Koagulaz testte pozitif çıkan tüp sayısı ile *Staphylococcus* mikroorganizmasının sayısı çarpılmış, sonuç pozitif tüp sayısına bölünerek koagulaz pozitif mikroorganizma sayısı belirlenmiştir (Anon.,1978).

Sülfite İndirgeyen Clostridium Sayımı : Sülfite polmyxin sülfadiazine agar (Difco) kullanılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda üreyen siyah renkli koloniler sayılarak değerlendirilmiştir (İnal, 1972). *C. perfringens*' in sayımı için sülfite polmyxin sülfadiazine agar'da üreyen siyah renkli kolonilerden alınan 5 koloni nitrat motility ve laktoz jelatin mediyuma ekilmiş 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda değerlendirilmesi yapılmıştır. *C. perfringens* sayısı inkübasyon süresi sonunda nitratı indirgeyen, hareketsiz ve laktoz jelatin mediyumda erimeye sebep olan koloni sayısının sülfite indirgeyen mikroorganizma sayısı ile çarpılıp tüp sayısına bölünmesi ile bulunmuştur (Anon., 1978).

Bulgular

Kayseri ilinde satışa sunulan sığır eti kıymalarının mikrobiyolojik analizleri sonucunda tespit edilen değerler Tablo 2'de gösterilmektedir.

Kayseri ilindeki perakende satış noktalarından alınan kıyma örneklerinin koliform, *E.coli*, maya-küf, toplam aerob mezofilik mikroorganizma, psikrofilik mikroorganizma, *Staphylococcus*, koagulaz pozitif *Staphylococcus*, sülfite indirgeyen clostridium ve *C. perfringens* sayılarının en az, en çok ve ortalama değerleri sırası ile; $8.6 \times 10^1 - 4.5 \times 10^8 - 1.8 \times 10^7$, $< 1.0 \times 10^1 - 5.2 \times 10^5 - 1.0 \times 10^5$, $3.8 \times 10^1 - 7.5 \times 10^8 - 5.1 \times 10^7$, $7.4 \times 10^5 - 5.3 \times 10^9 - 6.0 \times 10^8$, $3.8 \times 10^1 - 2.2 \times 10^7 - 1.9 \times 10^6$, $< 1.0 \times 10^1 - 2.2 \times 10^7 - 1.7 \times 10^6$, $< 1.0 \times 10^1 - 6.7 \times 10^6 - 8.7 \times 10^5$, $< 1.0 \times 10^1 - 4.7 \times 10^5 - 1.8 \times 10^4$, $< 1.0 \times 10^1 - 4.5 \times 10^4 - 8.5 \times 10^2$ kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Kıyma örneklerinin mikrobiyel kalitesine ait bulgular (kob/g)

Bakteri	En az	En çok	Ortalama (x)
Koliform	8.6×10^1	4.5×10^8	1.8×10^7
<i>E.coli</i>	$< 1.0 \times 10^1$	5.2×10^5	1.0×10^5
Maya – Küf	3.8×10^1	7.5×10^8	5.1×10^7
Toplam aerob	7.4×10^5	5.3×10^9	6.0×10^8
Mezofilik m.o.			
Psikrofil	3.8×10^1	2.2×10^7	1.9×10^6
<i>Staphylococcus</i>	$< 1.0 \times 10^1$	2.2×10^7	1.7×10^6
<i>sp.</i>			
Koagulaz pozitif	$< 1.0 \times 10^1$	6.7×10^6	8.7×10^5
<i>Staphylococcus</i>			
Sülfid indirgeyen	$< 1.0 \times 10^1$	4.7×10^5	1.8×10^4
<i>Clostridium</i>			
<i>C. perfringens</i>	$< 1.0 \times 10^1$	4.5×10^4	8.5×10^2

Koliform grubu mikroorganizmalar ve maya- küf kıyma örneklerinin tamamında belirlenmiştir. *E.coli* 29, *Staphylococcus* 4, koagulaz pozitif *Staphylococcus* 44, sülfid indirgeyen *clostridium* 22, *C. perfringens* ise 39 örnekte tespit edilememiştir. Analizi yapılan 11 örneğin ise *Salmonella* yönünden pozitif olduğu ortaya konulmuştur.

Sonuç

Kıyma haline getirilmiş etler, işlenmemiş etlere göre mikrobiyel bozulmaya daha duyarlıdır. Etlerin kıyma şekline getirildiği yerin hijyenik durumuyla birlikte, kesilen hayvanın türü de kıymanın mikrobiyel kontaminasyon düzeyini etkilemektedir. İyi hijyenik koşullara sahip olan işletmelerde hazırlanan kıymalar, genellikle kasap dükkanlarına perakende olarak satılan kıymalara göre, daha az mikroorganizma içerirler. Kasap dükkanlarında etlerin parçalanması ve hazırlanması sırasında bulaşma daha fazla olur ve özellikle düşük kaliteli etlerin kullanılması mikroorganizma sayısını artırır. Kıyma, diğer yönüyle de hile ve tağşişe son derece uygun bir ürün olması nedeni ile denetimine özen gösterilmesi gereken hayvansal bir gıdadır (Gökten,1990; Güven , Gülmez ve Kamber, 1997).

Türkiye’de kıyma haline getirilmiş etlere ilişkin mikrobiyel kriterler belirlenmiştir (Anon,2001; Sağlam, 2000). Buna göre et satış

yerlerinden alınan beş adet kıyma örneğinin en çok iki tanesinde toplam aerob mezofilik bakteri sayısının 5×10^8 kob/g'ı, kalan üç tanesinin ise 5×10^5 kob/g sınırını geçmemesi gerekmektedir (Tablo 1). Bu çalışmada belirlenen değerlerle, kıyaslandığı zaman aerob mezofilik mikroorganizma sayısının ortalama değer olarak 6.0×10^8 kob/g ile Türk Gıda Kodeksinin belirttiği değerleri aştığı görülmektedir.

Türk Gıda Kodeksine göre (Anon,2001), *E. coli* sayısında sınır, kıymalardan alınan beş örnekten ikisi için 1×10^2 kob/g, üç tanesi için ise 5×10^1 kob/g olarak belirlenmiştir. *E.coli* sayımından elde ettiğimiz bulgulara göre ortalama 1.0×10^5 kob/g olduğu Türk Gıda Kodeksindeki belirtilen sınırların üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısı için kodekste belirtilen değerler (Anon, 2001), alınan beş örnekten en çok 2'si için 5×10^3 kob/g, 3'ü için 1×10^2 kob/g'dır. Bu çalışmada incelenen örneklerde koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısının da 8.7×10^5 kob/g ile kodeksin belirlediği limitlerin üzerindedir.

Türk Gıda Kodeksinde (Anon, 2001) *Salmonella* için 25 g örnekte bulunmamalı şeklinde bir hüküm bulunurken, bu çalışmanın bulgularında 11 adet kıyma örneğinin *Salmonella* cinsine ait mikroorganizma ile kontamine olduğu ve bu örneklerin kodekse uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Kayseri ilinde satışa sunulan sığır eti kıymalarının mikrobiyolojik kalitesinin oldukça düşük olmasının, halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu belirtilebilir. Sağlıklı kıyma üretimini sağlayabilmek amacıyla, öncelikle kesimde sağlıklı ve veteriner hekim kontrolünden geçmiş kesim hayvanlarının kullanılması, kesim işleminin asgari hijyen şartlarına sahip ve teknik özellikleri yeterli olan mezbahalarda gerçekleştirilmesi, dağıtım ve pazarlama süresince soğuk zincirin kırılmasını önleyen tedbirlerin alınması ile tüm aşamalarda görevli personelin eğitimi ve tüketicinin bilinçlendirilmesiyle birlikte yasal denetimlerin etkinleştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

- Anon. I.C.M.F.S. *Microorganisms in Foods* (2nd Ed). (1978)1. Their Significance and Methods of Enumeration. Univ. of Toronto Pres. Toronto, Buffalo, London 106-270.
- Anon. (1984). *Difco Manual*, Dehydrated culture media and reagents for microbiology (10th Ed). Detroit, Michigan 790-791.
- Anon..(2001). *T.C. Resmi gazete*. Tebliğler no: 2001/7, 17 Mart, sayı 24345.
- Bekar M. (1997.)*Enterobacteriaceae* Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. *Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayın No:97-1*, Ankara.
- Göktan D(1990). Gıdaların Mikrobiyel Ekolojisi. 26-30. Cilt 1 *Et Mikrobiyolojisi*. Ege Üniv. Müh.Fak. Yay. No: 21, İzmir.
- Güven A, Gülmez M ve Kamber U.(1997). Kars ilinde tüketime sunulan kıymalarda bazı patojen mikroorganizmaların araştırılması ve kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Kafkas Ü. Vet.Fak. Derg.*3 : 57-65.
- Halkman AK. (1995). *Mikrobiyolojide Kullanılan Besi Yerleri*. Armoni Matbaacılık Ltd. Ankara; 52-53.
- İnal T (1972). *Clostridium perfringens*' in gıda hijyeni yönünden önemi ve modern bakteriyolojik metotlarla çabuk teşhisi. *Bornova Vet. Araş.Enst.Derg.*; 23; 59-84.
- Noveir MR, Doğan HB ve Halkman AK.(2000). Çeşitli hayvansal gıdalarda *Enterobacteriaceae* üyelerinin varlığı. *Gıda*. 25: 423-428.
- Sağlam ÖF. (2000).*Türk Gıda Mevzuatı* (İkinci baskı). Semih Ofset, Ankara; 591-595.

KIYMA ORTAMINDA SARIMSAĞIN ANTİMİKROBİYEL ETKİSİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

**Ali AYDIN¹ Mehmet Emin ERKAN² Barış BİNGÖL¹
Kamil BOSTAN¹**

¹ İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-İstanbul

² Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Diyarbakır

Özet: Bu çalışma kıyma ortamında sarımsağın antimikrobiyel etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla yeni çekilmiş taze dana kıyma örneği 5 eşit gruba ayrılmıştır. İnce kıyılmış ve ezilmiş sarımsaklar kıyma içerisine son konsantrasyonu %0, %1, % 2.5, % 5 ve % 10 olacak şekilde ilave edilmiştir. Her bir grup iki kısma bölünüp strafor tabaklara içine yerleştirilip polietilen film ile kaplanmıştır. Gruplar sonra buzdolabında (4°C) ve oda sıcaklığında (10-18°C) muhafaza edilmiştir. Buzdolabında muhafaza edilen örnekler 2., 6., 12, 24. ve 36. saatlerde, oda sıcaklığında saklanan örnekler ise 2., 6., 12. ve 24. saatlerde toplam aerob mikroorganizma, koliform bakteri, *Staphylococcus-Micrococcus* ve küf-maya sayısı yönünden analize tabi tutulmuştur. Denemeler farklı tarihlerde 3 kez tekrar edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda hem buzdolabı hem de oda sıcaklığında muhafaza edilen sarımsaklı örneklerde kontrol grubuna (sarımsak içermeyen) göre daha yavaş bir mikrobiyel üreme kaydedilmiştir. Ancak buzdolabında saklanan örneklerde ilk 12 saat içinde yapılan sayımlarda gruplar arasında istatistiki anlamda bir fark saptanmamış; sadece % 10 sarımsak içeren grubun 24 ve 36. saatlerinde elde edilen toplam mikroorganizma ve koliform grubu mikroorganizma sayıları kontrol grubundan önemli derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Bununla birlikte *Staphylococcus-Micrococcus* ve küf-maya sayısı yönünden belirgin bir farklılık saptanmamıştır. Oda sıcaklığında saklananlarda ise % 10 sarımsak içeren kıymalarda toplam bakteri sayısı sadece muhafazanın 24. saatinde; koliform grubu bakteri sayısı muhafazanın 6. ve 12. saatinde; *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı muhafazanın 12. ve 24. saatlerinde kontrolden farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Benzer şekilde küf-maya sayıları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Elde edilen bulgulara göre kıymaya sarımsak ilavesinin konsantrasyona bağlı olarak muhafaza süresi boyunca mikrobiyel üremeyi yavaşlattığı; ancak bu antimikrobiyel etkinin en yüksek konsantrasyonda (%10) bile pratik açısından tatmin edici olmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Kıyma, sarımsak, antimikrobiyel etki

A Study of Antimicrobial Effects of Garlic in Ground Beef Medium

Abstract: This study was carried out to investigate the antimicrobial effects of garlic in ground beef. So that fresh minced ground beef sample was separated into five groups. Chopped and squeezed garlic was added into the ground meat order to reach the final concentrations of 0 %, 1 %, 2,5 %, 5 % and 10 %. Each group was divided into two samples and placed in a polystyrene dishes and wrapped with a polyethylene film. The samples were stored in refrigerator at +4°C and ambient temperature (10-18°C). The samples in refrigerator were analyzed at 2., 6., 12., 24. and 36. hours while the other samples were examined at 2., 6., 12. and 24 hours in order to identify the total aerobic mesophilic microorganism, coliform bacteria, *Staphylococcus-Micrococcus* and yeast-moulds. The trials were repeated three time at different days. According to obtained results, the microbiological growth of samples with garlic both in refrigerator and in ambient temperature were less than the control group (without garlic). But in the first 12.hours, samples with garlic in the refrigerator were found to be statistically indifferent than control, whereas samples with 10 % garlic were found to be statistically different than the control point of view the counts of total aerobic mesophilic microorganism and coliform bacteria at 24. and 36. hours ($P<0.05$). However, a significant difference for *Staphylococcus-Micrococcus* and yeast-moulds counts were not in groups determined. At the ambient temperature, the samples with 10% garlic were significantly different from control at 24 hours for total aerobic mesophilic microorganism; at 6. and 12. hours for coliform counts; at 12. and 24 hours for *Staphylococcus-Micrococcus* counts ($P<0.05$). Similarly yeast and mould counts were not different from each other. The results of study indicates that the garlic has a slowing down effect on microbiological growth in ground meat as depending on the concentration, but this effect were not at a desirable level even on the highest concentration.

Key words: Ground beef, garlic, antimicrobial effect

Giriş

Sarımsak yüzyıllardır tüketilen bir bitki olup, insanlık tarihi boyunca tıbbi özelliği başta olmak üzere diğer birçok amaçla kullanılmıştır. Günümüzde halen çoğu ülkede hastalıkların sağaltımı amacıyla doğal bitkisel ürünlerin yoğun bir biçimde kullanımına devam edilmektedir (Mansaray 2000). İlk olarak 1944 Cavallito ve ark.'nın kıyılmış diş

sarımsaklardan izole ve identifiye edilen komponentlerin belirgin ölçüde antibakteriyel etkiye sahip olduğunu tespit ettiğini bildirilmektedir (Arora ve Kaur 1999). Sarımsakta antimikrobiyel etkiyi oluşturduğu bilinen allicin, adını Latince sarımsak bitkisi anlamına gelen *Allium sativum*'dan almaktadır. Saf allicin uçucu bir molekül olup, suda zor çözünmekte ve taze kıyılmış sarımsaklarda tipik koku ile fark edilebilmektedir (Block 1985).

Bakteri, mantar, protozoa ve virüsler gibi birçok mikroorganizmanın sarımsağa karşı, hassasiyet gösterdiği bildirilmektedir (Ankri ve Mirelman 1999). Allicin'in antimikrobiyel ve inhibitör etkileri; geniş ölçüde Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere, total aerob mezofilik mikroorganizma, *E. coli*, *S. aureus*, küf-maya, *Streptococcus* sp., *Salmonella* spp., üzerinde etkili olurken (Ankri ve Mirelman 1999, Arora ve Kaur 1999, Leuschner ve Zamparini 2002, Wong ve Kitts 2002, Yin ve Cheng 2003), *P. aeruginosa*, *Streptococcus β hemolyticus*, *Enterococcus faecium* gibi bakterilere ise etkili olmadığı bildirilmektedir (Ankri ve Mirelman 1999). Bunun yanında birçok araştırmacı sarımsağın yada allicin kaynaklı komponentlerin antimikrobiyel etkileri yanında antioksidatif etkileri de olduğunu bildirmektedir (Aguirrezabal ve ark. 2000, Yin ve Cheng 2003).

Etin mikrobiyel kontaminasyonu etin kalitesini belirleyen önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Yin ve Cheng 2003). Kıyma; bir taraftan sahip olduğu üstün besin değerli bileşimi, diğer yandan uygulanan teknolojik işleme bağlı olarak parçalanması ve yüzeyinin artması sonucu, saprofit ve patojen mikroorganizmaların gelişimi için ideal bir ortam özelliğine sahip olması nedeniyle riskli gıdalar içerisinde yer almaktadır (Erol 1999, Gökmen ve Alişarlı, 2003).

Bu çalışma; kıyma ortamından yaralanılarak, belli sürelerde ve farklı muhafaza sıcaklıklarında, belirli mikroorganizmalar üzerine sarımsağın antimikrobiyel etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyalin Temini: Çalışmada but bölgesinden taze çekilmiş yaklaşık 2.5 kg dana kıyması kullanılmıştır. Aseptik koşullarda alınan soğuk zincir altında laboratuvara getirilen kıyma örneği aynı gün analiz edilmiştir.

Materyalin Analize Hazırlanması: Bu amaçla taze çekilmiş 2.5 kg dana kıyma örneği 500 g olarak 5 eşit gruba ayrılmıştır. Çalışmanın tümünde kullanılan tek sarımsak grubu blender ile steril şartlarda kıyılarak ezilmiş ve kıyma grupları içerisine son konsantrasyonu %0, %1, % 2.5, % 5 ve % 10 olacak şekilde ilave edilmiştir. Her bir grup iki kısma bölünerek polystyrene tabakların içine yerleştirilmiş ve polietilen film ile kaplanmıştır. Daha sonra A (buzdolabı kontrol, %0), B (%1), C (%2.5), D (%5), E (%10) grupları buzdolabında (+4°C), F (oda sıcaklığı kontrol, %0), G (%1), H (%2.5), I (%5), K (%10) grupları oda sıcaklığında (10-18°C) muhafaza edilmiştir. Denemeler farklı tarihlerde 3 kez tekrar edilmiştir.

Buzdolabında muhafaza edilen kıyma örnekleri 2., 6., 12., 24. ve 36. saatlerde, oda sıcaklığında saklanan kıyma örnekleri ise 2., 6., 12. ve 24. saatlerde toplam aerob mikroorganizma, koliform bakteri, *Staphylococcus-Micrococcus* ve küf-maya sayısı yönünden analize tabi tutulmuştur.

Toplam Mezofilik Aerob Bakteri Sayımı: Sayım için genel amaçlı bir besiyeri olan Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463) kullanılmıştır. Uygun desimal dilüsyonlardan 1ml konularak dökme plak yöntem ile yapılan ekimlerden sonra petriler 35-37°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda değerlendirmeye tabi tutulmuştur.

Koliform Bakteri Sayımı: Bu amaçla Violed Red Bile Agar (VRBA, Merck, 1.01406) kullanılmıştır. Uygun desimal dilüsyonlardan 1ml konularak çift kat dökme plak yöntemiyle yapılan ekim sonrası petriler 35-37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda değerlendirmeye tabi tutulmuştur (Harrigan 1998).

Staphylococcus-Micrococcus Sayımı: Bu amaçla Baird Parker Agar (BPA, Oxoid CM 275) kullanılmıştır. Uygun desimal dilüsyonlardan 0.1ml konularak yayma yöntemi ile yapılan ekim sonrası petriler 35-37°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve 1-1.5 mm çaplı siyah parlak koloniler S., 0.5 mm çapında siyah ve yaygın koloniler *micrococcus* olarak değerlendirilmiştir.

Küf-Maya Sayımı: Bu amaçla Yeast Glucose Chloramphenicol Agar (YGC, Merck 1.16000) kullanılmıştır. Uygun desimal dilüsyonlardan 0.1ml konularak yayma yöntemi ile yapılan ekim sonrası petriler 20-25°C'de 4-7 gün inkübe edilmiş ve süre sonunda değerlendirmeye tabi tutulmuşlardır.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada buzdolabı ve oda sıcaklığı koşullarında muhafaza edilen gruplar arasında tespit edilen mikrobiyolojik sayım sonuçları logaritmik değerlere dönüştürüldü. Daha sonra gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi ANOVA kullanılarak, gruplar arası önem kontrolü Duncane Multipl testi ile belirlendi.

Bulgular

Çalışmada kullanılan kıyma örneklerinin laboratuvara getirilmesinden sonra, örnekler gruplara ayrılmadan hemen önce numune alınarak mikrobiyolojik analizler yapıldı. Analizler sonucunda ortalama toplam aerob mezofilik mikroorganizma sayısı 2.56×10^6 kob/g (6.408), ortalama koliform bakteri sayısı 5.90×10^4 kob/g (5.771), ortalama *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı 7.67×10^4 kob/g (4.885) ve ortalama küf-maya sayısı 7.40×10^4 kob/g (4.869) olarak tespit edildi. Ayrıca kıyılarak ezilmiş sarımsak örnekleri kıymaya ilave edilmeden önce mikrobiyolojik analize tabi tutuldu. Buna göre sarımsaklarda ortalama toplam aerob mezofilik mikroorganizma sayısı 5.0×10^3 kob/g (6.699) olarak belirlenmiş, ancak diğer mikroorganizmalar tespit edilmedi.

Buzdolabı şartlarında muhafaza edilen A, B, C, D ve E gruplarında 2., 6., 12., 24. ve 36. saatlerde tespit edilen mikroorganizma sayıları $\log_{10}$ cfu/g olarak Tablo 1'de gösterilmiştir. Oda sıcaklığında muhafaza edilen F, G, H, I ve K gruplarında 2., 6., 12. ve 24. saatlerde tespit edilen mikroorganizma sayıları $\log_{10}$ cfu/g olarak Tablo 2'de belirtilmiştir.

Sonuç

Etin yüzey mikroflorasını oluşturan mikroorganizmalar, kıymanın hazırlanması özellikle çekme ve karıştırma işlemleri sırasında ürüne dağılmakta ve uygun koşullar altında ürünün dayanıklılık süresini azaltmaktadır (Gökmen ve Alisharlı, 2003). Söz konusu nedenler göz önünde bulundurularak tüketici sağlığı açısından önem taşıyan kıymanın mikrobiyel yükü üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Yücel ve ark. (1991), Bursa' hazır kıymaları incelenmişler (n=15) ve total aerob mezofilik mikroorganizma sayısını ortalama 1.3×10^5 kob/g, koliform bakteri sayısını ortalama 2.5×10^4 kob/g, *S. aureus* sayısını ortalama 2.3×10^4 kob/g olarak saptamışlardır. Güven ve ark. (1997), Kars ilinde inceledikleri kıymalarda (n=80), total aerob mezofilik mikroorganizma sayısını ortalama 4.4×10^6 kob/g, koliform bakteri sayısını ortalama 1.3×10^5 kob/g, *S. aureus* sayısını ortalama 1.8×10^4 kob/g olarak bildirmişlerdir. Bu bakımdan çalışmada, sarımsağın antibakteriyel etkilerinin görülmesi amacıyla, birçok mikroorganizmanın gelişmesi için ideal bir besiyeri ortamı oluşturduğu düşünülen kıyma kullanılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda hem buzdolabı hem de oda sıcaklığında muhafaza edilen sarımsaklı örneklerde kontrol grubuna (sarımsak içermeyen) göre daha yavaş bir mikrobiyel üreme kaydedilmiştir. Ancak buzdolabında saklanan örneklerde ilk 12 saat içinde yapılan sayımlarda gruplar arasında istatistiki anlamda bir fark saptanmamış; sadece % 10 sarımsak içeren grubun 24 ve 36. saatlerinde elde edilen toplam mikroorganizma ve koliform grubu mikroorganizma sayıları kontrol grubundan önemli derecede farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Bununla birlikte *Staphylococcus-Micrococcus* ve küf-maya sayısı yönünden belirgin bir farklılık saptanmamıştır ($P > 0.05$). Oda sıcaklığında saklananlarda ise % 10 sarımsak içeren kıymalarda toplam bakteri sayısı sadece muhafazanın 24. saatinde; koliform grubu bakteri sayısı muhafazanın 6. ve 12. saatinde; *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı muhafazanın 12. ve 24. saatlerinde kontrolden farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Benzer şekilde küf-maya sayıları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Elde edilen bulgulara göre kıymaya sarımsak ilavesinin konsantrasyona bağlı olarak muhafaza süresi boyunca mikrobiyel üremeyi yavaşlattığı; ancak bu antimikrobiyel etkinin en yüksek konsantrasyonda (%10) bile pratik açısından tatmin edici olmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak doğal ve diyetetik özelliklerine dayanarak, et ve et ürünleri ile diğer gıda maddelerinde sarımsağın antioksidan ve antibiyotik etkili madde olarak, belirli konsantrasyonlarda kullanımı teşvik edilmeli, ayrıca antimikrobiyel etkilerinin tam olarak ortaya çıkarılması; sarımsağın diğer antimikrobiyel etkili katkı maddeleriyle kombine kullanıma imkanlarının araştırılması için çalışmaların daha da artırılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Aguirrezabal M.M., Mateo J, Dominguez M.C. (2000). Zumalacarregui J.M. The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Sci.*, 54: 77-81.
- Ankri S., Mirelman D.(1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 125-129.
- Arora D.S., Kaur J. (1999). Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12: 257-262.
- Erol İ.(1999). Ankara'da Tüketime sunulan kıymalarda Salmonellaların varlığı ve Serotip dağılımı. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.* 23: 321-325.
- Gökmen M., Alisharlı M. (2003). Van ilinde tüketime sunulan kıymaların Bazı Patojen Bakteriler Yönünden İncelenmesi. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 14(1): 27-34.
- Güven A., Gülmez M., Kamber U. Kars ilinde tüketime sunulan kıymalarda bazı patojen mikroorganizmaların araştırılması ve kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Kars Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 3 (1): 57-65.
- Harrigan, W.F. Laboratory Methods in Food Microbiology. 1998, Academic Press, London.
- Kumar M., Berwal J.S.(1998). Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). *Journal of Applied Microbiology*, 84: 213-215.
- Leuschner R.G.K., Zamparini J. (2002). Effects of growth and survival of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and matonnaise. *Food Control*, 13: 399-404.
- Mansaray M. Herbal remedies-food or medicine? *Chemistry and Industry*, 2000, 20: 677-678.
- Wong P.Y.Y., Kitts D.D. (2002). The effects of herbal pre-seasoning on microbial and oxidative changes in irradiated beef steaks. *Food Chemistry*, 76: 197-205.
- Yin M., Cheng W. (2003). Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Sci.* 63: 23-28.
- Yücel A., Çetin K., Gürbüz O. (1991). Bursa ilinde satılan hazır kıymalarda gıda zehirlenmesine neden olan bazı mikroorganizmaların varlığı üzerine bir çalışma. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 8:93-100.

Tablo 1: Buzdolabında Muhafaza Edilen Gruplarda Saatlere Göre Mikroorganizma Değişimi

Grup		log ₁₀ cfu/g* (4°C)				
		2. Saat	6. Saat	12. Saat	24. saat	36. saat
Toplam Bakteri Sayısı	A	6.650 ± 0.09 ^a	6.754 ± 0.19 ^a	6.970 ± 0.430 ^a	7.284 ± 0.315 ^{ab}	7.815 ± 0.052 ^a
	B	6.528 ± 0.139 ^a	6.677 ± 0.152 ^a	7.056 ± 0.283 ^a	7.381 ± 0.318 ^a	7.814 ± 0.034 ^a
	C	6.333 ± 0.124 ^a	6.483 ± 0.987 ^a	6.652 ± 0.153 ^a	6.854 ± 0.010 ^{bc}	7.357 ± 0.389 ^{ab}
	D	6.329 ± 0.107 ^a	6.503 ± 0.164 ^a	6.665 ± 0.153 ^a	6.861 ± 0.277 ^{bc}	7.267 ± 0.400 ^{ab}
	E	6.331 ± 0.007 ^a	6.460 ± 0.191 ^a	6.604 ± 0.187 ^a	6.733 ± 0.267 ^c	7.040 ± 0.342 ^b
Koliform Bakteri Sayısı	A	4.865 ± 0.069 ^a	5.232 ± 0.366 ^a	5.962 ± 0.270 ^a	6.676 ± 0.213 ^{ab}	7.551 ± 0.129 ^a
	B	4.852 ± 0.061 ^a	5.192 ± 0.365 ^a	5.896 ± 0.362 ^a	6.574 ± 0.376 ^{ab}	7.464 ± 0.212 ^a
	C	4.830 ± 0.091 ^a	5.008 ± 0.126 ^a	5.608 ± 0.460 ^a	6.379 ± 0.366 ^{ab}	7.352 ± 0.144 ^{ab}
	D	4.772 ± 0.138 ^a	4.990 ± 0.157 ^a	5.557 ± 0.535 ^a	6.166 ± 0.402 ^{ab}	7.220 ± 0.228 ^{ab}
	E	4.754 ± 0.110 ^a	4.875 ± 0.112 ^a	4.375 ± 0.373 ^a	5.955 ± 0.391 ^b	7.039 ± 0.158 ^b
Stafilokok Mikrokok Sayısı	A	4.874 ± 0.266 ^a	5.142 ± 0.352 ^a	5.276 ± 0.342 ^a	5.372 ± 0.722 ^a	6.032 ± 0.318 ^a
	B	4.816 ± 0.243 ^a	5.078 ± 0.332 ^a	5.324 ± 0.443 ^a	5.652 ± 0.375 ^a	5.976 ± 0.307 ^a
	C	4.784 ± 0.242 ^a	5.019 ± 0.356 ^a	5.151 ± 0.366 ^a	5.486 ± 0.332 ^a	5.734 ± 0.333 ^a
	D	4.770 ± 0.248 ^a	4.917 ± 0.290 ^a	5.059 ± 0.336 ^a	5.324 ± 0.290 ^a	5.554 ± 0.302 ^a
	E	4.686 ± 0.274 ^a	4.790 ± 0.332 ^a	4.628 ± 0.506 ^a	5.058 ± 0.349 ^a	5.306 ± 0.371 ^a
Küf- Maya Sayısı	A	4.844 ± 0.322 ^a	5.051 ± 0.309 ^a	5.112 ± 0.309 ^a	5.190 ± 0.326 ^a	5.248 ± 0.326 ^a
	B	4.777 ± 0.268 ^a	4.927 ± 0.253 ^a	5.003 ± 0.253 ^a	5.081 ± 0.227 ^a	5.202 ± 0.267 ^a
	C	4.739 ± 0.253 ^a	4.889 ± 0.198 ^a	4.963 ± 0.198 ^a	5.036 ± 0.208 ^a	5.090 ± 0.245 ^a
	D	4.769 ± 0.328 ^a	4.904 ± 0.314 ^a	4.975 ± 0.314 ^a	5.165 ± 0.415 ^a	5.049 ± 0.253 ^a
	E	4.636 ± 0.301 ^a	4.711 ± 0.320 ^a	4.873 ± 0.320 ^a	4.894 ± 0.227 ^a	4.958 ± 0.232 ^a

* Her bakteri grubunu temsil eden sütunda farklı harflerle gösterilen ortalama değerler birbirinden farklıdır (P<0.05)

Tablo 2: Oda Isısında Muhafaza Edilen Gruplarda Saatlere Göre Mikroorganizma Değişimi

Grup	log ₁₀ cfu/g* (10-18°C)
------	------------------------------------

		2. Saat	6. Saat	12. Saat	24. saat
Toplam Bakteri Sayısı	A	6.716 ± 0.112 ^a	7.262 ± 0.325 ^a	7.496 ± 0.242 ^a	8.456 ± 0.142 ^a
	B	6.641 ± 0.111 ^a	7.056 ± 0.239 ^a	7.398 ± 0.234 ^a	8.274 ± 0.202 ^{ab}
	C	6.608 ± 0.116 ^a	6.936 ± 0.217 ^a	7.225 ± 0.200 ^a	8.093 ± 0.187 ^{ab}
	D	6.643 ± 0.091 ^a	6.739 ± 0.089 ^a	7.208 ± 0.235 ^a	7.997 ± 0.217 ^{ab}
	E	6.397 ± 0.050 ^a	6.609 ± 0.097 ^a	6.979 ± 0.162 ^a	7.715 ± 0.223 ^b
Koliform Bakteri Sayısı	A	5.545 ± 0.150 ^a	6.599 ± 0.181 ^a	7.316 ± 0.209 ^a	7.630 ± 0.278 ^a
	B	5.516 ± 0.170 ^a	6.546 ± 0.282 ^{ab}	7.217 ± 0.217 ^{ab}	7.390 ± 0.187 ^a
	C	5.356 ± 0.125 ^a	6.191 ± 0.153 ^{ab}	6.993 ± 0.133 ^{ab}	7.284 ± 0.205 ^a
	D	5.061 ± 0.170 ^a	5.934 ± 0.171 ^{ab}	6.920 ± 0.153 ^{ab}	7.180 ± 0.136 ^a
	E	5.045 ± 0.185 ^a	5.524 ± 0.251 ^b	6.532 ± 0.288 ^b	6.988 ± 0.225 ^a
Stafilokok - Mikrokok Sayısı	A	5.807 ± 0.362 ^a	6.931 ± 0.404 ^a	7.563 ± 0.337 ^a	8.095 ± 0.237 ^a
	B	5.615 ± 0.390 ^a	6.778 ± 0.458 ^a	7.437 ± 0.319 ^{ab}	8.011 ± 0.255 ^a
	C	5.541 ± 0.253 ^a	6.395 ± 0.309 ^a	7.228 ± 0.303 ^{ab}	7.734 ± 0.108 ^{ab}
	D	5.450 ± 0.261 ^a	6.159 ± 0.317 ^a	6.651 ± 0.331 ^{ab}	7.204 ± 0.243 ^{bc}
	E	5.127 ± 0.133 ^a	5.764 ± 0.402 ^a	6.396 ± 0.310 ^b	6.812 ± 0.305 ^c
Küf- Maya Sayısı	A	4.978 ± 0.253 ^a	5.049 ± 0.239 ^a	5.216 ± 0.277 ^a	5.338 ± 0.272 ^a
	B	4.946 ± 0.295 ^a	5.015 ± 0.220 ^a	5.172 ± 0.254 ^a	5.297 ± 0.272 ^a
	C	4.917 ± 0.269 ^a	4.978 ± 0.213 ^a	5.110 ± 0.241 ^a	5.159 ± 0.241 ^a
	D	4.888 ± 0.257 ^a	4.932 ± 0.222 ^a	5.012 ± 0.280 ^a	5.107 ± 0.247 ^a
	E	4.821 ± 0.235 ^a	4.884 ± 0.231 ^a	4.957 ± 0.223 ^a	5.042 ± 0.246 ^a

* Her bakteri grubunu temsil eden sütunda farklı harflerle gösterilen ortalama değerler birbirinden farklıdır (P<0.05)

ESANSİYEL YAĞLARIN ÇİĞ KÖFTEDE *SALMONELLA*'NIN İNAKTİVASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet CALICIOĞLU

İrfan İLHAK

Abdullah DİKİCİ

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Elazığ

Özet: Bu çalışma bazı esansiyel yağları Türkiye’de yaygın tüketimi olan ve çiğ kıyma içeren bir ürün olan çiğ köfteye *Salmonella*’nın yaşamı üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. Çiğ köfte lokal bir restoran tarafından hazırlandı. Yüksek seviyede ($6.50 \log_{10}$ kob/g) 5 *Salmonella* suşunun karışımıyla inokule edildi ve daha sonra 6 gruba ayrıldı. Her bir grup %1.8 (v/w) oranlarında serum fizyolojik (kontrol), carvone, cineole, eugenol, linalol ya da limonenle muamele edildi. Çiğ köfteler 4°C ’de 3 saat muhafaza edildi. Esansiyel yağların uygulanmasından 30 dk ve 3 saat sonra her gruptan alınan çift seri örneklerde XLD agarda *Salmonella* sayıları tespit edildi. Sonuçlar gösterdi ki örnekleme zamanına bağlı olmaksızın kontrol ve limonen grubu hariç bütün gruplarda *Salmonella* sayıları istatistiksel önemde ($P<0.05$) azaldı. Kontrol, carvone, cineole, eugenol, linanol ve limonen gruplarında *Salmonella* sayıları sırasıyla 6.43, 4.77, 5.33, <1.0 , 3.90 ve 6.34 $\log_{10}$ kob/g olarak bulundu. Eugenol uygulanan örneklerde patojen sayısı uygulamadan 30 dk sonra bile tespit edilebilir seviyenin ($<1.0 \log_{10}$ kob/g) altına düştü. Ancak canlı *Salmonella* hücreleri zenginleştirme metoduyla izole edilebildi. İkinci bir deneyde ise, çiğ köfte *Salmonella* ile inokule edildikten sonra 5 gruba ayrıldı ve %1.8, %1.5, %1.0 ve %0.5 seviyelerinde eugenolle muamele edildi ya da herhangi bir uygulama yapılmadı (kontrol). Uygulamadan 1 saat sonra gruplardan alınan çift seri örneklerde patojen sayısı tespit edildi. Sonuçlar gösterdi ki %1.8,%1.5,%1.0 ve %0.5 oranlarında eugenol uygulanan çiğ köfte örneklerinde patojen sayısı sırasıyla <1.0 , 2.60, 3.78 ve 5.45 $\log_{10}$ kob/g seviyelerine düşerken, kontrol grubunda 6.31 $\log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Bu çalışmanın sonuçları esansiyel yağların özellikle de eugenolün çiğ köfte gibi üretiminde gerçek bir bakterisidal aşama bulunmayan gıdalarda *Salmonella*’nın nontermal inaktivasyonu amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Esansiyel yağlar, *Salmonella*, antimikrobiyel, çiğ köfte, kıyma

Effects of Essential Oils on Inactivation of *Salmonella* in Cig Kofte

Abstract: This study was undertaken to investigate the effects of selected essential oils on viability of *Salmonella* in çiğ köfte, a commonly consumed snake food in Turkey containing raw ground beef. Çiğ köfte was prepared by a local restaurant, inoculated with high levels of 5-strain mixture of *Salmonella* ($6.50 \log_{10}$ cfu/g), and then divided in to six groups. Each group was treated with 1.8% (v/w) levels of normal saline (control), carvone, cineole, eugenol, linalol, or limonen. Treated çiğ köfte batches were stored at 4°C for 3 h. Duplicate samples were taken from each group 30 min and 3 h after treatment for enumeration of *Salmonella* using XLD agar. Results indicate that regardless of the sampling interval, the numbers of *Salmonella* were significantly ($P<0.05$) reduced in all treatments except in control and limonen treated samples. *Salmonella* numbers were reduced to 6.43, 4.77, 5.33, <1.0 , 3.90 and 6.34 $\log_{10}$ cfu/g in control, carvone, cineole, eugenole, linalool, and limonene groups, respectively. The numbers of the pathogen decreased below detection limit ($<1.0 \log_{10}$ cfu/g) even after 30 min eugenol treated samples. However, viable *Salmonella* cells were recovered by enrichment. In a second experiment, a batch of çiğ köfte was inoculated with *Salmonella* mixture ($6.45 \log_{10}$ cfu/g) and divided into 5 groups for treatments with eugenol at the levels of 1.8%, 1.5%, 1.0%, and 0.5% eugenol, respectively and to 6.31 $\log_{10}$ cfu/g in control batch. These results revealed that essential oils, eugenol in particular, may be used for non thermal inactivation of *Salmonella* in foods that do not have an actual bactericidal step in production such as çiğ köfte.

Key words: Essential oils, *Salmonella*, antimicrobial, cig kofte, ground beef

Giriş

Ülkemizde, özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde yaygın olarak tüketilen çiğ köfte halk sağlığı açısından mikrobiyolojik riskler taşımaktadır (Arslan ve ark, 1992; Pekel ve ark, 2003; Sağun ve ark, 2003, Uzunlu, 2002). Bu risklerin en önemlilerinden biri gıda kaynaklı gastroenteritlerin en yaygın nedeni olan *Salmonella* 'dır.

Çiğ köftenin güvenliği, kullanılan kıyma ve diğer katkı maddelerinin hijyenik kalitelerine bağlıdır. Kıymanın, fazla sayıda aerob genel canlı, koliform, stafilokok ve fekal streptokok mikroorganizmaları içerdiği ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği bilinmektedir. *Salmonella*'nın, ülkemizde kıymalarda bulunma oranı %2-5 arasındadır (Erol, 1999; Gökalp ve ark, 1982; Sarıgöl, 1982). Ayrıca çiğ köfte yapımında kullanılan baharatların da yeterli mikrobiyolojik kaliteye sahip olmadığı ve kullanıldıkları ürünün bozulmasında bir ölçüde etkin rol oynayabilecekleri belirtilmektedir. Küplülü ve ark. (2003), Ankara'da satışa sunulan çiğ köfteler üzerine yaptıkları bir çalışmada, incelenen çiğ köfte örneklerinin mikrobiyolojik kalitelerinin düşük olduğunu ve bunların halk sağlığı açısından risk oluşturabileceklerini saptamışlardır. Uzunlu (2002), *S. enteritidis* inokule edilmiş çiğ köfte örneklerinde yaptığı bir çalışmada, hammaddede bulunan mikroorganizma sayılarının, çiğ köftenin farklı muhafaza sıcaklık ve süreleri içerisinde önemli ölçüde değişmeden canlı kaldıklarını ifade etmiştir. Yine İlarıslan (2002), tarafından yapılan bir çalışmada, hiçbir ısıtıl işlemeye tabi olmadan hazırlanan ve tüketilen çiğ köftenin *Escherichia coli* O157: H7 yönünden riskli olduğu ve hijyenik koşullara gerek seyyar satıcılarda gerekse lokantalarda yeterince uyulmadığı tespit edilmiştir. Arslan ve ark.'nın (1992), Elazığ piyasasından topladıkları 45 adet çiğ köfte örneğinde yaptıkları bir çalışmada da, örneklerin %6.6'sında 10^5 - 10^6 /g arasında koagülaz pozitif *S. aureus*, sırasıyla %55.5'inde koliform, %15.5'inde ise fekal streptokok 10^5 - 10^6 /g arasında saptamışlardır. Tüm bu çalışmalar, çiğ köftenin halk sağlığı açısından riskli bir gıda olduğunu ortaya koymasına rağmen, literatürde çiğ köftenin mikrobiyolojik güvenliğini arttırmaya yönelik çalışmalara rastlanmamıştır. Çiğ köftenin mikrobiyel güvenliğinin artırılmasında, katı hijyen pratiğinin yanında antimikrobiyel gıda katkı maddelerinin de kullanılması gerekmektedir. Esansiyel yağlar, doğal kaynaklı olmaları, kendilerine özgü lezzet ve aromaları ve antimikrobiyel etki dahil geniş bioaktivite profiline sahip olmaları nedeniyle bu amaçla çiğ köftede kullanılabilir önemli alternatiflerdendir (Crowell et al,1992; Crowell, 1997, Kalemba and Kunicka, 2003, Blaszyk and Holley, 1998). Bu maddelerin insan sağlığı açısından, antikanserijen etkiyi (Crowell et al,1992; Crowell, 1997) de kapsayan çok sayıda olumlu biyolojik aktivitelere sahip oldukları ortaya konmuştur (Kalemba and Kunicka, 2003). Et ürünlerinde antimikrobiyel olarak, tek yada diğer antimikrobiyellerle kombinasyon halinde kullanıldığında Eugenol'un bozulmaya neden olan bakteriler üzerine etkili olduğu rapor edilmiştir (Blaszyk and Holley, 1998). Sonuç olarak bu çalışmanın amacı, ön çalışmalar sonucu antimikrobiyel

özellikleri nedeniyle seçilmiş bitkisel kaynaklı esansiyel yağ izolatlarının, deneysel olarak *Salmonella* ile kontamine edilmiş çiğ köftede, patojenin yaşamı üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metot

İnokulumun hazırlanması:

Refik Saydam Hıfzı Sıhha Enstitüsü kültür koleksiyonundan temin edilen 5 farklı *Salmonella* suşu, ayrı ayrı 10 ml'lik nutrient besi yerinde 35°C de 24 saat büyütüldü ve santrifüjle supernatant uzaklaştırılıp peletler steril serum fizyolojik ile yıkandı. Tekrar santrifüj edildi ve daha sonra tüm peletler %0.1 peptonlu suda süspansiyon haline birleştirilerek 17 ml'ye tamamlandı. Bu karışımındaki patojen yoğunluğu 10⁹ kob/ml olarak belirlendi.

Çiğ köftenin inokulasyonu ve esansiyel yağların uygulanması:

Her bir tekerrür için, lokal bir lokanta tarafından taze olarak hazırlanan 1050 g çiğ köfte kullanıldı. İnokulasyondan önce numuneden tuz, pH ve *Salmonella* analizleri için örnekler alındı. Kalan miktara *Salmonella* mix kültür ilave edildi ve karıştırıldı. İnokülasyon seviyesini belirlemek için alınan 25 g'lık iki örnekten sonra kalan 900 g'lık çiğ köfte, 6 eşit gruba ayrıldı. Her bir gruba %1.8 (v/w) oranında, filtrasyonla sterilize edilmiş carvon (Sigma-Aldrich), cineol, eugenol, linalol, limonen (Merck) ve steril serum fizyolojik (kontrol) eklendi ve yoğurularak karıştırıldı. Örnek alınmadan önce çiğ köfteler 30 dk oda ısısında bekletildi ve daha sonra 4 °C de 3 saat muhafaza edildi.

Örneklerin alınması ve analizi:

Her gruptan 0. ve 3. saatlerde 25 g'lık 2'şer adet örnek alındı. Her örnek 225 ml steril peptonlu suda 2 dk homojenize edildikten sonra 1/10'luk düzende 1/10⁸'e kadar seyreltilerek, her dilüsyondan çift seri XLD agar (Acumedia) plaklarına 0.1 ml yüzey yayma yöntemi ile ekimler yapıldı ve 35 °C de 24 saat inkübe edildi. Sayım yapılan plaklardan tesadüfen seçilen 3 koloni, polyvalent *Salmonella* antiserumu ile (Serobact, Eurobio) "O" antijeninin varlığına bakılarak doğrulandı. *Salmonella* sayım tekniğinin duyarlılık seviyesi 10

Tetrathionate Broth (Oxoid) besi yerlerinde zenginleştirmeye tabi tutuldu.

Eugenolün minimum antimikrobiyel etki seviyesinin belirlenmesi:

İkinci bir deneyde, aynı yöntemle hazırlanan ve inoküle edilen çiğ köfte 5 gruba ayrılarak her gruba %1.8, %1.5, %1.0, %0.5 ve %0 (kontrol) oranlarında eugenol eklendi. Bir saat sonra her bölümden 2'şer örnek alınarak *Salmonella* sayısına bakıldı.

Diğer analizler:

Her tekerrürde kullanılan çiğ köftelerin tuz oranı Mohr yöntemi kullanılarak belirlendi. Ayrıca, 3 saatlik periyodun sonunda deney gruplarından 1'er örnek alınarak, pH'sı ve su aktivitesi belirlendi.

Deneysel dizayn ve verilerin istatistiksel analizi:

Deneyler 1'er hafta arayla 3 tekerrürden oluştu. Log₁₀ kob/g'a çevrilen veriler "tekerrür sayısı x örnekleme zamanı x test grupları x her test grubundan bir seferde alınan örnek sayısı" olacak şekilde 3x4x6x3 faktöryel dizayna uygun olarak fix etkiler ve değişkenler arası interaksiyonlar yönünden varians analizine tabi tutuldu. General Linear Models (GLM) prosedürlerine göre, en düşük kareler ortalamaları Fisher's Least significant difference (LSD) testi kullanılarak ayrıştırıldı ve bunda istatistiksel önem seviyesi %5 olarak kabul edildi. Su aktivitesi ve pH değerlerinde sadece standart sapma değerleri hesaplandı. Verilerin analizi, Statistical Analysis System (SAS) kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Deneylerde kullanılan çiğ köftelerde *Salmonella*'ya rastlanmadı. Ortalama tuz oranı %2.86±0.56 olarak bulundu. Esansiyel yağların etkileri Tablo 1. de verilmiştir. İnokulasyon sonrası ulaşılan ortalama 6.50 log seviyesindeki *Salmonella*, muhafaza süresine bağlı olmaksızın kontrol ve limonen grubu hariç diğer esansiyel yağ gruplarında istatistiksel önemde azalmıştır. Bunlardan eugenol grubunda ise *Salmonella* sayısı direk ekim yöntemiyle tespit edilebilir seviyenin altına düşmüştür. Ancak zenginleştirme yöntemiyle yapılan analizlerde canlı *Salmonella* hücreleri izole edilmiştir. Deneyde test edilen esansiyel yağlar, *Salmonella* üzerine en etkilisinden başlayarak eugenol, linalol, carvone, cineole ve limonen şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 2’de verilen pH ve a_w değerleri, esansiyel yağ ilavesinin çiğ kftedeki pH ve a_w bariyerlerini önemli derecede değiştirmediğini göstermektedir. şekil 2’de ise, farklı düzeylerde eklenen eugenolun *Salmonella* zerine inaktivasyonu verilmiştir. *Salmonella* sayıları, %0.5 seviyesinde eugenol ilave edilen grup haricindekilerde, kontrol grubundan istatistiksel önemde azaldığı bulunmuştur. En düşük seviye olan %0.5 seviyedeki eugenol 0.85 $\log_{10}$ kob/g azalmaya neden olurken, %1.8 düzeyinde ise $\geq 6.30 \log_{10}$ kob/g azalmaya neden olmuştur.

Sonuç

Çiğ köfte, *Salmonella* için bakteriostatik bir ortama sahiptir. Bu patojen uzun bir süre, sayısında bir azalma meydana gelmeksizin, çiğ köftede canlılığını devam ettirmektedir. Tüketicisi sağlığını tehdit edebilecek bu riskin önlenmesi yada minimize edilmesi için, *Salmonella*’nın yaşamı üzerine hızlı etkiye sahip antimikrobiyel katkı maddelerinden yararlanılabilir. Bu alışmada, GRAS statüsünde olan eugenol, linalol, carvone ve cineolun çiğ köftede *Salmonella*’yı inaktive etmek için kullanılabilecekleri ortaya konmuştur. Eugenolun %1.8 oranında kullanıldığında *Salmonella* sayısında 6.0 $\log_{10}$ kob/g ’ın üzerinde bir azalmaya neden olması, bu maddenin thermal olmayan gıda işleme teknolojileri için etkili bir alternatif-antimikrobiyel katkı maddesi olarak düşünülebileceğini göstermektedir. Bu esansiyel yağların güçlü aromaya sahip olmalarından dolayı, çiğ köftede kullanımları tavsiye edilmeden önce ürünün duyuusal niteliklerine etkisi belirlenmelidir.

Kaynaklar

- Arslan A. Güven, A., Saltan, S., Patır, B. (1992). Elazığ'da tüketime sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. *Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg.* No: 6 (1,2), 13-17.
- Crowell P.L., Kennan W.S., Haag J.D. (1992). Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. *Carcinogenesis*. 13(7), 1261-1264.
- Crowell P.L. (1997). Monoterpenes in breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Research and Treatment*. 46, 191-197.
- İlarslan N.(2002). İstanbul İlinde Satışa Sunulan Çiğ Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Bir Araştırma. *Trakya Üniv. Fen Bil. Enst.* Yüksek Lisans tezi.
- Küplülü Ö., Sarımeahmetoğlu B., Oral N. (2003). The microbiological quality of çiğ köfte sold in Ankara. *Turk J Vet. Anim. Sci.* (27). 325-329.
- Pekel Ç. ve ark. (2003). Çiğ Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi. 1. Bölgesel Öğrenci Gıda Sempozyumu, Adana 17-18 Nisan 2003. Çukurova Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- Sağun E., Alişarlı M, Durmaz H. (2003). Farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ köftede *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve enterotoksin üretimi üzerine etkisi. *Turk J Vet. Anim. Sci.* (27). 839-845.
- Uzunlu S. (2002). Çiğ köftenin mikrobiyolojik kalitesi ve farklı muhafaza sıcaklık ve sürelerindeki mikrobiyal değişimin incelenmesi. *Akdeniz Üniv.Fen Bil. Enst.* Yüksek Lisans Tezi.
- Kalembe D, Kunicka A. (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813-829.
- Blaszyk M, Holley RA. (1998) Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. *Int. J. Food. Microbiol.* 39:175-183.
- Erol, I. (1999) Ankara'da tüketime sunulan kıymalarda *Salmonellaların* varlığı ve serotip dağılımı. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 23:321-325.
- Gökalp, H.Y. ,Yetim, H., Karacam, H. (1982) Some saprophytic and pathogenic bacteria levels of ground beef sold in Erzurum, Turkey. In. *Proceeding of 2nd World Congress of Foodborne Infections and Intoxications*. Berlin. 310-313.

Sarıgöl, C. (1982). Elazığ'da tüketilen kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların varlığı üzerinde araştırmalar. *F.Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 7: 179-186.

Tablo 1: Esansiyel yağların çiğ köfteye inokule edilmiş olan *Salmonella* popülasyonu üzerine etkisi ($\log_{10}$ kob/g, standart sapma, N=3, n=2).

Örnekleme zamanı	Test grupları					
	Kontrol	Carvone	Cineole	Eugenol	Linalol	Limonen
İnokulasyon sonrası	6.50 $\pm$ 0.29 ^{Az}	6.50 $\pm$ 0.29 ^{Az}	6.50 $\pm$ 0.29 ^{Az}	6.50 $\pm$ 0.29 ^{Az}	6.50 $\pm$ 0.29 ^{Az}	6.50 $\pm$ 0.29 ^{Az}
Esansiyel yağlar eklendikten sonra (0. saat)	6.43 $\pm$ 0.36 ^{Az}	4.77 $\pm$ 0.52 ^{Cy}	5.33 $\pm$ 0.34 ^{By}	≤ 1.00 ^{Ey}	3.90 $\pm$ 0.17 ^{Dy}	6.34 $\pm$ 0.34 ^{Az}
3. saat	6.42 $\pm$ 0.35 ^{Az}	4.69 $\pm$ 0.42 ^{Cy}	5.58 $\pm$ 0.35 ^{By}	≤ 1.00 ^{Ey}	3.96 $\pm$ 0.32 ^{Dy}	6.25 $\pm$ 0.23 ^{Az}

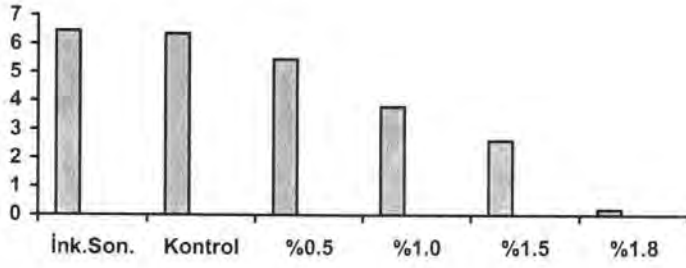
ABCDE: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel önemde farklıdır ($P < 0.05$).

zy: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel önemde farklıdır ($P < 0.05$).

Tablo 2: *Salmonella* ile inokule edildikten sonra esansiyel yağlarla muamele edilen çiğ köfte örneklerinin ortalama pH ve a_w değerleri (n=3, standart sapma) ,

	Test grupları					
	Kontrol	Carvone	Cineole	Eugenol	Linalol	Limonen
pH ^a	4.88 $\pm$ 0.16	4.92 $\pm$ 0.14	4.89 $\pm$ 0.13	4.93 $\pm$ 0.13	4.94 $\pm$ 0.11	4.94 $\pm$ 0.12
a_w ^a	0.875 $\pm$ 0.021	0.873 $\pm$ 0.019	0.906 $\pm$ 0.021	0.877 $\pm$ 0.020	0.883 $\pm$ 0.013	0.881 $\pm$ 0.016

a : pH and a_w değerleri çiğ köfteler 4°C de 3 saat tutulduktan sonra belirlenmiştir.



Şekil 1: Farklı seviyelerdeki eugenolun çiğ köftede *Salmonella*'nın inaktivasyonu üzerine etkisi (N=3, n=2)

ÇİĞ KÖFTEDE *LISTERIA* TÜRLERİNİN VARLIĞI

Özgür İSLEYİCİ

Yakup Can SANCAK
Kamil EKİCİ

Emrullah SAĞUN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Van

Özet: Bu çalışmada Van'da tüketime sunulan 50 adet çiğ köfte örneği *Listeria* türlerinin varlığı yönünden incelenmiştir. *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda USDA/FSIS (United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service) tarafından önerilen metot kullanılmıştır. Örneklerin 10 adedi (%20) *Listeria* türleri yönünden pozitif bulunmuş, 1 örnekte (%2) sadece *L. monocytogenes*, 4 örnekte (%8) sadece *L. innocua*, 4 örnekte (%8) *L. monocytogenes* ve *L. innocua* ve 1 örnekte de (%2) *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *L. seeligeri* birlikte bulunmuştur.

İncelenen örneklerde *Listeria* türlerinin özellikle de *L. monocytogenes*'in bulunmasının halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği sonucuna varılmıştır. Bundan dolayı, *L. monocytogenes*'ten kaynaklanan potansiyel riski mümkün olan minimum seviyeye indirmek için, bu ürünün üretiminden satışına kadar olan tüm aşamalarda hijyen kurallarına uyulması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Çiğ köfte, *Listeria* spp., *L. monocytogenes*

Presence of *Listeria* Species in Cig Kofte

Abstract: In this study, 50 Cig kofte samples consumed in Van were collected and investigated in respect of *Listeria* species. For *Listeria* species isolation and identification, the method recommended by USDA/FSIS (United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service) were used. 10 samples (20%) were found to be positive with to *Listeria* species; one (2%) of them was only *L.*

monocytogenes, four (8%) were only *L. innocua*, four (8%) were *L. monocytogenes* and *L. innocua* and one (2%) were *L. monocytogenes*, *L. innocua* and *L. seeligeri*.

According to this investigation, the existence of *Listeria* species, particularly *L. monocytogenes* in Cig Kofte samples examined in this paper indicated that could be public health hazard. Therefore to reduce potential risk posed by *L. monocytogenes* as possible to minimum level, good hygien practice have to be done both during production and marketing of this products.

Key words: Cig kofte, *Listeria* spp., *L. monocytogenes*

Giriş

Amerika Birleşik Devletleri'nde (Fleming ve ark., 1985; James ve ark., 1985) ve Kanada'da (Schlech ve ark., 1983) 1980'li yıllarda görülen ve ölümlerle sonuçlanan listeriozis vakalarından sonra *Listeria*'ların, özellikle de insanlarda hastalık yapan *L. monocytogenes*'in bir gıda patojeni olduğu anlaşılmış ve bu mikroorganizmanın gıdalardaki varlığı ve yaygınlığı üzerine araştırmalar artmıştır (Charlton ve ark., 1990; Da Silva ve ark., 1998; Baek ve ark., 2000; Dhanashree ve ark., 2003). *Listeria* türleri; süt ve süt ürünleri (Charlton ve ark., 1990; Da Silva ve ark., 1998; Baek ve ark., 2000), çiğ et (Johnson ve ark., 1990; Dhanashree ve ark., 2003), hazır kıyma (Buncic, 1991; Inoue ve ark., 2000), sığır eti (Inoue ve ark., 2000), sucuk (Buncic, 1991) ve salam (Steinhauserova ve Smola, 1996) gibi birçok gıdadan izole edilmişlerdir.

Çiğ köfte Türkiye'nin hemen her yerinde sevilerek tüketilen geleneksel bir et ürünüdür (Erol ve ark., 1993). Çiğ köfte, yağsız sığır kıyması ile ince öğütülmüş bulgura soğan, pul biber, sarımsak, baharat, tuz, salça ve maydanoz gibi maddelerin ilave edilmesi ve bulgur yumuşayınca kadar yoğrulduktan sonra el ile şekil verilerek tüketime hazır hale getirilmesiyle hazırlanan bir gıda maddesidir (Gençcelep ve ark., 2001a). Çiğ köfte yapımında kullanılan katkı maddelerinin miktar ve çeşidi ile kıyma ve bulgur oranı isteğe göre farklılıklar göstermekte, bu konuda bir standart bulunmamaktadır (Sağun ve ark., 2003; Gençcelep ve ark., 2001b).

Birçok araştırmacı (Arslan ve ark., 1992; Erol ve ark., 1993; Sağun ve ark., 1997; Gökten ve Tunçel, 1998), çiğ köftelerin *S. aureus*, *E. coli*, koliform ve fecal streptokoklar gibi önemli patojenleri içerdiğini, hijyenik

kalitelerinin iyi olmadığını ve halk sağlığı açısından bir tehlike oluşturabileceklerini belirtmişlerdir.

Çiğ köftelerde *Listeria*'ların varlığı üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, Van şehir merkezinde satışa sunulan Çiğ köftelerde *Listeria* türlerinin, özellikle *L. monocytogenes*'in varlığını araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Van şehir merkezinde bulunan lokanta ve seyyar satıcılardan alınan toplam 50 adet çiğ köfte materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler steril cam kaplara aseptik şartlarda alınarak soğuk zincirle laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

Örneklerden *Listeria* türlerinin izolasyonunda USDA/FSIS (United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service) tarafından önerilen metot kullanılmıştır (McClain ve Lee, 1988; Cook, 1999).

Bu amaçla *Listeria* Primary Selective Enrichment Broth'da (Oxoid CM863+Oxoid SR142) ilk zenginleştirme, Fraser Broth'da da (FB) (Oxoid CM895+Oxoid SR156) ikinci zenginleştirme yapılmıştır. İzolasyonda selektif besiyeri olarak Modified Oxford Agar (MOX) (Oxoid CM856+Oxoid SR157) kullanılmıştır. MOX Agar'da üreyen 1 mm çapında ve etrafı siyah haleli olan tipik küçük koloniler *Listeria* şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir. Her petriden tipik 5 koloni saflaştırma ve identifikasyon işlemleri için, %0.6 Yeast Extract (YE) (Oxoid L21) içeren Tryptone Soya Agar'a (TSA) (Oxoid CM131) geçilmiştir.

Listeria türlerinin identifikasyonu için TSA+YE'da üreyen kolonilere, Gram boyama, katalaz, oksidaz, SIM Medium'da (Oxoid CM435) hareket, methyl red, Voges Proskauer, nitrat redüksiyon, β -hemoliz, CAMP (*Staphylococcus aureus* + *Rhodococcus equi* ile) testleri ve ayrıca karbonhidrat fermentasyon testleri (D-mannitol, L-ramnoz, D-ksiloz, salisin ve dulsit) uygulanmıştır (Amdt ve ark., 1991; Anonymous, 1994).

Bulgular

İncelenen örneklerde tespit edilen *Listeria* türleri ve dağılımları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1: Çiğ köfte örneklerinden izole edilen *Listeria* türleri.

Örnek sayısı	<i>Listeria</i> spp.		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. innocua</i>		<i>L. monocytogenes</i> ve <i>L. innocua</i>		<i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i> ve <i>L. seeligeri</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
50	10	20	1	2	4	8	4	8	1	2

Sonuç

Çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi kullanılan kıyma ve diğer katkı maddeleri ile yakından ilgilidir. Çiğ köfteyi yapan personel, üretimde kullanılan ekipman ve kullanılan baharatlar önemli bir kontaminasyon kaynağı olabilir (Başoğlu, 1982; Arslan ve ark., 1992).

Bu çalışmada elde edilen bulgular, ülkemizde son yıllarda diğer et ve et ürünlerinde yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir. Güven ve Patır (1998), 100 adet taze kıyma örneğinde yapmış oldukları bir çalışmada, örneklerin %35'inde *Listeria* spp. %13'ünde *L. monocytogenes*, %26'sında *L. innocua*, %4'ünde ise her iki türün birlikte bulunduğunu tespit etmişlerdir. Çiftçioğlu (1992), kıymalarda yaptığı bir çalışmada %11 oranında *L. monocytogenes*, %20 oranında *L. innocua*, %1 oranında *L. ivanovii* ve %2 oranında da *L. seeligeri* tespit etmiştir. Şireli ve Erol (1999), 100 adet hazır kıyma örneğinin %97'sinde *Listeria* spp., %92'sinde *L. innocua*, %28'inde *L. monocytogenes*, %10'unda *L. murrayi*, %9'unda *L. grayi*, %3'ünde *L. seeligeri* ve %22'sinde *L. welshimeri* bulmuşlardır.

Bazı araştırmacılar (Çiftçioğlu, 1992; Güven ve Patır, 1998; Şireli ve Erol, 1999) et ve et ürünlerinde yaptıkları çalışmalarda, bu çalışmada elde edilen sonuçlarla benzer olarak *L. innocua*'yı dominant tür olarak

bulmuşlardır. Diğer araştırmalarda (Güven ve Patır, 1998; Şireli ve Erol, 1999) olduğu gibi bu çalışmada da çiğ köfte örneklerinin bazılarında aynı örnekte iki hatta üç *Listeria* türü birlikte izole edilmiştir.

Çiğ köftede *Listeria* türlerinin varlığı üzerine yapılan bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada çiğ köfte örneklerinde elde edilen bulgular, ülkemizde çeşitli et ürünleri üzerine Çiftçioğlu, 1992; Sharif ve Tunail, 1995; Güven ve Patır, 1998; Şireli ve Erol, 1999) tarafından yapılan araştırmalarda belirlenen bulgularla farklılık göstermektedir. Bu durum, incelenen örneklerin ve bu örneklerle katılan katkı maddelerinin farklı olmasına, örneklerin bileşim ve hijyenik kalitelerinin farklı olmasına, araştırmada kullanılan analiz yöntemlerinin farklı olmasına, çevresel kontaminasyonlara ve bölgesel farklılıklara bağlanabilir. Gençcelep ve ark. (2001b), çiğ köftelerde kullanılan kıyma oranının azalmasına bağlı olarak mikroorganizma sayısının düştüğünü bildirmişlerdir.

Çiğ köftenin en önemli hammaddesi olan kıymalarda *Listeria* kontaminasyonu karkas yada parça etlerden daha fazladır ve kontaminasyonun kaynağı genellikle üretim aşamasındaki bıçaklar, bıçak sapları, toprak, feçes, su, işçiler ve diğer ekipmanlardır (Roberts, 1990; Skovgard, 1998). Mezbaha ve çevresinin kontaminasyonda önemli bir kaynak olduğu, *Listeria*'ların gıda işletmelerinde ve imalathanelerinde ekipman ve malzemeye yerleştiği ve buradan gıdalara bulaşarak kontaminasyonlara neden olduğu bildirilmektedir (Steinhauserova ve Smola, 1996; Güven ve Patır, 1998).

Sonuç olarak, Van'da tüketime sunulan çiğ köftelerde *Listeria* türlerinin, özellikle de *L. monocytogenes*'in izole edilmesi bu ürünün halk sağlığı açısından bir risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, üretimden satışa kadar olan tüm aşamalarda hijyenik kurallara dikkat edilmesi, kaliteli hammadde kullanılması ve personel hijyenine özen gösterilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Amdt, G., Feier, U., Goetsch, P.H., Hamann, R., Hildebrandt, G., Weiss, U.H. (1991). Simulationsstudie Zur Auswirkung Der Laborpraxis Auf Die Mpn Schutzzung. Vet. Med. Hefte 1/197 Institut Für Veterinärmedizin Des Bundesgesundheitsamtes. In: Mangold, S., Vorkommen Und Verhalten Von Listerien In Tiefgefrorenen. Lebensmitteln., Diss. Vet. Med. F.U. Berlin.
- Anonymous. (1994). Agricultural Food Products: General Guidance For Detection of *Listeria monocytogenes*. Iso/Tc 34/Sc 9.
- Arslan A., Güven A., Saltan S., Patır B. (1992). Elazığ'da Tüketime Sunulan Çiğ Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(1): 13-18.
- Baek, S.Y., Lim, S.Y., Lee, D.H., Min, K.H., Kim, C.M. (2000). Incidence and Characterization of *Listeria monocytogenes* from Domestic and Imported Foods İn Korea. *J. Food Prot.* 63(2):186-189.
- Başoğlu, F. (1982). Gıdalarda Kullanılan Bazı Baharatların Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri ve Kontaminasyondaki Roller. *Gıda*, 1: 19-24.
- Bunčić, S. (1991). The Incidence of *Listeria monocytogenes* in Slaughtered Animals, in Meat, and in Meat Products in Yugoslavia. *Int. J. Food Microbiol.* 12: 173-180.
- Charlton, B.R., Kinde, H., Jensen, H. (1990). Environmental Survey for *Listeria* Species In California Milk Processing Plants. *J. Food Prot.* 53(3): 198-201.
- Cook, V. (1999). Isolation And Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples. In: USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook. 3rd Ed. Revision 2.
- Çiftçiöğlu, G. (1992). Kıyma, Sucuk ve Tavuk Etlerinde *L. monocytogenes*'in Mevcudiyeti Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, İ.Ü. Sağlık Bil. Enst., İstanbul.
- Da Silva, M.C.D., Hofer, E., Tibana, A. (1998). Incidence of *Listeria monocytogenes* in Cheese Produced In Rio De Jenerio, Brazil. *J. Food Prot.*, 61(3): 354-356.
- Dhanashree, B., Ottab, S.K., Karunasagarb, I., Goebelc, W., Karunasagarb, I. (2003). Incidence of *Listeria* spp. In Clinical and Food Samples in Mangalore, India. *Food Microbiol.*, 20: 447-453.
- Erol, I., Mutluer, B., Vatansever, L. (1993). A Tipi Enterotoksin Oluşturan *Staphylococcus aureus*'un Çiğ Köftede Üreme ve Toksin Oluşturma Yeteneğinin Belirlenmesi. *Gıda*, 18(5):315-318.

- Fleming, D.W., Cochi, S.L., Macdonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Helmes, M.B., Andurier, A., Breome, C.V., Reingold, A.L. (1985). Pausterized Milk as a Vehicle of Infection In an Outbreak of Listeriosis. *New Engl. J. Med.*, 312: 404-407.
- Gençcelep, H., Kurt, S., Zorba, O. (2001a). Çiğ Köftenin Bazı Duyusal Özellikleri Üzerinde İkame Maddelerinin Etkisi. *Gap Iı. Tarım Kongr. 1. Cilt*, Ed: Akın, S., Şanlıurfa, 513-518.
- Gençcelep, H., Kurt, S., Zorba, O. (2001b). Çiğ Köftenin Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerinde İkame Maddelerinin Etkisi. *Gap Iı. Tarım Kongr. 1. Cilt*, Ed: Akın, S., Şanlıurfa, 353-360.
- Goktan, D., Tuncel, G. (1998). Effect of Ingredients on Quantative Recovery of *Salmonella* in Raw Meats Balls. *Meat Sci.*, 22: 155-160.
- Güven, A., Patır, B. (1998). Elazığ İlinde Tüketime Sunulan Et ve Bazı Et Ürünlerinde *Listeria* Türlerinin Araştırılması. *Türk J. Vet. Anim. Sci.*, 22: 205-212.
- Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T., Saito, A., Yoshida, T., Terao, M., Yamamoto, S., Kumagai, S. (2000). Prevalence and Contamination Levels of *Listeria monocytogenes* in Retail Foods in Japan. *Int. J. Food Microbiol.*, 59(1-2): 73-77.
- James, S.M., Fannin, S.L., Agee, B.A., Hall, B., Parker, E., Vogt, J., Run, G., Wilhams, J., Lieb, L., Salminen, C., Pendergast, T., Werner, S.B., Chin, J. (1985). Listeriosis Outbreak Associated with Mexican Style Cheese. *California Morbidity and Mortality Weekly Report*, 34:357-359.
- Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G. (1990). Incidence of *Listeria* spp. in Retail Meat Roasts. *J. Food Sci.*, 55(2): 572-574.
- Mcclain, D., Lee, W.H. (1988). Development of USDA-FSIS Method for Isolation of *Listeria monocytogenes* From Raw Meat And Poultry. *Journal Of Association Official Analytical Chemistry*, 71: 660-664.
- Roberts, D. (1990). Sources of Infection: Food. *Lancet*, 336:858-861.
- Sağun, E., Sancak, Y.C., Durmaz, H., Akkaya, L. (1997). Van'da Tüketime Sunulan Çiğ Köftelerin Hijyenik Kaliteleri Üzerine Bir Araştırma. *Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(1): 64-67.
- Sağun, E., Alişarlı, M., Durmaz, H. (2003). Farklı Sıcaklıklarda Muhafazanın Çiğ Köftede *Staphylococcus aureus*'un Gelişimi ve Enterotoksin Üretimi Üzerine Etkisi. *Türk J. Vet. Anim Sci.*, 27: 839-845.

Schlech, W.F., Lavique, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, A.J., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., Kihl, S.H., Nicolls, E.S., Broome, C.V. (1983). Epidemic Listeriosis-Evidence for Transmission by Food. *New Engl. J. Med.*, 308: 203-206.

Sharif, A., Tunail, N. (1995). Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods of Animal Origin. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 19:329-334.

Şireli, U.T., Erol, İ. (1999). Hazır Kıymalarda *Listeria* Türlerinin Araştırılması. *Turk. J. Vet. Anim Sci.*, 23(2): 373-380.

Skovgard, N. (1998). Detection of *Listeria* Spp. in Faeces from Animals, in Feed and in Raw Food of Animal Origin. *Int. J. Food Microbiol.*, 6:229-242.

Steinhauserova, I., Smola, J. (1996). The Occurrence of *Listeria* Spp. in Meat Products in Czech Republic. Safety Of Meat "Meat For The Consumer" 42nd Icomst, Ed: K.I. Hildrum, Lillehammer, Norway. P: 6-7.

**AFYON BÖLGESİNDE ÜRETİLEN SUCUKLARDA
SALMONELLA Spp., LISTERIA Spp. ve ESHERICHIA COLI
O157:H7 DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Belgin SIRIKEN¹ Şebnem PAMUK¹ Cüneyt ÖZAKIN² Suna
GEDİKOĞLU²**

Mete EYİGÖR³

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Afyon

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji-
Bursa

³Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı-Aydın

Özet: Bu çalışma, Afyon İlinde üretilen sucukların *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 ile kontaminasyon düzeylerinin ortaya konulması amacıyla yapıldı. Bu amaçla, toplam 100 sucuk örneği analiz edildi ve pH değerleri ölçüldü. Analiz edilen toplam sucuk örneklerinin 7 (% 7)'sinden *Salmonella* spp., 9'undan ise *Listeria* spp. izole edildi. İzole edilen *Listeria* spp. tür dağılımlarından 7'sinin (% 7) *L. monocytogenes*, 1'inin (%1) *L. ivanovii*, 1'inin de (%1) *L. innocua* olduğu identifiye edildi. Yapılan serotiplendirme çalışmaları sonucu 7 *Salmonella* spp. izolatının da *Salmonella enterica* Paratypi B (1,4,12; b:1,2) olduğu, 7 *L. monocytogenes* izolatlarının ise, 3'ünün 1/2 ab, 3'ünün 5/6 ab, 1'inin ise 1/ab olduğu belirlendi. Bu sonuçların aksine, *E. coli* O157:H7 ise izole edilemedi. Örneklerin pH değerlerinin 4.8 ile 6.5 arasında değiştiği ve yalnızca 1 örneğin pH değerinin ise 7.2 olduğu saptandı. Genel trendin listeriosis ve salmonellosis olgu sayılarının artması yönünde olduğu dikkate alındığında, işletmelerde risk değerlendirilmesi ve koruyucu önlemlerin ilerletilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Güvenli sucuk üretimi amacıyla HACCP sistemi uygulanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Sucuk, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, *Esherichia coli* O157:H7

The Incidence of *Salmonella* Spp., *Listeria* Spp. and *Escherichia coli* O157:H7 Serotypes in Turkish Soudjouck, Afyon

Abstract: To survey was undertaken to determine the incidence of *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7 in soudjouck samples collected from butcher shops and markets in Afyon province, Turkey. For this purpose, a total of 100 soudjouck (heated and fermented) samples were purchased and analyzed. pH values also were measured. The presence of *Salmonella* spp. were detected in 7 (7 %) of the samples and all of the isolates were *Salmonella enterica* Paratyphi B (1,4,12; b:1,2). *Listeria* spp. was detected in 9 (9%) of the samples. Its distribution was 7 (7 %) *L. monocytogenes*, 1 (1 %) *L. ivanovii* and 1 (1%) *L. innocua*. Serological studies of *L. monocytogenes* was also carried out and as a result, 3 of *L. monocytogenes* were 1/2 ab, 3 of *L. monocytogenes* were 5/6 ab and 1 of *L. monocytogenes* was 1/ ab. In contrast to above results, *E. coli* O157:H7 did not detected all of the samples. The pH values were measured from 4.8 to 6.5 and, only one sample was 7.2. In conclusion, the general tendency towards increasing numbers of listeriosis and salmonellosis cases indicates that there are needed in risk assessment and for improved preventive measures. HACCP-based internal control could be used to improve the safety of soudjouck.

Key words: Soudjouck, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7

Giriş

Fermentasyon ve kurutma işlemi çok eski çağlardan beri etlere uygulanan muhafaza yöntemlerinden birisidir. Sucuk da bir çeşit fermente et ürünü olup, fermentasyon sırasında genelde laktik asit bakterileri gıda kaynaklı patojen bakterilerin üremelerini ve toksin salgılanmalarını kontrol etmede önemli rol oynar. Ancak, sadece fermentasyon işlemi her zaman patojen bakterileri kontrol edemeyebilir (Tüitemwong, 2002).

Listeria (Hill et al., 1995), *Salmonella* (Foster, 1991) ve *E. coli* O157:H7 (Garren et al., 1998) gibi patojen bakterilerin genelde asidik ortama adapte olabildikleri değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. USA'de 1994 yılında fermente edilmiş salamların

tüketimi sonucu *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu toplu zehirlenmeler bildirilmiştir (Tilden et al., 1996). Bu olaydan sonra genelde fermente ürünlerin patojen bakteriler tarafından güvenli gıdalar olduğu düşüncesi yıkılmıştır. Shiga-toksin *E. coli*'nin de fermente sucuk gibi asidik gıdalarda canlı kalabildiği (Glass et al., 1992), yine *E. coli* O157: H7'nin taze, kurutulmuş sucuklardan (dry sausage) ve diğer et ürünlerinden izole edildiği bildirilmiştir (Chinen et al., 2001). Ayrıca, kurutulmuş-kürlenmiş salamların da *E. coli* O157:H7 yönünden önemli bir kaynak oluşturduğu ve bu nedenle fermente sucukların *E. coli* O157:H7 yönünden bir risk oluşturabileceği endişesi mevcuttur (Tomicha et al. 1997).

Salmonella spp. tüm dünyada yaygın olan ve ekonomik öneme sahip gıda kaynaklı patojen bakterilerden bir diğeridir (Chapman et al., 2001). Sucukların *Salmonella* spp. ile % 0- % 9.1 oranında kontamine olduğu değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Mattick et al., 2002; Mousa et al., 1993; Schmidt, 1989;).

Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalardan bir diğeri ise *L. monocytogenes*'dir. Çiğ süt ve çiğ süttten yapılmış peynirler gıda kaynaklı listeriosislerden sorumlu tutulmakla beraber (Bile, 1989) kontamine et ürünleri ve pişmiş etlerin de listeriosis'e neden olabilecekleri bildirilmiştir (Farber and Peterkin, 1991; Ryser and Marth, 1991). Nitekim yapılan çalışmalarda, değişik araştırmacılar değişik tip sucuklardan bu etkeni % 3.7 ila % 20.3 oranlarında izole ettiklerini bildirmişlerdir (Gallardo et al., 1998; Noack and Jackel, 1993).

Bu çalışma Afyon'da üretilen ve değişik kasap ve marketlerde satışa sunulan sucukların *L. monocytogenes*, *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 ile kontaminasyon düzeylerini belirlemek ve sucukların tüketimi sonucu halk sağlığı açısından bir risk oluşturup oluşturmadığını ortaya koymak amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Bu araştırmada, Afyon ilinde değişik firmalar tarafından üretilen ve toplam 100 adet sucuk örneği materyal olarak kullanıldı. Sucuklar *E. coli* O157:H7 (FDA, 2001), *Listeria* spp. (FDA 2002) ve *Salmonella* spp. (A.P.H.A. 1976; Vassiliadis et al., 1978) yönünden izole ve identifiye edildi. pH'ları pH metre (WTW, Inolab Level I) ile ölçüldü.

***E. coli* O157:H7 İzolasyonu:** Bu amaçla zenginleştirme sıvısı olarak modifiye T Tryptone Soya Broth (mTSB, Oxoid, Novobiocine suppl. Sigma) ve katı agar olarak TC-SMAC Agar (Oxoid) kullanıldı. Sorbitol fermentasyonu negatif, indol pozitif, MUG-negatif, cellobiose fermentasyon-negatif koloniler değerlendirmeye alınarak, O157 ve H7 antiserumları kullanılarak serotiplendirme leri yapıldı (Denka Seiken, Tokyo, Japonya).

***Listeria spp.* ve *L. monocytogenes* İzolasyon ve İdentifikasyonu:** Bu amaçla *Listeria* Enrichment Broth (LEB – UVM Formulation, Oxoid)'da ön zenginleştirme, Fraser Broth 'da (Oxoid) selektif zenginleştirme ve katı agar olarak *Listeria* Selective Agar (Oxford Formülasyonu-Oxoid) kullanıldı. İzolasyon ve identifikasyon amacıyla Gram boyama, oksidase ve katalase testleri, hemoliz, indol, metil red, voges proskauer, nitrate redüksiyon ve hareketlilik, CAMP ve ilgili karbonhidrat testleri yapıldı. İzole ve identifiye edilen *Listeria* spp. BD BBL Crystal TM Systems (Becton, Dickinson and Company, USA) ile doğrulandı. Serotiplendirme ise ticari O ve H antiserumları kullanılarak yapıldı (Denka Seiken).

***Salmonella spp.* İzolasyonu:** Bu amaçla Tamponlanmış Peptonlu Su (Oxoid)'da ön zenginleştirme işlemi, Rappaport Vassiliadis Broth (Oxoid)'da selektif zenginleştirme işlemi ve katı agar olarak da Brilliant Gren (Modified) agar kullanıldı. Daha sonra gram boyama, biyokimyasal testler ve serolojik testler yapıldı. İzole edilen *Salmonella* spp. BD BBL Crystal TM Systems gram negative identification cards (Becton, Dickinson and Company, USA) ile doğrulandı. Serotiplendirme ise ticari O ve H antiserumları kullanılarak yapıldı (Difco).

Bulgular

Analiz edilen toplamsucuk örneklerinin 7 (% 7)'sinden *Salmonella* spp., 9'undan ise *Listeria* spp. izole edildi. İzole edilen *Listeria* spp. tür dağılımlarından 7'sinin (% 7) *L. monocytogenes*, 1'inin (% 1) *L. ivanovii*, 1'inin de (% 1) *L. innocua* olduğu identifiye edildi. Yapılan serotiplendirme çalışmaları sonucu 7 *Salmonella* spp. izolatının da *Salmonella enterica* Paratypi B (14,12;b:1,2) olduğu, 7 *L. monocytogenes* izolatlarının ise, 3'ünün 1/2 ab, 3'ünün 5/6 ab, 1'inin ise 1/ab olduğu belirlendi. Bu sonuçların aksine, *E. coli* O157:H7 ise izole edilemedi. Örneklerin pH değerlerinin 4.8 ila 6.5 arasında değiştiği ve yalnızca 1 örneğin pH değerinin ise 7.2 olduğu saptanıldı.

Sonuç

Etler, *E. coli* O157:H7 ile mezbahalarda kesim prosesi sırasında da kontamine olabilmektedir (Cutter ve Siragusa, 1994). Farklı ülkelerden çeşitli tipteki sucuklarda *Escherichia* türlerinin varlığına ilişkin pek çok çalışma bildirilmiştir (Cosansu ve Ayhan, 2000; Faith et al., 1998; Little et al., 1998; Noveir ve ark., 2000; Tomicka et al., 1997). Bu çalışma sonuçlarına paralel olarak Little et al. (1998) verocytotoxin üreten *E. coli* O157:H7'nin kuru veya yarı kuru sucuk ürünlerinde izole edemedikleri bildirilmiştir. Noveir ve ark. (2000) 'da inceledikleri 101 sucuk örneğinden yalnızca 1'inden O157 serotipini izole ettiklerini ancak bu izolatin da H7 olmadığını bildirmişlerdir.

E. coli O157:H7 dahil pek çok patojen mikroorganizma, sucukların kürlenmesi, yapımı ve depolanması sırasında tamamıyla elimine edilemezler. Bu teori diğer araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (Cosansu ve Ayhan, 2000; Faith et al., 1998; Tomicka et al., 1997). Örneğin, Faith et al. (1998) ve Tomicka et al. (1997) yaptıkları deneysel çalışmalarda sucukların fermentasyon ve kurutulması sırasında *E. coli* O157: H7'nin 1-2 log indirgendiğini bildirmişlerdir. Cosansu ve Ayhan (2000)' da yaptıkları çalışma sonucunda Türk sucuklarında *E. coli* O157:H7 sayısının fermentasyon ve kurutma sırasında 3 log'luk bir azalma gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada sucuk örneklerinde *E. coli* O157 :H7 izole edilememiştir. Glass ve ark. (1992)'ninde belirttiği gibi bu durum kullanılan etlerin çok düşük veya hiç *E. coli* O157: H7 içermemesinden kaynaklanabileceği gibi, sucuk imalatı sırasında uygulanan ısı uygulaması nedeniyle (Freeman, 1996) ya da bu etkenin izolasyonu amacıyla geleneksel kültür tekniğinin kullanılmış olmasından kaynaklanabilir (Hitchins et al., 1998).

Çeşitli sucuklarda *Salmonella* prevalansına yönelik pek çok çalışmalar mevcuttur (Little et al., 1998; Mattick et al., 2002; Schmidt, 1989). Bu çalışmalarda *Salmonella* izolasyon oranları % 0 ila % 9.1 oranlarında saptanmıştır. Bu çalışmada ise % 7 oranında bulunmuştur ve bütün izolatlar *Salmonella enterica* Paratyphi B olduğu bulunmuştur. *Salmonella* Typhi ve *Salmonella* Paratyphoid serotipleri çok şiddetli ateş ve enteritise neden olmaktadır.

Gıdalardaki *Salmonella* spp. genelde ısıya karşı rezistanslı değildir. Pişmiş ürünlerde bu etkenin var oluşu genellikle ısıl işlemin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır (Lake et al., 2002). Ancak,

Mattick et al. (2002)'un yaptıkları çalışmalarda *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT 104'ün pişirme işlemiyle yok olmadığını bildirmişlerdir.

Farklı tip sucuklarda *L. monocytogenes* %0-21 oranlarında izole edildikleri çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. (Rorvik and Vndestad, 1991; Wang and Murina, 1994; Lunden, 2004).

Johnson ve ark. (1988) yaptıkları çalışmada, sert salamların (hard salam) kurutulması ve fermentasyonu sırasında *L. monocytogenes*' in yaklaşık 1 log azaldığını bildirmişlerdir. Uyttendale ve Debevere (1999) yaptıkları çalışmada sosis ve Bacon gibi pişmiş et ürünlerinde *L. monocytogenes*' i % 4.9 oranlarında, fermente sucukta ise % 11.7 oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir. Pişmiş et ürünleri üretimi sırasında ısı işlem uygulaması dahil muhtemelen *L. monocytogenes*' i elemine ettiği ancak pişmiş et ürünlerinde bu etkenin bulunuşu muhtemelen çapraz kontaminasyondan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Afyon' da üretilen sucukların *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri ile kontamine olabilmektedir. Genel trendin listeriosis ve salmonellosis olgu sayılarının artması yönünde olduğu dikkate alındığında, işletmelerde risk değerlendirmesi ve koruyucu önlemlerin ilerletilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Güvenli sucuk üretimi amacıyla HACCP sistemi uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

American Public Health Association (A.P.H.A.), (1976) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. A.P.H.A. Inc. Washington D.C.

Bille J. (1989) Anatomy of a Foodborne Listeriosis Outbreak. In: *Foodborne Listeriosis* Kampelmacher, E.H. (Eds), Behr' Verlag, Wiesbaden, Germany, Pp. 29-36.

Chapman, P. A., Ellin M., Ashton, R., (2001). Acomparison of Immunomagnetic Speration and Culture, Reveal and Vip for the Detection of *E. Coli* O157:H7 In Enricments Cultures of Naturally-contaminated Raf Beef, Lamb and Mixed Meat Products. *Lett. Appl. Microbiol.* 32: 171-175.

- Chinen, I., Tanaro, J.D., Miliwesky, E., Lound, L. H., Illemi, G., Ledri, S. Baschkier; A. Scarpin, M., Manfredi, E., Rivas M. (2001). Isolation and Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from Retail Meats in Argentina. *Food Prot.* 64:1346-1351.
- Cosansu, S., Ayhan, K. (2000) Survival of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Strain in Turkish Soudjouck During Fermentation, Drying and Storage Period. *Meat Sci.* 54, 407-411.
- Cutter, C.N., Siragusa, G.R. (1994) Efficiency of Organic Acids Against *Escherichia coli* O157:H7 Attached to Beef Carcass Tissue Using a Pilot Scale Model Washer. *J. Food Prot.* 57, 97-103.
- Faith, N.G., Parniere, N., Larson T., Lorang, T.D., Kapsar C.W., Luchansky, J.B. (1998) Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in Salami Following Conditioning of Batter, Fermentation and Drying of Sticks and Storage Of Slices. *J. Food Prot.* 61, 8377-382.
- Farber, J.M., Peterkin, P.I. (1991) *Listeria Monocytogenes*, A Food-Borne Pathogen. *Microbiol.Review.* 55, 1059-1064.
- Food& Drug Administration (FDA): *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Chapter 4. Bacteriological Analytical Manuel Online, 2001.
- Food& Drug Administration (FDA): *Listeria monocytogenes*. Chapter 10. Bacteriological Analytical Manuel Online, 2002.
- Foster, J.W. (1991) *Salmonella* Acid Shock Proteins Are Required For The Adaptive Acid Tolerance Responce. *J. Bacteriol.* 173, 6896-6902.
- Gallarda, C. S., Sinde, E., Andres, A., Abad, D., Rodriquez, L.A., (1998) Microbial Population Associated to Different Types of Sausages. *Alimenteria*, 294, 35-38.
- Garren, D.M., Harrison, M.A., Russel, S.M., (1998) Acid Tolerance and Acid Shock Response of *Escherichia coli* O157:H7 and Non-O157:H7 Isolates Provide Cross Protection to Sodium Lactate and Sodium Chloride. *J. Food Prot.* 31. 158-161.
- Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P., Doyle, M.P., (1992). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as Affected By P Hor Sodium Chloride and in Fermented, Dry Sausage. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2513-2516.
- Hill, C., O'driscoll, B., Booth, I. (1995) Acid Adaptation and Food Poising Microorganisms. *Int. Food Microbiol.* 28, 245-254.

Hitchins, A.D. Feng, P., Watkins, W.D., Ripley, S.R., Chandler, L.A.(1998) *Escherichia coli* and Coliform Bacteria. In: Bacteriological Analytical Manual (8th Ed. Revision A), Pp. 4.01-4.29. Gaithersburg: Aoac International.

Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G., Schoeni, J.L., (1988) Fate of *Listeria monocytogenes* in Tissue of Experimentally Infected Cattle and in Hard Salami. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 497-501.

Kroll, R.G., Patchett, R.A., (1992) Induced Acid Tolerance in *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 14, 224-227.

Lake, R., Hudson, A., Cressey, P., (2002) Risk Profile: *Salmonella* (Non Typhoid) in Poultry (Whole And Pieces). Institute of Environmental Science&Research Limited Christchurch Science Centre. Prepared As Part of a New Zealand Food Safety Authority Contract for Scientific Services.

Little, C.L., Monsey, H.A., Nichols G.L., Louvois, J.(1998) The Microbiological Quality of Ready to Eat Dried and Fermented Meat and Meat Product. *Int. J. Environ. Health Res.* 8, 277-284.

Lunden, J. (2004) Persistent *Listeria monocytogenes* Contamination in Food Processing Plants. Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki. Isbn 952-90-1507-1 (Pdf), Helsinki, 2004.

Mattick, K.L., Bailey, R.A., Jorgensen, F., Humphrey, T.J., (2002) The Prevalence and Number of *Salmonella* in Sausages and Their Destruction by Frying, Grilling or Barbecuing. *J. Appl. Microbiol.* 93, 541-547.

Noack, D.J., Jockel, J. (1993) *Listeria monocytogenes*, Its Occurrence and Significance in Meat and Meat Products, and the Application of Detection Procedures. *Fleischwirtschaft*, 73, 581-584.

Noveir, M.R., Dogan, H.B., Halkman, A.K., (2000) A Note of *Escherichia coli* O157:H7 Serotype in Turkish Meat Products. *Meat Sci.* 56, 331-335.

Rorvik Vndestad, (1991) *Listeria monocytogenes* in Foods in Norway. *Int. J. Food Microbiol.* 13, 97-104.

Ryser, E.T., Marth, E.H., (1991) *Listeria*, Listerosis and Food Safety. University of Wisconsin, New York, 632p.

Schmidt, U. (1989) Salmonellen In Fein Zerkleinerten Bratwürsten. *Fleischwirtschaft*, 69, 1251-1257.

Tilden, J.Jr., Young, W., Mcnamara, A.M., Custer, C., Boosel, B., Lambert-Fair, M.A., Majkoeski, J., Vugia, D., Werner, S.B., Hollingsworth, J., Morris, J.G.Jr. (1996) A New Route of Transmission For *Escherichia Coli*: Infection from Dry Fermented Salami. *American Journal Public Health*, 86, 1142-5.

Tomicka, A., Chen, J., Barbut, S., Griffith, M.W. (1997) Survival of Bioluminescent *Escherichia coli* O157:H7 in a Model System Representing Fermented Sausage Production. *J. Food Protect.* 60, 1487-1492.

Tuitemwong, P., Osiriphun, S., Pangpoolponsak, A., Tuitemwong, K.(2002). Quantitative Risk Assesment of *Salmonella* spp. in Fermented Pork Sausage (Nham). [Http://Plantpro.Doe.go.th/Worldfermentedfood/P13-Tuitemwong](http://Plantpro.Doe.go.th/Worldfermentedfood/P13-Tuitemwong). Erişim Tarihi: 22.11.2003.

Uyttendaele, M., Debevere J. (1999) Incidence of *Listeria monocytogenes* in Different Types of Meat Products on the Belgian Retail Market. *Int J. Food Microbiol.*, 53, 75-80.

Vassiliadis, P., Trichopoulos, D., Pateraki, Papaiconomou, N. (1978) Isolation of *Salmonella* From Minced Meat by the Use of a New Procedure of Enrichment. *Zentralbl Bakteriologie [Orig B]*, 166, 81-86.

Wang And Muriana. P.M. (1994) Incidence of *Listeria monocytogenes* in Packages of Retail Franks *J. Food Prot.*, 57, 382-386.

AFYON BÖLGESİNDE TÜKETİME SUNULAN SUCUKLARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ VE NİTRAT- NİTRİT KALINTISI YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI

**Belgin SIRIKEN¹ Mehmet ÖZDEMİR² Hidayet YAVUZ²
Şebnem PAMUK¹**

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Afyon

² Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı-Afyon

Özet: Bu çalışma, Afyon ilinde değişik firmalarca üretilen toplam 100 adet sucuk örneği, mikrobiyolojik, nitrat ve nitrit kalıntısı ile pH yönünden analiz edilmiştir. Mikrobiyolojik analiz bulguları çerçevesinde; aerob mezofil genel canlı sayısının %73'ü $\geq 10^7$ k.o.b/g'in üzerinde ve %20'sinin ise 10^9 - 10^{10} k.o.b/g arasında; laktobasillerin %73'ü $\geq 10^6$ k.o.b/g ve % 40'ının $\geq 10^8$ k.o.b/g; mikrokok ve stafilocokların %23'ü $\geq 10^6$ k.o.b/g; enterobakterlerin %15'i $\geq 10^4$ k.o.b/g; koliformların %11'i 10^4 k.o.b/g düzeylerinde; *E. coli* % 5; enterokokların %41'i $\geq 10^4$ k.o.b/g ve maya ve küf sayılarının ise % 17'si $\geq 10^4$ k.o.b/g düzeylerinde seyrettiği görülmüştür. Koagulaz pozitif stafilocoklar 9 (%9) sucuk örneğinde 10^2 - 10^3 k.o.b/g düzeylerinde bulunurken, analiz edilen sucuk örneklerinin hiç birisinden *B. cereus* ve sülfid indirgeyen anaerob bakteriler izole edilememiştir. Sucuk örneklerinin pH yönünden % 32'sinin, % 18'inin nitrat, %11'inin ise nitrit kalıntısı yönünden Türk Gıda Kodeksine uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Sucuk, mikrobiyoloji, rezidü, nitrat, nitrit

Microbiological Quality and Residue of Nitrate / Nitrite Levels in Consumed Soudjoucks in Afyon Province

Abstract: In this study, a total of 100 soudjouck (heated and fermented) samples were purchased from butcher shops and retail markets, in Afyon province. The results of the microbiological analysis of the soudjouck samples; the numbers of APC was found to be $\geq 10^7$ cfu/g in 73 % and 10^9 between 10^{10} cfu/g in 20%. 40% of the samples contained $\geq 10^8$ cfu/g lactobacilli, 23 % $\geq 10^6$ cfu/g micrococci/staphylococci, 15% $\geq 10^4$ cfu/g enterobacteriaceae, 10^7 cfu/g in 11% coliforms, 41 % $\geq 10^4$ enterococci and 17% 10^4 cfu yeast and mould. Coagulase positive staphylococci were 10^2 - 10^3 cfu/g in 9 (9%) of the samples. In contrast to above results, *B. cereus* and sulphite-reducing anaerobic bacteria did not detected all of the samples. The pH value is measured from 4.8 to 6.5 and, only one sample was 7.2. The pH values of 32 % samples was >5.8 . We found that residual level of natrate and nitrite found to be over of 18 % of samples, and sodium nitrite was also found to be over of 11 % of samples according to the regulations permitting.

In conclusion, the results indicate that, the microbiological quality of the soudjouck samples analysed unsatisfactory, and the product could be an important cause of food poisoning. In addition, residual nitrate and nitrit level are over according to the regulations permitting.

Key words: Suodjouck, microbiology, residue, nitrate, nitrite

Giriş

Hijyenik yönden kaliteli sucuk üretimi, başta et, yağ, baharat olmak üzere kullanılan ham materyalin ve sucuğa katılan diğer maddeler ile dolum yapıldığı bağırsağın minimum düzeyde mikroorganizma içermesi ve işletmede asgari hijyenik kuralların yerine getirilmesi gibi bir çok faktöre bağlıdır. Hijyenik şartlarda sucuk üretiminin yanı sıra, teknoloji gereği katılan nitrat/nitritlerin son ürünlerdeki kalıntı miktarı da halk sağlığı açısından önemlidir (El-Gohary, 1994; Johnston and Tompkin, 1992; Von-Holey et al., 1992).

Sucukların olgunlaştırılmaları sırasında gerçekleşen fermentasyon ile uygulanan ısı işlemi, ayrıca katılan tuz, nitrat ve nitrit gibi kürlenme ajanları, diğer etkilerinin yanı sıra üründe mikrobiyel redüksiyona neden olabilmekte ve ürünün raf ömrünü uzatabilmektedir (Rahkonen and Kaitala, 1993). Ancak, uygulanan ısı işlemi veya gerçekleşen fermentasyona rağmen, *S. aureus* (Wirth, 1986), bazı *Salmonella* serotipleri, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *E. coli* O157: H7, enterokoklar, sülfid indirgeyen anaeroblar, *B. cereus*, maya-küf gibi mikroorganizmalar varlıklarını sürdürebilmektedir. Ürünler ayrıca, üretim sonrası bu bakteriler ile sekonder kontaminasyona da maruz kalabilmektedir (Johnston and Tompkin, 1992; Prior and Badenhorst, 1974). Uygun olmayan muhafaza koşulları da bakteri üremesini destekleyen diğer bir etmendir. İşte bu nedenlerden dolayı bu ürünler gıda kaynaklı infeksiyon ve intoksikasyona neden olabilen et ürünleri kapsamında yer almaktadır (Johnston and Tompkin, 1992; Labbe and Harmon, 1992). Değişik araştırmacılar, çalışmalarında bu mikroorganizmaları %1-64 oranlarında izole ettiklerini bildirmişlerdir (Baran and Stevenson, 1975; Cheville et al., 1996; El-Gohary, 1994; Erol, 1999; Prior and Badenhorst, 1974; Vernozy-Rozand et al., 1997; Von-Holey et al., 1992).

Üretimde kürlenme etkisinin çabuk oluşması ve ekstra nitrit kaynağı sağlanması bakımından, nitrat ve nitritin birlikte kullanımı tercih edilmektedir. (Kramlich et al., 1980). Et ürünleri imalatı sırasında katılan nitrat ve nitrit, ürünlerde parlak kırmızı bir renk, sabit tat ve koku, aroma, antioksidan ve antibakteriyel etkiler oluşturmaktadır. Az kullanılması üründe renk hataları ile mikrobiyel bozulmalara neden olurken (Bayraktar et al., 1998; Toth, 1983), fazla kullanılması da insan sağlığını (karsinogenik nitrozaminler, mutajenik ve teratojenik etki) tehdit etmekte ve hatta ölüme neden olabilmektedir (Baran and Stevenson, 1975; Borchert and Cassens, 1998; Şanlı ve Kaya, 1988).

Bu çalışma, Afyon ilinde üretilen ısı işlemi görmüş birinci sınıf sucukların mikrobiyolojik kalitesini ortaya koymak ve kalıntı nitrat-nitrit miktarlarını saptamak suretiyle, bu sucukların tüketilmesi sonucu halk sağlığını tehdit eden patojen mikroorganizmalar ile kalıntı nitrat-nitrit yönünden potansiyel bir tehlike oluşturup oluşturmadığını ortaya koymak amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırmada, Afyon ilinde değişik firmalar tarafından üretilen ve tüketime sunulan toplam 100 adet birinci sınıf sucuk rneği materyal olarak kullanıldı.

Mikrobiyolojik Analizler: Her bir sucuk rneği, aseptik şartlar altında steril poşetlere 10'ar g tartılarak, 90'ar ml Peptonlu Su (Oxoid) ile 1-2 dakika süre ile homojenize edildi ve her bir örnekten 10^{-7} 'ye kadar hazırlanan desimal dilasyonlardan (% 0.1 peptonlu su ile) aerob mezofil genel canlı (Baumgart, 1986), laktobasil, mikrokok/stafilokok (De Waart et al., 1968), enterobakteri, koliform, enterokok (Baumgart, 1986), ve maya-küf izolasyonu damla plak yöntemleriyle, *B. cereus*, sülfit indirgeyen anaerob bakteri sayıları için ise yayma plak yöntemiyle Tablo 1'de belirtilen besiyerlerine ekimler yapıldı. Baird-Parker besiyerinde üreyen tipik ve atipik kolonilerden Coagulase Plasma EDTA (Difco 0803-46-5) ile tüpte koagulaz testi yapılarak koagulaz pozitif stafilokoklar tesbit edildi (Thatcher and Clark, 1978).

***E. coli* İzolasyonu:** Violet Red Bile Agar'da üreyen koloniler, Endo Agara ze ile ekimleri yapılarak plaklar 37 °C'de 24-48 saat süre ile inkübe edildi. Endo Agarda metalik parlaklık veren *E. coli* şüpheli kolonilerden Indol, Metil Red, Voges Proskauer ve Sitrat (IMViC) testleri yapıldı ve sonuçlar *E. coli* yönünden değerlendirildi.

Nitrat-nitrit ve pH tayini: Sucukların nitrat ve nitrit içerikleri spektrofotometre ile kolorimetrik yönteme göre ölçüldü (Sen and Donaldson, 1978; şanlı ve Kaya, 1988). Sucukların değişik noktalarından pH ölçümü pH metre ile (WTW-Inolab Level I) llerek, ortalama pH değeri alındı.

Bulgular

Analiz bulguları çerçevesinde; aerob mezofil genel canlı sayısının %73' $\geq 10^7$ kob/g 'ın üzerinde ve %20'sinin ise 10^9 - 10^{10} kob/g arasında; laktobasillerin %73' $\geq 10^6$ kob/g ve % 40'ının $\geq 10^8$ kob/g; mikrokok ve stafilokokların %23' $\geq 10^6$ kob/g; enterobakterlerin % 15'i $\geq 10^4$ kob/g; koliformların %11'i 10^4 kob/g düzeylerinde; enterokokların % 41'i $\geq 10^4$ kob/g ve maya ve küf sayılarının ise %17'si $\geq 10^4$ kob/g düzeylerinde seyrettiği bulunmuştur. Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalardan; *E. coli* 5 (%5) sucuk

örneğinde, koagülaz pozitif stafilokoklar 9 (%9) sucuk örneğinde 10^2 - 10^3 kob/g düzeylerinde bulunurken, analiz edilen sucuk örneklerinin hiç birisinden *B. cereus* ve sülfite indirgeyen anaerob bakteri izole edilememiştir.

pH Değerleri: pH değerlerinin 4.8 ila 6.5 arasında değiştiği ve 1 sucuk örneğinde ise 7.2 olduğu görülmektedir. Sucuk örneklerinin % 32'sinde pH değerlerinin >5.8 'in üzerinde olduğu görülmektedir.

Nitrat ve Nitrit Düzeyleri: Analiz edilen sucuk örneklerine ait sodyum nitrat ve nitrit düzeyleri Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin (1997), Gıda Katkı Maddelerinin EK-3'ünde belirtilen satış noktalarında kürlenmiş et ürünleri ve et konservelerindeki kalıntı sodyum nitrat (E 251) ve kalıntı sodyum nitrit (E 250) miktarlarının sırasıyla % 18 ve % 11 örnekte izin verilen sınırın üzerinde olduğu saptanmıştır.

Sonuç

Laktik asit fermentasyonu patojen bakterilerin üremesini ve toksin üretmelerini kontrol etmede önemli rol oynar (Tuitemwong et al., 2002). Ancak, olgunlaşma süresi ve depolama koşullarına da bağlı olmakla beraber, fermentasyon işlemi patojen bakterileri kontrol altına almada yetersiz kalabilir. Baran ve Sterenson (1975), yaptıkları deneysel çalışmalarında fermente hindi sucuklarının olgunlaştırılmaları sırasında *Salmonella*, *Cl. perfringens* ve enteropatojenik *E. coli*'nin olgunlaştırma periyodu boyunca azaldığı, ancak *S.aureus* ve enteropatojenik *E. coli*'nin fermente hindi sucuklarında canlı kaldığını bildirmişlerdir. Erol (1991), yaptığı deneysel çalışmalarında *S. carnosus* ve *S. carnosus*+*L. plantarum* starter kültürlerinin Türk fermente sucuklarının 14 günlük olgunlaştırma süresi boyunca *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* ve *Cl. perfringens* üzerine etkilerini incelemiş, ve sonuçta *S. carnosus*+*L. plantarum* 'un bazı patojen bakterileri daha fazla inhibe ettiğini bulmuştur. El-Khateid (1997) ise sucuklarda *Cl. perfringens*'si %26, koagülaz-pozitif stafilokokları %29 oranında saptamıştır. Sabioni et al., (1999), 30 taze sucuğun mikrobiyolojik analizleri sonucu, 1 sucuk örneğini $>10^6$ k.o.b./g düzeyinde *S. aureus* 'u ve *B. cereus* bakterisini ise % 82 oranında izole etdiklerini bildirmişlerdir. Little et al., (1998) toplam 2981 değişik tip sucuklardan *S. aureus*'u %0.9 kuru/yarı kuru sucuklarda $>10^2$ k.o.b./g düzeyinde saptamışlardır.

Geleneksel olarak et ürünlerine klostridiaların üremelerini önlemek amacıyla ilave edilen nitritlerin, yapılan çalışmada sadece klostridialara değil, aynı zamanda *Salmonela*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, sülfid indirgeyen anaerob bakteri izole edilememiştir. Bu durum kürlenme ajanlarından ve uygulanan ısı işlemi ve fermentasyon sonucu şekillenen pH düşüşünden kaynaklanabilir. Fermente sucuklarda şekillenen laktik asit ve ilave edilen nitratın indirgenmesi sonucu oluşan nitrit kombinasyonu gıda kaynaklı patojenlerin gelişmesini önlemede önemli bir bariyer oluşturmaktadır. Condon (1998) tarafından yapılan çalışmada, fermente sucuklarda, laktik asit ve nitrit kombinasyonun *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*'in üremesini yalnız laktik asit oluşumundan çok daha fazla engellediğini bildirmişlerdir ve 40-100 ppm nitrit ve laktik asit konsantrasyonlarının pH <5.0'da *S. typhimurium*'u inhibe ettiğini ve bu inhibisyonun bakteriyostatik olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *E. coli* 5 (%5) sucuk örneğinden izole edilmiştir.

Ülkemizde satışa sunulan sucuklarda ortalama nitrat ve nitrit düzeyleri, Ankara'da 155.87 ve 30.93 ppm (Şanlı ve Kaya 1988), Adana'da 229.87 ve 20.93 ppm (Özer ve Yağmur, 1997), Bursa'da 89.58 ve 4.94 ppm (Soyutemiz ve Özenir, 1996), Manisa'da 343.49 ve 10.53 ppm (Kayaardı, 1998) olarak bildirilmiştir. Araştırmada incelenen 89 sucuk örneğindeki nitrit miktarının Türk Gıda Kodeksine uygun limitler arasında olduğu, ancak 44.21 ppm ortalama ile Ankara, Adana, Bursa ve Manisa'da satışa sunulan sucuklardaki düzeylerden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Sonuçta, fermente sucukların olgunlaşması sırasında şekillenen asitlik ve düşük pH ve uygulanan ısıl işleminin halk sağlığını tehdit eden patojen mikroorganizmaları baskılamada yetersiz kaldığı görülmektedir. pH değerlerinin maksimum sınırdan yüksek olması, üründe yeterli fermentasyonun da şekillenemediğini göstermektedir. Bu nedenlerle, üründe standardizasyonu oluşturmak, mikrobiyel güvenceyi artırmak ve yeterli laktik asit oluşumunu sağlamak gibi olumlu etkileri nedeniyle, imalatçıları sucuk yapımında starter kültür kullanımına teşvik edilmesi gerekir. Starter kültür seçiminde de özellikle patojen mikroorganizmalar üzerine antibakteriyel etkileri kanıtlanmış laktobasil, pediokok gibi laktik asit bakteri türlerinin uygun suşlarının kullanılması önerilmektedir (Foegeding et al., 1992; Hugas et al., 1995; Lücke, 2002; Papamanoli et al., 2003). Ayrıca, sucuk imalatı sırasında kullanılan ham madde ve katkı madde

kalitelerinin kontrol edilmesi, üretimden tüketimine kadar tüm aşamalarda hijyenik tedbirlerin alınması ve HACCP (Hazard Analyses Critical Control Point) sisteminin uygulanması gerekir. Teknoloji gereği katılan nitrat ve nitrit kullanımında da kritik kontrol noktaları kapsamında ele alınması önerilmektedir.

Kaynaklar

- Baran, W. L., Stevenson, K. E. (1975). Survival of Selected Pathogens during Processing of a Fermented Turkey Sausages. *J. Food Sci.* 40: 618-620.
- Baumgart, J. (1986). Mikrobiologische Untersuchung Von Lebensmitteln. B. Behr's Verlag, Gmb&Co., Berlin Und Hamburg.
- Bayraktar, N., Gökçe, R., Ergün, Ö. (1998). Gıdalarda Nitrat Nitrit Kalıntıları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Y.Y. Ü. Sağlık Bilimler Dergisi*, 4: 95-98.
- Borchert, L.L., Cassens, R.G.(1998). Chemical Hazard Analysis For Sodium Nitrite in Meat Curing. [Http://Www.Ag.Ohio-State.Edu/%7emeatsci/Borca2.Htm](http://Www.Ag.Ohio-State.Edu/%7emeatsci/Borca2.Htm). Erişim Tarihi: 22.11.2003
- Condon, S. (1998). Enhancement of the Quality and Safety of Fermented and Other Acidified Consumer Foods Through the Interaction of Nitrite and Acid. Erişim Tarihi: 12.11. 2003.
- [Http://Www.Ucc.Ie/Acad/Faculties/Foodfac/Ncfrp/Ncfrptechnicalupdate47.Htm](http://Www.Ucc.Ie/Acad/Faculties/Foodfac/Ncfrp/Ncfrptechnicalupdate47.Htm)
- El-Gohary, A. H. (1994). Sausage and Minced Meat as a Source of Food Poising Microorganisms to Man. *Assiut Veterinary Medicine Journal*, 30(59):146-151.
- Erol, İ. (1991). Effects of Starter Cultures on Growth of Pathogenic Microorganisms In Turkish Cured Sausages. Inaugurol-Dissertation Zur Erlongung Des Grades Eines Doktors Der Veterinarmedizin On Der Freien Universität, Berlin. No: 1561, Viii+125 Pp., 21p.
- Erol, İ. (1999). Ankara'da Tüketime Sunulan Kıymalarda Salmonellaların Varlığı ve Serotip Dağılımı. *Türk J. Vet. Ani. Sci.* 23:321-326
- El-Khateid, T. (1997). Microbiological Status of Egypt Salted Meat (Bastermal And Fresh Sausages. *J. Food Safety*, 17: 141-150.
- Foegeding, P.M., Thomas, A.B., Pilkington, D.H., Klaenhammer, T.R. (1992). Enhanced Control of *Listeria monocytogenes* by in Situ-Produced Pediocin During Dry Fermented Sausage Production. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 884-890.
- Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, M.T. Monfort, J.M. (1995). Inhibition of *Listeria* in Dry Fermented Sausages By The Bacteriocinogenic *Lactobacillus Sake* Ctc494. *J. Appl. Bacteriol.*, 79: 322-330

- Johnston, R. W., Tompkin, R. B. (1992). Meat and Poultry Products. In: Compendium For The Microbiological Examination of Foods. Ed.: Vanderzant, C., Splittstaesser, D. F., 3rd Ed., Washington, Chapter 44, Pp: 821-825.
- Kayaardi, S. (1998). Manisa'da Tüketilen Sucuk, Salam, Sosislerin Bazı Kimyasal Ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi. *Y.Y. Ü. Sağlık Bilimler Dergisi*, 4:32-38.
- Kramlich, E.E., Pearson, A.M., Tauber, F.W. (1980) Processed Meats. The Avi Publis.Co., Inc., Westport, Conn.
- Labbe, R. G., Harmon, S. M. (1992). *Clostridium perfringens*. In: Compendium for the Microbiological Examination of Foods. Ed.: Vanderzant, C., Splittstaesser, D. F., 3rd Ed., Washington, Chapter 44, Pp: 623-635.
- Little, C.L., Monsey, H.A., Nichols G.L., Louvois, J. (1998). The Microbiological Quality Of Ready To Eat Dried and Fermented Meat and Meat Products. *Int. J. Environ. Healt.Res.* 8:277-284.
- Lücke, F.K. (2002). Quality and Safety Issues in Fermented Meat Products. Lecture Presented at the Meeting of the Society of Applied Microbiology (Uk) and the Estonian Society for Microbiolog on Microbiological Safety of Food, Tortu (Estonia), 10-11 May
- Özer, E.A., Yağmur, C. (1997). Adana'da Tüketime Sunulan Sucuk, Salam ve Sosislerdeki Kalıntı Nitrat ve Nitrit Miktarlarının Belirlenmesi. Gıda Mühendisliği, III. Ulusal Sempozyumu, Ankara. S: 231-236.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N. (2003). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated From Reek Dry-Fermented Sausage In Respect of Their Technological And Probiotic Properties. *Meat Science*, 65(2):859-867.
- Prior B. A., Badenhorst, L. (1974). Incidence of *Salmonella* in Some Meat Products. *South African Medical Journal*, 48:25332-2537.
- Richard, Y. (1997). Detection of *Escherichia coli* O157 In French Food Samples Using an Immunomagnetic Separation Method and the Vidaas E. coli O:157. *Lett. Appl. Microbiol.* 25: 442-446.
- Sabioni, J.G., Pedrosa Maia, A.R., Leal, J.A. (1999). Microbiological Evaluation of Fresh Sausage Sold in the City of Ouro Preto, M.G, Brazil. *Hygiene Alimentar*, 13: 110-113.
- Sen, N.P., Donaldson, B. (1978). Improved Colorimetric Method for Determining Nitrate and Nitrite in Foods. *J.A.O.A.C.*, 61: 1389-1394.
- Soyutemiz, G.E., Özenir, A. (1996). Bursa'da Tüketilen Sucuk, Salam, Sosis Ve Pastirmalardaki Kalıntı Ve Nitrit Miktarlarının Saptanması. *Gıda*. 21:471-476.

- Şanlı, Y., Kaya, S. (1988). Ankara Piyasasında Satılan Bazı İşlenmiş Et Ürünlerinin Nitrat ve Nitrit İçerikleri Üzerine Araştırmalar. A. Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, 35 (19): 24-46.
- Thatcher, F.S., Clark, D.S. (1978). Microorganisms In Foods (2 Nd Edition), University of Toronto Press Toronto-Buffalo, London.
- Toth, L. (1983). Nitrite Reaction During The Curing of Meat Products. Fleischwirth.,63:208-11.
- Tuitemwong, P., Osiriphun,S., Pangpoolponsak, A., Tutemwong, K. (2002). Quantitative Risk Assesment Of *Salmonella* Spp. in Fermented Pork Sausage (Nham). [Http://Plantpro.Doae.Go.Th/Worldfermentedfood/P13-Tuitemwong](http://Plantpro.Doae.Go.Th/Worldfermentedfood/P13-Tuitemwong). Erişim Tarihi: 22.11.2003
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (1997). Gıda Katkı Maddeleri, İkinci Bölüm. 16 Kasım 1997 Gün Ve 23172 Sayılı Resmi Gazete.
- Türk Gıda Kodeksi (2001). Et Ürünleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ.Tebliğ No: 2001/8). 17 Mart 2001 Gün Ve 24345 Sayılı Resmi Gazete.
- Von_Holey, A., Von Holzaphel, W. H., Dykes, G. A. (1992). Bacterial Population Associated Vienna Sausage Packaging. *Food Microbiol.* 9:45-53.
- Wirth, F. (1986). Curing Colour Formation and Colour Retention in Frankfurter Typ Sausages, *Fleischwirtschaft*, 66:354-358.
- Vernozy-Rozand, C., Mazuy, C., Ray-Gueniot, S., Boutrand-Loei, S., Meyrand, A., Cheville, A.M., Arnold, K.W., Buchrieser, C., Cheng, C.M., Kapsar, C.W. (1996). *Rpos* Regulation of Acid, Heat and Salt Tolerance In *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1822-1824.
- De Wart, J., Mossel, D.A. Ten Broeker, R., Van Den Moosdijk, A. (1968). Enumaration of *Staphylococcus aureus* in Foods with Special Reference to Egg-Yolk Reaction and Mannitol Negative Mutants. *J. Appl Bacteriol.*, 31: 276-285.

Tablo 1: Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları

Mikroorganizma	Besiyeri	İnk.Sıcaklığı	İnk.Süresi	İnkübasyon Koşulları
Aerob Mezofil Genel Canlı	Plate Count Agar (Oxoid, CM 325, UK)	30 °C	48-72 saat	Aerob
Laktobasil	MRS Agar (Oxoid CM 361)	30 °C	24-72 saat	Anaerob
Mikrokok ve Stafilokok	Baird Parker Agar (Oxoid CM 275, UK)	37°C	24-48 saat	Aerob
Enterobakteriler	Violet Red Bile Lactose Glucose Agar (Oxoid, CM 485, UK)	37°C	24-48 saat	Anaerob
Koliform	Violet Red Bile Agar (Oxoid CM 107)	37 °C	24-48 saat	Anaerob
<i>E. coli</i>	Endo Agar Base (Oxoid CM 479 UK)	37 °C	24-48 saat	Aerob
Enterokok	Slanetz and Bartley Medium (Oxoid CM 377)	37 °C	24-48 saat	Aerob
Bacillus cereus	Bacillus Cereus Agar Base (Oxoid CM 617, suppl. SR 99)	30 °C	24-48 saat	Aerob
Maya ve Küf	Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Oxoid CM 549, Suppl.SR 78)	25 °C	3-5 gün	Aerob
Sülfat İndirgeyen Anaerob Bakteriler	Perfringens Agar Base (Oxoid)	37 °C	24 saat	Anaerob

BAZI ET ÜRÜNLERİNDE KALINTI NİTRAT VE NİTRİT DÜZEYLERİ

Yakup Can SANCAK Kamil EKİCİ Özgür İŞLEYİCİ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Van

Özet: Bu çalışmada, Van piyasasından sağlanmış 5 firmaya ait 40 fermente sucuk ve 40 pastırmadan oluşan toplam 80 adet işlenmiş et ürününün nitrat ve nitrit içerikleri araştırıldı. Çalışmada kadmiyum kolonu ile indirgeme ve spektrofotometrik ölçüm esasına dayanan bir yöntem kullanıldı.

Gerçekleştirilen analizler sonucunda, örneklerin hepsinde nitrat ve nitrit saptandı. Sucuk ve pastırma örneklerinin nitrat içeriğinin sırasıyla 1.56 ile 553.18 ve 1.95 ile 176.19 ppm, nitrit içeriğinin ise 0.80 ile 82.13 ve 1.60 ile 49.87 ppm düzeyleri arasında değiştiği belirlendi. Et ürünü çeşidi dikkate alınarak yapılan değerlendirmeler sonunda ortalama nitrat ve nitrit içeriklerinin sırasıyla sucukta 64.06 ve 11.48 ppm, pastırmada ise 58.54 ve 12.53 ppm olduğu saptandı.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede değişik firmalara ait gruplar arasında nitrat ve nitrit değerleri açısından önemli farklılıklar bulunmuştur. Sonuç olarak, incelenen pastırma örneklerinin tamamının Türk Gıda Kodeksine uygun olduğu, ancak sucuk örneklerinin %2.5'inin nitrit, %5'inin de nitrat yönünden belirlenen limitleri aştığı belirlendi.

Anahtar kelimeler: Fermente sucuk, pastırma, nitrat, nitrit.

Nitrate and Nitrite Residue Levels in Some Meat Products

Abstract: In this study, the nitrate and nitrite contents of 40 sausage and 40 pastırma a total 80 products obtained from 5 different companies in Van were analysed. The analysed products were Turkish dry fermented sausage (40) samples, pastırma (40) samples. The analyses were carried out using a method dependent on reduction in a cadmium column and spectrophotometric measurements. It was found that both nitrate and nitrite were present in all of the samples. The results of individual sausage analyses showed that nitrate concentrations were between 1.56 and 553.18 ppm, nitrite concentrations were between 0.80 and 82.13 ppm. The results of

individual pastırma analyses showed that nitrate concentrations were between 1.95 and 176.19 ppm, nitrite concentrations were between 1.60 and 49.87 ppm. The average nitrate and nitrite concentrations were 64.06 and 11.48 ppm in Turkish dry fermented sausage and 58.54 and 12.53 ppm in pastırma.

There were significant differences between the nitrate and nitrite levels of the same types of products produced by different companies. it can be said that the nitrate 5 % and nitrite 2.5 in sausages residue levels may be hazardous for public health and all pastırma samples examined in this study are pertain to Turkish Food Codex.

Key words: Fermented sausage, pastırma, nitrate, nitrite.

Giriş

Eskiden beri nitrat ve nitritlerin sodyum yada potasyum tuzları et ürünlerinin kürlenmesinde önemli bir katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Nitrat ve nitritler, et ürünlerinde kırmızı rengin stabilizasyonu, lipidlerin oksidasyonunu önleyerek oksidatif stabiliteye katkıda bulunma ve dolayısıyla tat ve lezzet bozulmasının önüne geçme, *Clostridium botulinum* gibi patojenlerin üzerine inhibitör etki göstererek halk sağlığını koruma gibi değişik nedenlerle et ürünlerine katılmaktadır (Gray ve ark., 1981; Morries ve Tichivangona, 1985; O'Boyle ve ark., 1990; Gökarp ve ark., 1987).

Nitratın nitrite dönüşmesi insan ve hayvanlarda sindirim kanalında meydana geldiği gibi, sulu gıdalarla veya aşırı derecede mikroorganizma içeren organik maddelerle kontamine sularda da meydana gelebilir (Pirinçi ve ark., 1986; Pirinçi ve Keleştimur, 1987). İnsan ve hayvanlarda vücuda alınan nitrat ve nitrit miktarına ve kimyasal yapısına bağlı olarak akut veya kronik zehirlenmeler meydana gelebilir. Nitrit, hemoglobini methemoglobine dönüştürerek toksik etki gösterdiği gibi nitrit iyonları doğrudan damar düz kaslarının genişlemesine sebep olarak sistemik arteriyel kan basıncında düşmelere, dolaşım bozukluğu ve şoka neden olabilmektedir. Bunun dışında nitrat ve nitrit, karsinojenik etkiye sahip N-Nitroso bileşiklerinin prekürsör maddeleridir (Gray, 1979; Hotshkiss ve Cassens, 1987; Ohshima ve ark., 1989).

Türk Gıda Kodeksi'ne (Anonim, 1997) göre ısı işlemleri görmüş, kürlenmiş veya kurutulmuş et ürünlerinde kalıntı sodyum nitrit miktarının en çok 50 mg/kg, kalıntı sodyum nitrat miktarının ise en çok 250 mg/kg olabileceği belirtilmiştir. Türk Standartları Enstitüsü'ne (Anonim, 1992) göre et ürünlerine katılabilecek en

yüksek nitrat ve nitrit miktarları sırasıyla 300 ppm ve 150 ppm olarak bildirilmektedir. Ülkelere göre az çok değişmekle birlikte işlenmiş et ürünlerine 500 ppm dolaylarında sodyum nitrat, 200 ppm'e kadar sodyum nitrit yada eşdeğer bileşiklerin katılması olağan sayılmıştır (Tyczkiewicz ve Baldwin, 1986; Gray ve Randall, 1979).

Geleneksel fermente Türk sucuğu, hammadde, et ve yağ karışımına değişik oranlarda baharat ve katkı maddelerinin ilave edilmesiyle hazırlanan ve belirli koşullarda olgunlaştırıldıktan sonra tüketime sunulan değerli bir et ürünüdür (Şenol ve Nazlı, 1996). Pastırma ise çoğunlukla sığır karkaslarının belirli bölgelerinden çıkarılan etlerin, uzun ve çeşitli işlemleri kapsayan, tuzlanıp kurutma işlemlerinden sonra çemenlenmesiyle elde edilen ve ince dilimler halinde kesilerek tüketilen uzun, yassı bir et ürünüdür (Tekinşen ve Doğruer, 2000; Doğruer ve ark., 1995).

Bu çalışmada, Van piyasasında tüketime sunulan fermente Türk sucuklarında ve pastırmalarda nitrat ve nitrit düzeyleri tespit edilerek halk sağlığı için bir tehlike oluşturup oluşturmadıkları ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Van'daki market ve büfelerde satılan 5 ayrı firmaya ait üretim tarihleri farklı 40 adet fermente sucuk ve 40 adet pastırma olmak üzere toplam 80 örnek materyal olarak kullanılmıştır.

Nitrat ve nitrit düzeylerinin tespitinde İSO (International Organisation for Standardisation) tarafından et ve et ürünlerinde nitrat ve nitrit tayini için önerilen referans metotlar kullanıldı. Analizler, kadmiyum indirgeme kolonu ile indirgeme ve spektrofotometrik ölçüm esasına dayanan bir yöntemle gerçekleştirildi (Anonim, 1975a; Anonim, 1975b).

Grup ortalamaları arasındaki farkın belirlenmesi amacıyla, Duncan çoklu karşılaştırma tekniği kullanıldı (Düzgüneş ve ark., 1987).

Bulgular

Araştırma sonucunda elde edilen bulgular Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Değişik firmalara ait sucuk ve pastırma örneklerindeki nitrat ve nitrit miktarları

Sucuk Örnekleri		Nitrat (mg/kg)	Nitrit (mg/kg)	Pastırma Örnekleri		Nitrat (mg/kg)	Nitrit (mg/kg)
A	Max.	99.22	82.13	A	Max.	68.37	48.80
	Min.	3.51	5.60		Min.	1.95	8.27
	Ort.	32.71±31.07	26.33±24.10		Ort.	27.59±20.28	27.63±13.62
B	Max.	76.18	12.53	B	Max.	51.57	13.60
	Min.	1.56	2.66		Min.	5.47	2.93
	Ort.	21.63±24.85	5.96±2.90		Ort.	24.51±16.01	6.43±3.55
C	Max.	133.99	6.13	C	Max.	151.58	49.87
	Min.	21.09	2.66		Min.	23.83	11.20
	Ort.	72.56±44.14	3.63±1.16		Ort.	77.10±50.41	20.53±12.68
D	Max.	109.00	1.56	D	Max.	139.86	10.67
	Min.	6.40	0.80		Min.	25.39	1.87
	Ort.	33.15±44	2.39±1.76		Ort.	89.16±47.77	4.13±3.21
E	Max.	553.18	49.60	E	Max.	176.19	7.73
	Min.	12.11	3.73		Min.	27.74	1.60
	Ort.	160.27±190.25	19.10±13.27		Ort.	74.31±51.93	3.93±2.45
Tüm Örnekler	Max.	553.18	82.133	Tüm Örnekler	Max.	176.19	49.87
	Min.	1.56	0.80		Min.	1.95	1.60
	Ort.	64.06±100.80	11.48±15.20		Ort.	58.54±47.09	12.53±12.82

Sonuç

Et ürünlerine katılan nitrat ve nitritin büyük bir kısmı olgunlaşma esnasında yıkıma uğrayarak diğer kimyasal bileşiklere dönüşmektedir. Sucuk ve pastırma gibi işlenmiş et ürünlerinin üretiminde kullanılan nitrat ve nitritin bazı zararlı etkilerinden dolayı sınırlandırılması ve devamlı kontrol altında tutulması gereklidir (Gray ve ark., 1979; Yıldırım, 1979). Nitritler vücutta mevcut sekonder aminlerle reaksiyona girerek kanserojenik etkili nitrozaminleri oluşturur (Gökalp, 1984; Kaplan ve ark., 1990).

İncelenen ürünlerin tamamında nitrat ve nitrite rastlanmıştır olup, Tablo 1.'de de görüldüğü gibi, sucuk ve pastırma örneklerinin nitrit düzeyinin sırasıyla 0.80 ile 82.13 ppm arasında ortalama 11.48 ppm ve 1.60 ile 49.87 ppm arasında ortalama 12.53 ppm, nitrat düzeyinin ise 1.56 ile 553.18 ppm arasında ortalama 64.06 ppm ve 1.95 ile 176.19 ppm arasında ortalama 58.54 ppm olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada incelenen sucuk örneklerinden sadece 1'i (%2.5) Türk Gıda

Kodeksi Yönetmeliği'nde (Anonim, 1997) verilen limitin (50 mg/kg) üzerinde kalıntı nitrit içerirken, 2'si (%5) verilen limitten (250 mg/kg) daha fazla kalıntı nitrat içermektedir. Pastırma örneklerinin ise tamamının kodekste verilen limitlere uygun düzeyde kalıntı nitrat ve nitrit içerdikleri belirlenmiştir. Aksu ve Kaya (2001), Erzurum'da satılan pastırmalarda kalıntı nitrit miktarını 0.93 ile 11.59 ppm arasında, kalıntı nitrat miktarını ise 39.35 ile 522.35 ppm arasında bulmuşlardır. Pastırma örneklerinde elde ettiğimiz nitrit bulguları Aksu ve Kaya'nın belirttiği değerlerden daha yüksek nitrat değerleri ise daha düşüktür. Servi (1993), Elazığ'da tüketime sunulan sucuklarda nitrat düzeylerini ortalama 58.3 ppm, nitrit düzeylerini ise ortalama 59.7 ppm, pastırmalarda ise nitrat düzeyini ortalama 33.6 ppm, nitrit düzeyini ise ortalama 28 ppm olarak tespit etmiştir. Elde ettiğimiz nitrit sonuçları Servi'nin sonuçlarından daha düşük nitrat düzeyleri ise daha yüksektir. Kayaardı (1998) sucuk örneklerinde ortalama olarak nitrat ve nitrit düzeylerini sırasıyla 343.49 ve 10.53 ppm olarak tespit etmiştir. Çalışmada sucuk örneklerinde elde edilen sonuçlar Kayaardı'nın tespit ettiği nitrat değerlerinden daha düşük, nitrit değerlerinden ise yüksektir. El-Khateib ve ark. (1987) Batı Almanya'da üretilen ve Türkiye'den getirilen 16 pastırma örneği üzerinde yaptıkları bir çalışmada ortalama nitrit düzeyini 12 ppm, nitrat düzeyini de 400 ppm olarak bulmuşlardır. Pastırma örneklerindeki nitrit düzeyleri El-Khateib ve ark.'nın bulduğu değerlerle benzer nitrat ise daha düşüktür. Şanlı ve ark. (1988) ise Ankara piyasasında yaptıkları bir çalışmada, sucuk örneklerinde nitrat miktarını 155.87 ppm, nitrit miktarını 30.93 ppm olarak saptarken, pastırma örneklerinde ise nitrat miktarını 79.79 ppm, nitrit miktarını da 28.62 ppm olarak belirlemişlerdir. Şanlı ve ark.'nın sucukta ve pastırmada tespit ettikleri nitrat ve nitrit değerleri bizim sonuçlarımızdan daha yüksektir. Bulunan sonuçların farklı olması firmalara göre standart bir üretimin olmamasından kaynaklanabilir.

Yapılan istatistiksel analizlerde, sucuk ve pastırma örneklerinin ortalama nitrat ve nitrit içerikleri bakımından firmalar arasında $P < 0.05$ düzeyinde önemli bir fark bulundu. Örneklerin nitrat ve nitrit içeriklerinin birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermesi, ürünlere farklı oranlarda nitrat ve nitrit katılmasından ve üretim yapan firmaların standart bir üretim yapmamasından kaynaklanabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde pastırma örneklerinin tamamının Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olduğu ancak, sucuk örneklerinden %2.5'nin nitrit, % 5'nin de nitrat yönünden belirlenen limitleri aştığı tespit edilmiştir. Standartlara

uygun olmayan sucuk örneklerinin oranının düşük olmasına rağmen, et ürünlerinde standartlarda belirtilen limitlerin üzerinden bulunan nitrat ve nitritten kanserojenik etkili nitrozaminlerin oluşabileceği düşünüldüğünde halk sağlığı açısından tehlike arz edebileceği kanısına varıldı. Bundan dolayı, bu konuda üreticilerin uyarılması ve denetimlerin sıklaştırılması halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

Aksu, M.İ., Kaya, M. (2001). Erzurum Piyasasında Tüketime Sunulan Pastırmaların Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. *Türk J. Vet. Anim. Sci.*, 25:319-326.

Anonim. (1992). Türk Sucuğu, Ts 1070, Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad., No:112, Ankara.

Anonim. (1997): Türk Gıda Kodeksi. T.C. Resmi Gazete. Sayı 23172, S.44. Başbakanlık, Ankara.

Anonymous. (1975). International Standart Organisation (Iso). Meat and Meat Products. Determination of Nitrate Content (Reference Method). Iso 3091, Udc 637.5: 546.175.

Anonymous. (1975). International Standart Organisation (Iso). Meat and Meat Products. Determination of Nitrite Content (Reference Method). Iso 2918, Udc 637.5: 546.17..

Doğruer, Y., Gürbüz, Ü., Nizamlioğlu, M. (1995). Konya'da Tüketime Sunulan Pastırmaların Kalitesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi.*, 11(2):77-81.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavucu, O., Gürbüz, F. (1987). Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik Metodları 2) A.Ü.Zır.Fak.Yayın No : 1021, S:381, Ankara

El-Khateib, T., Schmidt, U., Leistner, L. (1987). Mikrobiologische Stabilität Von Türkischer Pastirma. *Fleischwirtschaft*, 67 (1) : 101-105

Gökalp, H, Y. (1984). N-Nitroso Bileşikleri, Kanserojenik Etkileri, Çeşitli Gıdaların N-Nitrosamin İçerikleri Ve Çeşitli Kaynaklardan Bünyeye Alınan N-Nitrosamin Miktarları. *Gıda*, 6:317-324.

Gökalp, H.Y., Yetim, H., Kaya, M. (1987). İnsan Bünyesine Alınan Nitrat Nitrit Miktarları Ve Kaynakları Aminler Ve Çeşitli Gıdaları Amin İçerikleri. *Et Balık Endüstrisi Dergisi.*, 8(49):12-18.

Gray, J. I., Macdonal, B., Pearson, M. A., Marton, I. D. (1981). Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: A Rewiev. *J. Food Prot.*, 44, (4):302-312.

Gray, J.I., Irwine, D.M., Kakuda, Y. (1979). Nitrate and Nitrozamine in Cheese. *J. Food Prot.* 42(3):263-272.

Gray, J.I., Randall, C.J. (1979). The Nitrite;N-Nitrosamine Problem İn Meats: An Update. *J. Food Prot.* 42(2): 168-179.

Hotchkiss, J. H., Cassens, R. G. (1987). Nitrate Nitrite and Nitrosocoupounds in Foods. *Fleischwirtschaft*, 37 (4) : 127-134.

Kaplan, A. Smith, C. Promnitz, D.A., Joffe, B.I., Seftel, H.C. (1990). Methaemoglobinaemia due to Accidental Sodium Nitrite Poisoning. *South American Medical Journal*, 77:300-301.

Kayaardı, S., (1998). Manisada Tüketilen Sucuk, Salam, Sosislerin Bazı Kimyasal ve Mikrobiolojik Özelliklerinin İncelenmesi. *Y.Y.Ü Sağlık Bilimleri Dergisi*,4 (1-2): 32-38.

Morries, P. A., Tichivangona, J. Z. (1985). The Anioxidant Activities of Nitrite and Nitrosylmyoglobin in Cooked Meats. *Meat Sci.*, 14:175-190.

O'boyle, A.R., Rubin, L.J., Diosady, L.L., Aladin-Kassam, N., Comer, F., Brightwell, W. (1990). A Nitrite-Free Curing System and Its Application to the Production of Wieners. *Food Technol.* Mayıs 1990:88-104.

Ohshima, H., Furihata, C., Matsushima, I., Bartsch, H. (1989). Evidence of Potential Tumour-Initiating and Tumour-Promoting Activities of Hickory Smoke Condensate When Give Alone or With Nitrite to Rats. *Food Chemical Toxicology*, 27(8):511-516.

Pirinççi, İ. , Keleştimur, H. (1987). Koyunlarda Nitrat Ve Nitrit Zehirlenmesi Üzerine Deneysel Çalışmalar. *Doğa Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi*, 11 (3): 255-265.

Pirinççi, İ., Acet, A., Batı, B. (1986). Sucuklarda N-Nitrozamin Bileşiklerinin Az Kromatografik Yöntemle Tayin Edilmesi. *S.Ü Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2 (1):75-89.

Servi, K. (1993). Elazığ Bölgesinde Tüketime Sunulan Et Ve Süt Ürünlerinden Nitrat ve Nitrit Düzeylerinin Belirlenmesi. *F.Ü Sağlık Bilimleri Dergisi*,7:101-116.

Şanlı, Y., Kaya, S. (1988) Ankara Piyasasında Satılan Bazı İşlenmiş Et Ürünlerinin Nitrat ve Nitrit İçerikleri Üzerine Araştırmalar. *A. Ü Veteriner Fakültesi Dergisi*, 35(1): 24-46.

Şenol, A., Nazlı, B. (1996). Fermente Sucuklarda Bozulmalara Neden Olan Faktörlerin Tespiti Üzerine Araştırmalar. *İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(2): 355-370.

Tekinşen, O.C., Doğruer, Y. (2000). Her Yönüyle Pastırma. Selçuk Üniv. Basımevi. Konya. Sh: 5-6.

Tyszkiewicz, I., Baldwin, Z. (1986). Sensoric and Chemical Limits in Lowering the Dose of Sodium Nitrite in the Process of Pork Curing. *Die Nahrung*, 30(2): 141-145.

Yıldırım, Y. (1979). Nitrat ve Nitritin Et Ürünlerine Katılma Oranlarının Sınırlandırılması. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Dergisi*, 2 (1): 71-76.

**ESCHERICHIA COLI O157'NİN İZOLASYONUNDA SALİSİN-
RAMNOZ-SELLOBİYOZ-4-METİLUMBELLİFERİL- β -D
GLUKURONİT-SORBİTOL MACCONKEY (SRC-MUG-
SMAC) AYIRICI AGARIN KULLANILMASI**

**Murat GÜLMEZ Leyla VATANSEVER Abamüslüm
GÜVEN
Berna DUMAN Çiğdem SEZER**

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Kars

Özet: Bu çalışmada, *E. coli* O157 suşlarının izolasyonunda başarıyla kullanılabilir bir yöntem araştırıldı. Bu amaç için, 8 referans suşa paralel olarak gıda örneklerine (beyaz peynir, çiğ süt ve kıyma) ait ilk izolasyon besi yerinden (sefiksim-tellurit (CT) içeren sorbitol MacConkey agar, CT-SMAC) seçilen 1130 tipik koloni bir tek yöntemle izole edilmeye çalışıldı. Salisin (S), ramnoz (R), sellobiyoz (C) ve MUG içeren ayırıcı agar (SRC-MUG-SMAC) plaklarının 42 °C'de 6 saat inkübasyonundan sonra, 1130 suşun sadece 47 (4,15%)'sinin tipik *E. coli* O157 özelliğinde ürediği gözlemlendi. İleri izolasyon için başka biyokimyasal teste ihtiyaç duyulmadı. Koloni seçim aşamasında tek bir ayırıcı agar plağının kullanılmasının ilk izolasyon katı besi yerlerine karbonhidratların ve MUG'un katılmasına kıyasla oldukça avantajlı olduğu görüldü. Sonuç olarak, *E. coli* O157 izolasyonunda MUG ile birlikte suşun fermente edemediği 3 veya daha fazla karbonhidrat içeren bir ayırıcı agar plağı kullanmanın hızlı, kolay, doğrulayıcı ve ucuz olması nedeniyle özellikle rutin tarama laboratuvarları için ideal olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar sözcükler: *E. coli* O157, salisin, ramnoz, sellobiyoz, MUG.

**Use of Salicin-Rhamnose-Cellobiose-4-Methylumbelliferyl- β -D
Glucuronide-Sorbitol Macconkey (Src-Mug-Smac) Differential
Agar for the Isolation of
Escherichia coli O157**

Abstract: In this study, a differential agar procedure for the further detection of presumptive *E. coli* O157 strains among typical sorbitol negative and Cefixime-tellurite resistant strains has been investigated. For this purpose, in parallel to 8 reference strains, 1130 other strains picked from the surface of cefixime-tellurite (CT)-sorbitol MacConkey (SMAC) (CT-SMAC) agar plates of food samples (white cheese, raw milk and ground beef) were transferred to the differential agar plates. After a 6 h incubation period at 42 °C, only 47 (4.15%) of the 1130 colonies appeared as typical as *E. coli* O157 on differential agar plates (100X15 mm) including salicin (S), rhamnose (R), cellobiose (C) and MUG (SRC-MUG-SMAC), gridded into 25 numbered sections. When violet red bile lactose agar (VL) was used in the same manner as SRC-MUG-SMAC, only 16 (1.41%) of the 1130 colonies remained as typical. In this procedure, no more biochemical tests required for further isolation. Use of only a single differential agar plate rapidly after colony selection step appeared to have many advantages than addition of the carbohydrates and MUG to primary isolation media. As a result, the testing presumptive *E. coli* O157 colonies by using a differential agar plate including MUG and three or more sugars that are not fermented by the organism, is a rapid, easy, precise and inexpensive isolation procedure, especially ideal use in routine screening laboratories.

Key words: *E. coli* O157, salicin, rhamnose, cellobiose, MUG.

Giriş

Özellikle kontamine sığır kıymalarının sorumlu olduğu gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan *Escherichia coli* O157:H7 tüm dünyada önemli gıda güvenliği sorunlarına neden olmaktadır (MacRae ve ark., 1997). Gıda endüstrisi bu patojenin ürünlerinde rutin olarak araştırılması için hızlı, basit, ucuz tarama prosedürüne ihtiyaç duymaktadır (Blais ve ark., 1997). Ancak, mevcut durumda uluslar arası düzeyde kabul görmüş bir rutin metodun olmadığı bildirilmiştir (Chapman, 2000).

Sorbitol bazlı katı besi yerlerinde sorbitol pozitif ve O157 haricindeki sorbitol negatif kolonilerin yoğun üremesi nedeniyle, az fakat önemli

sayıdaki *E. coli* O157 suşlarının kültürel yöntemlerle gıdalardan izole edilmesi zordur (MacRae ve ark., 1997, Johnson MacRae ve ark., 1998, Fujisawa MacRae ve ark., 2002). Sorbitol, salisin, adonitol, inozitol, sellobiyoz ve sorboz gibi birçok karbonhidratın *E. coli* O157:H7 tarafından fermente edilemediği bildirilmiştir (Ratnam ve ark., 1988; Chapman ve ark., 1991; Hitchins ve ark., 1998; Leclercq ve ark., 2001). Ayırımı kolaylaştırmak için sorbitollü katı besi yerlerine salisin, ramnoz ve sellobiyozdan birisinin 4-metilumbelliferil- β -D glukuronit (MUG) ile birlikte, ya da tek başına katılmasının önerildiği araştırmalar mevcuttur (Thompson ve ark., 1990; Chapman ve ark., 1991; Fujisawa ve ark., 2000). Keza, MUG ve/veya ramnoz içeren sorbitol bazlı ticari katı besi yerleri üretilmektedir.

Birden fazla şekerin ilk izolasyon besi yerine katılmasının teknik ve ekonomik açıdan uygun olmadığı bildirilmiştir (Okrend ve ark., 1990; Fujisawa ve ark., 2000). Bu nedenlerden dolayı bu araştırmada, ilk izolasyon besi yerinin ardından kullanılabilecek hızlı, basit ve ucuz bir ayırıcı agar yöntemi geliştirilmeye çalışıldı.

Materyal ve Metot

Referans suşlar. Bir adet *E. coli* O157:H7 (Suş no. 937) Dr. Y. Özbaş (Hacettepe Üniversitesi) tarafından ve kendi laboratuvarımızda kıymalardan izole edilen diğer 7 *E. coli* O157:H7 suşu olmak üzere toplam 8 referans suş kullanıldı.

Besi yerleri. Çiğ sütlerin zenginleştirilmesinde novobiyosin içeren çift güçlü modifiye tripton

soya buyyon (Oxoid) (mTSBn) ve peynir örneklerinin zenginleştirilmesinde mTSBn kullanıldı (Reinders ve ark., 2002). Kıyma örneklerinin zenginleştirilmesinde Modified *E. coli* broth (mEC, Oxoid) kullanıldı. Cefixime-tellurite (CT, Oxoid) ilave edilmiş SMAC agar (Oxoid) (CT-SMAC) selektif katı besi yeri olarak kullanıldı.

Ayırıcı agar formülasyonları şu şekilde hazırlandı:

1. Salisin (S, 5 g/l, Difco)- 4-Methylumbelliferyl- β -D glucuronide (MUG, 100 mg/l, Difco)-SMAC agar (S-MUG-SMAC).
2. Ramnoz (R, 5 g/l, Sigma)-MUG-SMAC agar (R-MUG-SMAC).
3. Sellobiyoz (Cellobiose (C), 5 g/l, Sigma)-MUG-SMAC agar (C-MUG-SMAC).

4. Salisin ramnoz sellobiyoz-MUG-SMAC agar (SRC-MUG-SMAC).

5. Violet red bile lactose agar (VL, Difco).

Salisin, R, C ve MUG besi yerlerine otoklav işleminden önce, novobiyosin ve CT saplementleri ise otoklav işleminden sonra ilave edildi. VL haricindeki tüm besi yerleri 121 °C'de 15 dakika steril edildiler.

Örneklerin analizi. Toplam 298 örnek: 150 kıyma ve 90 beyaz peynir (her bir örnek 500 g) ile 58 çiğ süt (her biri 1 litre) olmak üzere Eylül-Kasım 2003 tarihleri arasında Kars ili perakende satış yerlerinden satın alınarak soğuk zincir altında 1 saat içerisinde laboratuara getirildi. Çiğ süt örneklerinin her biri steril poşetler içerisine alındıktan sonra çalkalamak suretiyle karıştırıldı ve her örnekten alınan 100 ml.'lik kısım 100 ml çift güçlü mTSBn'ye ilave edildi. Peynir ve kıyma örnekleri steril poşetleri içerisinde dıştan ovma hareketleriyle homojen hale getirildikten sonra her örnekten alınan 25 g.'lık kısım ayrı ayrı steril poşetlere alınarak her birinin üzerine 225 ml zenginleştirme besi yeri ilave edildi. Örnekler ile zenginleştirme besi yerlerinin iyice karışması sağlandıktan sonra aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu:

Ön canlandırma: 25 °C'de 2 saat inkübasyon.

Zenginleştirme: 42 °C'de 22 saat inkübasyon.

Selektif katı besi yerine ekim: zenginleştirmenin ardından her örneğin %0.85'lik steril FTS içerisinde 6 seri seyreltisi hazırlandı. Zenginleştirilmiş örneklerden ve seri seyreltilerinin her birinden 50'şer µl CT-SMAC besi yerlerine ekildi. Ekim yapılan petriker aerop ortamda 42 °C'de 16 saat inkübe edildi.

Ayırıcı testler. Şüpheli *E. coli* O157 kolonilerinin tespiti için, üreme görülen selektif katı besi yerleri (CT-SMAC)'nin üzerindeki tipik koloniler (sorbitol negatif, renksiz) arasından seçilen 5-10 koloniden her biri ayırıcı katı besi yerleri (S-MUG-SMAC, R-MUG-SMAC, C-MUG-SMAC, SRC-MUG-SMAC ve VL)'nin yüzeyine tek nokta tarzında ekildi. Böylece her bir ayırıcı besi yeri yüzeyine 2 mm'lik noktalar halinde 25 suş ekildi. Inkübasyon sonunda (41 °C'de 24 saat) tipik koloniler renksiz ve MUG negatif (366 nm UV ışık kaynağı (Merck) altında karanlık odada mavi floresan yok) ürediler.

Bulgular

İlk izolasyon besi yerlerinden (CT-SMAC) alınan toplam 1130 sorbitol negatif suşun 1083 (%95.85)'ü ayırıcı katı besi yerlerinde kırmızı renkli koloniler oluşturdıkları için, ve/veya MUG pozitif özellik gösterdikleri için kolaylıkla elimine edildiler. Salisin, ramnoz, sellobiyoz ve MUG'un aynı sorbitol bazlı ayırıcı besi yerine ilave edilmesi durumunda 1130 sorbitol negatif koloninin sadece 47 (%4.15)'si tipik özellik (renksiz ve MUG negatif) gösterdi. Laktoz test plağı (VL) bu ayırıcı katı besi yerine paralel olarak kullanıldığında (SRC-MUG-SMAC), 1130 koloninin sadece 16 (%1.41)'sı tipik *E. coli* O157 özelliği gösterdi. Tablo 1'de görüldüğü gibi, selektif katı besi yerlerinden seçilen sorbitol negatif kolonilerin elenmesinde en etkili ajan ramnoz oldu.

Her bir petride 25 koloninin test edilebilmesi sorunsuz olarak gerçekleştirildi. Her ekimin 2 mm çapında bir yüzey alanına yapılması hızlı koloni gelişimini sağladı. Bu metotla 6 saat içerisinde tipik renksiz koloniler, atipik kırmızı renkli kolonilerden kolaylıkla ayırt edilebildi ve MUG reaksiyonunun okunmasında da hiçbir sorun yaşanmadı.

Tablo 1: Çiğ süt, beyaz peynir ve kıyma örneklerine ait ilk izolasyon besi yerlerinden (CT-SMAC) seçilen şüpheli *E. coli* O157 (sorbitol negatif) suşlarının ayırıcı katı besi yerlerindeki test sonuçları.

Testler/Örnekler	Kıyma n:150	Beyaz peynir n:90	Çiğ süt n:58	TOPLAM n:298
Sorbitol negatif suş içeren örnek sayısı (%)	99 (66.00)	76 (84.44)	37 (63.79)	242 (81.20)
Test edilen toplam suş sayısı	600	368	162	1130
Laktoz pozitif suş sayısı (%)	313(52.16)	293 (79.61)	85 (52.46)	691 (61.15)
Salisin negatif suş sayısı (%)	405 (67.50)	144 (39.13)	60 (37.03)	609 (53.89)
Ramnoz negatif suş sayısı (%)	217 (36.16)	34 (9.24)	84 (51.85)	335 (29.64)
Sellobiyoz negatif suş sayısı (%)	298 (49.66)	128 (34.78)	55 (33.95)	481 (42.56)
MUG* negatif suş sayısı (%)	370 (61.66)	111 (30.16)	99 (61.11)	580 (51.32)
SRC** ve MUG negatif suş sayısı (%)	26 (4.33)	9 (2.44)	12 (7.40)	47 (4.15)
SRC ve MUG negatif, laktoz pozitif suş sayısı (%)	7 (1.16)	3 (0.81)	6 (3.70)	16 (1.41)

*: MUG; 4-metilumbelliferil-β-D glukuronit, **: SRC; salisin (S), ramnoz (R), sellobiyoz (C).

Sonuç

E. coli O157'nin izolasyonunda ve identifikasyonunda kullanılan alışlagelmiş metotlara alternatif olabilecek birçok metot vardır. Fakat, seçici ve duyarlı olmalarına rağmen bu metotlar birçok rutin tanı laboratuvarı için oldukça pahalı ve zordur (Chapman ve ark., 2000; De Boer ve Heuvelink, 2000). Oysa selektif kültür metodu basit, hızlı ve ucuz olup suşlar ticari olarak mevcut olan bir lateks test kiti ile hızlı ve güvenilir bir şekilde izolasyon tamamlanabilir. Tablo 1'deki bulgular 298 gıda örneğinden 242'sinin selektif katı besi yeri (CT-SMAC) üzerinde tipik koloni verdiğini, ve bu yöntemle seçilen en az 1130 suşa ileri izolasyon testlerinin gerekli olduğunu göstermektedir. Oysa SRC-MUG-SMAC ayırıcı besi yerinin devreye sokulması sonucunda sadece 47 suş ileri izolasyon testlerine ihtiyaç duydu. Bu sonuçlar göstermektedir ki; bu yeni teknik uygulandığında O157 ve H7 lateks aglutinasyon, mikro-identifikasyon sistemi (API test sistemi), ELISA ve PCR gibi ileri izolasyon ve identifikasyon günümüzde en geçerli kültür yöntemi (Hitchins ve ark., 1998)'nden daha az suşa uygulanacaktır. Böylece maliyet, işgücü ve zaman tasarrufu sağlanmış olacaktır.

E. coli suşlarının %95'i sorbitolü fermente eder ve %92'si de MUG'u hidrolize eder (Ratnam ve ark., 1988; Thompson ve ark., 1990; Hitchins ve ark., 1998). *E. coli* O157 suşları sorbitol, salisin, ramnoz ve sellobiyozu fermente edemediği ve MUG'u hidrolize edemediği için bu suşun izolasyonunda kullanılan ilk izolasyon katı besi yerleri olarak sorbitol ile birlikte MUG ve/veya ramnoz ilave edilerek hazırlanmış ticari besiyerleri üretilmiştir. Salisin, ramnoz ve sellobiyozun da bu besi yerlerine ilave edilmeleri gerektiği yapılan bazı araştırmalarda bildirilmiştir (Chapman ve ark., 1991; Chapman, 2000; Fujisawa ve ark., 2000; Manafi, 2000; Manafi ve ark., 2001; Fujisawa ve ark., 2002; Karakulska ve ark., 2002). Fakat bu durumda bazı olumsuzlukların meydana geleceği; en önemli sakıncanın besi yerlerinde bulunan şekerlerin O157 haricindeki diğer kontamine flora tarafından fermente edilmesi sonucunda meydana gelen asitliğin besi yerinin ve üzerinde üreyen kolonilerin renk profilini bozması olduğu bildirilmiştir (Weagant ve ark., 1995; Hammack ve ark., 1997; Johnson ve ark., 1998; Fujisawa ve ark., 2002). Hem besi yerinde meydana gelen aşırı asitliğin, hem de besi yeri üzerindeki aşırı üremenin benzer sakıncayı meydana getirdiği, bu durumda ise besi yerine ayırıcı amaçla katılan MUG gibi renk bileşiklerinden yarar elde edilemediği bildirilmektedir (Okrend ve ark., 1990; Fujisawa ve ark., 2002). Yine bu durumlar sonucunda MUG hidrolizi sonucunda meydana gelen

rengin petri içerisinde yayılacağı, ve bu durumda hangi koloninin MUG'u hidrolize ettiğinin anlaşılamayacağı bildirilmiştir (Fujisawa ve ark., 2002). Ancak yapılan bu çalışmada yukarıda belirtilen sakıncaların tümünün ortadan kalkması sağlandı. SRC-MUG-SMAC ayırıcı agar kullanarak şüpheli *E. coli* O157 kolonilerinin diğer seçilmiş sorbitol negatif koloniler arasından tespit edilmesi son derece kolay oldu. Tek bir ayırıcı besi yerine 4 farklı şeker ve MUG ilave etmenin, yine tek bir petri üzerinde 25 koloniyi bir arada test etmenin sakıncası gözlenmedi.

Patojen bakterilerin ileri izolasyonu ve identifikasyonu için, ilk izolasyon katı besi yerinden kolonilerin alınarak başka bir besi yerine aktarılması zorunludur (Hitchins ve ark., 1998; Tortorello ve ark., 1998; De Buer ve Heuvelink, 2000). Bu yöntemde hem koloni seçimi hem de *E. coli* O157 suşlarının ön tanısını sağlayacak yeterlilikteki testlerin bir tek ayırıcı besi yerinde birleştirilerek tek test haline getirilmesi iş gücü ve zaman açısından olduğu kadar ekonomik açıdan da oldukça avantajlıdır. *E. coli* suşları özellikle zenginleştirme kültürlerden katı besi yerlerine geçildiğinde bu besi yerleri üzerinde 16-18 saat sonra tipik koloniler meydana getirebilmektedirler. Bu çalışmada 16 saat selektif agar ve 6 saat ayırıcı agar inkübe edilerek, zenginleştirilmiş gıda örneklerinden 24 saat içerisinde hedef suşun seçimi ve bu suşun lateks testi gibi hızlı testlerde kullanılmaya hazır hale getirilmesi sağlanmış oldu.

Bazı ramnoz ve/veya MUG pozitif *E. coli* O157 suşlarının bulunduğu bildirilmiştir (Gunzer ve ark., 1992; Hayes ve ark., 1995; Colombo ve ark., 1998; Ikeda ve ark., 2001; Leclercq ve ark., 2001). Bir başka çalışmada ise, O serogrubundan bazı suşlar için (O103, O68) ramnoz negatif özelliğin patojeniteyi de belirleyen özellik olduğu bildirilmiştir (Camguilhem ve Milon, 1989). Bu bilgiler ışığında patojenite ile şeker fermentasyonu arasındaki ilişkinin O157 suşları için de detaylı olarak araştırılması önemli olabilir. Ayrıca ayırıcı besi yerlerine katılacak olan şeker kombinasyonunun da aranan suşa göre ve amaca göre değiştirilmesi mümkündür.

Sonuç olarak, SRC-MUG-SMAC gibi bir ayırıcı besi yerinin ilk izolasyon besi yerlerinden seçilen şüpheli *E. coli* O157 suşlarının ön izolasyonunda kullanılmasının ekonomi, işgücü ve zaman kazancı sağlayacağı, başka bir biyokimyasal teste gerek duyulmayabileceği sonucuna varıldı.

Teşekkür: Yazarlar, *E. coli* O157:H7 suşunu sağlayan Dr. Y. Özbaş'a teşekkür eder.

Kaynaklar

- Blais, B.W., Booth, R.A., Phillippe, L.M., Yamazaki, H. (1997). Effect of Temperature and Agitation on Enrichment of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Beef Using Modified EC Broth with Novobiocin. *Int. J. Food Microbiol.* 36:221-225.
- Camguilhem, R., Milon, A. (1989). Biotypes and O Serogroups of *Escherichia coli* Involved in Intestinal Infections of Weaned Rabbits: Clues to Diagnosis of Pathogenic Strains. *J. Clin. Microbiol.* 27 :743-747.
- Chapman, P.A., Siddons, C.A., Zadik, P.M., Jewes, L. (1991). An Improved Selective Medium for the Isolation of *Escherichia coli* O157. *J. Med. Microbiol.* 35:107-110.
- Chapman, P.A. (2000). Methods Available for the Detection of *Escherichia coli* O157 in Clinical, Food and Environmental Samples. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16:733-740.
- Colombo, S., Pacciarini, M.L., Fusi, P. (1998). Isolation of a New Phenotypic Variant of *E coli* O157:H7 from Food. *Vet. Record*, 142:144-145.
- De Boer, E., Heuvelink, A.E. (2000). Methods for the Detection and Isolation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 88:133-143.
- Fujisawa, T., Sata, S., Aikawa, K., Takahashi, T., Yamai, S., Shimada, T. (2000). Modification of Sorbitol Macconkey Medium Containing Cefixime and Tellurite for Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Radish Sprouts. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3117-3118.
- Fujisawa, T., Sata, S., Aikawa, K., Takahashi, T., Yamai, S., Shimada, T. (2002). Evaluation of Sorbitol-Salicin Macconkey Medium Containing Cefixime and Tellurite (Ct-Ssmac Medium) for Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Raw Vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 74:161-163.
- Gunzer, F., Bohm, H., Russmann, H., Bitzan, M., Aleksic, S., Karch, H. (1992). Molecular Detection of Sorbitol-Fermenting *Escherichia coli* O157 in Patients With Hemolytic-Uremic Syndrome. *J. Clin. Microbiol.* 30:1807-1810.
- Hammack, T.S., Feng, P., Amaguana, R.M., June, G.A., Sherrod, P.S., Andrews, W.H. (1997). Comparison of Sorbitol Macconkey and Hemorrhagic coli Agars for Recovery of *Escherichia coli* O157:H7 from Brie, Ice Cream, and Whole Milk. *J. Aoac Int.* 80:335-340.
- Hayes, P.S., Blom, K., Feng, P., Strockbine, N.A., Swaminathan, B. (1995). Isolation and Characterization of a Beta-D-Glucuronidase-Producing Strain of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 33:3347-3348.
- Hitchins, A.D., Feng, P., Watkins, W.D., Rippey, S.R., Chandler, L.A. (1998). Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Revision A, Chapter 4. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition.

- Ikedo, M., Komatsu, O., Hara-Kudo, Y., Yamamoto, S., Kumagai, S. (2001). Development of Chromogenic Agar Medium for Isolation of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O26. *Kansen. Zasshi*. 75:291-299 (Abstr.).
- Johnson, J.L., Brooke, C.L., Fristchel, S.J. (1998). Comparison of the Bax For Screening/*E. coli* 0157:H7 Method with Conventional Methods for Detection of Extremely Low Levels of *Escherichia coli* 0157:H7 in Ground Beef. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4390-4395.
- Karakulska, J. (2002). Biochemical Properties of Enterotoxic and Enterohemorrhagic *E. coli* Strains. *Med. Dosw. Mikrobiol.* 54, 215-223.
- Leclercq, A., Lambert, B., Pierard, D., Mahillon, J. (2001). Particular Biochemical Profiles for Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Isolates on the Id 32e System. *J. Clin. Microbiol.* 39 :1161-1164.
- Macrae, M., Rebate, T., Johnson, M., Ogden, I.D. (1997). The Sensitivity of *Escherichia coli* O157 to Some Antimicrobials by Conventional and Conductance Assays. *Lett. Appl. Microbiol.* 25:135-137.
- Manafi M. (2000). New Developments in Chromogenic and Fluorogenic Culture Media. *Int. J. Food Microbiol.* 60:205-218.
- Manafi, M., Kremsmaier, B. (2001). Comparative Evaluation of Different Chromogenic/Fluorogenic Media for Detecting *Escherichia coli* O157:H7 in Food. *Int. J. Food Microbiol.* 30:257-262.
- Okrend. A.J.G., Rose, B.E., Lattuada, C.P. (1990). Use Of 5-Bromo-4-Chloro-3-Indoxyl- β -D- Glucuronide in Macconkey Sorbitol Agar to Aid in the Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Ground Beef. *J. Food Prot.* 11:941-943.
- Ratnam, S., March, S.B., Ahmed, R., Bezanson, G.S., Kasatiya, S. (1988). Characterization of *Escherichia coli* Serotype O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 26:2006-2012.
- Reinders, R.D., Barna, A., Lipman, L.J., Bijker, P.G. (2002). Comparison of the Sensitivity of Manual and Automated Immunomagnetic Separation Methods for Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157:H7 in Milk. *J. Appl. Microbiol.* 92:1015-1020.
- Thompson, J.S., Hodge, D.S., Smith, D.E., Yong, Y.A. (1990): Use of Tri-Gas Incubator for Routine Culture of *Campylobacter* Species from Fecal Specimens. *J. Clin. Microbiol.* 28:2802-2803.
- Tortorello, M.L., Reineke, K.F., Stewart, D.S., Raybourne, R.B. (1998). Comparison of Methods for Determining the Presence of *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice. *J. Food Prot.* 61:1425-1430.
- Weagant, S.D., Bryant, J.L., Jinneman, K.G. (1995). An Improved Rapid Technique for Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Foods. *J. Food Prot.* 58:7-12.

PİLİÇ KESİMHANELERİNDE KESİM İŞLEMİNİN DEĞİŞİK AŞAMALARINDA *CAMPYLOBACTER JEJUNI* KONTAMİNASYONUNUN BELİRLENMESİ*

Haydar ÖZDEMİR U. Tansel ŞİRELİ İrfan EROL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Ankara

Özet: Bu çalışma, piliç etlerinin mezbaha bazında *Campylobacter jejuni* ile kontaminasyon düzeyi, kesim işleminin değişik aşamalarının kontaminasyon üzerine rolü, muhtemel kontaminasyon kaynakları ve bunun son ürünün kontaminasyonu üzerine etkisinin saptanması amacıyla yapılmıştır.

Bu çerçevede, farklı 2 piliç kesimhanesi aylık dönemler halinde 6' şar kez periyodik olarak ziyaret edilerek, kesim öncesi aşamada işaretlenen piliçlerden kesimin başlangıç ve bitişine yakın saatlerde olmak üzere kesim işleminin değişik aşamalarında toplam 528 örnek alınmıştır. Yapılan analizler sonucunda, kesim işleminin değişik aşamalarında alınan toplam 528 örneğin 79'unda (% 14.9) *C. jejuni* saptanmıştır. *C. jejuni* tüy yolma sonrası, iç organ çıkarma sonrası, soğutma tankı çıkışı ile paketlenme öncesi bütün piliç rins örneklerinde sırasıyla % 29.1, 37.5, 37.5 ve 20.8 düzeyinde saptanmıştır. Buna ilaveten tüy yolma makinesi ve işçi elleri swap örnekleriyle, soğutma tankı çıkış su örneklerinde sırasıyla % 37.5, 20.8 ve 25 düzeyinde *C. jejuni* saptanmıştır. *C. jejuni*'nin 2. işletmede bulunuş oranı (% 18.1), 1. işletmeye oranla (% 11.7) daha yüksek olup, işletmeler arasındaki bu farklılığın istatistiksel yönden de önemli olduğu ($p<0.001$) saptanmıştır. Her iki işletmeden, kesimin başlangıç döneminde alınan 264 örneğin 39'u (% 14.7), bitiş zamanına yakın dönemde alınan 264 örneğin ise 40'ında (% 15.1) *C. jejuni* saptanmış olup, kesimin başlangıcı ile bitiş zamanına yakın dönemde alınan örneklerde *C. jejuni*'nin bulunuşu arasındaki ilişkinin istatistiksel yönden önemli olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır. Benzer şekilde, mevsimsel farklılığın belirlenmesi amacıyla sıcak aylarda alınan örneklerde *C. jejuni* % 15.5, soğuk aylarda alınan örneklerde ise % 14.3 düzeyinde bulunmuş olup, mevsimsel farklılığın istatistiksel yönden önemli olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır.

* Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından VHAG-1688 (100V096) nolu proje ile desteklenmiştir

Sonuç olarak, kanatlı kesimhanelerinde kesim işleminin değişik aşamalarında özellikle tüy yolma makineleri ve iç organ çıkarma makineleri başta olmak üzere, soğutma tankları ve çalışan personelin kanatlı etlerinin *C. jejuni* ile çapraz kontaminasyonunda önemli derecede rol oynadığı saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, *C. jejuni* orijinli gıda infeksiyonlarının oluşumunda potansiyel riskli gıdaların başında yer alan kanatlı etlerinin üretiminde, kesim işleminin tüm aşamalarında gerekli hijyenik ve teknik koşullara uyulmasının önemli olduğu kanısına varılmıştır. Sağlıklı piliç eti üretiminin sağlanması için de, HACCP sisteminin kanatlı kesimhanelerinde etkin olarak uygulanmasının, halk sağlığı açısından önemli olacağı görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Piliç kesimhanesi, piliç, *C. jejuni*, kontaminasyon

Determination of *Campylobacter jejuni* Contamination at the Different Stages of Processing in Poultry Slaughterhouses

Abstract: The objectives of this study are; i) to determine the prevalence of *Campylobacter jejuni* on chicken carcasses and plant environment ii) to investigate the effect of processing stages on the contamination level of chicken carcasses and iii) to identify the potential sources of contamination.

Two different poultry slaughterhouses visited once per month during a 6 month period, totally 528 samples were collected from the chickens that were marked prior to slaughter and they were followed during the different stages of processing by the starting through the end of the work day.

C. jejuni detected in 79 of 528 (14,9 %) samples that were taken from the different stages of processing. From the samples of rinsed whole carcasses, *C. jejuni* detected in defeathering, evisceration, chilling outlet and pre-packaging stages with the rates of 29,1 %, 37,5 %, 37,5 % and 20,8 %, respectively. In addition to that defeathering machine, worker hands and water samples in chilling tank outlet were found contaminated with *C. jejuni* at the rates of 37,5 %, 20,8 %, 25,0 %, respectively.

The isolation of *C. jejuni* was higher in the second plant (18,1 %) than in the first plant (11,7 %) and the difference was statistically significant ($p < 0,001$). At the beginning of the slaughter process, 39 of 264 samples (14,7 %) taken were positive for *C. jejuni* on the other hand 40 of 264 (15,1 %) samples collected through the end of process were *C. jejuni* positive. It is found out that the sampling time was not

statistically significant ($p > 0,05$). Isolation rate and climate dependence did not show statistical significance ($p > 0,05$) in plants with the *C. jejuni* positive isolations of samples in warm months (15,5 %) and in cold months (14,3 %).

Data obtained from this study indicate that during the different stages of poultry meat processing in poultry slaughterhouses, mainly in defeathering and evisceration machines, chilling tanks and the personal hands have great importance for the cross contamination of poultry meat with *C. jejuni*. The results showed that hygienic and technical compliance is needed in all stages of poultry processing to reduce the contamination and to prevent the public health hazard. An integrated HACCP plan must be used for the prevention of *C. jejuni* infections.

Key words: Chicken slaughterhouse, chicken, *C. jejuni*, contamination

Giriş

Son yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar insanlardaki akut bakteriyel gastroenteritlerin en önemli nedeninin *Campylobacter jejuni* olduğunu, *Campylobacter* infeksiyonlarının en önemli kaynağının ise kontamine çiğ veya yetersiz pişirilmiş kanatlı eti olduğunu ortaya koymaktadır (Annan-Prah ve Janc, 1998; Anon, 1998; De Boer ve Hahne, 1990; Genigeorgis ve ark. 1986; Izat ve ark. 1988).

Evcil ve yabani sıcak kanlı hayvanların çoğu hastalık belirtileri göstermeksizin *C. jejuni*'yi taşıyarak rezervuar oluştururlar. Yapılan çalışmalarda kanatlı hayvanların % 30-100'ünün sığırların % 40-60'ının ve domuzların da % 60-80'inin bağırsaklarında etkeni taşıdıkları saptanmıştır (Berrang ve ark. 2000; Diker ve ark. 1987; Doyle ve ark. 1997).

Kanatlı kesim işlemi çok sayıda kanatlı hayvan kesim kapasitesine sahip, haşlama, tüy yolma, kloaka açma, iç organ çıkarma, soğutma ve parçalama gibi işlemlerin büyük ölçüde otomatize olduğu, ancak çapraz kontaminasyon riski yüksek bir yapıya sahiptir (Bryan ve Doyle, 1995; Doyle ve Jones, 1992). Nitekim kanatlı mezbahalarında kesim prosesine yönelik olarak yapılan bir çok çalışma, kanatlı karkaslarının *C. jejuni* ile yüksek düzeyde kontamine olduğunu, bu durumun özellikle kesim işleminin tüy yolma ve iç organların çıkarılması aşamalarında oluşan çapraz kontaminasyon sonucu oluştuğunu ortaya koymaktadır (Atanassova ve Ring, 1999; Berrang

ve ark. 2000; Genigeorgis ve ark. 1986; Ono ve Yamamoto, 1999; Oosterom ve ark. 1983).

Bu çalışmada, piliç etlerinin mezbaha bazında *C. jejuni* ile kontaminasyon düzeyi, kesim işleminin değişik aşamalarının kontaminasyon üzerine rolü, muhtemel kontaminasyon kaynakları ve bunun son ürünün kontaminasyonu üzerine etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Örneklerin alınması: Bu çalışmada, farklı 2 piliç kesimhanesi aylık dönemler halinde periyodik olarak 6'şar kez ziyaret edilerek, kesim öncesi aşamada işaretlenen piliçlerden, kesimin başlangıç ve bitişine yakın saatlerde kesim işleminin değişik aşamalarında örnekler alınmıştır. Bu kapsamda, *C. jejuni*'nin varlığını saptamak amacıyla işaretlenen bütün piliçlerden, başta kloakal swap olmak üzere kesim işleminin haşlama tankı çıkışı, tüy yolma sonrası, iç organların çıkarılması sonrası, soğutma tankı çıkışı ve paketlenme öncesi aşamalarında yıkama (rins) örnekleri alınmıştır. Alınan bütün piliç karkas örneklerine ilave olarak; haşlama tankı, soğutma tankı giriş ve çıkışlarından su örnekleri, iç organ çıkarma sonrası bağırsak içeriği, tüy yolma makinesi, iç organ çıkarma makinesi, taşıma kabı ve çalışanların ellerinden swap örnekleri alınmıştır. *C. jejuni*'nin kontaminasyon düzeyini saptamak amacıyla, kesimin aynı aşamasında işaretlenmiş olan diğer bir piliç karkasından ise haşlama tankı çıkışı, tüy yolma sonrası, iç organların çıkarılması sonrası, soğutma tankı çıkışı ve paketlenme öncesi aşamalarında göğüs swap örnekleri alınmıştır.

***Campylobacter*'lerin izolasyon ve identifikasyonu:** Örneklerde *C. jejuni*'nin izolasyon ve identifikasyonunda ISO'nun (The International Organization for Standardization, 10272) referans yöntemi kullanılmıştır (Anon, 1995). Bu amaçla alınan tüm örnekler Preston selektif zenginleştirme buyyonuna (Nutrient broth, Oxoid CM67, supplement Oxoid SR 204 E, Oxoid SR 84, oxoid SR 48) transfer edilerek, 42°C'de 24 saat süreyle mikroaerofilik ortamda (Campgen Oxoid CN 25,35) inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası zenginleştirme sıvısından 2 öze dolusu alınarak, *Campylobacter* Blood-free Selective Agar (CCD agar- Oxoid CM739, supplement Oxoid SR 155) ve *Campylobacter* agara (Karmali agar-Oxoid CM 935, supplement Oxoid SR 167E) ekim yapılarak, plaklar 42°C'de 48-72 saat süreyle mikroaerofilik ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası CCD ve Karmali agarda üreyen tipik kolonilerden 5'i seçilerek, kanlı agarda (Columbia Agar Base, Oxoid CM 331, % 5 koyun kanı) kültürü yapılmıştır. Bu işlemi takiben Gram negatif,

hareketli, oksidaz ve katalaz pozitif koloniler ayrılarak, identifikasyon testleri yapılmıştır. *C. jejuni*'nin identifikasyonunda sodyum hippurat hidrolizi, nalidixic asit ve cephalothin duyarlılık testi ile TSI agarda H₂S oluşumu testleri yapılmıştır.

İstatistiksel Analizler: Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel yönden değerlendirilmesi, iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testine göre yapılmıştır.

Bulgular

Bu çalışmada, kesimhanelere yapılan her bir ziyarette kesim işleminin başlangıç ve bitiş dönemine yakın zamanda alınan örnek sayısı 44 olup, çalışma kapsamında alınan toplam 528 örneğin 408'inde *C. jejuni*'nin varlığı, 120 göğüs swap örneğinde ise *C. jejuni*'nin sayısal düzeyi saptanmıştır.

Çalışma kapsamında iki işletmede, kesim işleminin değişik aşamalarının kontaminasyondaki rolü ve kontaminasyon düzeyini saptamak amacıyla alınan toplam 528 örneğin 79'unda (% 14.9) *C. jejuni* saptanmıştır. Tablo 1'de görüldüğü gibi, 1. işletmede alınan toplam 264 örneğin 31'inde (% 11.7), 2. işletmede ise alınan toplam 264 örneğin 48'inden (% 18.1) *C. jejuni* izole ve identifiye edilmiştir.

Kesim işleminin değişik aşamalarını oluşturan örnek alım yerlerinin kontaminasyondaki önemi bakımından, 1. işletmenin tüy yolma makinesinden alınan 12 örneğin 7'sinde (% 58.3), iç organ çıkarma sonrası 12 karkas yıkama (rins) örneğinin 5'inde (% 41.6), soğutma tankı çıkışı alınan 12 karkas yıkama örneğinin 4'ünde (% 33.3), paketleme öncesi 12 karkas yıkama örneğinin 3'ünde (% 25), işçi elleri ile taşıma kaplarından alınan 24'er swap örneğinin 2'ser adedinde (% 8.3), iç organ çıkarma makinesi swap örneği ile haşlama tankı çıkış ve tüy yolma sonrası 12'ser adet karkas yıkama örneklerinin 1'er adedinde (% 8.3) *C. jejuni* saptanmıştır.

Benzer şekilde 2. işletmede, 24 adet işçi elleri swap örneklerinin 8'inde (% 33.3), tüy yolma sonrası 12 karkas yıkama örneği ile soğutma tankı çıkış su örneğinin 6'sar adedinde (% 50), soğutma tankı çıkışı 12 karkas yıkama örneğinin 5'inde (% 41.6), iç organ çıkarma sonrası 12 karkas yıkama örneğinin 4'ünde (% 33.3), 12'ser adet kloakal swap ve haşlama tankı giriş su örneğinin 3'ü (% 25) ile 24 adet taşıma kapları örneklerinin 3'ünde (% 12.5), 12'ser adet paketleme öncesi karkas yıkama, tüy yolma makinesi swap ve soğutma tankı giriş su örneklerinin 2'si (% 16.6) ile 12 adet iç organ çıkarma makinesi swap örneğinin 1'inde (% 8.3) *C. jejuni* saptanmıştır. Kesimin farklı noktalarından alınan 12'ser adet 1. işletmeye ait kloakal swap, haşlama tankı giriş ve çıkış su örnekleri

ile soğutma tankı giriş ve çıkış su örneklerinde, 2. işletmede ise haşlama tankı çıkış karkas yıkama, bağırsak içeriği swap ile haşlama tankı çıkış su örneklerinde *C. jejuni* saptanamamıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Kesim işleminin değişik aşamalarında alınan örneklerde *Campylobacter jejuni*'nin dağılımı

Örnek alım yeri/aşaması	1. İşletme			2. İşletme		
	Alınan örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	% pozitif	Alınan örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	% pozitif
Kloaka swap	12	0	0	12	3	25
Haşlama tankı çıkış bütün piliç (rins)	12	1	8.3	12	0	0
Tüy yolma sonrası bütün piliç (rins)	12	1	8.3	12	6	50
İç organ çıkarma sonrası bütün piliç (rins)	12	5	41.6	12	4	33.3
İç organ çıkarma sonrası bağırsak içeriği	12	2	16.6	12	0	0
Soğutma tankı çıkışı bütün piliç (rins)	12	4	33.3	12	5	41.6
Paketleme öncesi bütün piliç (rins)	12	3	25	12	2	16.6
Göğüs swap (5 ayrı noktadan)	60	3	5	60	3	5
Tüy yolma makinesi (swap)	12	7	58.3	12	2	16.6
İç organ çıkarma makinesi (swap)	12	1	8.3	12	1	8.3
Haşlama tankı giriş su örneği	12	0	0	12	3	25
Haşlama tankı su örneği	12	0	0	12	0	0
Soğutma tankı giriş su örneği	12	0	0	12	2	16.6
Soğutma tankı çıkış su örneği	12	0	0	12	6	50
İşçi elleri (swap)	24	2	8.3	24	8	33.3
Taşıma kapları (swap)	24	2	8.3	24	3	12.5
Toplam	264	31	11.7	264	48	18.1

Çalışma sonuçlarında da görüleceği gibi, kesim işleminin değişik aşamalarının *C. jejuni* ile kontaminasyondaki önemi farklılıklar göstermektedir. Genelde 1. işletmede tüy yolma makinesi, iç organ çıkarma makinesi ile soğutma tanklarının esas kontaminasyon kaynaklarını oluşturduğu saptanmıştır. İkinci işletmede *C. jejuni*'nin bulunuş oranı (% 18.1), 1. işletmeye oranla (% 11.7) daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Nitekim işletmeler arasındaki farklılığın

istatistiksel yönden de önemli olduğu ($P<0.001$) saptanmıştır. Aynı şekilde 2. işletmeye ait sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi, kesim işleminin değişik aşamaları içerisinde özellikle tüy yolma makinesi, iç organ çıkarma makinesi, soğutma tankları ile personel ve ekipmanın kontaminasyonda önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Yine bu çalışma kapsamında, kesim işleminin değişik aşamalarındaki kritik noktalardan kaynaklanabilecek, kontaminasyon düzeyini belirlemek amacıyla alınan toplam 120 göğüs swap örneğinde, her iki işletmede de 3'er örnekte (% 5) *C. jejuni* izole edilmiştir. Bu örneklerde kontaminasyon düzeyi, 1. işletmede kesim işleminin başlangıç dönemindeki paketlenme sonrası 1.6×10^1 kob/cm², kesim işleminin bitiş zamanına yakın dönemindeki tüy yolma sonrası ile iç organ çıkarma sonrasında sırasıyla, 1.2×10^1 ve 2.4×10^1 kob/cm² düzeyinde saptanmıştır. Aynı şekilde 2. işletmede kesim işleminin başlangıç dönemindeki haşlama tankı çıkış ve tüy yolma sonrası göğüs swap örneğinde 1.0×10^1 kob/cm², kesim işleminin bitiş zamanına yakın zamanda alınan iç organ çıkarma sonrasında 2.4×10^1 kob/cm² düzeyinde *C. jejuni* saptanmıştır.

Her iki işletmeden, kesimin başlangıç döneminde alınan 264 örneğin 39'u (% 14.7), bitiş zamanına yakın dönemde alınan 264 örneğin ise 40'ında (% 15.1) *C. jejuni* saptanmış olup, kesimin başlangıcı ile bitiş zamanına yakın dönemde alınan örneklerde *C. jejuni*'nin bulunuşu arasındaki ilişkinin, istatistiksel yönden önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Kesim işleminin başlangıç döneminde 1. işletmeden alınan 132 örneğin ise 14'ü (10.6), bitiş zamanına yakın dönemde alınan 132 örneğin ise 17'sinde (% 12.8) *C. jejuni* saptanmasına karşın, 2. işletmede kesim işleminin başlangıç döneminde alınan 132 örneğin 25'i (% 18.9), bitiş zamanına yakın dönemde alınan 132 örneğin 23'ünde (% 17.4) *C. jejuni* saptanmıştır.

Piliç etlerinin *C. jejuni* ile kontaminasyonunda, mevsimsel farklılığın etkisini saptamak amacıyla örnekler her iki işletmede de, relatif soğuk aylar (ekim-mart) ile relatif sıcak aylar (nisan-eylül) arasında alınmıştır. Bu çerçevede sıcak aylarda alınan 264 örneğin 41'inde (% 15.5), soğuk aylarda alınan 264 örneğin ise 38'inde (% 14.3) *C. jejuni* bulunmuş olup, mevsimsel farklılığın istatistiksel yönden önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. İşletmeler yönünden ise, 1. işletmede sıcak aylarda alınan 132 örneğin 14'ünde (% 10.6), soğuk aylarda alınan 132 örneğin 17'sinde (% 12.8) *C. jejuni* saptanmış olmasına karşın, 2. işletmede sıcak aylarda alınan 132 örneğin 27'sinde (% 20.4), soğuk aylarda alınan 132 örneğin ise 21'inde (% 15.9) *C. jejuni* saptanmıştır.

Sonuç

Sonuç olarak, kanatlı kesimhanelerinde kesim işleminin değişik aşamaları içerisinde özellikle tüy yolma makineleri ve iç organ çıkarma makineleri başta olmak üzere, soğutma tankları ve personelin kanatlı etlerinin *C. jejuni* ile çapraz kontaminasyonunda önemli derecede rol oynadığı saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, *C. jejuni* orijinli gıda infeksiyonlarının oluşumunda potansiyel riskli gıdalar içinde önemli yer alan kanatlı etlerinin üretiminde, gerek yetiştiricilik aşamasında gerekse kesim işleminin tüm aşamalarında gerekli teknik ve hijyenik koşullara uyulmasının önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bağlamda kanatlı etlerinin *C. jejuni* ile kontaminasyon riskini minimize etmek ve sağlıklı piliç eti üretimi için gerekli HACCP sisteminin, tüm kanatlı kesimhanelerinde etkin olarak uygulanmasının halk sağlığı açısından önemli olduğu görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

- Annan-Prah, A., Janc, M. (1998). Chicken-to-Human Infection with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: Biotype and Serotype Correlation. *J. Food Prot.* 51 (7), 562-564.
- Anon. (1995). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for Detection of Thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization-10272.
- Anon. (1998). WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. Food-related illness and death in the United States. Newsletter, No 62, FAO/WHO Collaborating Center, Berlin.
- Atanassova, V., Ring, C. (1999). Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in germany. *Int. J. Food Microbiol.* 51 (2-3), 187-190.
- Berrang, M.E., Buhr, R. J., Cason, J. A. (2000). *Campylobacter* recovery from external and internal organs of commercial broiler carcass prior to scalding. *Poultry Sci.* 79 (2), 286-290.
- Bryan, F. L., Doyle, M. P. (1995). Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Prot.* 58 (3), 326-344.
- De Boer, E., Hahne, M. (1990). Cross-Contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. from Raw Chicken Products during Food Preparation. *J. Food Prot.* 53 (12), 1067-1068.

Diker, K. S., Yardımcı, H., Aydın, N. (1987). Location of thermophilic campylobacter spp. in various parts of chicken intestines. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 34 (3), 570-576.

Doyle, M. P., Jones, D. M. (1992). Food-Borne Transmission and Antibiotic Resistance of *Campylobacter jejuni*. (In): Eds. I. Nachamkin, M. J. Blaser, L. C. Tompkins. *Campylobacter jejuni*. Current Status and Future Trends. ASM Press, Washington D. C. Pp; 45-48.

Doyle, M.P., Beuchat, L. R., Montville, T. J. (1997). Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. In: I. Nachamkin. *Campylobacter jejuni*. ASM Press, Washington D. C. Pp: 159-170.

Genigeorgis, C., Hassuneh, M., Collins, P. (1986). *Campylobacter jejuni* infection on poultry farms and its effect on poultry meat contamination during slaughtering. *J Food Prot*, 49 (11), 895-903.

Izat, A. L., Gardner, F. A., Denton, J. H., Golan, F. A. (1988). Incidence and level *Campylobacter jejuni* in broiler processing. *Poultry Sci.* 67, 1568-1572.

Ono, K., Yamamoto, K. (1999). Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *Int. J. Food Microbiol*, 47 (3), 211-219.

Oosterom, J., Notermans, S., Karman, H., Engels, G. B. (1983). Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. *J. Food Prot.* 46 (4), 339-344.

DONMUŞ TAVUK KIYMA VE HAMBURGERLERİNDE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*'İN VARLIĞI VE KONTAMİNASYON DÜZEYİ

**Ömer ÇAKMAK¹ F.S. BİLİR ORMANCI² Muhittin TAYFUR³
İrfan EROL²**

¹1. Ordu Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı Selimiye-İstanbul

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Ankara

³Başkent Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü-Ankara

Özet: Bu çalışmada, *C. perfringens*'in tavuk etinden yapılan kıyma ve hamburgerlerdeki varlığı ve kontaminasyon düzeyinin MPN tekniği ve standart izolasyon prosedürüne ilave olarak yüksek duyarlılığa sahip asit fosfataz ve reverse-CAMP testlerinin de kullanılarak saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmada, Şubat-Eylül 2000'de farklı kanatlı kesimhanelerinden alınan 40'ar donmuş tavuk kıyma ve burgerden oluşan toplam 80 örnek materyal olarak kullanılmıştır. Örneklerde *C. perfringens*'in varlığı, Baumgart ve ark. (1990), Baumgart (1997), Labbe (1989) ile Schalch ve ark. (1996) tarafından önerilen yöntemle göre, kontaminasyon düzeyi ise MPN tekniği (Labbe, 1989) kullanılarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada incelenen 40 tavuk kıyması örneğinin 28'inden (% 70.0) ortalama 2.6 MPN/g düzeyinde, 40 tavuk burger örneğinin yalnızca 1'inden (% 2.5) 0.36 MPN/g düzeyinde *C. perfringens* izole edilmiştir.

Toplam 28 pozitif tavuk kıyması örneğinde *C. perfringens* izolasyon oranı Haziran- Eylül başına kadar olan sıcak aylarda % 67.9 ile Ekim-Aralık sonunu kadar olan soğuk aylardan (% 32.1) daha yüksek bulunmuştur. *C. perfringens* izole edilen tek tavuk burger örneği Haziran ayında alınmıştır.

Standart biyokimyasal testler kullanılarak doğrulanan tüm isolatlar asit fosfataz ve reverse-CAMP testleri ile de pozitif bulunmuş ve bu iki testin *C. perfringens*'in identifikasyonunda duyarlı, hızlı ve güvenilir oldukları saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma kapsamında incelenen donmuş tavuk kıymalarının özellikle sıcak yaz aylarında *C. perfringens* yönünden önemli bir kaynak olduğu saptanmış ve güvenli kanatlı eti ve ürünleri üretilmesi için GMP ve HACCP sistemlerinin etkin olarak uygulanması önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tavuk kıyma, tavuk burger, *C. perfringens*, MPN

Occurrence and Enumeration of *Clostridium perfringens* in Frozen Ground Poultry and Poultry Burgers

Abstract: The objective of this study was to determine the occurrence and the enumeration of *C. perfringens* in poultry ground and burgers using the MPN technique and selected biochemical tests, including acid phosphatase and reverse-CAMP tests.

Forty raw frozen ground chicken and 40 frozen chicken burger samples were purchased from different poultry processing plants in Turkey, between February to September 2000. The samples were taken aseptically and transported to the laboratory in refrigerated containers and tested the same day.

Using the techniques described by Labbe (1989), Baumgart et al. (1990), Schalch et al. (1996) and Baumgart (1997) carried out isolation and identification of *C. perfringens*. The level of contamination of analyzed samples with *C. perfringens* was determined by the MPN (Most Probable Number) technique (Labbe, 1989).

C. perfringens was isolated from 28 (70.0 %) of the 40 ground poultry samples at the mean number of 2.6 MPN/g. The minimal and maximal numbers of ground poultry samples positive for *C. perfringens* varied from 0.30 to 9.3 MPN/g. Only one (2.5%) of the 40 poultry burger samples was found positive for *C. perfringens* at the mean number of 0.36 MPN/g. *C. perfringens* was found higher in the warm months of July to early September (67.9 %) than in months of October to late December (32.1 %) in 28 positive poultry ground samples. Only one poultry burger sample positive for *C. perfringens* was taken in the month of July.

In conclusion, ground poultry may be considered a significant source of *C. perfringens* mainly in warm months. The high incidence of this bacterium in ground poultry may indicate insanitary conditions and improper handling at processing plants.

Key words: Ground poultry, poultry burger, *C. perfringens*, MPN

Giriş

Clostridium perfringens, anaerobik, spor formlu ubiquiter özellikte bir bakteri olup, sıklıkla toprakta, suda, hayvanların ve insanların barsak kanalında bulunur. *C. perfringens*, insanlarda yaygın olarak görülen A tipi klasik diyare ile, nadiren görülen C tipi nekrotik enteritisin nedenidir. Gıda kaynaklı *C. perfringens* infeksiyonları, gramında 10^6 veya üzerindeki sayıda canlı vejetatif *C. perfringens* ile kontamine gıdanın alınmasını takiben, etkenlerin ince barsaklarda sporlanması ve asıl virülens faktörü olan enterotoksinleri (CPE) oluşturmaları sonucu ortaya çıkar (Lin ve Labbe, 2003; McClane, 1992; Saito, 1990).

Epidemiyolojik çalışmaların çoğu, gıda kaynaklı *C. perfringens* olgularının büyük bölümünün kontamine kırmızı et ve kanatlı eti tüketiminden kaynaklandığını ve restoran, yemek fabrikaları, okul, hastane gibi toplu yemek yapılan yerlerdeki pişirme, ısıtma ve soğutma hatalarının infeksiyonların oluşumunda önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (Adams ve Moss, 1995; Hobbs ve Roberts, 1993; Labbe, 1989).

C. perfringens, kanatlı kesim ve işleme aşamalarında sıklıkla izole edilen önemli bir bakteridir. Kesim işlemini takiben uygulanan haşlama, tüy yolma, iç organların çıkarılması, yıkama ve parçalama işlemleri çapraz kontaminasyonun en önemli kaynaklarını oluşturmaktadır. Bu şekilde hayvanların barsak kanalında bulunan etkenler karkas ve parça et ve ürünlere bulaşmakta, dolayısıyla kanatlı etlerinde *C. perfringens*'in insidensi yüksek olmaktadır (Craven, 2001; Fruin, 1997). Tavuk kıyma ve hamburger üretiminde uygulanan kıyma haline getirme ve diğer işlemler de bu ürünlerin kontaminasyon düzeyini etkilemektedir.

Bu çalışmada, *C. perfringens*'in tavuk etinden yapılan kıyma ve hamburgerlerdeki varlığı ve kontaminasyon düzeyinin MPN tekniği

ve standart izolasyon prosedürüne ilave olarak yüksek duyarlılığa sahip asit fosfataz ve reverse-CAMP testlerinin de kullanılarak saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Şubat-Eylül 2000'de farklı kanatlı kesimhanelerinden alınan 40'ar donmuş tavuk kıyma ve donmuş tavuk burgerden oluşan toplam 80 örnek materyal olarak kullanıldı.

Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten hemen sonra *C. perfringens* yönünden analiz edildi. Örneklerde *C. perfringens*'in varlığı, Baumgart ve ark. (1990), Baumgart (1997), Labbe (1989) ile Schalch ve ark. (1996) tarafından önerilen yöntemle göre, kontaminasyon düzeyi ise MPN tekniği (Labbe, 1989) ile belirlendi.

Bu kapsamda ilk aşamada örneklerde *C. perfringens*'in varlığına, ikinci aşamada *C. perfringens* pozitif bulunan örneklerde MPN tekniğiyle *C. perfringens* sayısına bakıldı. Ön zenginleştirme işlemi için 25g örnek 225 ml Perfringens Enrichment Medium (PEM: Fluid Thioglycollate Medium + Perfringens (TSC) Supplement Oxoid SR 88) ile homojenize edildikten sonra anaerob koşullarda 46°C'de 20 saat süreyle inkübe edildi. Zenginleştirme sonrası gaz ve bulanıklık oluşan tüplerden bir öze dolusu homojenat alınarak Tryptose Sulphite Cycloserine agar (TSC, Oxoid CM 587) yüzeyine çizme yöntemi ile ekim yapıldı ve plaklar anaerob koşullarda (Gas generating kit Oxoid B 38) 46°C'de 20 saat inkübe edildi. TSC agarda üreyen 2-4 µm çapındaki siyah renkli *C. perfringens* şüpheli kolonilerden 3-5'i seçilerek identifikasyon için yeniden TSC agara geçildi ve plaklar 46°C'de 20 saat inkübasyona bırakıldı. Bu saflaştırma işlemini takiben yapılan katalaz test, laktoz fermentasyonu, jelatinaz oluşumu, nitrat redüksiyonu, motilite, asit fosfataz reaksiyonu, hemoliz test ve reverse CAMP-test sonucu izolatlar biyokimyasal olarak identifiye edildi.

Pozitif örneklerden *C. perfringens*'in sayısal tayininde 3x1g; 3x0.1g ve 3x0.01g örnekleme kullanılarak yukarıda açıklanan izolasyon ve identifikasyon prosedürü kapsamında MPN (Most Probable Number) tekniği kullanıldı (Labbe, 1989) ve *C. perfringens* sayısı MPN tablosundan (De Man, 1983) yararlanılarak belirlendi.

Örneklerin pH değerleri dijital bir pH-metre (Nel Electronic) ile ölçüldü.

Bulgular

Bu çalışmada incelenen 40 tavuk kıyması örneğinin 28'inden (% 70.0) ortalama 2.6 MPN/g düzeyinde *C. perfringens* izole edilmiştir (Çizelge 1). Pozitif tavuk kıyması örneklerindeki en düşük ve en yüksek *C. perfringens* sayısı 0.3 ve 9.3 MPN/g olarak bulunmuştur. Çalışma kapsamında analiz edilen toplam 40 tavuk burger örneğinin yalnızca 1'inden (% 2.5) 0.36 MPN/g *C. perfringens* izole edilmiştir.

Toplam 28 pozitif tavuk kıyması örneğinde *C. perfringens* izolasyon oranı Haziran- Eylül başına kadar olan sıcak aylarda % 67.9 ile Ekim-Aralık sonunu kadar olan soğuk aylardan (% 32.1) daha yüksek bulunmuştur. *C. perfringens* izole edilen tek tavuk burger örneği Haziran ayında alınmıştır.

Tablo 1: Tavuk kıyma ve burger örneklerinde *C. perfringens*'in varlığı ve sayısı

Örnek	Test edilen örnek sayısı	<i>C. perfringens</i> pozitif örnek sayısı	Pozitif örneklerde ortalama <i>C. perfringens</i> sayısı (MPN/g)
Tavuk kıyma	40	28 (70.0)	2.6
Tavuk burger	40	1 (2.5)	0.36

Standart biyokimyasal testler kullanılarak doğrulanan tüm isolatlar asit fosfataz ve reverse-CAMP testleri ile de pozitif bulunmuş ve bu iki testin *C. perfringens*'in identifikasyonunda duyarlı, hızlı ve güvenilir oldukları saptanmıştır.

C. perfringens saptanan tavuk kıyma ve burger örneklerinin ortalama pH değerleri 6.6 ve 6.1 olarak ölçülmüştür.

Bu çalışma sonuçları Craven (2001) ile Miwa ve ark. (1998) sonuçlarını teyit etmektedir. Craven (2001) test ettiği kanatlı karkas örneklerinin % 67'sinde, benzer şekilde Miwa ve ark. (1998) % 84'ünde *C. perfringens* saptamışlardır. Bu sonuçlar tavuk karkas ve

kıymalarının bu enteropatojen ile kesim işlemi sırasında kontamine olduğuna işaret etmektedir.

C. perfringens'in tavuk burgerlerdeki varlığına yönelik olarak yayımlanmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tavuk kıyma örneklerinden farklı olarak bu çalışmada test edilen burger örneklerinin yalnızca 1'inden *C. perfringens* izole edilmiş olması, bu ürünün yapımında kullanılan tuz, sodyum laktat, sodyum nitrit, sodyum propionat ve sorbik asit gibi kimyasal maddelerin inhibitör etkilerinden kaynaklanabilir (Kalinowski ve Tompkin, 1999; Thippareddi ve ark. 2003; Zaika, 2003.).

Sonuç

Sonuç olarak bu çalışma kapsamında incelenen donmuş tavuk kıymalarının özellikle sıcak yaz aylarında *C. perfringens* yönünden önemli bir kaynak olduğu saptanmıştır. Bu bakterinin tavuk kıymalarındaki yüksek insidensi kesim ve işlemedeki uygun olmayan hijyenik ve teknolojik koşullara bağlı olabilir. Güvenli kanatlı eti ve ürünleri üretilmesi ve halk sağlığının korunmasında kümeden sofraya olan tüm aşamaları içeren GMP ve HACCP sistemlerinin etkin olarak uygulanması önerilir.

Kaynaklar

- Adams, M.R., Moss, M.O. (1995). Bacterial Agents of Foodborne Illness. In: Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 177-181.
- Baumgart, J., Baum, O., Lippert, S. (1990). Schneller und direkter Nachweis von *Clostridium perfringens*. Fleischwirtsch., 70 (9): 1010-1014.
- Baumgart, J. (1997). Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag. Hamburg. 75-82.
- Craven, S.E. (2001). Occurrence of *Clostridium perfringens* in the broiler chicken processing plant as determined by recovery in iron milk medium. J. Food Protect. 64, (12): 1956-1960.
- De Man, J.C. (1983). MPN tables, corrected. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 17:301-305.
- Fruin, J. T. (1997). Significance of *Clostridium perfringens* in processed foods. J. Food.Protect. 40 (5) 330-332.

Hobbs, C.B. Roberts, D. (1993). Food Poisoning and Food Hygiene. 6th Ed. Edward Arnold, London, 29, 80-127.

Kalinowski, R.M. and Tompkin, R.B. (1999). Psychrotrophic clostridia causing spoilage in cooked meat and poultry products. J. Food Protect. 62 (7), 766-772.

Labbe, R.G. (1989). *Clostridium perfringens*. In: Foodborne Bacterial Pathogens, Ed.: M.P. Doyle, Marcel Decker Inc., New York and Basel, 191-227.

Lin, L.T. and Labbe, R. (2003). Enterotoxigenicity and genetic relatedness of *Clostridium perfringens* isolated from retail foods in the United States. Appl. Environ. Microbiol. 69 (3), 1642-1646.

McClane, B.A. (1992). *Clostridium perfringens* enterotoxin: Structure, action and detection. J. Food Safety, 12: 237-252.

Miwa, N., Nishina, T., Kubo, S., Atsumi, M., Honda, H. (1998). Amount of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in meat detected by nested PCR. Int. J. Food Microbiol., 42 (3): 195-200.

Saito, M. (1990). Production of enterotoxin by *Clostridium perfringens* derived from humans, animals, foods and the natural environment in Japan. Appl. Food Protect. 53 (3), 115-118.

Schalch, B., Eisgruber, H., Geppert, P., Stolle, A. (1996). Vergleich von vier Routineverfahren zur Bestätigung von *Clostridium perfringens* aus Lebensmitteln. Arch. Lebensmittelhyg., 47: 27-30.

Thippareddi, H., Juneja, V.K., Phebus, R.K., Marsden, J.L. and Kastner, C.L. (2003). Control of *Clostridium perfringens* germination and outgrowth by buffered sodium citrate during chilling of roast beef and injected pork. J. Food Protect. 66 (3), 376-381.

Zaika, L.L. (2003). Influence of NaCl content and cooling rate on outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in cooked ham and beef. J. Food Protect. 66 (9), 1599-1603.

TRİSODYUM FOSFATIN KANATLI GÖĞÜS DERİSİNE TUTUNMUŞ *SALMONELLA* TYPHIMURIUM VE *LISTERIA* *MONOCYTOGENES* ÜZERİNE ETKİSİ

Haydar ÖZDEMİR Yeliz YILDIRIM Ahmet KOLUMAN

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
06110-Dışkapı/Ankara.

Özet: Bu çalışma farklı konsantrasyondaki trisodyum fosfatın (TSF), değişik uygulama sürelerine bağlı olarak, piliç göğüs derilerinde *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerindeki redüksiyon etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla deneysel olarak *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* ile kontamine edilen piliç göğüs derileri 15 dakika ve 15 saniye süreyle steril çeşme suyu (control), 8, 10 ve % 12 (w/v) konsantrasyonundaki TSF solusyonuna daldırılarak, 4°C'de muhafaza edilmiştir. Muhafaza süresinin 0., 1., 3. ve 5. günlerinde örneklerde TSF'in *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes* üzerindeki etkisi ile pH-değerleri saptanmıştır. TSF solusyonuna 15 saniye süreyle daldırılan örneklerde kontrol grubuna oranla *S. Typhimurium* 1.82-3.87 log, *L. monocytogenes* 1.73-2.25 log düzeyde redüksiyon olmuştur. TSP solusyonuna 15 dakika süreyle daldırılan örneklerde ise *S. Typhimurium* 2.21-5.14 log, *L. monocytogenes* 1.77-4.39 log düzeyde redüksiyon olmuştur.

TSF'in etkisinin konsantrasyon, uygulama süresi ve muhafaza süresine bağlı olarak arttığı ve bunun istatistiksel yönden önemli ($P<0.001$) olduğu saptanmıştır. Örneklerdeki pH-değerleri arasında ise uygulama süresi ve konsantrasyona bağlı olarak düşük düzeyde farklılık bulunmuştur. Sonuç olarak TSF'in konsantrasyon, uygulama süresi ve muhafaza süresine bağlı olarak, piliç göğüs derilerinde etkili bir dekontaminant olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Piliç göğüs derisi, trisodyum fosfat, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*.

Effect of Trisodium Phosphate on *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* Attached to Chicken Breast Skin

Abstract: This study was undertaken to determine the effect of different concentrations of TSP (trisodium phosphate) depending on application periods in reducing *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* on chicken breast skin. Chicken breast skin samples inoculated with *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* were immersed in sterile tap water (control), in 8, 10, 12 % (w/v) TSP solutions for 15 sec and 15 min and were stored at 4°C. All samples were evaluated for the effect of TPS on *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* and for the pH values after days 0, 1, 3, and 5 of refrigerated storage. Compared with control groups, TSP treatments for 15 sec reduced *S. Typhimurium* between 1.82 and 3.87 log and *L. monocytogenes* between 1.73 and 2.25 log while TSP treatments for 15 min, bacterial reductions varied between 2.21-5.14 log and 1.77-4.39 log for *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* respectively.

The reductions observed during this study increased due to the concentration of the TSP solution, treatment time and storage period and these results found to be statistically significant ($P<0.001$). The pH values of the samples showed no significant difference according to the concentration, treatment time and the storage period. It is concluded that TSP is an effective decontaminant for the chicken breast skins due to the concentration of the solution, treatment time and the storage period.

Key words: Chicken breast skin; trisodium phosphate; *S. Typhimurium*; *L. monocytogenes*

Giriş

Son yıllarda Dünya’da ve Türkiye’de piliç eti üretiminde görülen gelişmeye bağlı olarak, piliç eti tüketiminden kaynaklanan gıda enfeksiyon ve intoksikasyon sayısında büyük artışlar görülmektedir. Araştırmacılar (Bryan ve Doyle, 1995; Erol ve ark. 1999; Sarımehtetoğlu ve ark. 1996; Weise, 1996) kanatlı etlerinin başta *C. jejuni* ve *Salmonella* serotipleri olmak üzere, *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *C. perfringens* gibi patojen mikroorganizmalarla kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Karkaslardan patojen mikroorganizmaların eliminasyonuna yönelik olarak değişik dekontaminasyon uygulamaları kullanılmakta olup,

bunlardan birisi de trisodyum fosfattır (Sofos ve Smith, 1998). Trisodyum fosfatın etkisi solusyonun sıcaklık derecesi, konsantrasyonu, uygulama şekli ve süresine bağlı olarak değişiklik gösterir. Trisodyum fosfatın antibakteriyel etkisinin yüksek pH değeri, kanatlı derisindeki yağı çözmesine bağlı olarak, çözünmüş yağ ile birlikte kanatlı derisine tutunmuş mikroorganizmaları uzaklaştırmasından kaynaklanır (Bolder, 1997).

Yapılan çalışmalarda (Capita ve ark. 2002; Ellerbroek ve ark. 1997; Kim ve ark. 1994; Li ve ark. 1997; Lillard 1994; Salvat ve ark. 1997; Slavik ve ark. 1994; Wang ve ark. 1997) trisodyum fosfat solusyonunun kanatlı etlerinde toplam aerob bakteri, enterobakteri, koliform, *Pseudomonas*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *C. jejuni*, *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde değişik düzeyde redüksiyon etkisi oluşturduğu bildirilmektedir.

Bu çalışma, farklı konsantrasyondaki trisodyum fosfatın (TSF) değişik uygulama sürelerine bağlı olarak, kanatlı göğüs derilerinde *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* üzerindeki redüksiyon etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bakteri solusyonunun hazırlanması

Bu çalışmada, *S. Typhimurium* (RSKK 95091) ve *L. monocytogenes* (RSKK 472,1/2 a) stok kültür suşları kullanıldı. Bu amaçla, suşlardan birer lob brain heart infusion broth'a (BHI broth, 10 ml) geçilerek, *S. Typhimurium* 37°C'de, *L. monocytogenes* 35°C'de 18-20 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası bakteri solusyonlarından tekrar 0.1 ml BHI (10 ml) broth'a geçilerek, aynı koşullarda inkübe edildi. Başlangıçta yaklaşık 1.8×10^9 kob/ml olan *S. Typhimurium* ve 8.6×10^8 kob/ml düzeyinde bulunan *L. monocytogenes* sayısını 1 log düzeyinde düşürmek için, bakteri solusyonları 90 ml steril peptonlu (0.1%) su ile dilue edildi.

Bakterilerin örneklere inokulasyonu

Piliç kesimhanesinden, kesim işleminin soğutma işlemi (water chilling) sonrası 80 piliç karkasının göğüs derileri aseptik koşullarda alınarak, soğuk zincir altında (yaklaşık 45 dakika) laboratuvara getirildi. Laboratuvarda steril bir makas yardımıyla göğüs derileri 7x7 cm boyutlarında (yaklaşık 25-30 g) kesilerek, 5'erli gruplara ayrıldı. Bunu takiben, örnekler 20 ml bakteri solusyonu ve 180 ml steril

peptonlu su karışımı bulunan steril kavanozlar içerisine daldırılarak, oda sıcaklığında 5 dakika süreyle bekletildi. Daha sonra bakteriyel tutunma amacıyla, örnekler solusyondan çıkarılıp steril poşetlerde 30 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi (Capita ve ark. 2002).

Antimikrobiyel işlemler ve örneklerin gruplandırılması

Bakteri inokulasyonu yapılan piliç göğüs derileri 10'arlı sekiz gruba ayrılarak, 1. gruptakiler steril çeşme suyuna (kontrol), 2., 3., ve 4. gruptakiler 8 % (pH 12.15), 10 % (pH 12.28) ve 12 % (pH 12.46) TSF (Merck, Almanya) solusyonuna 15 saniye süreyle, 5. gruptakiler steril çeşme suyuna (kontrol), 6., 7. ve 8. gruptaki örnekler ise aynı konsantrasyondaki TSF solusyonuna 15 dakika süreyle daldırıldı. Daldırma işlemi sonrası örnekler, oda sıcaklığında 10 dakika süreyle süzülerek, steril kavanozlarda 4°C'de analiz amacıyla muhafaza edildi. Örneklerin yarısı mikrobiyolojik analizlerde, yarısı pH-değerlerinin saptanması için kullanıldı.

Mikrobiyolojik analizler ve pH-değerlerinin ölçülmesi

Piliç göğüs deri örneklerinde, TSF uygulamalarının *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerine redüksiyon etkisini saptamak amacıyla, muhafaza süresinin 0., 1., 3., ve 5. günlerinde her dilüsyondan paralel mikrobiyolojik ekimler yapıldı. Bu amaçla örneklerden aseptik koşullarda 10 g alınarak, üzerine 90 ml steril peptonlu su ilave edilip, stomacherde (Lab-Blender 400 Seward, London, UK) 2 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası örneklerden steril peptonlu su ile desimal dilüsyonlar hazırlanarak, *S. Typhimurium* için BPLS (Brillant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar-Merck 1.07237) ve XLD (Xylose Lysine Deoxycholate-Merck 1.0528) agara, *L. monocytogenes* için Palcam agara (Merck, 1.11755, supplement Merck, 1.12122) 0.1 ml ekilerek, BPLS ve XLD plakları 37°C'de 24 saat, Palcam plakları ise 35°C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı (Baumgart, 1997).

Örneklerin pH değerleri, elektronik pH metre (Mettler Toledo, Inlab 427) ile ölçüldü. Bu amaçla 5 g örnek alınarak, üzerine 15 ml steril distile deiyonize su ilave edilip stomacherde 2 dakika homojenize edildi (Capita ve ark. 2002).

İstatistiksel analizler

Çalışmadan elde edilen mikrobiyolojik analiz bulgularının, istatistiksel olarak değerlendirilmesi varyans analizi (GLM) kullanılarak yapıldı. Bunun için SPSS ver.10.0 istatistik paket programı kullanıldı.

Bulgular

Bu çalışmada, farklı konsantrasyondaki TSF solusyonuna farklı sürelerde daldırma işleminin, deneysel olarak *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* ile kontamine edilen piliç göğüs derilerinde muhafaza süresince redüksiyon etkisi araştırılmış olup, sonuçlar Tablo 1 ve 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Trisodyum fosfatın, *Salmonella Typhimurium* ile kontamine piliç göğüs derilerinde muhafaza süresince etkisi (log₁₀ kob/g).

		<u>Muhafaza süresi (4°C)</u>			
<u>Daldırma süresi</u>	<u>İşlem</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>5</u>
15 saniye	Çeşme suyu (kontrol)	7.20	7.38	7.14	7.25
	% 8 TSF	5.84	4.75	4.58	3.82
	% 10 TSF	5.55	4.41	3.75	3.66
	% 12 TSF	5.38	4.07	3.55	3.38
15 dakika	Çeşme suyu (kontrol)	7.04	7.17	7.32	7.14
	% 8 TSF	5.58	4.53	3.76	3.17
	% 10 TSF	5.11	3.72	2.70	2.39
	% 12 TSF	4.75	3.66	2.61	2.00

Tablo 1’de görüldüğü gibi, farklı konsantrasyondaki TSF solusyonuna 15 saniye süreyle daldırılan piliç göğüs derilerinde, işlemten hemen sonra yapılan (0. gün) mikrobiyolojik analizlerde, *S. Typhimurium* sayısı kontrol grubunda 7.20 log kob/g, % 8, 10 ve 12 konsantrasyonundaki TSF solusyonuna daldırılan örneklerde ise sırasıyla 5.84, 5.55 ve 5.38 log kob/g düzeyinde saptanmıştır.

Muhafaza süresinin 0. gününde redüksiyon 1.82, 1. gününde 3.31, 3. gününde 3.59, 5. günde ise 3.87 log düzeyde bulunmuş olup, bu gruptaki örneklerde kontrol grubuna göre *S. Typhimurium* redüksiyonu 1.82-3.87 log düzeyde olmuştur. TSF solusyonuna 15 dakika daldırılan örneklerde ise 0. günde kontrol grubunda *S. Typhimurium* 7.04 log kob/g düzeyinde bulunmasına karşın, % 8, 10 ve 12 konsantrasyonunda TSF solusyonuna daldırılan örneklerde sırasıyla 5.58, 5.11 ve 4.75 log kob/g düzeyinde saptanmıştır. Muhafaza süresinin 0. gününde redüksiyon 2.29, 1. gününde 3.51, 3. gününde 4.71, 5. günde ise 2.0 log düzeyinde bulunmuştur. 15 dakika süreyle TSF solusyonuna daldırılan örneklerde, kontrol grubuna göre *S. Typhimurium* redüksiyonu 2.21-5.14 log düzeyinde olmuştur.

TSF solusyonuna farklı sürelerde daldırılan örneklerde *S. Typhimurium* redüksiyonu uygulama süresi, konsantrasyon ve muhafaza süresine bağlı olarak artış göstermiş olup, konsantrasyon, uygulama süresi ve muhafaza süresinin redüksiyon üzerindeki etkilerinin istatistiksel yönden önemli ($P<0.001$) olduğu saptanmıştır.

Tablo 2’de görüldüğü gibi, farklı konsantrasyondaki TSF solusyonuna 15 saniye süreyle daldırılan piliç göğüs derilerinde uygulamadan hemen sonra yapılan (0. gün) mikrobiyolojik analizlerde, *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubunda 6.23 log kob/g, % 8, 10 ve 12 konsantrasyondaki TSF’a daldırılan örneklerde ise sırasıyla 5.38, 4.73, 4.50 log kob/g düzeyinde saptanmıştır. Muhafaza süresinin 0. gününde redüksiyon 1.73, 1. gününde 1.90, 3. gününde 1.75, 5. gününde ise 2.25 log düzeyde bulunmuş olup, bu gruptaki örneklerde redüksiyon kontrol grubuna oranla 1.73-2.25 log düzeyde olmuştur. Benzer şekilde TSF solusyonuna 15 dakika süreyle daldırılan örneklerde uygulamadan hemen sonra yapılan mikrobiyolojik analizlerde, *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubunda 6.34 log kob/g, % 8, 10 ve 12 konsantrasyonunda TSF solusyonuna daldırılan örneklerde sırasıyla 5.50, 4.84 ve 4.57 log kob/g düzeyinde saptanmıştır. Muhafaza süresinin 0. gününde redüksiyon 1.77 log, 1. günde 2.86, 3. günde 3.96, 5. günde ise 4.39 log düzeyinde bulunmuş olup, bu gruptaki örneklerde redüksiyon kontrol grubuna oranla 1.77-4.39 log düzeyinde olmuştur.

Tablo 2: Trisodyum fosfatın, *Listeria monocytogenes* ile kontamine piliç göğüs derilerinde muhafaza süresince etkisi (log₁₀ kob/g).

		<u>Muhafaza Süresi (4°C)</u>			
Daldırma Süresi	İşlem	0	1	3	5
15 saniye	Çeşme suyu (kontrol)	6.23	6.34	6.39	6.84
	% 8 TSF	5.38	4.86	5.28	5.70
	% 10 TSF	4.73	4.72	5.41	5.75
	% 12 TSF	4.50	4.44	4.64	4.59
15 dakika	Çeşme suyu (kontrol)	6.34	6.43	6.83	7.20
	% 8 TSF	5.50	4.62	4.88	3.74
	% 10 TSF	4.84	3.75	3.75	3.54
	% 12 TSF	4.57	3.57	2.87	2.81

Tablo2’de görüldüğü gibi TSF’in *L. monocytogenes* üzerindeki redüksiyon etkisinin konsantrasyon, uygulama süresi ve muhafaza süresine bağlı olarak arttığı gözlenmiş olup, konsantrasyon, uygulama süresi ve muhafaza süresinin redüksiyon üzerindeki etkilerinin istatistiksel yönden de önemli ($P < 0.001$) olduğu saptanmıştır.

L. monocytogenes sayısı hem 15 saniye, hemde 15 dakika işlem uygulanmış kontrol grubunda, muhafaza süresinin 3. gününden itibaren sayısal olarak yaklaşık 0.61-0.86 log düzeyde artış göstermiştir (Tablo 2). Bu artış 15 saniye süreyle % 8 ve 10 konsantrasyonunda TSF’a daldırılan örneklerde de muhafaza süresinin 3. ve 5. günlerinde görülmüştür.

Tüm kontrol grubu örneklerinde pH değerleri muhafaza süresince artarak seyretmiş ve muhafaza süresinin 5. gününde 6.52-6.57, 6.62-6.45 değerlerinde saptanmıştır. İşlem görmüş örneklerde ise pH değerleri TSF’ın konsantrasyonu ve uygulama süresine paralel olarak başlangıçta 10.16-10.81, 10.12-10.92 düzeyinde bulunurken, muhafaza süresine bağlı olarak düşme göstermiştir (sonuçlar gösterilmemiştir).

Sonuç

Sonuç olarak, TSF solusyonuna daldırma işleminin *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* ile kontamine piliç göğüs derilerinde patojen bakterilerin redüksiyonu yönünden uygun olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte bakteriyel redüksiyonun TSF'in konsantrasyonu, uygulama süresi ve muhafaza süresine bağlı olarak değiştiği belirlenmiş olup, uygulamalarda bunların dikkate alınması önemlidir.

Kaynaklar

- Baumgart, J. (1997). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag. Hamburg.
- Bolder, N. M. (1997). Decontamination of meat and poultry carcasses. Trends Food Sci and Technol, 8, 221-227.
- Bryan, F. L., Doyle, M. P. (1995). Healt risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. J. Food Protect. 58 (3), 326-344.
- Capita, R., Calleja, C. A., Fernandez, M. C. G., Moreno, B. (2002). Activity of trisodium phosphate compared with sodium hydroxide wash solotions against *Listeria monocytogenes* attached to chicken skin during refrigerated storage. Food Microbiol, 19, 57-63.
- Ellerbroek, L., Okolocha, E. M., Weise, E. (1997). Zur Dekontamination von Geflügel mit Trinatriumphosphat und Milchsäure. Fleischwirtsch. 77 (12), 1092-1094.
- Erol, I., Şireli, U. T., Gündeş, B. (1999). Piliç parça et ve iç organlarında *Listeria*'ların varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi. Ank. Üni. Vet. Fak. Derg. 46 (2-3), 179-188.
- Kim, J. W., Slavik, M. F., Pharr, M. D., Raben, D. P., Lobsinger, C. M., Tsai, S. (1994). Reduction of *Salmonella* on post-chill chicken carcasses by trisodium phosphate (Na_3PO_4) treatment. J. Food Safety, 14, 9-17.
- Li, Y., Slavik, M. F., Walker, J. T., Xiong, H. (1997). Pre-chill spray of chicken carcasses to reduce *Salmonella typhimurium*. J. Food Sci. 62 (3), 605-607.
- Lillard, H. S. (1994). Effect of trisodium phosphate on *Salmonellae* attached to chicken skin. J. Food Protect. 57 (6), 465-469.
- Salvat, G., Coppen, P., Allo, J. C., Fenner, S., Laisney, M. J., Toouin, M. T., Humbert, F., Colin, P. (1997). Effects of AvGard™ treatment on the microbiological flora of poultry carcasses. British Poultry Sci. 38, 489-498.

Sarımehmetoğlu, B., Küplülü, Ö., Erol, İ., Özdemir, H. (1996). Tavuk kesimhanelerinde *Salmonella* kontaminasyonu ve serotip dağılımı. Ank. Üni. Vet. Fak. Derg. **43** (1), 85-90.

Slavik, M. F., Kim, J. W., Pharr, M. D., Raben, D. P., Tsai, S., Lobsinger, C. M. (1994). Effect of trisodium phosphate on *Campylobacter* attached to post-chill chicken carcasses. J. Food Protect. **57** (4), 324-326.

Sofos, N. J., Smith, G. C. (1998). Nonacid meat decontamination technologies: Model studies and commercial applications. Int. J. Food Microbiol. **44**, 171-188.

Wang, W. C., Li, Y., Slavik, M. F., Xiong, H. (1997). Trisodium phosphate and cetylpyridinium chloride spraying on chicken skin to reduce attached *Salmonella typhimurium*. J. Food Protect. **60** (8), 992-994.

Weise, E. (1996). Mikrobiologie des Geflügels. In: Mikrobiologie der Lebensmittel: Fleisch und Fleischerzeugnisse. (Ed. Herbert Weber) .pp: 557-631. Behr's Verlag. Hamburg.

HİNDİ KIYMALARINDA *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*'İN VARLIĞI

Devrim SARIGÜZEL İrfan EROL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Ankara

Özet: Hindi kıymalarında *Clostridium perfringens*'in varlığının saptanması amacıyla yapılan bu çalışmada, Aralık 2003-Ağustos 2004 ayları arasında Ankara'da değişik marketlerde tüketime sunulan 8 farklı firmaya ait 200'er gramlık toplam 100 hindi kıyması örneği materyal olarak kullanılmıştır.

Örneklerde *Clostridium perfringens*'in varlığı, Baumgart ve ark.(1990), Baumgart (1997), Labbe (1989), Schalch ve ark. (1996) tarafından önerilen yöntemle göre saptanmıştır.

Analiz bulguları sonucunda toplam 100 hindi kıyması örneğinin 58'inde (% 58.0) *Clostridium perfringens* saptanmıştır. Aralık-Mart dönemini kapsayan soğuk aylarda alınan toplam 40 hindi kıyma örneğinin 11'inde (% 27.5) , Mayıs - Ağustos dönemini kapsayan sıcak aylarda alınan toplam 60 hindi kıyma örneğinin 47'sinde (% 78.3) *Clostridium perfringens* izole ve identifiye edilmiştir.

Sonuç olarak, özellikle sıcak aylarda alınan örneklerin önemli bir bölümünün *Clostridium perfringens* ile kontamine olduğu gözönüne alındığında, uygun olmayan muhafaza ve hazırlama koşullarına bağlı olarak hindi kıyması tüketiminden kaynaklanabilecek halk sağlığı riskinin önlenmesi için gerekli tüm hijyenik ve teknik koşulların sağlanması önerilir.

Anahtar Kelimeler: Hindi kıyma, *C. perfringens*, saptama

Occurrence of *Clostridium perfringens* in Ground Turkey

Abstract: The objective of this study was to determine the occurrence of *Clostridium perfringens* in ground turkey. A total of 100 ground turkey samples from 8 different producers were obtained from different markets in Ankara between December 2003 to August 2004. The samples were taken aseptically and brought to the laboratory in cold chain tested the same day.

The method for the isolation and identification of *Clostridium perfringens* was used according to Baumgart et al. (1990), Baumgart (1997), Labbe (1989) and Schalch et. all. (1996).

Clostridium perfringens was isolated from 58 (58.0 %) of 100 ground turkey samples tested. *Clostridium perfringens* was detected higher in the warm months of June to August with the rate of 78.3 % (47/60) than in cold months of December to March with the rate of 27.5 % (11/40).

Because of the high incidence of *C. perfringens* in raw ground turkey samples tested particularly in warm months, it is concluded that the ground turkey must be produced under hygienic and technological conditions for the prevention of public health.

Key words: Ground turkey, *C. perfringens*, detection

Giriş

C. perfringens, toprakta suda, atıksuda, insan ve hayvan intestinal kanalında bulunabilen ubiquiter bir mikroorganizmadır (Hatheway, 1990). Toprakta ve dışkıda bulunabilen *C. perfringens* sporları intermitent bir fekal kontaminasyon kaynağı ve indikatörüdür (Fujioka ve Shisumra, 1985). Doğada bol miktarda bulunabilen bu mikroorganizma ve sporları büyük üretim yapan gıda endüstrisinde sıklıkla problemlere yol açmaktadır.

Özellikle restoranlar, hastaneler ve huzurevlerinde görülen gıda kaynaklı infeksiyon etkenleri arasında *C. perfringens* önemli bir yer tutmaktadır. Bununla birlikte günümüzde zaman zaman ölümle de sonuçlanan büyük çaplı olguların sıklıkla bildirilmesi, *C. perfringens*'in gıda güvenliği ve halk sağlığı yönünden taşıdığı önemi

ortaya koymaktadır (Hobbs ve Roberts, 1993; Adams ve Moss, 1995; Erol, 1999; Erol 2000; Brynestad ve Granum, 2002). *C. perfringens* gıda infeksiyonlarına tüm dünyada yaygın olarak rastlanmaktadır (Labbe, 1989). Hastalığın hafif seyirli olması ve hastalıktan etkilenenlerin çok küçük bir kısmının rapor edilmesi nedeniyle gerçek sayının rapor edilen olgu sayısının çok üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (Jay, 1992).

ABD'nin Hastalıkları Kontrol Merkezine (CDC) 1987-1991 yılları arasında bildirilen kanatlı eti tüketiminden kaynaklanan toplam 128 gıda infeksiyon ve intoksikasyonu olgusunda 3500'ün üzerinde kişinin etkilendiği rapor edilmiş, hindi eti tüketiminin % 36 oranında bir paya sahip olduğu ve bu olguların % 28'inden *C. perfringens*'in sorumlu bulunduğu belirlenmiştir (Anon,1991). CDC, ABD'de; 1990 yılında 20, 1991 yılında 645, 1992 yılında 100, 1994 yılında 56, 1996 yılında 80, 1999 yılında da 13 kişinin *C. perfringens*'le kontamine hindi eti tüketilmesinden kaynaklanan gıda infeksiyonlarından etkilendiğini bildirmiştir (Anon, 2001; 2003a,b).

ABD'de Halk Sağlığı Laboratuvar Servisi Bulaşıcı Hastalık Denetim Merkezi (Public Health Laboratory Service Communicable Disease Surveillance Center), 1992-1999 yılları arasında kanatlı eti tüketiminden kaynaklanan gıda infeksiyonlarından %10'unun hindi eti tüketiminden köken aldığını belirlenmiş olup sorumlu tutulan etkenlerin %21'nin *C. perfringens* olduğu bildirilmiştir (Kessel ve ark.,2001).

Finlandiya'da yapılan epidemiyolojik araştırmada 1975-1999 yılları arasında *C. perfringens*'e bağlı 238 gıda kaynaklı salgında 6.900 kişinin etkilendiği ve sözkonusu 25 yıl içinde bunun tüm salgınların %20'sini oluşturduğu bildirilmiştir (Lukinmaa ve ark., 2002).

Yapılan çalışmalarda kanatlı eti ve ürünlerinin önemli bölümünün yüksek düzeyde kontamine olmasına, özellikle kesim işlemi sırasında hijyenik koşulların yeterli olmayışına bağlı olarak dışkı ve bağırsak içeriğinin çapraz kontaminasyonla karkas ve içorganlara bulaşmasının neden olduğu bildirilmiştir (Uyttendale ve ark.,1998; Erol, 2000).

Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kanatlı eti ve ürünlerinin *C. perfringens* ile önemli düzeyde kontamine olduğu bildirilmiştir.

Ali ve Fung (1991) 55 hindi kıyması örneğinin 40'ında (% 73) *C. perfringens* saptadıklarını bildirmişlerdir. Kontaminasyon düzeyine ilişkin olarak yapılan çalışmalarda Hatheway ve Farmer (1991) Kanada'da tüketilen hindi etlerinin 10^5 > kob/g düzeyinde, Lin ve Labbe (2003) ise ABD'deki değişik marketlerde satışa sunulan hindi etlerinin 42,7 MPN/g düzeyinde *C. perfringens* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Ankara'nın değişik semtlerindeki market ve kasaplardan alınan sığır kıyma örneklerinin % 65'inin 2.51 MPN/g düzeyinde *C. perfringens* ile kontamine olduğu saptanmıştır (Çakmak ve Erol, 2002).

Yukarıda belirtilen nedenlerle bu çalışmada, uygun olmayan kesim şartları, muhafaza ve taşıma koşulları ile yetersiz personel hijyeni ve çapraz kontaminasyon gibi nedenlerle kontamine hindi kıymalarında, gıda enfeksiyonlarına yol açabilecek olan *C. perfringens* varlığının saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma kapsamında Ankara'da tüketime sunulan 8 değişik firmaya ait 100 hindi kıyması örneği materyal olarak kullanılmıştır. Aseptik şartlarda en az 200 gram olacak şekilde alınan örnekler, soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten hemen sonra *C. perfringens* yönünden analiz edilmiştir. Örneklerdeki *C. perfringens*'in varlığı Labbe (1989), Baumgart ve ark.(1990), Schalch ve ark. (1996) ile Baumgart (1997) tarafından önerilen yöntem gereğince saptanmıştır. Bu çerçevede 10 gram hindi kıyması örneği, 90 ml Perfringens Enrichment Medium (PEM: Fluid Thioglycollate Medium Merck 8191 + D-Cycloserine Oxoid TSC Supplement SR88) ile steril torba içerisinde stomacherde homojenize edildikten sonra 46°C'de 20 saat süre ile anaerob koşullarda inkübe edilmiştir. Zenginleştirme sonrası, Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC Agar, Oxoid CM587) agara ekim yapılarak plaklar 46°C'de 20 saat anaerob şartlarda (AnaeroGen, Oxoid AN0025A) inkübe edilmiştir. TSC agarda anaerob koşullarda üreyen siyah renkli *C. perfringens* şüpheli kolonilerden en az 5'i seçilerek biyokimyasal testler yapılmıştır. Buna göre Gram boyama ile katalaz (% 3), hareketlilik, nitrat, laktoz, jelatin, reverse-CAMP (*Str. agalactia* ile) ve asit fosta faz testleri yapılmıştır. Test sonuçlarına göre Gram pozitif, katalaz negatif, reverse-CAMP testi pozitif, laktoz pozitif, jelatin pozitif reaksiyon veren koloniler *C. perfringens* olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

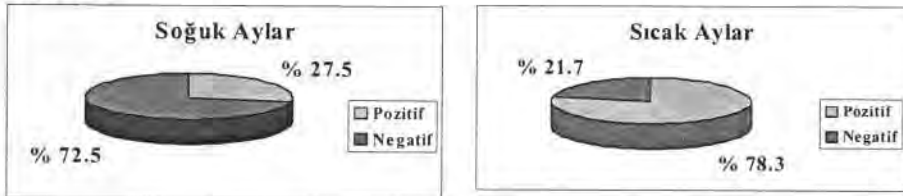
Bu çalışmada, Aralık 2003-Ağustos 2004 tarihleri arasında Ankara'da tüketime sunulan değişik firmalara ait 100 hindi kıyması örneğinde *Clostridium perfringens*'in varlığı belirlenmiştir. Analiz bulguları sonucunda, toplam 100 hindi kıyması örneğinin 58'inden (% 58.0) *C. perfringens* izole ve idendifiye edilmiştir. *C. perfringens* 'in varlığının yanı sıra mevsimsel farklılıktan kaynaklanan olası insidens farkını ortaya koyabilmek amacıyla bu çalışma, Aralık 2003 – Ağustos 2004 tarihlerini kapsayan periyot içinde yapılmıştır. Bu çerçevede; soğuk aylarda (Aralık – Mart) alınan 40 örneğin 11'inde (% 27.5), sıcak aylarda (Mayıs – Ağustos) alınan 60 örneğin 47'sinde (% 78.3) *C. perfringens* saptanmıştır (Tablo 1; Şekil 1).

Her bir dönemde incelenen örnek sayıları baz alınarak *C. perfringens* saptanan örnek sayılarının değerlendirilmesi sonucunda mevsime bağlı sıcaklık artışına paralel olarak *C. perfringens*'in izolasyon ve identifikasyonunda artış olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Hindi kıymalarından izole edilen *C. perfringens*'in mevsimsel dağılımı.

Örneklerin Alındığı Aylar	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	Yüzde Değerleri
Sıcak Aylar (Mayıs,Haziran, Temmuz,Ağustos)	60	47	% 78.3
Soğuk Aylar (Aralık,Ocak, Şubat,Mart)	40	11	% 27.5
Toplam	100	58	% 58.0

Şekil 1. Hindi kıymalarından izole edilen *C. perfringens*'in mevsimsel dağılımı.



Sonuç

Bu çalışmada Ankara'da tüketime sunulan değişik firmalara ait toplam 100 hindi kıyması örneğinden 58'inin (%58.0) *C. perfringens* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Örneklerin önemli bir bölümünün kontamine olduğu gözönüne alındığında, özellikle sıcak mevsimlerde uygun olmayan muhafaza ve hazırlama koşullarına bağlı olarak hindi kıymasının potansiyel sağlık riski oluşturabileceği düşünülmelidir. Bu durum özellikle çiğ veya yetersiz pişirilmiş hindi kıyma tüketiminde daha da büyük önem kazanmaktadır.

Ülkemizde tüketimi her yıl biraz daha artan hindi eti ve ürünlerinden kaynaklanabilecek gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlardan halk sağlığının korunması ile ekonomik kayıpların azaltılması ; sağlıklı hindi sürülerinin veteriner hekimlerin kontrolünde HACCP konseptinin uygulandığı kesimhanelerde AB normlarına uygun şekilde kesilmesi, çapraz kontaminasyonun önlenmesi, soğuk zincirin sürekliliğinin sağlanması, personelin eğitimi ve tüketicinin bilinçlendirilmesi ile gerçekleştirilebilir.

Ayrıca ülkemizde *C. perfringens* enfeksiyonlarının oluşumunda özellikle et ve et ürünlerinin rolü DNA analizlerine dayalı epidemiyolojik çalışmalarla rapor edilip, suşların antibiyotik dirençlilikleri belirlenerek gerekli önlemler alınmalıdır.

Kaynaklar

- Adams, M.R., Moss, M.O. (1995). *Bacterial agents of foodborne illness*. (In): Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p.: 177-181.
- Ali, M.S., Fung, D.Y.C., Kastner, C.L. (1991). Comparison of rapid methods for isolation and enumeration of *Clostridium perfringens* in meat. *J. Food Sci.*, 56 (2): 367-370.
- Anon (1991). Communicable Disease Report. Poultry-associated outbreaks of food poisoning. *CDR Weekly*, 1(52):231-234.
- Anon (2001). Communicable Disease Report. General outbreaks of foodborne illness England and Wales: Laboratory reports October to December 2000. *CDR Weekly*, 11(23).

Anon (2003a).Centers for Disease Control. 1999 foodborne diseases outbreaks. http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/us_outb/fbo1999/bacterial_99b.htm(erişim tarihi:24.08.2003)

Anon (2003b). Outbreaks traced to USDA-regulated foods, 1990-2000. http://www.cspinet.org/reports/outbreak_alert/appendix_b.htm (erişim tarihi:12.07.2003)

Baumgart, J., Baum, O., Lippert, S. (1990). Schneller und direkter Nachweis von *Clostridium perfringens*. *Fleischwirtsch.*,70(9): 1010-1014.

Baumgart, J. (1997). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag. Hamburg. p.:75-82

Brynstad, S., Granum, P.E. (2002). *Clostridium perfringens* and foodborne infections. *Int.J.Food Microbiol.* 74: 195-202

Çakmak, Ö., Erol, I. (2002). Ankara'da tüketime sunulan sığır kıymalarında *Clostridium perfringens*'in varlığı ve kontaminasyon düzeyi. 5. Ulusal Mikrobiyoloji Kongresi, 24-26 Eylül 2002, Konya.

Erol, I. (1999). Gıda Hijyeni. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Tek. Anabilim Dalı, Ankara Üniv. Basımevi.

Erol, I. (2000). Türkiye'de Hayvan Hareketleri, Kaçak Kesimler, Hayvansal Ürünlerde Gıda Güvenliği ve Halk Sağlığı. Türkiye 2000 Hayvancılık Kongresi. 31 Mart-2 Nisan 2000, Kızılcahamam, Ankara. s.: 242-252

Fujioka, R.S., Shizumura, L.K. (1985). *Clostridium perfringens*, a reliable indicator of stream water quality. *J. Water Pollut. Control Fed.* 57: 982- 986.

Granum, P. (1990). *Clostridium perfringens* toxins involved in food poisoning. *Int. J. Food Microbiol.*, 10: 101-112.

Hatheway, C.L. (1990). Toxigenic clostridia. *Clin. Microbiol. Rev.* 3:68-98.

Hatheway, C.L., Farmer, J.J. (1991). *Clostridium perfringens* or *Klebsiella pneumoniae* as the cause of a foodborne outbreak. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 415-416.

Hobbs, C.B., Roberts, D. (1993). Food Poisoning and Food Hygiene. 6th ed. Edward Arnold, London, p.: 29, 80-127.

Jay, J. M. (1992). Food poisoning caused by Gram-positive sporeforming bacteria. (In): Modern Food Microbiology USA: AVI Book, p.: 479-487.

Kessel, A.S., Gillespie, I.A., O'Brien, S.J., Adak, G.K., Humphrey, T.J., Ward, L.R.(2001). General outbreaks of infectious intestinal disease linked with poultry, England and Wales, 1992-1999. *Commun. Dis. Public Health*, 4(3): 171-177.

Labbe, R.G. (1989). *Clostridium perfringens*. In: Foodborne Bacterial Pathogens, M.P. Doyle (Ed.). Marcel Decker Inc., New York and Basel, p: 191-227.

Lin, Y., Labbe, R. (2003). Enterotoxigenicity and genetic relatedness of *Clostridium perfringens* isolates from retail foods in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(3):1642-1646.

Lukinmaa, S., Takkunen, E., Siitonen, A.(2002). Molecular epidemiology of *Clostridium perfringens* related to food-borne outbreaks of disease in Finland from 1984 to 1999. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8): 3744-3749.

Schalch, B., Eisgruber, H., Geppert, P., Stolle, A. (1996). Vergleich von vier Routineverfahren zur Bestätigung von *Clostridium perfringens* aus Lebensmitteln. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 47: 27-30.

Uyttendale, M.R., Neyts, K.D., Lips, R.M., Debevere, J.M. (1997). Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products in Belgium. *Int.J.Food Microbiol.*40:1-8

ANKARA'DAKİ DEĞİŞİK SU KAYNAKLARI İLE KASAPLIK SIĞIR VE KOYUN DIŞKILARINDA *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. OOKİSTLERİNİN VARLIĞI

Özen KURŞUN¹

İrfan EROL²

¹Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Burdur

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Ankara

Özet: Değişik su kaynakları ile kasaplık sığır ve koyun dışkılarında *Cryptosporidium* ookistleri varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, Temmuz 2002- Haziran 2003 tarihleri arasında kuyu sularından, ASKİ arıtım sisteminden, yüzeysel su kaynaklarından ve Ankara Ticaret Borsası mezbahası arıtım tesislerinden alınan su örnekleri ile aynı mezbahada kesilen sığır ve koyun dışkı örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Su örneklerinde *Cryptosporidium* ookistlerinin varlığı çöktürme, yüzdürme işlemlerini takiben mikroskopik bakı yöntemi ile, dışkı örnekleri ise direkt mikroskopik bakı uygulanarak saptanmıştır. Çalışma bulguları kapsamında, kuyu suyu örneklerinin % 15.9'unun (23/144), sığır ve koyun çiftlikleri yakınındaki yüzeysel su kaynağı örneklerinin % 100'ünün (24/24), ASKİ'ye bağlı su arıtma sistemi girişinden alınan örneklerin % 41.6'sının (5/12), çıkışından alınan örneklerin % 0.0'ının (0/12), Ankara Ticaret Borsası Mezbahası arıtım sistemi girişinden (13/13) ve çıkışındaki (13/13) alınan örneklerin % 100'ünün, aynı mezbahada kesilen sığır dışkılarının % 38.3'ünün (23/60) ve koyun dışkılarının % 6.6'sının (4/60) *Cryptosporidium* spp. ookistleri içerdiği saptanmıştır. Mevsimsel dağılım yönünde yapılan değerlendirmelerde ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde kuyu sularında sırasıyla % 19.4 (7/23), % 22.2 (8/23), % 13.9 (5/23) ve % 8.3 (3/23) oranında *Cryptosporidium* ookisti tespit edilmiştir. Aynı zamanda Çubuk ve Mamak bölgesine ait kuyu sularında sırasıyla % 82.6 (19/23) ve % 17.4 (4/23) *Cryptosporidium* ookisti saptanmış olup bölgeler arasında farklılığın istatistiksel açıdan önemli ($p < 0.001$) olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Cryptosporidium* ookist, su, sığır, koyun, dışkı, mevsimsel dağılım.

Occurrence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in the Different Water Samples and Feces of Slaughtered Cow and Sheep in Ankara

Abstract: The objective of this study was to determine the occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in different water sources including well water, raw water and treated water, sewage water and also fecal samples of slaughtered cattle and sheep. Waters samples were taken between July 2002 to June 2003 from wells, water treatment plants of Ankara Municipality, surface water sources, sewage water treatment plant of Ankara Ticaret Borsası slaughterhouse and also slaughtered cattle and sheep feces. *Cryptosporidium* oocysts in water samples was detected by using the flocculation, flotation method and microscopic examination and faeces samples were examined using direct microscopic examination. *Cryptosporidium* oocysts were detected in the well water samples at the rate of % 15.9 (23/144), the surface water source samples close to cattle and sheep farms at the rate of % 100.0 (24/24), entrance the water treatment system of ASKI at the rate of % 41.6 (5/12), and existence samples at the rate of % 0.0 (0/12), entrance (13/13) and existence (13/13) samples of the water treatment system of Ankara Ticaret Borsası slaughterhouse at the rate of % 100.0, fecal samples of cattle at the rate of % 38.3 (23/60) and fecal samples of sheep at the rate of % 6.6 (4/60) taken from the same slaughterhouse. The seasonal distributions in the well water samples were, % 19.4 (7 of 23), % 22.2 (8 of 23), % 13.9 (5 of 23), % 8.3 (3 of 23) in spring, summer, autumn and winter months, respectively. In addition, the difference of findings for well water samples between Çubuk and Mamak region was statistically significant ($p < 0.001$), and these were % 82.6 (19 of 23), % 17.4 (84 of 23) at Çubuk and Mamak well water sources, respectively.

Key words: *Cryptosporidium* oocyte, water, cow, sheep, feces, seasonality.

Giriş

Cryptosporidium spp. yaşam döngüsünü tek konakçı içinde tamamlamaktadır. Dışkı ile atılan ookistler soğuk, nemli ve rutubetli ortamlarda canlılığını devam ettirmektedirler. Dış ortamda bulunan ookistler, kirli su ve gıdalarla ağız yolu ile alınmaktadır. Bu form enfeksiyonun konakçıdan konakçıya geçişini sağlamaktadır. (Janoff ve

Reller, 1987; Dubey ve ark., 1990; Crawford ve Vermund, 1988). *Cryptosporidium* ookistleri çevre şartlarına ve dezenfektanlara karşı dirençli olup uygun koşullarda canlılıklarını uzun süre devam ettirirler (Boch ve ark., 1982).

Fekal kontaminasyonun fazla olduğu, arıtım uygulanmamış ya da filtreden geçirilmemiş atık sular, yoğun yağış sonrası su kaynaklarına akan çamurlu sular, kanalizasyon sularında, yer altı sularında, yüzeysel su kaynaklarında ve arıtım uygulanan sulara *Cryptosporidium* ookistleri saptanmaktadır (Anonymous, 1993). Ayrıca evlerinde gereksinimlerini karşılamak amacıyla filtre edilmemiş suları tüketen kişiler daha büyük tehlike altındadırlar (Fayer ve ark., 2000a).

Değişik ülkelerde *Cryptosporidium* ookistlerinin sulardaki varlığı ve kontaminasyon düzeyi üzerine çalışmalar ve epidemiyolojik araştırmalar yapılmasına karşın, Türkiye’de *Cryptosporidium* ookistlerinin içme, kuyu ve yüzeysel su kaynaklarında varlığı ile mezbahe atık sularında varlığına ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Belirtilen nedenlerle bu çalışma sular ve kasaplık hayvan dışkılarında *Cryptosporidium* spp varlığı ve mevsimsel dağılımını saptamak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Temmuz 2002 ile Haziran 2003 tarihlerini kapsayan 1 yıllık periyotta, Ankara’nın değişik bölgelerindeki su kuyularından (n:144) ; ASKI’ye bağlı su arıtma tesislerinden arıtma öncesi (n:12) ve sonrası (n:12); bazı sığır ve koyun çiftliklerinin yakınında bulunan yüzeysel su kaynaklarından (n:24); Ankara Ticaret Borsası Mezbahasının arıtma sistemi girişi (n:13) ve çıkışından (n:13) aynı zamanda bu mezbahada kesilen koyun (n:60) ve sığır (n:60) dışkısından oluşan toplam 338 örnek materyal olarak kullanıldı. Aseptik şartlarda steril kaplara alınan örnekler, soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten hemen sonra *Cryptosporidium* ookistleri yönünden incelendi. *Cryptosporidium* ookistlerinin varlığı su örneklerinde çöktürme ve yüzdürme işlemlerini takiben, dışkı örneklerinde ise direkt yöntem ile hazırlanan boyalı preparatlar mikroskopik bakı yöntemiyle saptandı (Kaufmann, 1996; Karanis ve Kimura, 2002; Tsushima ve ark., 2001).

Bulgular

Çalışmada 144 kuyu suyu örneğinin 23'ünde (% 15.9), ASKİ arıtma öncesi alınan 12 su örneğinin 5'inde (% 41.6), ASKİ su arıtma tesislerinden arıtım sonrası alınan 12 su örneğinin hiç birinde (% 0.0), yüzeysel su kaynaklarından alınan 24 su örneğinin tamamında (% 100.0), Ankara Ticaret Borsası Mezbahası'nın arıtma sisteminin arıtım öncesi ve arıtım sonrası alınan 13'er su örneğinin tamamında (%100.0), aynı mezbahada kesilen sığırlardan alınan 60 dışkı örneğinin 23'ünde (% 38.3) ve 60 koyun dışkı örneğinin 4'ünde (% 6.6) *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır. Ankara bölgesinde toplanan su ve dışkı örneklerinde *Cryptosporidium* ookisti dağılımı Tablo 1. ile Grafik 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Ankara Bölgesinde Toplanan Su ve Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium* Ookisti Dağılımı.

	Kuyu Suları	ASKİ Arıtım Suyu		Yüzeysel Su Kaynakları	Mezbaha Arıtım Suyu		Dışkı	
		Giriş	Çıkış		Giriş	Çıkış	Sığır	Koyun
x/n	23/144	5/12	0/12	24/24	13/13	13/13	23/60	4/60
%	15.9	41.6	0.0	100.0	100.0	100.0	38.3	6.6

x/n (x:pozitif bulunan; n: muayene edilen)



Şekil 1: Ankara Bölgesinde Toplanan Su ve Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium* Ookisti Dağılımı.

Ankara bölgesinde toplanan 144 kuyu suyu örneğinin 23'ünde (%15.9) *Cryptosporidium* ookisti bulunmuştur. *Cryptosporidium* ookisti pozitif 23 örneğin 4'ünün (% 17.4) Mamak bölgesinden, 19'unun da (% 82.6) Çubuk bölgesinden alınan kuyu sularına ait olduğu saptanmıştır. Çubuk ve Mamak bölgesi arasındaki pozitif örneklere ilişkin farkın istatistiksel açıdan önemli ($p < 0.001$) olduğu

belirlenmiştir. Bölgelere göre kuyu sularında *Cryptosporidium* spp. ookisti insidensi Tablo 2 ve Grafik 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Bölgelere Göre Kuyu Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookisti Dağılımı.

Örneklerin alındığı yer ve sayısı	Pozitif örnek sayısı (%)
Çubuk n:48	19 (39.5)
Mamak n:96	4 (4.1)
Toplam N:144	23 (15.9)



Şekil 2: Bölgelere Göre Kuyu Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookisti Dağılımı.

Cryptosporidium ookistlerinin varlığının saptanması yanında mevsimsel farklılıktan kaynaklanan olası insidens farkını ortaya koyabilmek amacıyla bu çalışma Temmuz 2002- Haziran 2003 tarihlerini kapsayan periyot içerisinde yapılmıştır. Bu çerçevede; *Cryptosporidium* ookisti saptanan kuyu suyu örneklerin 7’sinin (% 19.4) ilkbahar aylarında (mart- mayıs), 8’inin (% 22.2) yaz aylarında (haziran- ağustos), 5’inin (% 13.9) sonbahar aylarında (eylül- kasım) ve 3’ünün (% 8.3) kış aylarında (aralık- şubat) alınan örnekler ait olduğu saptanmıştır (Tablo 3; Grafik 3). Her bir dönemde incelenen örnek sayısının eşit tutulduğu bu çalışma sonuçlarında, yaz aylarında artış gözlenen *Cryptosporidium* ookisti izolasyonunda kış aylarında azalma olduğu görülmüş olmasına karşılık, bu farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p > 0.05$) saptanmıştır.

Tablo 3: Ankara Bölgesinden Toplanan Kuyu Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistinin

Mevsimsel Dağılımı.

Mevsim	Alınan örnek sayısı (n)	Pozitif örnek sayısı (n)	%
Ilkbahar	36	7	19.4
Yaz	36	8	22.2
Sonbahar	36	5	13.9
Kış	36	3	8.3
Toplam	144	23	15.9



Şekil 3: Ankara Bölgesinden Toplanan Kuyu Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistinin Mevsimsel Dağılımı.

ASKİ'ye bağlı su arıtma tesislerinden arıtım öncesi alınan toplam 12 su örneğinin 5'inde (% 41.6) *Cryptosporidium* ookisti saptanırken, arıtma sonrası alınan toplam 12 su örneğinin hiç birinde (% 0.0) *Cryptosporidium* ookisti saptanamamıştır. Arıtım öncesine ait su örneklerinde mevsimsel dağılım incelendiğinde, ilkbaharda alınan 3 örneğin tamamında (%100.0) ve yaz aylarında alınan 3 örneğin 2'sinde (%66.6) *Cryptosporidium* ookisti pozitif bulunurken sonbahar ve kış aylarında alınan örneklerde *Cryptosporidium* ookistlerinin varlığına rastlanmamıştır (Tablo 4).

Ankara Ticaret Borsası Mezbaha'sında kesilen sığırlardan alınan 60 dışkı örneğinin 23'ünde (% 38.3), koyunlardan alınan 60 dışkı örneğinin 4'ünde (% 6.6) *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır. *Cryptosporidium* ookisti saptanan dışkı örnekleri Tablo 5'de gösterilmiştir.

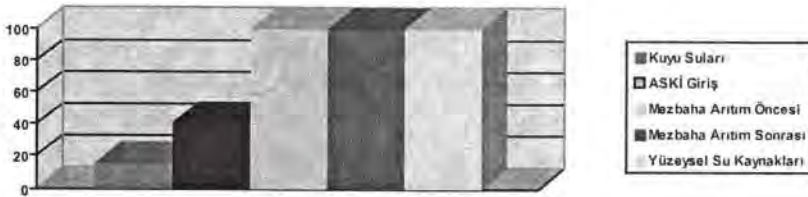
Tablo 4: ASKİ Arıtım Öncesi ve Arıtım Sonrası Su Örneklerinde *Cryptosporidium* Ookistinin Mevsimsel Dağılımı.

Mevsim	Arıtım öncesi		Arıtım sonrası	
	Alınan örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı (%)	Alınan örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı (%)
İlkbahar	3	3 (100.0)	3	0 (0.0)
Yaz	3	2 (66.6)	3	0 (0.0)
Sonbahar	3	0 (0.0)	3	0 (0.0)
Kış	3	0 (0.0)	3	0 (0.0)
Toplam (%)	12	5 (41.6)	12	0 (0.0)

Tablo 5: *Cryptosporidium* spp. Ookistleri Saptanan Dışkı Örnekleri.

	Alınan örnek sayısı(n)	Pozitif örnek sayısı (%)
Siğır	60	23 (38.3)
Koyun	60	4 (6.6)
Toplam	120	27 (22.5)

Ankara bölgesinde su kaynağı olarak kullanılan kuyu sularında % 15.9, ASKİ arıtım sistemi girişinde % 41.6, yüzeysel su kaynaklarında %100.0, su kaynaklarına akıtılan Ankara Ticaret Borsası Mezbahası arıtım sistemi sularında % 100.0 olarak bulunan *Cryptosporidium* spp. prevalansı Grafik 4’de gösterilmiştir.



Şekil 4: İncelenen Su Örneklerinde *Cryptosporidium* spp. Prevalansı

Su kaynaklarında *Cryptosporidium* ookisti varlığının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, ülkelerin coğrafik yapısına, iklimine, bölgede bulunan hayvan popülasyonuna göre etkenin saptanma oranının yüzeysel su kaynaklarında % 4.4- 100.0, içme sularında % 7.0-37.0, atık sularda ise % 25.5-100.0 arasında değiştiği bildirilmiştir (Smith ve Rose, 1990). Bu çalışmada arıtım işlemi uygulanmayan kuyu sularında, ASKİ arıtım sistemine dahil olan su kaynaklarının bulunduğu hat üzerindeki hayvancılık yapılan bölgelerdeki yüzeysel su kaynakları ile yine bu su kaynaklarına boşaltılan mezbaha arıtım sisteminden çıkan su örnekleri incelenerek Ankara bölgesinde *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin varlığının ve mevsimsel dağılımının araştırılmasına gidilmiştir. Bu doğrultuda alınan sonuçlar ise hayvancılıkla uğraşan bölgelerde bulunan su kaynaklarında, mezbaha arıtım suları ile ASKİ arıtım öncesi işlem görmemiş su örneklerinde *Cryptosporidium* spp. ookistleri saptanmış olup bulgular bu konuda yapılan çalışmaları destekler niteliktedir.

Sonuç

Sonuç olarak *Cryptosporidium* ookistlerinin kuyu sularında, yüzeysel su kaynaklarında ve mezbaha atık sularında yüksek düzeyde bulunduğu dikkate alındığında, arıtım yapılmamış suların tüketilmesi insan sağlığı için büyük risk oluşturmaktadır. Bu nedenle su kaynaklı salgınlara ortaya çıkmasını önlemek için içme sularının sağlanmasında ve arıtılmasında gerekli tüm işlemlerin titizlikle uygulanarak ve kontrollerinin yapılarak güvenli hale getirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

- Anon (1993): Center For Disease Control: Surveillance for waterborne disease outbreaks-United States, 1991-1992. *MMWR.*, 42 (Ss-05),1-22.
- Boch J.V., Göbel J.H, Brändler U, Schloemer L. (1982): Kryptosporidien-Infektion bei Haustieren. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 95,361-367.
- Crawford G.F., Vermund H.S. (1988): Human Cryptosporidiosis. *CRC Critical Rev Microbiol.*, 16 (2),113-159.
- Dubey J.P., Speer C.A., Fayer R (1990): Cryptosporidiosis of Man and Animals. *CRC Press, USA*, Pp 199.

Fayer R, Morgan U, Upton S.I. (2000a): Epidemiology of *Cryptosporidium*: Transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.*, 30,1305-1322.

Janoff N.E, Reller B.L. (1987): *Cryptosporidium* species, a protean protozoan. *J. Clin. Microbiol.*, 25 (6), 967-975.

Karanis P, Kimura A (2002): Evaluation of three flocculation methods for the purification of *Cryptosporidium parvum* oocysts from water samples. *Lett. Appl. Microbiol.*, 34,444-449.

Kaufmann, J. (1996): Parasitic Infections of Domestic Animal. A Diagnostic Manual. *Birkhäuser Verlag*, Berlin.

Smith H. V, Rose J.B. (1990) Waterborne cryptosporidiosis. *Parasitol Today*, 6,8-12.

Tsushima Y., Karanis P., Kamada T., Nagasawa H., Xuan X., Igarashi I., Fujisaki K., Takahashi E., Mikami T. (2001) Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in environmental water in Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 63 (3),233-236.

**ANKARA, ÇANKIRI VE KASTAMONU İLLERİNDE
BULUNAN BAZI SÜT İŞLETMELERİNİN ATIKSULARINDA
ÇEVRE KİRLİLİĞİ AÇISINDAN ÖNEMLİ
PARAMETRELERİN SAPTANMASI***

Fatma Seda BİLİR ORMANCI

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı- Ankara

Özet: Bu çalışma, Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerinde, çeşitli süt işletmelerinin atıksularında, çevre kirliliği açısından önemli parametrelerin incelenmesi amacı ile yapıldı. Ankara ve Kastamonu illerinde arıtma öncesi, Çankırı ilinde arıtma öncesi ve sonrası alınan örnekler BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres, pH, sıcaklık, aerob mezofil genel canlı sayısı yönünden analiz edildi. Ankara iline ait atıksu örneklerinde, ortalama değerlerin BOİ 9451 mg/l, KOİ 13299 mg/l, AKM 2137 mg/l, yağ ve gres 195 mg/l, pH 5,7, sıcaklık 22 °C, aerob mezofil genel canlı sayısı 1.0×10^7 olduğu saptandı. Çankırı iline ait arıtma öncesi atıksu örneklerinde, ortalama değerlerin BOİ 4854 mg/l, KOİ 12440 mg/l, AKM 1804 mg/l, yağ ve gres 141 mg/l, pH 4,3, sıcaklık 24 °C, aerob mezofil genel canlı sayısı $2,4 \times 10^6$ kob/ml olduğu saptandı. Çankırı iline ait arıtma sonrası atıksu örneklerinde, ortalama değerlerin BOİ 32 mg/l, KOİ 149 mg/l, AKM 28mg/l, yağ ve gres 30 mg/l, pH 8,4, sıcaklık 23 °C, aerob mezofil genel canlı sayısı 1.0×10^6 kob/ml olduğu saptandı. Kastamonu iline ait atıksu örneklerinde, Ortalama değerlerin BOİ 9787 mg/l, KOİ 14394 mg/l, AKM 2075 mg/l, yağ ve gres 202 mg/l, pH 5,7, sıcaklık 24 °C, aerob mezofil genel canlı sayısı 2.7×10^7 kob/ ml olduğu saptandı.

Sonuç olarak arıtılmamış süt endüstrisi atıksularında, atık yükünün yüksek olduğu saptandı. Süt endüstrisi kaynaklı kirliliğin gelecekte artmaması, çevre sağlığı ve ekolojik dengenin korunması için, süt endüstrisi atıksularında mutlaka arıtma uygulanması gerektiği görüşüne varıldı.

Anahtar kelimeler: Askıda katı madde (AKM), atıksu, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), süt endüstrisi

Determination of the Important Pollution Parameters in Wastewater of Some Dairy Factories Around Ankara, Çankırı and Kastamonu Provinces

Abstract:The objective of this study was to investigate the main pollution parameters of wastewater in various dairy processing plants in Ankara, Çankırı and Kastamonu provinces. The samples were tested for the BOD (Biological oxygen demand), COD (Chemical oxygen demand), TSS (Total suspended solid), FOG (Fat oil grease), temperature, pH and total aerobic mesophilic count before treatment whereas the samples from Çankırı province tested also after treatment . The wastewater samples collected from Ankara region showed that the average levels of BOD 9451 mg/l, COD 13299 mg/l, TSS 2137 mg/l, FOG 195 mg/l, pH 5,7, temperature 22°C, total aerobic mesophilic count $1,0 \times 10^7$ cfu/ml. The wastewater samples pre treatment collected from Çankırı region showed that the average levels of BOD 4854 mg/l, COD 12440 mg/l, TSS 1804 mg/l, FOG 141mg/l, pH 4,3, temperature 24°C, average total aerobic mesophilic count $2,4 \times 10^6$ cfu/ml. The wastewater samples after treatment collected in Çankırı showed that the average levels of BOD 32 mg/l, COD 149 mg/l, TSS 28 mg/l, FOG 30 mg/l, pH 8,4, temperature 23°C, total aerobic mesophilic count $1,0 \times 10^6$ cfu/ml. The wastewater samples were collected from Kastamonu region showed that; the average levels of BOD 9787 mg/l, COD 14394 mg/l, TSS 2075 mg/l, FOG 202 mg/l, pH 5,7, temperature 24°C, total aerobic mesophilic count $2,7 \times 10^6$ cfu/ml.

In conclusion, untreated wastewater samples of dairy industry tested in this study contained high levels of pollution parameters. To avoid of environmental health from pollution it is recommended to establish of wastewater treatment systems for dairy industry.

Key words: BOD, COD, dairy industry, TSS, wastewater

Giriş

Endüstrilerde arıtmanın işletmeye ek bir ekonomik yük getirmesi, arıtma sistemlerinin özellikle biyolojik arıtmanın maliyetinin yüksek olması, ayrıca çevre ile ilgili yasaların yeterli olmaması veya mevcut yasaların yeterince uygulanamaması gibi nedenlerle arıtma çoğu

zaman göz ardı edilmektedir. Herhangi bir arıtma işlemine tabi tutulmaksızın veya uygun olmayan yöntemler ile arıtılarak deşarj edilen endüstriyel atıksular insan ve çevre sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır (Bilgin, 1996).

Bu çalışmada Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerinde bulunan süt işletmelerinin atıksularının yasal düzenlemelere uygunluğu incelenmiş ve bu işletmeler için çevre ve halk sağlığını korumada yardımcı olacak en uygun arıtma sisteminin saptanması amaçlanmıştır.

Süt endüstrisi atıksularının arıtılmasında kullanılacak arıtma sisteminin seçiminin, atıksuyun karakterizasyonu nedeni ile son derece zor olduğu bildirilmektedir. Süt endüstrisine ait atıksularda atıksuyun yağ, laktoz ve protein içermesi ve saptanan yüksek KOİ ve BOİ değerleri nedeniyle birkaç arıtma sisteminin birlikte uygulanması gerekmektedir (Gough ve ark., 2000). Yapılan bir çalışmada süt tozu, cheddar peyniri, peynir altı suyu ürünleri üreten işletmelerde anaerobik arıtma ve damlatmalı filtreler en önemli basamaklar olarak bildirilmiştir (Bough ve Carawan, 1996). Türkiye şartlarında ise, süt endüstrisi atıksularında tam bir arıtma için kullanılması önerilen yöntemler: Mekanik arıtma (Izgaralar, Kum tutucular, Yağ tutucular), ön arıtma (Flotasyon, Çökeltim havuzları), biyolojik arıtma (Damlatmalı filtreler, aktif çamur yöntemi, biyo disk, stabilizasyon havuzları, Havalandırmalı lagünler), kimyasal arıtma ve bitkisel arıtmadır. Bu yöntemlerin hepsinin bir arada uygulanmasının gerekli olmadığı, işletmenin tipine göre bir seçim yapılması gerektiği belirtilmektedir. (Şengül, 1991, Tünay ve ark., 1991)

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada kullanılan atıksu örnekleri, Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerinde bulunan süt işletmelerinden alındı. Bu çerçevede Şubat 2002 – Kasım 2002 tarihleri arasında, Ankara ilinden 15 ve Kastamonu ilinden 15, Çankırı ilinden arıtma öncesi 15 ve arıtma sonrası 15'şer adet atıksu örneği olmak üzere, toplam 60 adet atıksu örneği toplandı. Tekniğine uygun olarak alınan atıksu örnekleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında ve Çevre Bakanlığı Araştırma ve Uygulama Laboratuvarlarında analiz edildi.

Metot

Örneklerin Alınması

Atıksu örnekleri "Su Kirliliği Yönetmeliği Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliği'ne" uygun olarak alındı. Ayrıca, Türk Standartları Enstitüsü'nün (TSE) Su Kalitesi Numune Alma Programlarını Hazırlama Kuralları, Numune Alma Teknikleri Kılavuzu ve Numunelerin Muhafaza ve Taşınma Kuralları'na uyuldu (Anon, 1975, Anon, 1991, Anon 1997b, Anon 1997c, Anon 1997d).

Sıcaklık Ölçümü

Atıksu örneklerinin sıcaklık ölçümleri işletme içerisinde, civalı termometre ile yapıldı.

pH Değeri Ölçümü

Atıksu örneklerinin pH değerleri işletme içerisinde dijital bir pH metre (Santex, model no:TS-2) ile ölçüldü.

Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ) Ölçümü

BOİ analizlerinde kullanılacak numune hacmi sabit olmadığı için, KOİ analizlerinden elde edilen değerler baz alınarak test için alınacak örnek hacmi saptandı. Atıksu örnekleri BOİ şişelerine konuldu, oksitoplar (WTW oxitop) takıldı. Şişeler 20°C'ye ayarlanmış olan BINDER marka inkübatör içerisine yerleştirildi. Beş gün boyunca şişeler inkübatör içerisinde tutuldu. Beş günün sonunda oksitopdan okunan değer örnek hacminin faktör değeri ile ve örnekten dilüsyon hazırlanmışsa, dilüsyon sayısı ile çarpılarak BOİ değeri elde edildi (Anon, 2002b).

Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) Ölçümü

KOİ'nin saptanmasında direkt fotometrik metot uygulandı (Anon, 1989a). Bu amaçla Merck spectroquant 14541 numaralı hücre test kit ve 14691 numaralı hücre test kitleri kullanıldı. Spektrofotometrede (Nova 60 spektrofotometre) 600 nm dalga boyunda sonuçlar okundu.

Askıda Katı Madde (AKM) Ölçümü

Askıda katı madde ölçümü için gravimetrik metod (Anon,1989c) kullanıldı. Bu amaçla 0.45 µm'lik filtreler (Schleicher and Schuel, BA

85 membranfilter) kullanıldı. Aşağıdaki formül yardımıyla sonuçlar hesaplandı.

$$\text{Formül; AKM (mg/l)} = \frac{(A-B) \times 1000}{\text{Numune Hacmi (ml)}}$$

A: Filtre kağıdı+filtre edilebilen katı madde , mg

B: Filtre kağıdının ağırlığı, mg

Yağ ve Gres Ölçümü

Yağ ve gres ölçümü kısmi gravimetrik metot ile yapıldı (Anon, 1989a). Aağıdaki formüle göre sonuçlar hesaplandı.

$$\text{Formül; Yağ ve yağ gres (mg/l)} = \frac{(A-B) \times 1000}{\text{Numune Hacmi (ml)}}$$

A: Balonun son ağırlığı

B: Balonun darası

Aerob Mezofil Genel Canlı Sayımı

Aerob mezofil genel canlı sayısının belirlenmesi için, Tryptone Soya Agar (OXOID-CM 275) kullanıldı. Damla plak yöntemi ile ekim yapılarak, plakların aerob ortamda, 30°C 'de, 72 saat inkübasyonu sonunda oluşan kolonilerin tamamı sayıldı (Swanson ve ark.,1992, Baumgart,1994, Harrigan,1998).

İstatistiksel Analizler

Atıksu örneklerinden elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerinde seçilen süt işletmelerinden alınan atıksu örneklerinde çevre kirliliği açısından önemli parametrelerin düzeyinin saptanması amacı ile yapılan bu çalışmada, arıtma öncesi alınan atıksu örneklerinin analizlerinden elde edilen değerlerin ortalama sonuçları çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3.1). Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerindeki işletmelerin arıtma öncesi ve sonrası atıksu örneklerine ait minimum, maksimum ve ortalama değerler ise Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerindeki işletmelerin arıtma öncesi atıksu örneklerine ait ortalama değerler

İller	BOİ (mg/l)	KOİ (mg/l)	AKM (mg/l)	Y/G (mg/l)	AMGC (kob/ml)	pH	Sıcaklık (°C)
1	9451	13299	2137	195	$1,0 \times 10^7$	5,7	22
2	4854	12440	1804	141	$2,4 \times 10^6$	4,2	24
3	9787	14394	2075	202	$2,7 \times 10^7$	5,7	24
Ortalama	8030	13377	2005	179	$1,3 \times 10^7$	5,2	23

1:Ankara

2:Çankırı

3: Kastamonu

Ankara ilindeki süt işletmesine ait arıtma öncesi atıksu örneklerinde ortalama değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 9451 mg/l, 13299 mg/l, 2137 mg/l, 195 mg/l olduğu; ortalama pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 5,7, 22°C ve $1,0 \times 10^7$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En yüksek değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 11736 mg/l, 16270 mg/l, 3400 mg/l, 268 mg/l olduğu; en yüksek pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 6,0, 29°C ve $3,6 \times 10^7$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En düşük değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 6065 mg/l, 11271 mg/l, 1170 mg/l, 120 mg/l olduğu; en düşük pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 5,5, 17°C ve $1,2 \times 10^6$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı.

Çankırı ilindeki süt işletmesine ait arıtma öncesi atıksu örneklerinde ortalama değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 4854 mg/l, 12440 mg/l, 1804 mg/l, 141 mg/l olduğu; ortalama pH, sıcaklık

değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 4,2, 24°C ve $2,4 \times 10^6$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En yüksek değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 5340 mg/l, 18696 mg/l, 2628 mg/l, 185 mg/l olduğu; en yüksek pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 4,5, 33°C ve $6,0 \times 10^6$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En düşük değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 2140 mg/l, 8627 mg/l, 1135 mg/l, 109 mg/l olduğu; en düşük pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 3,8, 13°C ve $1,8 \times 10^5$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı.

Çankırı ilindeki süt işletmesine ait arıtılmış atıksu örneklerinde ortalama değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 32 mg/l, 149 mg/l, 28 mg/l, 30 mg/l olduğu; ortalama pH ve sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 8,4, 23°C ve $1,0 \times 10^6$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En yüksek değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 51 mg/l, 273 mg/l, 40 mg/l, 40 mg/l olduğu; en yüksek pH ve sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 8,6, 32°C ve $4,2 \times 10^6$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En düşük değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 21 mg/l, 90 mg/l, 21 mg/l, 19 mg/l olduğu; en düşük pH ve sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 8,2, 12°C ve $1,2 \times 10^5$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı.

Kastamonu ilindeki süt işletmesine ait arıtma öncesi atıksu örneklerinde ortalama değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 9787 mg/l, 14394 mg/l, 2075 mg/l, 202 mg/l olduğu; ortalama pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 5,7, 24°C ve $2,7 \times 10^7$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En yüksek değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 12843 mg/l, 17463 mg/l, 3088 mg/l, 285 mg/l olduğu; en yüksek pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 6,5, 32°C ve $1,2 \times 10^8$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı. En düşük değerlerin BOİ, KOİ, AKM, yağ ve gres için sırasıyla 7292 mg/l, 11587 mg/l, 1030 mg/l, 148 mg/l olduğu; en düşük pH, sıcaklık değerlerinin ve aerob mezofil genel canlı sayısının sırasıyla 5,1, 13°C ve $2,0 \times 10^6$ kob/ml düzeyinde olduğu saptandı.

Tablo 2. Ankara, Çankırı ve Kastamonu illerindeki işletmelerin arıtma öncesi ve sonrası atıksu örneklerine ait minimum, maksimum ve ortalama değerler.

PARAMETRE	ANKARA	ÇANKIRI (a.ö)	ÇANKIRI (a.s)	KASTAMONU
MINİMUM				
BOİ	6065	2140	21	7292
KOİ	11271	8627	90	11587
AKM	1170	1135	21	1030
Y/G	120	109	19	148
AMGC	$1,2 \times 10^6$	$1,8 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$2,0 \times 10^6$
PH	5,5	3,8	8,2	5,1
SICAKLIK	17	13	12	13
MAKSİMUM				
BOİ	11736	5340	51	12843
KOİ	16270	18696	273	17463
AKM	3100	2628	40	3088
Y/G	268	185	40	285
AMGC	$3,6 \times 10^7$	$6,0 \times 10^6$	$4,2 \times 10^4$	$1,2 \times 10^8$
PH	6,0	4,5	8,6	6,5
SICAKLIK	29	33	32	32
ORTALAMA				
BOİ	9451	4854	32	9787
KOİ	13299	12440	149	14394
AKM	2137	1804	28	2075
Y/G	195	141	30	202
AMGC	$1,0 \times 10^7$	$2,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$2,7 \times 10^7$
PH	5,7	4,2	8,4	5,7
SICAKLIK	22	24	23	24

Sonuç

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgulara göre, süt endüstrisine ait arıtma öncesi atıksularda, BOİ, KOİ, AKM, Yağ ve gres değerlerinin yasal sınırlardan yüksek olduğu saptandı. Arıtma sonrası alınan atıksu örneklerinde ise bu değerlerin yasal sınırlara uyacak şekilde düştüğü gözlemlendi. Endüstriyel atıksuların arıtılması gerektiği kanunlarla belirlenmiş olmasına rağmen, yasal boşluklar nedeni ile çoğu işletmede arıtma sistemi bulunmadığı, ayrıca yeterli denetim olmadığı için arıtma sistemi bulunan bazı işletmelerde de

ekstra maliyet gerektirdiği için sistemin kullanılmadığı saptanmıştır. Bu bulgulara dayanarak, süt endüstrisi kaynaklı yüklerin gelecekte artmaması, çevre sağlığı ve ekolojik dengenin korunması için, süt endüstrisi atıksularında mutlaka arıtma uygulanması gerektiği sonucuna varıldı. Arıtma amacı ile öncelikle dengeleme havuzları, daha sonra kimyasal arıtma (çöktürme) ve pH'ın ayarlanması, arkasından aktif çamur yöntemi ile biyolojik arıtma, son olarak havalandırma havuzları ve deşarj uygulanmasının yerinde olacağı belirlendi.

Kaynaklar

Anon, (1975). Kirli Su El Kitabı.T.C. Enerji Ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü Araştırma Dairesi Başkanlığı.Yayın No: 582.

Anon, (1989a). Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater .17 Th Ed., American Public Health Association (Apha), American Water Works Association (Awwa), Water Pollution Control Federation (Wpcf), Washington D.C.

Anon, (1989c). Su Kalitesi, Toplam Askıda Katı Madde Tayini., Ts-7094/ Mayıs 1989

Anon, (1991). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliği. 7-Ocak-1991 Tarih, 20748 Sayılı T.C. Resmi Gazete.

Anon, (1997b). Ts 5089 En 25667-1, Su Kalitesi-Numune Alma-Bölüm 1: Numune Alma Programlarını Hazırlama Kuralları, Kabul Tarihi: 30.12.1997

Anon, (1997c). Ts 5090 En 25667-2, Su Kalitesi-Numune Alma-Bölüm 2: Numune Almatetikleri Klavuzu, Kabul Tarihi: 15.04.1997

Anon, (1997d). Ts 5106 Iso 5667-3, Su Kalitesi-Numune Alma-Bölüm 3: Numunelerin Muhafaza ve Taşınma Kuralları, Kabul Tarihi: 02.04.1997

Anon, (2002b) Boi Cihazı ve Oksitopların Kullanımı.T.C. Çevre Bakanlığı Araştırma Planlama ve Koordinasyon Kurulu Başkanlığı, Ankara.

Baumgart, J. (1994). Bestimmung Der Keimzahl in Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. J. Baumgart (Ed.),Behr's Verlag, Hamburg.

Bilgin, S. A. (1996). Adapazarı Katı Atıklarının Çevreye Etkisi ve Alternatif Sahaların Seçimi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

Bough, W. A., Carawan, R. E. (1996). Wastewater Pretreatment in Dairy Plants; Does it Save Money? Published by North Carolina Cooperative Extension Service. Publication Number: Cd39. North Carolina, USA.

Gough, R.H., Samkutty, P. J., McGrew, P., Arauz, J., Adkinson, W. (2000). Prediction of Effluent Biochemical Oxygen Demand In A Dairy Plant Sbr Wastewater System. *J. Environ. Sci. Health*, A35(2): 169-175.

Harrigan, W.F. (1998). Laboratory Methods In Food Microbiology. Third Ed., Academic Press, San Diego, California.

Swanson, K.M.J., Busta F.F., Peterson, E. H., Jhonson, M.G. (1992). Colony Count Methods. (In): Compendium Of Methods For The Microbiological Examination of Foods. C.Vanderzant, D.F. Splittstoesser (Eds)., Third Ed., American Public Health Association (Apha), Washington, Dc.

Şengül, F. (1991). Endüstriyel Atık Suların Özellikleri ve Arıtılması, 2. Baskı, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Yayınları No:172., İzmir.

Tünay, O., Orhon, D., Bederli, A. (1991). Endüstriyel Atıksuların Ön Arıtması. Su Kirlenmesi Araştırmaları Türk Milli Komitesi, İstanbul Sanayi Odası Teknoloji İletimi Semineri No:1, İso- Skatmak., İstanbul.

FARKLI DEPOLAMA SICAKLIĞI VE DEPOLAMA SÜRESİNİN PALAMUT BALIĞI FİLETOSUNUN FİZİKSEL VE KİMYASAL KOMPOZİSYONLARINA ETKİSİ

İlknur MERİÇ¹

Fikri AYDIN¹

Nuray KOLSARICI²

¹ Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü-Ankara

² Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü-Ankara

Özet: Günümüzde insanların besinlerini doğal durumlarına en yakın tüketme yönündeki eğilimleri, besinlerin donmuş durumda depolanmasının yaygınlaşan bir teknoloji olmasını sağlamıştır. Dondurma işlemi ve sonraki soğuk depolama yardımıyla bozulmalar yavaşlatılıp, geciktirilebilir. Ancak dondurmak ve donmuş koşullarda depolamak kalitenin iyileşmesini sağlamaz, sadece belli bir kalite düzeyini korumaya olanak verir. Dondurulmuş balık ürünlerinin kalitesi üzerine yapılan çalışmalarda aynı koşullar altında dondurularak depolanan balık türlerinin raf ömrü gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada ise; palamut gibi yağlı bir deniz balığı türüne tek bir işleme metodu uygulanarak, 10 ay boyunca üç farklı sıcaklıkta depolanması sonucu, örneklerde oluşan fiziksel ve kimyasal kalite kaybı miktarının saptanması ve donmuş depolamanın balıkta kalitenin korunması yanında balık etinin raf ömrünün uzatılmasındaki önemli rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, materyal olarak palamut (*Sarda sarda* Bloch, 1793) balığı kullanılmıştır. Balıklar laboratuara buz içinde taşındıktan sonra, temizlenerek fileto haline getirilmiş, strofor tabaklara konularak üzerleri stretch film ile kaplanmıştır. Hazırlanan bu örnekler -12°C, -18°C ve -24°C depolama sıcaklığına sahip soğutma ünitelerine yerleştirilmiş; iki aylık periyotlar ile analize alınmıştır. Fiziksel analizlerden et verimi; kimyasal analizlerden pH, protein, yağ, kuru madde ve kül analizleri örneklerle sadece deneme başlangıcında; TBA (Tiyobarbiturik asit), TVB-N (Total volatil baz azotu), TMA-N (Trimetilamin azotu), SYA (Serbest yağ asitleri) ise 10 aylık depolama süresince uygulanmıştır.

TBA, TVB-N, TMA-N ve SYA değerlerinde depolama süresi ile doğru orantılı olarak artış görülmüştür. Farklı depolama sıcaklıklarında parametreler arasında istatistiki açıdan önemli bir fark ($p < 0.05$) oluşmuş ve tüm parametrelerde en iyi değerler -24°C de gözlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, dondurularak üç farklı sıcaklıkta 10 ay süresince muhafaza edilen palamut balığı filetolarının

4 ay süre ile tüketilebilir özelliğini koruduğu, ancak depolama süresi sonunda tüketim sınırlarını aştığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Dondurulmuş depolama, balık filetosu, *Sarda sarda*, lipid oksidasyonu

The Effects of Different Storage Temperatures and the Storage Time on Chemical and Physical Composition in Bonito Fillets

Abstract: In recent years, the tendency of human for the consumption of food in state of nature, ensured the frozen storage become a widespread technology. By the help of frozen process and ultimate chilly storage, deterioration can slow down; however freezing and also frozen storage doesn't make the quality better, only make possible to protect a limited quality level. The quality of frozen fish has been studied and the shelf-life of various fish species stored frozen under the same conditions have been observed.

The aim of this study was to determine the important role of frozen storage on not only protection of quality but also prolong the shelf-life of fish flesh and in the mean time the physical and chemical quality loss of bonito fillets.

Bonito (*Sarda sarda* Bloch, 1793) used for the experiment were transported to the laboratory on ice. On arrival, fish were dressed and filleted by hand. Fillets samples were packaged to styrofoam plates, coated with stretch film and stored at -12°C, -18°C and -24°C. The samples were analyzed in two months intervals. Meat yield, pH, protein, lipid, dry matter, ash analyses were applied to fillets for only initial day; whereas TBA (Thiobarbituric acid number), TVB-N (Total volatile base nitrogen), TMA-N (Trimethylamine nitrogen) and FFA (Free fatty acids) were carried out for 10 months storage period .

The amount of TBA, TVB-N, TMA-N and FFA were increased directly proportional to the storage time. The variations of parameters between different storage temperatures were statistically significant ($p < 0.05$) and best values of parameters were determined at -24°C.

The results showed that bonito fillets were edible for up to 4 months of frozen storage at three different temperature, however they passed over the consumption limits at the end of the storage time.

Key words: Frozen storage, fish fillets, *Sarda sarda*, lipid oxidation

Giriş

Ülkemiz coğrafi yapısı ve bulunduğu iklim kuşağı nedeni ile deniz ve iç sularımızda çeşitli su ürünlerinin yetiştirilmesine ve geliştirilmesine olanak verecek kaynaklara sahiptir. Ancak bu üretim potansiyelinden yeterli düzeyde yararlanıldığını söylemek mümkün değildir (Yıldız 1995). Aşırı avcılık ve kirlilik gibi çeşitli etkenler, doğal stoklarımızdaki su ürünlerini giderek azaltmaktadır (Çaklı vd. 1997). Bu da özellikle gelişmemiş ülkelerde hayvansal protein yetersizliğinin giderilmesinde en önemli rolü oynayan balık başta olmak üzere su ürünlerinin direkt insan gıdası olarak tüketilmesi gerektiği sonucunu doğurmaktadır (Göğüş ve Kolsarıcı 1992). Balık etleri avlandığı andan itibaren tüketilinceye kadar geçen süre içinde bir sıra fiziksel ve kimyasal değişikliklere uğrar. Bu yüzden balıklar avlandıktan hemen sonra tüketiciye ulaştırılana kadar orjinal tazeliğini koruyacak şekilde muhafaza edilmelidir (Metin 1995, Göğüş ve Kolsarıcı 1992, Garthwaite 1992). İyi şartlarda dondurulmuş olan balıkları aylarca hatta yıllarca bozulmadan tüketmek mümkündür. Dondurulmuş balık teknolojisinde en önemli nokta balıkların taze durumda iken taşıdıkları tadı, lezzeti, kokuyu ve yapıyı hiçbir koruyucu kimyasal madde kullanmadan dondurulmuş durumda da muhafaza edebilmesidir (Metin 1995). Bu nedenle 10 ay süresince üç farklı sıcaklıkta depolanan palamut balığı filetolarında fiziksel ve kimyasal kalite parametrelerinde meydana gelen değişimlerin saptanması bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada, araştırma materyali olarak Ankara Balık Hali'nden temin edilmiş olan 36 adet palamut (*Sarda sarda* Bloch, 1793) balığı kullanılmıştır. Balıklar laboratuara buz içinde taşındıktan hemen sonra iç organları, solungaçları ve kafaları temizlenerek, el ile fileto haline getirilmiştir. Örnekler 17 cm x 26 cm ölçülerindeki strofor tabaklara yerleştirilerek, üzerleri strech film ile kaplanmıştır. Hazırlanan bu örnekler, 10 ay süre ile depolanacakları - 12°C, - 18°C ve - 24°C deki soğutma ünitelerine yerleştirilmiştir.

Rastgele seçilen örnekler, 2 aylık periyotlar ile analize alınmış; örnekler analize alınmadan bir gece önce buzdolabı sıcaklığında (+ 4°C) tutularak buz çözümü sağlanmıştır.

Metot

Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Fiziksel analizlerden et verimi Gülyavuz ve Ünlüsayın (1999)' a göre; kimyasal analizlerden pH ölçümü ise 10 g. homojen balık eti kullanılarak Digital pH – meter E 532 Metrohm Herisau ile gerçekleştirilmiştir (Varlık vd. 1993). Nem, kül ve yağ analizleri Göğüş ve Kolsarıcı (1992)' nin önerdiği metotlara göre yapılmıştır. Protein analizi için AOAC (1995) de belirtilen prosedürler uygulanmıştır. Bu analizler, sadece denemenin kurulma aşamasında örnekler dondurulmadan önce yapılmıştır.

Biyokimyasal Analizler

Serbest yağ asitleri (SYA) analizi, Vural ve Öztan (1996)' ın önerdiği yöntem kullanılarak, total volatil baz azotu (TVB – N) değeri ise su buharı destilasyonu yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Pearson ve Cox 1962). Trimetilamin azotu (TMA – N) tayininde spektrofotometrik bir metot olan AOAC (1995) de belirtilen yöntem kullanılmıştır. Tiyobarbitürik asit (TBA) sayısı Tarladgis *et al.* (1960)' ın geliştirmiş olduğu metota göre tespit edilmiştir. Bütün analizler iki tekerrürlü ve her tekerrürde üç paralelli olarak yürütülmüştür. Elde edilen verilere, Minitab paket programı kullanılarak varyans analizi, MSTATC paket programı kullanılarak da Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Düzgüneş vd. 1993).

Bulgular

10 aylık depolama süresince üç farklı sıcaklıkta depolanan palamut balığı filetolarında fiziksel ve kimyasal kalite parametrelerinde meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla yapılan analiz sonuçları Tablo1 ve Tablo 2' de gösterilmiştir.

Araştırmada; palamut balığı filetolarına ait et verimine ilişkin değer ortalama olarak % 76,50 olarak tespit edilmiştir. pH değerinin ortalama olarak $5,99 \pm 0,50$; kuru madde (K.M), kül, protein ve yağ miktarlarının ise sırasıyla % $38,67 \pm 4,37$; % $4,01 \pm 0,65$; % $19,89 \pm 0,24$ ve % $12,59 \pm 2,53$ olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. Palamut balığı filetolarına ait kimyasal analiz sonuçlarına ilişkin ortalama değerler.

Analizler	K.M (%)	Kül (%)	Protein (%)	Yağ (%)	pH
	38,67±4,37	4,01±0,65	19,89±0,24	12,59±2,53	5,99±0,05

Serbest yağ asitleri (SYA) analiz bulgularına göre; örneklerin 0. günde % 0,50±0,05 (oleik asit) olan SYA düzeyleri 10. ayda - 12°C de 6,63±0,15; - 18°C de 5,63±0,37 ve - 24°C de 5,51±0,44 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre SYA değerlerinde aylara bağlı olarak meydana gelen değişim depolama süresince önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Total volatil baz azotu (TVB-N) analiz sonuçları incelendiğinde, palamut balığı filetolarına ait TVB-N değerlerinin depolama süresince değişken bir artış göstererek 0. günde 21,23±3,12 mg/100 g iken 10 aylık depolama sonunda - 12°C de 23,79±0,88, - 18°C de 21,46±0,72 ve - 24°C de 21,23±1,37 olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma sonunda 0. günde 0,59±0,26 mg/100 g olan trimetilamin azotu (TMA-N) değeri, 10. ayda - 12°C de 7,00±0,08; - 18°C de 6,23±0,25 ve - 24°C de 6,14±0,50 olarak bulunmuştur.

Örneklere ait tiyobarbitürik asit (TBA) değerlerinin 0. günde 5,03±0,86 mg MA/kg iken, depolamanın ilk 4 ayında hızlı bir artış gösterdiği, ancak 6. ayda ani bir şekilde düştüğü ve depolama sonucunda - 12°C de 15,73±0,30, - 18°C de 15,27±0,65 ve - 24°C de 14,90±0,47 değerlerine ulaştığı saptanmıştır.

Tablo 2. Palamut balığına ait biyokimyasal analiz sonuçlarına ilişkin ortalama değerler

Depolama Süresi	Depolama Sıcaklığı	TVB-N mg/100g	TMA-N mg/100g	TBA mgMA/kg	SYA % oleik asit
0. Gün	- 12°C	21,23±3,12	0,59±0,26	5,03±0,86	0,50±0,05
	- 18°C	21,23±3,12	0,59±0,26	5,03±0,86	0,50±0,05
	- 24°C	21,23±3,12	0,59±0,26	5,03±0,86	0,50±0,05
2. Ay	- 12°C	19,60±3,75	0,74±0,41	15,18±0,32	2,17±1,46
	- 18°C	18,66±2,89	1,00±0,24	15,06±0,46	1,39±0,74
	- 24°C	23,33±2,89	1,18±0,84	14,68±0,74	1,36±0,23
4. Ay	- 12°C	24,03±1,37	2,65±0,16	16,98±0,25	2,42±0,21
	- 18°C	22,16±1,05	1,69±0,18	16,19±0,61	1,82±0,32
	- 24°C	18,89±0,76	1,55±0,09	15,47±0,72	1,75±0,21
6. Ay	- 12°C	20,76±1,63	4,63±0,81	9,95±0,68	3,37±0,32
	- 18°C	20,53±2,60	2,95±0,44	7,98±0,70	2,27±0,56
	- 24°C	18,89±3,16	2,59±0,26	8,01±0,53	2,19±0,42
8. Ay	- 12°C	19,13±1,44	6,01±0,16	14,57±0,39	4,89±0,22
	- 18°C	17,49±3,40	4,01±0,06	12,85±0,73	3,55±0,22
	- 24°C	17,73±4,12	3,80±0,12	12,92±0,53	3,44±0,21
10. Ay	- 12°C	23,79±0,88	7,00±0,08	15,73±0,30	6,63±0,15
	- 18°C	21,46±0,72	6,23±0,25	15,27±0,65	5,63±0,37
	- 24°C	21,23±1,37	6,14±0,50	14,90±0,47	5,51±0,44

Sonuç

Balıklarda verim, balığın türüne, cinsiyetine, yaşına, üreme mevsimine, beslenme durumuna, avlandığı sıradaki mide içeriğine göre değişmektedir. Deniz alası, alabalık, torik, orkinos, palamut, çipura gibi balıklarda verim %70' in üzerindedir (Gülyavuz ve Ünlüsayın 1999). Bu çalışmada kullanılan palamut balığının et verimi ortalama % 76,50 olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler araştırmacıların bildirmiş olduğu değerlere paralellik göstermektedir.

Genel olarak taze balıkların pH değeri 6.0-6.5, tüketilebilirlik değeri ise 6.8-7.0 olarak bildirilmektedir (Ludorff ve Meyer 1973, Varlık 1992). pH değerinin balığın ölüm sertliği olduğu sırada çok daha aşağı düşebildiği bilinmektedir (Schormüller 1968). Analiz sonucunda elde edilen pH değeri $5,99 \pm 0,05$ olarak tespit edilmiştir. Bu değer in literatür verileriyle uyum içinde olduğu görülmektedir.

Kuru madde miktarının, balığın büyüklüğüne, türüne, yumurtlama zamanına ve yetiştiği ortama bağlı olduğu bilinmektedir (Lohs ve Kämpke 1980). El-sebaiy ve Metwalli (1985), kefal balıkları ile yapmış oldukları çalışmada, büyük boydaki balıklarda kuru madde miktarını % 24,90 olarak bulmuşlardır. İncelenen örneklerde % $38,67 \pm 4,37$ olarak bulunan değer ile araştırmacıların bildirmiş olduğu bulgular arasında paralellik olduğu görülmüştür.

Balığın türü, beslenme ve çevre şartları, mevsimsel ve seksüel değişimler gibi farklılıklar kül miktarını etkilemektedir. Metin (1995) yaptığı çalışmada gökkuşağı alabalığının kül miktarını % $1,74 \pm 0,01$ olarak, Aoki *et al* (1991) ise mercan balıklarında kül oranını % 1,3-% 1,5 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Elde edilen veriler ile araştırmacının bulguları uyum içindedir.

Balıklarda protein oranı % 15-20 arasında değişmektedir. Bu oran uskumru balığında % 16-20, mezgit balığında % 15-19, palamut balığında % 21,5, dil balığında % 18,8 olarak tespit edilmiştir (Gülyavuz ve Ünlüsayın 1999). Çalışmada protein analizi sonucu % $19,89 \pm 0,24$ değeri elde edilmiş, bu değer in literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Gülyavuz ve Ünlüsayın (1999), mezgit balığında yağ oranını % 0,1-0,9; palamut balığında ise % 0,3-14,0 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmada yağ oranı % $12,60 \pm 2,53$ olarak saptanmış olup, araştırmacıların bulguları ile uyumludur.

TVB-N değeri deniz balıklarında ve tatlı su balıklarında bozulma derecesini ve depolama sırasındaki balık eti kalitesini belirlemek için kullanılır (Çaklı vd. 1997, Cobb ve Vonderzont 1975). TVB-N, bakteriyel bozulma ile bağlantılı olarak değerinde görülen artış ile iyi bir kalite indeksi olarak görülmektedir (Simeonidou *et al* 1997). Genel

olarak 25 mg/100 g balık TVB-N içeren örnekler "çok iyi", 30 mg/100 g balık TVB-N içeren örnekler "iyi", 35 mg/100 g balık TVB-N içerenler pazarlanabilir ve 35 mg/100 g balıktan fazla TVB-N içerenler ise bozulmuş olarak nitelendirilmektedir (Ludorff ve Meyer 1973, Schormüller 1968). Çalışmada TVB-N değerlerinde düzensiz değişimler olduğu görülmüştür. Bu düzensiz değişimlerin çözünemeyen volatil elemanların elimine edilmesi yüzünden olabildiği Nunes *et al.* (1992)' ın buzda depoladıkları sardalya balıkları ile yaptıkları araştırma sonucu bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre TVB-N yönünden örneklerin depolama sonucunda sınır değerler içinde kaldığı görülmüştür.

Balık yakalandıktan sonra, bakteriyel bozulma ve enzimatik aktiviteye bağlı olarak TMAO dekompozisyonu sonucu TMA oluşmaktadır. Sıcaklık düşürülüp bakterilerin gelişimi önlenene kadar enzimatik çözünmeden dolayı TMA miktarında artış görülmektedir (Simeonidou *et al.* 1997). Nogueras *et al.* (2001)' e göre, taze balıkta TMA-N düzeyi 10-15 mg/100 g balıktan daha az olmalıdır. Araştırmada depolama sonunda elde edilen veriler ile araştırmacıların bulguları uyum içindedir.

Yapılan çalışmalar, TBA içeriğinin dondurulmuş balığın kalitesinin saptanmasında iyi bir kriter olduğunu göstermiştir (Tarladgis *et al.* 1960, Vareltzis *et al.* 1988). Bu çalışmada TBA değerinde depolamanın ilk 4 aylık döneminde hızlı bir artış görülmüş, ancak denemenin 6. ayında istatistiki açıdan önemli bir düşüş saptanmıştır. Değerlerde görülen bu düşüşün malonaldehitin, aminler, nükleik asitler, amino içeren fosfolipidler, proteinler ve lipid oksidasyonunun diğer yan ürünleri olan aldehitler ile interaksiyonundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Simeonidou *et al.* 1997).

Dondurulmuş depolama boyunca SYA lerinde görülen artış, tüm balık türlerinde lipidlerin hidrolizinin bir göstergesidir (Yıldız 1995, Ohshima *et al.* 1984, Srikar ve Hiremath 1972). Srikar *et al.* (1989), yaptıkları bir çalışmada depolama boyunca SYA değerinin % 1,6 (oleik asit) den % 11,4 (oleik asit) e kadar çıktığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen en yüksek değer 10. ayda % 6,63±0,15 dir. Bu sonuç ile araştırmacıların bildirdiği sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.

Araştırma sonucunda elde edilen verilere göre; palamut balığına ait filetoların 10 aylık depolama sonucunda her üç sıcaklıkta da düşük TVB-N ve TMA-N seviyesiyle tüketim limitlerini aşmadığını, ancak TBA değerlerinin 2. aydan itibaren tüketim sınırını geçtiği ve SYA değerlerinin depolamanın 4. ayından sonra hızlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir.

Kaynaklar

AOAC (1995). International (Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists) 16 th Edition, Kenneth Arlington, Virginia.

Aoki, T., Takada, K., Kunisaki, N. (1991). On the Study of Proximate Composition, Mineral, Fatty Acid, Free Amino Acid, Muscle Hardness and Color Difference of Six Species of Wild and Culture Fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (10); p. 1927-1934.

Cobb, B. F., Vonderzont, G. (1975). Development of a Chemical Test for Shrimp Quality. *J. Food Sci.*, 40, 121-124.

Çaklı, Ş., Tokur, B., Çelik, U., Taşkaya, L. (1997). No-Frost Koşullarda Depolanan Sardalya Balıklarının (*Sardina pilchardus*) Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Değerlendirilmesi. Akdeniz Balıkçılık Kongresi, 733 - 740, 9 - 11 Nisan 1997, İzmir.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F. (1993). İstatistik Metotları (II. Baskı), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1291, Ankara.

El-Sebaiy, L.A., Metwalli, S. M. (1985). Changes in Some Chemical Characteristics and Lipid Composition of Salted Fermented Bouri Fish Muscle (*Mugil cephalus*). *Food Chemistry*, Vol. 31, 41-50.

Garthwaite, G.A. (1992). Chilling and Freezing of Fish. Fish Processing Technology. Food Engineering and Biotechnology Group, University of Technology, Loughborough. VCH Publishers, Inc., New york.

Göğüş, A. K., Kolsarıcı, N. (1992). Su Ürünleri Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1243, Ders Kitabı: 358, 260, Ankara.

Gülyavuz, H., Ünlüsayın, M. (1999). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, 366, Isparta.

Lohs, P., Kämpke, G. (1980). Bertrag Zur Histamin-Problematik bei Fischen und Fischerzeugnissen unter besonderer, Berücksichtigung-weniger bekannter Fischarten *Nahrung*. 24 (3), 255-264.

Ludorff, W., Meyer, V. (1973). Fische and Fischerzeugnisse. The Avi Publishing Company , Inc. Westport, Connecticut.

Metin, S. (1995). Taze ve Soğukta Depolanan Gökkuşluğu Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) Fiziksel ve Kimyasal Parametrelerinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi (basılmamış). İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

Nogueras, S.B., Cid, S.B., Vidal-Carou, M.C., Vecina-Nooues, M. T. (2001). Volatile and Nonvolatile Amines in Mediterranean Hake as a Fuction of Their Storage Temperature. *J. Food Sci*, Vol. 66, No. 1 p. 83-88.

- Nunes, M.L., Batista, I And Campos, R.M. (1992). Physical, Chemical and Sensory Analysis of Sardine (*Sardina pilchardus*) Stored in ice. *J. Sci. Food Agric.*, 59, 37-43.
- Ohshima, T., Wada, S., Koizumi, C. (1984). Effect of Accumulated Free Fatty Acid on Reduction of Salt Soluble Protein of Cod Flesh During Frozen Storage. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 50, p. 1567.
- Pearson, D., Cox, H.E. (1962). Determination of Total Volatile Bases in Flesh Foods. The Chemical Analysis Inc. Newyork., p. 320.
- Schormuller, J. (1968). Handbuchder Lebensmittel Chemie, Band III/2 Teil. Trierische Lebersmittel Eier, Fleisch, Buttermilch. S. 1341-1397, Springer-Verlag. Berlin- Heidelberg- New York.
- Srikar, L.N., Hiremath, G. G. (1972). Fish Preservation. Studies on Changes During Frozen Storage of Oil Sardine. *J. Food Sci. Tech.*, 9, p. 191.
- Simeonidou, S., Govaris, A., Vareltsis, K. (1997). Effect of Frozen Storage on The Quality of Whole Fish and Fillets of Horse Mackerel (*Trachurus trachurus*) and Mediterranean Hake (*Merluccius mediterraneus*). *Lebensm. Unters. Forsch A*, 204; p. 405 – 410.
- Srikar, L.N., Seshadari, H.S., Fazal, A.A. (1989). Changes in Lipids and Proteins of Marine Catfish (*Tachysurus dussumieri*) During Frozen Storage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 24 (6); 653 – 658.
- Tarladgis, B.G., Watrr, B.M., Younatkan, M.T., Dugan, J. R. (1960). A distillation Method for Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. *J. Amer. Oil Chem Soc.*, 37: 44 – 48.
- Varlık, C. (1992). Balıkların Soğutulması. Su Ürünleri, sayı 3 Temmuz, 22-25.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H. (1993). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 17, 174, İstanbul.
- Vareltsis, K., Zetou, F., Tsiaras, I. (1988). Textural Deterioration of Chub Mackerel (*Scomber japonicus collias*) and Smooth Hound (*Mustellus mustellus* L.) in Frozen Storage in Relation to Chemical Parameters. *Lebensm- Wiss. U-Technol.*, 21: 206-211.
- Vural, H., Öztan, A. (1996). Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları Yayın No: 36, 236, Ankara.
- Yıldız, M. (1995). Soğuk Depolamanın Gökkuşaağı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, L. 1758) Protein ve Yağ Özelliklerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi (basılmamış). İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

EĞİRDİR GÖLÜ KEREVİTLERİNİN (*ASTACUS LEPTODACTYLUS*) MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ

Abdullah DİLER Soner ALTUN Öznur DİLER Behire I. DİDİNEN

Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Eğirdir-Isparta

Özet: Bu çalışma Eğirdir Gölü kerevitlerinin (*Astacus leptodactylus*) mikrobiyolojik kalitesi ve güvenliğini belirlemek için yapıldı. Ortalama aerob mezofil genel canlı, mikrokok-stafilokok, enterokok ve koliform mikroorganizma sayıları sırasıyla 1.5×10^6 , 4.6×10^3 , 1.4×10^3 kob/g ve 1.3×10^3 MPN/g olarak tespit edildi. Bununla birlikte, incelenen hiçbir örnekten *E.coli* ve koagülaz pozitif *S.aureus* izole edilemedi. İncelenen örneklerin %68'i insan tüketimi için uygun iken %32'sinin sınır değerlerde olduğu saptandı.

Ayrıca, kerevitlerden *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Alkaligenes* ve *Yersinia* cinsine ait bakteriler identifiye edildi. Florada coryneform grup ve Enterobacteriaceae üyelerine de rastlandı.

Anahtar kelimeler: Mikrobiyolojik kalite, kerevit

Microbiological Quality of Fresh Water Crayfish (*Asatcus leptodactylus*) in Eğirdir Lake

Abstract: Fresh water crayfish *Astacus leptodactylus* in Eğirdir Lake was microbiologically evaluated in order to determine its safety and quality as human food. The average aerobic plate, micrococci-staphylococci, enterococci counts/g and coliforms counts/g were 1.5×10^6 , 4.6×10^3 , 1.4×10^3 and 1.3×10^3 of the examined samples respectively. However, *E. coli* and coagulase positive *S. aureus* could not be isolated from any of the examined samples respectively. However, *E.coli* and coagulase positive *S.aureus* could not to be isolated from any of the examined samples. 68 % of the samples were safe for human consumption, while 32% were marginally acceptable.

In addition, bacterial genera identified in the fresh water crayfish included *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Yersinia*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*,

Vibrio and *Alkaligenes*. Coryneform group and Enterobacteriaceae were also detected.

Key words: Microbiological quality, cray fish

Giriş

Kerevit tatlı sularda bulunan istakoza benzeyen ancak ondan daha küçük olan bir kabukludur. Türkiye’de mevcut olan tek tür Türk kereviti ya da dar kısıkaçlı kerevit olarak adlandırılan *Astacus leptodactylus* olup, ülkemizin pek çok göl, gölet ve nehirlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. 1980’lerin ilk yıllarında 5000 ton düzeyine kadar çıkan kerevit üretimi (Köksal, 1988), 1980’li yılların ikinci yarısında crayfish plague (kerevit vebası) hastalığının yol açtığı %90’ın üzerindeki (Rahe ve Soylu, 1989) kayıplar yüzünden önemli ölçüde düşüş göstermiş ve 200 tona kadar inmiştir (Harlıoğlu, 2004). Ancak kerevit popülasyonunda görülen iyileşme sonucu son yıllarda doğal ortamdan yapılan avcılıkta bir artış görülmüştür. Mesela 1995 yılında 551 tonluk bir üretim söz konusu iken 1998’de yaklaşık 1500 tonluk bir üretim gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2001).

Eğirdir Gölünden avlanan kerevit miktarı 1976-1985 yılları arasında yıllık olarak yaklaşık 2000 ton düzeyinde gerçekleşmiştir (Bolat, 2001). Bu rakam 1985 yılında Türkiye’nin toplam kerevit üretiminin yaklaşık %72’sini oluşturmuştur. Gölde kerevit avcılığı plak hastalığı yüzünden 1987-1999 yılları arasında yasaklanmıştır. Eylül 1999’da avcılığın serbest bırakılmasıyla aynı yıl yaklaşık 125 ton olan kerevit üretimi, 2001 yılında 800 ton (Anonim, 2003), 2003 yılında da 500 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonim, 2004).

Türkiye en büyük kerevit üreticisi ülkelerden biri olarak, üretiminin önemli bir kısmını AB ülkelerine pazarlamakta, çok az bir kısım ise iç piyasada tüketilmektedir. Kerevit ihracatı canlı, pişirilmiş ve konserve şeklinde gerçekleştirilmektedir.

Genel olarak yeni yakalanan sağlıklı balık ve kabukluların etleri ve iç organları hemen hemen steril kabul edilmektedir. Fakat bakteriler deri, solungaçlar ve barsaklarda değişen sayılarda bulunmaktadırlar (Shewan, 1962; Liston, 1980; Hayes, 1992; Jay, 1992). Kerevitlerin avcılığı ve işlenmesi sırasında ilkel yöntemlerden gelişmiş yöntemlere kadar değişen uygulamalar söz konusudur. Dolayısıyla tamamen hijyenik olduğu kadar potansiyel olarak tehlike oluşturabilecek durumlarda ortaya çıkabilmektedir (Liston, 1980) Sonuç olarak avcılık ve sonrası yapılan uygulamalar ile işleme teknikleri sırasında

bakteriler, av malzemelerinden, çalışanların ellerine kadar değişik kaynaklardan kerevitleri kontamine edebilirler (Hayes, 1992).

Kabuklular kirli sulardan ve uygun olmayan şartlarda avlandığı zaman bir çok patojen tarafından kolaylıkla kontamine edilebilir. Buna bağlı olarak da böyle kabuklular satıcılar ve tüketiciler açısından potansiyel bir sağlık riski oluşturabilir (Frazier ve Westhoff, 1988). Su ürünlerinden kaynaklanan hastalık patlamalarının %12'sini bakteriyel enfeksiyonlar oluşturmakta ve *E. Coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Vibrio* spp. ve *Bacillus cereus* en yaygın olan sorumlu organizmalardır (Huss, Reilly ve Karim Ben Embarek, 2000).

Eğirdir Gölü kerevitlerine ilişkin yapılan çalışmalar plak hastalığı (Rahe ve Soylu, 1989), diğer parazitler (Diler ve Diler, 2003) ve fungus enfeksiyonları (Seçer ve Özkul, 1988; Diler, Bolat ve Kuşat, 1999; Diler ve Bolat, 2001) ile populasyon yapısı (Bolat, 2001) konularında yoğunlaşmıştır. Kerevitlerin mikrobiyolojik kalitesi konusunda herhangi bir çalışma yapılmamasından dolayı önemli bir ihraç ürünü olan Eğirdir Gölü kerevitlerinin mikrobiyolojik kalitesi ve güvenliğinin belirlenmesi amacıyla bu çalışma yürütülmüştür.

Materyal ve Metot

Eğirdir Gölü'nden Temmuz 2002-Ocak 2003 ayları arasında 6 ay süreyle avlanan ortalama 55 g ağırlığında 50 adet kerevit canlı olarak laboratuara getirildi. Kerevitler suda yıkandıktan sonra steril makas, bistüri ve penslerle kabuklarından ayıklandı. İki kerevitin eti bir araya getirilerek tek örnek olarak kullanıldı.

Mikrobiyolojik analizler

İkişer kerevitten elde edilen 10 g kerevit eti %0.1'lik 90 ml steril peptonlu su içerisinde 2 dk süre ile blenderde homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası 10^{-6} ya kadar hazırlanan dilusyonlardan aerob mezofil genel canlı izolasyonu için Plate Count Agar'a (PCA, Merck) iki paralel halinde dökme plak yöntemiyle ekimler yapıp 30°C'de 48 saat süreyle inkübe edildi.

Mikrokok ve stafilokok için Baird-Parker Agar (BP, Merck) kullanılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Tipik kolonilerden Coagulase Plasma EDTA (Difco 0803-66-0, Detroit, MI, USA) ile tüpte koagülaz testi yapılarak koagülaz pozitif stafilokoklar tespit edildi. Enterokok sayıları Slanetz and Bartley Medium'da

(Oxoid CM377) 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edildikten sonra belirlendi (APHA, 1976).

Total koliform ve *E. Coli* üçlü tüp yöntemine göre MPN tekniğine göre belirlendi. Hazırlanan örneklerin 10^{-1} 10^{-3} dilusyonlarından 1'er ml alınarak içerisinde Durham tüpü bulunan Lauryl Sulfate Tryptose broth'a (LST, Merck) ekim yapıldı ve tüpler 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda gaz ve bulanıklık oluşturan tüplerdeki tahmini koliformlar Brilliant Green Lactose Bile broth'da (BGLB, Merck) 37°C'de 24-48 saat ve EC broth'da (EC, Merck) 44.5°C'de 24-48 saat inkübe edildi. BGLB'de doğrulama sonrası koliform sayıları MPN tablosuna göre değerlendirilerek tespit edildi. EC broth' içeren gaz ve bulanıklık oluşturan tüpler de fekal koliformlar olarak belirlendi. Gaz pozitif EC tüpleri indol testine tabi tutularak indol pozitif olanlar *E. coli* olarak değerlendirildi (APHA, 1976).

Bulgular

Eğirdir Gölüne ait 50 kerevit örneğinin mikrobiyolojik yönden incelendiği bu çalışmada, analiz sonuçları Tablo 1, 2 ve 3'de verilmiştir. Tablo 1'deki sonuçlara göre ortalama aerob genel canlı sayısı 1.5×10^6 kob/g, koliform bakteriler 1.3×10^3 MPN/g, stafilokok/mikrokokların sayısı 4.6×10^3 kob/g ve enterokok sayısı ise 1.4×10^3 kob/g olarak tespit edilmiştir. Fekal koliformlara sadece bir örnekte (Temmuz ayı) 2.1×10^1 MPN/g düzeyinde rastlanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar Mısır'da Nil nehrindeki kerevitlerden (*Procambarus clarkii*) (Elmossalami ve Emara, 1999), Nijerya'daki üç mollusk türü kabukludan (Ekanem ve Otti, 1997) ve Hindistan'da çiftlikte yetiştirilen tatlısu karideslerinden (*Macrobrachium rosenbergii*) (Lalitha ve Surendran, 2004) bildirilen mikrobiyolojik değerlere göre önemli ölçüde düşüktür. Bunun nedeni öncelikli olarak iklim ve coğrafyanın farklı oluşu, değişik cins ve tür farklılığı, avcılık veya yetiştiricilik faktörlerinin yanı sıra incelenen kerevitlerin avlandığı suların temizliği ve avlanma sonrası yapılan işlemlerin etkisine bağlanabilir. Jay (1992), kontaminasyon düzeyinin balık ve kabukluların yetiştigi suların kirlilik derecesine bağlı olduğunu belirtmektedir.

Tablo 2'deki mikroorganizmaların frekans dağılımına göre, aerob genel canlı sayısı örneklerde çoğunluk olarak (% 36) 10^4 - 10^5 kob/g arasında seyretmektedir. Enterokok sayıları ise aynı şekilde (% 36) 0 - $<10^1$ kob/g olarak kaydedilmiştir. MPN tekniği ile belirlenen koliform bakteri düzeyi de genel olarak (% 52) 10^3 - 10^4 MPN/g şeklinde tespit

edilmiştir. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1986)'nin tavsiye ettiği mikrobiyolojik limitler göz önüne alındığında incelenen kerevit örneklerinin % 68'inin insan tüketimi için uygun olduğu, geri kalan % 32'sinin de marjinal olarak kabul edilebileceği görülmektedir.

Tablo 1: Eğirdir Gölü kerevitlerinin (*Astacus leptodactylus*) mikrobiyolojik analiz sonuçları (kob/g)

Sayılar	Min.	Max.	Ort	SH*
Aerob mez.g.canlı	1×10^4	5.1×10^6	1.5×10^6	8.7×10^5
Stafilokok/Mikrokok	$<10^1$	2×10^4	4.6×10^3	3.2×10^3
Total koliform ^a	4.3×10^1	>2400	1.3×10^3	5.1×10^2
Enterokok	$<10^1$	5.3×10^3	1.4×10^3	9.2×10^2

*SH, Standart hata

a, MPN/g

Tablo 2: Kerevit örneklerinde pozitif olarak belirlenen mikroorganizmaların frekans dağılımı

Sayılar	$0 < 10^1$		$10^1 < 10^2$		$10^2 < 10^3$		$10^3 < 10^4$		$10^4 < 10^5$		$10^5 < 10^6$		$10^6 < 10^7$	
	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)	No (%)
AGC	0	0	0	0	0	0	0	0	9	36	8	32	8	32
Koliform	0	0	8	32	4	16	13	52	0	0	0	0	0	0
Fekal ko.	4	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Entero.	9	36	8	32	0	0	8	32	0	0	0	0	0	0

Tablo 3'deki verilere göre, incelenen kerevitlerin % 100'ünde koliformlar ve % 64'ünde enterokokların varlığı gösterilmiştir. Gıdaların hijyenik kalitesinin indikatörü olarak bu grup mikroorganizmalar oldukça büyük öneme sahiptir. Balık ve kabuklularda koliform ve fekal koliform bakteriler ile enterokokların varlığı suların atıklarla kirlendiği veya avlanma sırasında ve sonrasında yapılan işlemlerde, taşımada ve pazarlama sırasındaki kontaminasyondan da kaynaklanabilmektedir (ICMSF, 1986; Frazier ve Westhoff, 1988).

Diğer taraftan patojen mikroorganizmalardan koagülaz pozitif stafilocoklar ve *E. coli* büyük önem taşımaktadır. Bu araştırmada kerevitlerde stafilocok/mikrokok düzeyi $<10 \cdot 10^4$ kob/g (ortalama $4.6 \cdot 10^3$ kob/g) arasında değişiklik gösterirken, koagülaz pozitif stafilocok mikroorganizmalara rastlanmamıştır. Balık ve kabuklular kirli sulardan avlanmadıkça salmonella ve stafilocoklar gibi yaygın gıda patojenlerinden genel olarak aridir. Ancak hasat sonrası yapılan muamele ve işleme teknikleri sırasında kontamine olabilirler (Matches ve Abeyta, 1983). Su ürünlerinde stafilocokların düşük sayılarda bulunması ciddi bir problem oluşturmamaktadır.

Tablo 3: Kerevit örneklerinde belirlenen mikroorganizmaların insidensi

	Pozitif	
	No	%
Koliformlar	25	100
<i>E. coli</i>	0	0
Enterokok	16	64
Koa. poz. stafilocok	0	0

Eğirdir Gölü'nden avlanan kerevitlerde koliform bakteri belli düzeyde tespit edilirken, çok düşük düzeyde fekal koliformlara rastlanmış ve hiçbir örnekte *E. coli* belirlenememiştir. Dolayısıyla patojen mikroorganizmalar açısından da kerevitlerin tüketime uygun olduğu ortaya çıkmaktadır. Eğirdir Gölü suyunun mikrobiyolojisi ile ilgili yapılan bir çalışmada toplam heterotrofik bakteri sayısı $<10 \cdot 10^4$ kob/ml, toplam koliform bakteri sayısı $<10 \cdot 10^3$ KMS/100 ml olarak belirlenmiştir. Ayrıca gölde fekal kirlilik indikatörü olan *E. coli*'nin varlığı tespit edilmiştir (Diler, Altun ve Atay, 1998). Bu çalışmada kerevit örneklerinde *E. coli*'nin belirlenmemiş olmasına rağmen yine de gölün kirlilik düzeyi açısından her an potansiyel bir tehdit oluşturabileceği dikkate alınmalıdır.

Kabukluların yüzeyindeki mikroorganizmalar sudan ve sedimentten kaynaklanmaktadır. Solungaçlar ve barsaklarda bulunan bakteriler zedelenmiş veya hasarlı bölgelerden kaslara ulaşabilirler (Jay, 1992).

Diğer taraftan bu çalışmada Eğirdir Gölü kerevitlerinin bakteriyel mikroflorasından izole ve identifiye edilen bakteri cinsleri *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*,

Aeromonas, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Moraxella* ve *Alcaligenes* olarak belirlenmiştir. Ayrıca Enterobacteriaceae ve coryneform grup bakteriler de tespit edilmiştir.

Eğirdir Gölü'ndeki diğer su ürünlerinden sudak balıklarının (*Stizostedion lucioperca*) mide-barsaklarında (Diler ve Diler, 1998) ve *Carassius auratus*'ların barsaklarında (Diler, Altun, Diler ve Işıklı, 2003) tespit edilen floranın da bu çalışmada elde edilen bulgulara benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Gram ve ark. (1990) Viktorya Gölü'ndeki Nil levreğinde de (*Lates niloticus*) sıcak su balık türü olmasına rağmen, bu çalışmadakine benzer bir flora tespit etmişlerdir. Ancak çevrenin fonksiyonu göz önüne alındığında genel bir yaklaşımla sıcak su balıklarının florası daha mezofilik Gram-pozitif (mikrokoklar, basiller, coryneformlar) dan oluşurken, soğuk su balıkları predominant olarak Gram-negatif (*Moraxella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* ve *Vibrio*) bir mikrofloraya sahip olmaları ortak görüşü kabul edilmektedir (Shewan, 1962; Liston, 1980; Ward ve Baj, 1988). Buna karşılık Ukrayna'daki Juodis Gölü'ndeki kerevitlerin (*Astacus astacus*) sindirim kanalının mikroflorasında *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Bacterium* cinslerinin predominant bakteriler olduğu (Mickeniene, 1983), dolayısıyla değişik habitatlarda yaşayan farklı türlerdeki floranın da birbirinden farklılıklar gösterebileceği de dikkate alınmalıdır.

Sonuç

Sonuç olarak Eğirdir Gölü kerevitlerinin mikrobiyolojik değerlendirme sonucu insan gıdası olarak tüketime uygun olduğu belirlenmiştir. Ancak gölün farklı kaynaklardan patojenik bakterilerle kontamine olması söz konusu olduğundan halk sağlığı açısından muhtemel bir tehlike oluşturabileceği dikkate alınmalıdır. Bundan dolayı göle ulaşan atıkların arıtılması kadar, kerevitlerin avlanması ve sonrasında yapılan işlemlerde hijyenik tedbirlere uyulması ve tüketilmeden önce pişirilmesinin önemli olduğu gerçeği göz ardı edilmemelidir.

Kaynaklar

- Anon (2001) Su ürünleri istatistikleri Devlet İstatistik Enstitüsü.
- Anon (2003) Isparta İl Tarım Müdürlüğü kayıtları.
- Anon (2004) Isparta İl tarım Müdürlüğü kayıtları.

Apha (1976) Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. (ed. M.L. Speck), American Public Health Association, Washington.

Bolat, Y.(2001). Eğirdir Gölü Hoyran Bölgesi tatlısu istakozlarının (*Astacus leptodactylus salinus*, Nordman, 1842) populasyon büyüklüğünün tahmini. (Doktora tezi) SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü. 116s.

Diler, Ö., Altun, S., Atay, R. (1998) Eğirdir Gölü su kalitesi, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik parametreleri. *Isparta'nın Dünü Bugünü ve Yarını Sempozyumu II Bildirileri*. 16-17 Mayıs 1998, c:2, 99-108, Isparta.

Diler, Ö., Altun, S., Diler, A., Işıklı, B.I. (2003) Eğirdir Gölü'nden avlanan *Carassius auratus* (L.1758)'larda bağırsakların bakteriyel florası üzerinde bir araştırma. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 7,1-8.

Diler, Ö., Bolat, Y. (2001) Isolation of *Acremonium* species from crayfish, *Astacus leptodactylus* in Eğirdir Lake. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 21(4), 164-168.

Diler, Ö., Bolat, Y., Kuşat, M. (1999) Eğirdir Gölü kerevitlerindeki (*Astacus leptodactylus*) mantar hastalığı üzerinde epidemiyolojik bir araştırma. *SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi* 6,1-17.

Diler, Ö., Diler, A. (1998) Eğirdir Gölü sudak balıklarında (*Stizostedion lucioperca* L.1758) mide-barsak mikroflorasının kalitatif ve kantitatif değişimleri. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi* 22,325-328.

Diler, Ö., Diler, A. (2003) The occurrence of *Psorospermium* sp.in narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* in Eğirdir Lake, Turkey. Diseases of Fish and Shellfish, 11th International Conference of the EAFF, 21st-26th September 2003, Malta, (Abstract).

Ekanem, E.O., Otti, B.N. (1997) Total plate count and coliform levels in Nigerian periwinkles from fresh and brackish water. *Food Control* 8(2), 87-89.

Elmossalami, M.K., Emara, M.T. (1999) Safety and quality of freshwater crayfish *Procambarus clarkii* in the river Nile. *Nahrung* 43(2), 126-128.

Frazier, W.C., Westhoff, D. (1988) Food Microbiology. 4th.Ed., Mc Graw-Hill Book Company Inc., New York.

Gram, L., Wedell-Neergaard, C., Huss, H.H. (1990) The bacteriology of fresh and spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). *International Journal of Food Microbiology* 10, 303-316.

Harlıoğlu, M.M. (2004) The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz,1823) in Turkey. *Aquaculture* 230,181-187.

Hayes, P.R. (1992) Food Microbiology and Hygiene. 2nd Ed., Elsevier Applied Science, London and New York, Elsevier Science Publishers Ltd.

Huss, H.H., Reilly, A., Karim Ben Embarek, P. (2000) Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control* **11**, 149-156.

International Commission on Microbiological Specifications for Food ICMSF (1986) Microorganisms in Foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2nd Ed., University of Toronto Press, Toronto.

Jay, (1992) Modern Food Microbiology 4th Ed., New York: Chapman & Hall.

Lalitha, K.V., Surendran, P.K. (2004) Bacterial microflora associated with farmed freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) and the aquaculture environment. *Aquaculture Research* **35**, 629-635.

Liston, J. (1980) Microbiology in fishery science. In: *Advances in Fish Science and Technology* (ed. J.J. Connell) Fishing News Books Ltd. Farnham, Surrey, England. pp. 138-157.

Matches, J.R., Abeyta, C. (1983) Indicator organisms in fish and shellfish. *Food Technology* June, 114-117.

Mickeniene; L. (1983) Microflora of the digestive tract of the crayfish *Astacus astacus* L. *Freshwater Crayfish* **5**, 445-449.

Rahe, R., Soylu, E. (1989) Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkey crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*). *Journal of the Invertebrate Pathology* **54**, 10-15.

Seçer, S., Özkul, A. (1988) A research on spot disease (Happch's spot disease) of freshwater crayfish in Turkey. *Journal of Aquatic Product* **12**, 9-22.

Shewan, J.M. (1962) The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: *Recent Advances in Food Science* Vol.1 (eds. J. Hawthorn and J.M. Leitch) London, Butterworths pp. 167-193.

Ward, D.R., Baj, N.J. (1988) Factors affecting microbiological quality of seafoods. *Food Technology* March, 85-89.

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

OTLU LORLARIN MİNERAL MADDE VE AĞIR METAL İÇERİKLERİ

Fevzi KILIÇEL¹ Zekai TARAKÇI² Hakan SANCAK²
Hisamettin DURMAZ³

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü-Van

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Van

³Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Şanlıurfa

Özet: Bu araştırma, Van'da üretilen 30 adet Otlulorun bazı kimyasal özellikleri ile mineral madde ve ağır metal içeriklerini sade lorlar ile karşılaştırmak amacıyla yapılmış ve sonuçlar kurumadde üzerinden değerlendirilmiştir. Örneklerin fosfor (P) içerikleri UV spektrofotometresinde, kalsiyum (Ca), sodyum (Na), magnezyum (Mg), çinko (Zn), bakır (Cu), demir (Fe), mangan (Mn), kobalt (Co), krom (Cr), nikel (Ni) ve kadmiyum (Cd) içerikleri ise atomik absorpsiyon spektrofotometresinde belirlenmiştir.

Otlulorlarda kurumadde %26.31-39.53, tuz %8.57-17.95 ve kül %13.40-24.20 değerleri arasında; ortalama Ca 638.43±101.04 mg/100g, Na 3212.96±218.97 mg/100g, P 422.66±34.76 mg/100g, Mg 38.50±11.42 mg/100g; Zn 29.19±3.45 mg/kg, Cu 8.18±1.32 mg/kg, Fe 74.77±13.54 mg/kg, Mn 6.93±0.83 mg/kg, Co 0.29±0.13 mg/kg, Cr 0.25±0.15 mg/kg, Ni 0.30±0.11 mg/kg ve Cd 0.20±0.08 mg/kg olarak belirlenmiştir. Otlulorlar arasında kurumadde, tuz ve kül miktarları yönünden farklılıkların olması standart bir üretimin olmamasından kaynaklanmaktadır. Sade lorlarda kurumadde %30.78-35.47, tuz %4.82-7.86 ve kül %10.70-13.15 değerleri arasında; ortalama Ca 808.55±90.70 mg/100g, Na 1733.70±35.41 mg/100g, P 454.58±14.34 mg/100g, Mg 34.65±5.44 mg/100g; Zn 26.56±0.97 mg/kg, Cu 8.01±0.93 mg/kg, Fe 24.20±2.39 mg/kg, Mn 6.93±0.85 mg/kg, Co 0.16±0.08 mg/kg, Cr 0.27±0.12 mg/kg, Ni 0.31±0.11 mg/kg ve Cd 0.33±0.07 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Otlulorların tuz, kül ve Na içeriklerinin sade lorlara göre yüksek olması üretimde fazla miktarda tuz kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, Otlulor ile sade lorlar arasında Ca, Fe, Co ve Cd içerikleri yönünden de önemli farklılıkların olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Otlulor, sade lor, mineral madde, ağır metal

Mineral and Heavy Metal Contents of Herby Lors

Abstract: This study, 30 Herby lor samples produced in Van was compared to plain lors in terms of some chemical characteristics, mineral and heavy metal contents. The obtained values were based on dry matter. P content of samples was determined in UV spectrometry and Ca, Na, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni and Cd contents of samples were determined in atomic emission spectrometry.

The dry matter, salt and ash contents of Herby lors were determined between 26.31-39.53%, 8.57-17.95%, 13.40-24.20%, respectively. The mean of the Ca, Na, P, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni and Cd contents of Herby lors were obtained 638.43 ± 101.04 mg/100g, 3212.96 ± 218.97 mg/100g, 422.66 ± 34.76 mg/100g, 38.50 ± 11.42 mg/100g; 29.19 ± 3.45 mg/kg, 8.18 ± 1.32 mg/kg, 74.77 ± 13.54 mg/kg, 6.93 ± 0.83 mg/kg, 0.29 ± 0.13 mg/kg, 0.25 ± 0.15 mg/kg, 0.30 ± 0.11 mg/kg and 0.20 ± 0.08 mg/kg, respectively. The dry matter, salt and ash contents differences among Herby lors have not been a standardization manufacturing. The dry matter, salt and ash contents of plain lors were determined between 30.78-35.47%, 4.82-7.86%, 10.70-13.15%, respectively. The mean of the Ca, Na, P, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni and Cd contents of plain lors were obtained 808.55 ± 90.70 mg/100g, 1733.70 ± 35.41 mg/100g, 454.58 ± 14.34 mg/100g, 34.65 ± 5.44 mg/100g; 26.56 ± 0.97 mg/kg, 8.01 ± 0.93 mg/kg, 24.20 ± 2.39 mg/kg, 6.93 ± 0.85 mg/kg, 0.16 ± 0.08 mg/kg, 0.27 ± 0.12 mg/kg, 0.31 ± 0.11 mg/kg and 0.33 ± 0.07 mg/kg, respectively.

In conclusion, the salt, ash and Na contents of Herby lor higher than plain lor, which are used high amount salt in manufacture. In addition, Ca, Fe, Co and Cd contents compare of Herby lor and plain lor determined significantly differences.

Key words: Herby lor, plain lor, mineral, heavy metal

Giriş

Peynir üretim tekniklerine göre değişmekle birlikte, süt bileşenlerinin yaklaşık olarak yarısı peyniraltı suyuna (PAS) geçer. Üretim sırasında, pıhtının süzülmesiyle kazein ve bir kısım yağ pıhtıda kalırken geriye PAS kalır. PAS; laktoz (%5), yağ (%0.5), protein (%0.9) ve mineral madde (%0.6) yönünden zengin bir kaynaktır (Demirci ve Şimşek, 1997). PAS, daha çok küçük işletmelerde lor üretiminde veya doğrudan hayvanların beslenmesinde kullanılır. PAS ısıtılınca

yapısındaki proteinler pıhtılaşır, tortu süzülerek işlenir ve lor elde edilir (Demirci ve Şimşek, 1997). Otlı lor üretiminde Van ve yöresinden elde edilen sirmo, mendi ve helis isimleriyle bilinen otlar kullanılır ve bu otlar lora değişik tat ve koku vermesinin yanında mineral madde yönünden de zenginlik kazandırır.

Süt ve süt ürünleri Ca ve P yönünden zengindir. Kalsiyumdan sonra vücutta en çok bulunan P kalsiyumla birlikte kemik ve dişlerin yapı maddesini oluşturur (Walstra ve Jenness, 1984; deMan, 1990; Miller, 1996; Metin, 2001). Mg kas ve sinir iletiminde etkin bir rol oynarken, Fe hemoglobin ve enzimlerin yapısında yer alır, eksikliğinde anemiye neden olur ve halsizlikle ilgili pek çok belirti ortaya çıkar. Mg ve Fe içeriği yönünden süt ve süt ürünleri fakir olmasına karşın, sebzeler daha zengindir (Walstra ve Jenness, 1984; deMan, 1990; Miller, 1996; Demirci, 2002).

Sütün peynire ve PAS'nun da lora işlenmesi sırasında, minerallerin bir kısmı daha yoğun hale gelirken bir kısmı da zarar görür. Mineral madde ve ağır metal yönünden lor ve benzeri ürünlerde yapılan araştırmaların birkaçı aşağıda verilmiştir.

Ricotta, PAS'ndan üretilen lor benzeri bir peynirdir. Cimino ve ark. (1991) Ricotta peynirlerinde Ca, Na ve Mg içeriklerinin sırasıyla 218-295, 28-41 ve 27-38 mg/100g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. İnek ve inek-koyun sütü karışımı PAS'ndan üretilen Ricotta peynirleri üzerine yapılan başka bir araştırmada Ca, Na, Mg, Zn ve Fe içerikleri 260 ± 9 ve 446 ± 8 , 80 ± 0 ve 183 ± 3 , 10 ± 0 ve 44 ± 1 , 0.48 ± 0 ve 0.35 ± 0 , 0.15 ± 0.01 ve 0.24 ± 0.01 mg/100g; Co ve Cr içerikleri 0.25 ± 0 ve 0.19 ± 0.01 , 7.30 ± 0.33 ve 7.90 ± 0.58 µg/100g olarak tespit edilmiştir (Gambelli ve ark., 1999).

Amerika'da keçi sütünden üretilen Otlı peynirlerde, kurumadde $\%40.90\pm2.11$, kül $\%1.60\pm0.61$, Ca 1120 ± 336 , Na 3360 ± 1370 , P 2250 ± 312 , Mg 153 ± 39.1 , Zn 7.75 ± 2.33 , Cu 6.68 ± 1.86 , Fe 17.7 ± 10.3 ve Mn 1.056 ± 0.327 mg/kg olarak belirlenmiştir (Park, 1990).

Erzurum'da tüketime sunulan lorlar üzerine yapılan bir araştırmada, kurumadde $\%32.27$, tuz $\%3.48$, kül $\%3.84$, Ca 133.3 , Na 835.3 , P 184.2 ve Mg 8.39 mg/100g olarak belirlenmiştir (Özdemir ve ark., 2000).

Tarakçı ve ark. (2003) tarafından yapılan bir araştırmada, Darende Dumas çökeleğinde kurumadde $\%34.93$, tuz $\%1.64$, kül $\%2.39$, Ca 687.53 , Mg 53.85 , Zn 12.2 , Cu 6.71 , Fe 10.26 ve Mn 1.69 mg/kg olarak bildirilmiştir.

Bu araştırma, Otlı lorların mineral madde ve ağır metal içeriklerini belirlemek ve elde edilen sonuçları sade lorlar ile karşılaştırmak amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Metot

Araştırma materyalini Van'da tüketime sunulan 30 adet Otlı ve 5 adet sade lor oluşturmuştur. Kurumadde, tuz ve kül miktarları AOAC (2000)'ye göre belirlenmiştir. Mineral madde ve ağır metal analizlerinde, kül haline getirilen örnekler 10'ar ml 6 N HCl ilave edilerek örneklerin ısıtıcı tablada çözünmesi sağlanmış, filtre kağıdından süzülen örnekler bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanmış ve dilüsyonlar renkli şişelerde muhafaza edilmiştir. Ca, Na, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni ve Cd içerikleri atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (Unicam 929, Cambridge-İngiltere), P içerikleri ise UV spektrofotometresinde (Shimadzu UV-1201 V, Kyoto-Japonya) standart kurvelere göre okunmuş ve sulandırma katsayıları göz önünde tutularak hesaplamaları yapılmıştır (AOAC, 2000).

Bulgular

Otlı ve sade lorlarda belirlenen kimyasal analiz bulguları ile mineral madde içerikleri Tablo 1 ve 2'de, ağır metal içerikleri ise Tablo 3 ve 4'te verilmiştir.

Tablo 1. Otlı lorlarda belirlenen kimyasal analiz bulguları ile mineral madde içerikleri (n=30)*

Örnek No	Kurumadde (%)	Tuz (%)	Kül (%)	Ca (mg/100g)	Na (mg/100g)	P (mg/100g)	Mg (mg/100g)
Min.	26.31	8.57	13.40	415.88	2741.25	252.89	11.13
Mak.	39.53	17.95	24.20	854.75	3520.00	489.38	56.00
Ort.	33.72	13.88	19.04	638.43	3212.96	422.66	38.50
	±3.82	±2.49	±2.91	±101.04	±218.97	±34.76	±11.42

* Değerler kurumadde üzerindendir

Tablo 2. Sade lorlarda belirlenen kurummade, kül ve tuz miktarları ile mineral madde içerikleri (n=5)*

Örnek No	Kurumad de (%)	Tuz (%)	Kül (%)	Ca (mg/100g)	Na (mg/100g)	P (mg/100g)	Mg (mg/100g)
Min.	30.78	4.82	10.70	705.25	1687.25	437.18	28.25
Mak.	35.47	7.86	13.15	927.00	1779.00	469.80	42.50
Ort.	32.62 ±1.87	6.04 ±1.13	11.73 ±0.99	808.55 ±90.70	1733.70 ±35.41	454.58 ±14.34	34.65 ±5.44

* Değerler kurummade üzerindendir

Tablo 3. Otlu lorlarda belirlenen ağır metal içerikleri (n=30)*

Örnek No	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Co (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Cd (mg/kg)
Min.	23.49	6.01	54.51	5.26	0.03	0.03	0.06	0.04
Mak.	35.78	10.40	98.76	8.50	0.57	0.57	0.49	0.34
Ort.	29.19 ±3.45	8.18 ±1.32	74.77 ±13.54	6.93 ±0.83	0.29 ±0.13	0.25 ±0.15	0.30 ±0.11	0.20 ±0.08

* Değerler kurummade üzerindendir

Tablo 4. Sade lorlarda belirlenen ağır metal içerikleri (n=5)*

Örnek No	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Co (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Cd (mg/kg)
Min.	25.30	7.18	21.93	5.73	0.09	0.11	0.16	0.25
Mak.	27.63	8.90	27.35	7.78	0.30	0.40	0.41	0.44
Ort.	26.56 ±0.97	8.01 ±0.93	24.20 ±2.39	6.93 ±0.85	0.16 ±0.08	0.27 ±0.12	0.31 ±0.11	0.33 ±0.07

* Değerler kurummade üzerindendir

Sonuç

Otlu lorların kurummade, tuz ve kül miktarları Özdemir ve ark. (2000)'nın bildirdikleri değerlere benzerlik gösterirken, tuz ve kül miktarları Tarakçı ve ark. (2003)'nın bildirdikleri değerlerden yüksek bulunmuştur.

Otlu lorlardaki Ca içeriği, sade lorlar ile Tarakçı ve ark. (2000)'nın bildirdikleri değerlerden düşük, Gambelli ve ark. (1999)'nın bildirdikleri değerlerden yüksek bulunmuştur.

Ortalama 3212.96±218.97 mg/100g olarak belirlenen Otlu lorlardaki Na içeriği, sade lorlar ve Ricotta peynirinde (Cimino ve ark., 1991)

bildirilen değerlerden yüksek bulunmuştur. Bu fark, Otlı lor üretiminde kullanılan fazla miktardaki tuzdan kaynaklanmaktadır. Su ve asit-baz dengesini, osmotik basıncı ve besin öğelerinin membrandan emilimini düzenleyen sodyumun günlük tüketimi 5-6 g'ı geçmemelidir. Vücuttaki sodyum birikimi ödemlere ve kan basıncının artmasına neden olabilir, ayrıca fazla sodyum alımı ile hipertansiyon arasındaki ilişki dikkat çekicidir (deMan, 1990; Miller, 1996; Demirci, 2002).

Otlı lorlarda belirlenen P içeriği sade lorlar ile Park (1990)'ın bildirdiği değerlerden düşük, ortalama 38.50 ± 11.42 mg/100g olarak belirlenen Mg içeriği, inek-koyun sütü karışımı PAS'ndan üretilen Ricotta peynirlerinde (Gambelli ve ark., 1999) bildirilen değere benzer, sade lorlar ile Erzurum lorlarında (Özdemir ve ark., 2000) bildirilen değerlerden yüksek bulunmuştur.

Otlı lorlardaki Zn içeriği sade lorlar ile Dumas çökeleği (Tarakçı ve ark., 2000), Fe içeriği sade lorlar ile Ricotta peynirleri (Gambelli ve ark., 1999) ve Mn içeriği ise Otlı peynirlerde (Park, 1990) belirlenen değerlerden yüksek bulunmuştur. Otlı lorların Fe içeriğinin yüksek olması, üretimde kullanılan otlardan kaynaklanmış olabilir. Nitekim birçok kaynaktan (Walstra ve Jenness, 1984; deMan, 1990; Miller, 1996; Demirci, 2002) yeşil sebzelerdeki Fe içeriğinin yüksek miktarlarda olduğunun bildirilmesi bunu destekler mahiyettedir.

Otlı lorların Cu içeriği sade lorlarda belirlenen değerlere benzer, Dumas çökeleğinde (Tarakçı ve ark., 2000) bildirilen değerlerden düşük, Otlı peynirlerde (Park, 1990) bildirilen değerlerden yüksek bulunmuştur. Cr ve Ni içerikleri sade lorlarda belirlenen değerlere benzer, Co ve Cd içerikleri farklıdır. Ayrıca Otlı lorların Co ve Cr içeriklerinin Ricotta peynirlerinde (Gambelli ve ark., 1999) bildirilen değerlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Otlı lor örnekleri arasında kurumadde, tuz ve kül miktarlarının çok farklı olması üretimde standart bir teknolojinin uygulanmamasından kaynaklanmaktadır. Otlı lorlardaki bazı minerallerin sade lorlara göre daha fazla bulunması üretimde kullanılan otlardan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Sade lorlara göre özellikle de Fe içeriği yönünden bu durum dikkat çekicidir. Süt ve süt ürünlerinin üretimi sırasında uygulanan teknolojik işlemler tekniğine uygun olarak yapılmalı ve ürünler tüketime sunuluncaya kadar uygun materyal ve koşullarda saklanmalıdır.

Kaynaklar

- AOAC International (2000). Official Methods of Analysis of International. 17th Ed., Gaithersburg, USA.
- Cimino, G., Leuzzi, U., Salvo, F., Ziino, M (1991). Heavy Metal Pollution. Part XI: Impact of the Volcanic Activity on Etnean Milk and Ricotta. *Dairy Science Abstract*, 54, 11: 940.
- Deman, J.M (1990). *Principles of Food Chemistry*. 2nd Ed., Van Nostrand Reinhold, New York, Usa. 469 P.
- Demirci, M., Şimşek, O. (1997). Süt İşleme Teknolojisi. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., Kadıköy, İstanbul. 246 S.
- Demirci, M. (2002). Beslenme. Rebel Yayıncılık, Topkapı, İstanbul. 287 S.
- Gambelli, L., Belloni, P., Pizzoferrato, L., Santaroni, Gp. (1999). Minerals and Trace Elements in Some Italian Dairy Products. *J. Food Composition and Analysis*, 12: 27-35.
- Metin, M. (2001). Süt Teknolojisi-Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. 1. Bölüm, 4. Baskı, Ege Üniv. Müh. Fak. Yay., No: 33, Bornova, İzmir. 801 S.
- Miller, Dd. (1996). Minerals. (In): *Food Chemistry*. Ed. Fennema, O.R., 3rd Ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA. 1069 P.
- Özdemir, S., Demircioğlu, N., Çelik, Ş., Bakırcı, İ. (2000). Erzurum Piyasasında Tüketilen Lorların Bazı Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı, Tekirdağ, 524-531, Ed. Demirci M., Rebel Yayıncılık, Topkapı, İstanbul.
- Park, Y.W (1990). Nutrient Profiles of Commercial Goat Milk Cheeses Manufactured in The United States. *J. Dairy Science*, 73: 3059-3067.
- Tarakçı, Z., Yurt, B., Küçüköner, E (2003). Darende Dumas Çökeleğinin Yapılışı ve Bazı Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. *Gıda*, 28, 4: 421-427.
- Walstra, P., Jenness, R (1984): *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley And Sons Inc., New York, USA. 467 P.

PASTÖRİZE SÜTTEN YAPILAN OTLU PEYNİRLERİN ÜRETİM VE OLGUNLAŞMA AŞAMALARINDA *LISTERIA* *MONOCYTOGENES*'İN SEYRİ

Emrullah SAĞUN¹ Hisamettin DURMAZ² Hakan SANCAK¹
Zekai TARAKÇI³

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Van

² Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Şanlıurfa

³ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü-Van

Özet: Bu çalışmada, otlı peynirlerde üretim ve olgunlaşma periyodunca *Listeria monocytogenes*'in canlı kalma süresi araştırıldı. Tam yağlı pastörize inek sütü 10^3 kob/ml *L. monocytogenes* 1/2b ve 4b ile inokule edilerek peynir üretildi ve 150 gün boyunca toprağa gömülerek olgunlaştırıldı. *L. monocytogenes* sayısını belirlemek amacıyla %0.1'lik steril peptonlu su ile dilüsyonları yapılan örneklerin Oxford agar'a ekimleri yapıldı. *L. monocytogenes* sayısı olgunlaşmanın 30. gününde maksimum seviyeye ulaştı. Daha sonra olgunlaşma periyodu boyunca azalarak en düşük değer 150. günde kaydedildi. Bununla birlikte, patojen tamamen elimine olmadı. Sonuç olarak, pastörize inek sütünden yapılan otlı peynirlerde *L. monocytogenes* uzun süre canlı kalabildiği ve dolayısıyla bu patojenle kontamine otlı peynirlerin hassas bireyler tarafından tüketilmesi durumunda ciddi hastalıklara neden olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: *Listeria monocytogenes*, otlı peynir, üretim, olgunlaşma

Fate of *Listeria monocytogenes* during Manufacturing and Ripening of Herby

Cheeses Made from Pasteurized Milk

Abstract: In this study, the ability of *Listeria monocytogenes* to survive during making and ripening of cheese were examined. Herby cheese was manufactured with pasteurized whole cow's milk

inoculated to contain 10^3 CFU *L. monocytogenes* (serovars 1/2b and 4b) per ml and ripened in the soil for 150 days. *L. monocytogenes* counts in the cheese was determined by diluting samples in sterile 0.1% peptone water and planting on Oxford agar. *L. monocytogenes* counts reached to maximum level at the 30 days of ripening. *L. monocytogenes* counts decreased during further ripening and minimum level was recorded at the 150th day. However, this pathogen did not disappear completely at this period. As a result, *L. monocytogenes* is able to survive at long period in Herby cheese made pasteurized whole cow's milk. Thus, contaminated Herby cheese could potentially cause serious illness if consumed by susceptible individuals.

Key words: *Listeria monocytogenes*, herby cheese, manufacturing, ripening

Giriş

Listeria genusu içinde yer alan *Listeria monocytogenes* doğada çok yaygın bulunan patojen bir mikroorganizmadır. Çevreye geniş ölçüde yayılmış olmasının, olumsuz şartlar altında uzun süre canlı kalabilmesinin ve buzdolabı şartlarında üreyebilme yeteneğine sahip olmasının bir sonucu olarak *L. monocytogenes* gıda kaynaklı ve önemli bir patojen olarak kabul edilmiştir. (Farber ve Peterkin, 1991). Özellikle 1980'li yıllarda bazı ülkelerde ölüm oranı yüksek Listeriozis vakalarının ortaya çıkması dikkatlerin bu patojen üzerine çekilmesine sebep olmuştur (Schlech ve ark., 1983; Fleming ve ark., 1985; Linnan ve ark., 1988). Konu ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda insanlarda listeriozis vakalarında süt ve süt ürünlerinin önemli rol oynadığı, peynirlerin üretim, olgunlaşma ve depolama esnasında *L. monocytogenes* ile kontamine olabildiği ve bu patojenin olgunlaşma süresince birçok faktörlerin etkisi altında kalarak değişik düzeylerde canlı kalarak halk sağlığı açısından tehlike oluşturduğu ortaya konulmuştur (Schlech ve ark., 1983; Linnan ve ark., 1988; Schuchat ve ark., 1992; Bemrah ve ark., 1998).

Otlu peynir Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde özellikle Van, Bitlis, Diyarbakır, Siirt ve Batman'da üretilen ve sevilerek tüketilen mahalli bir peynirdir. Bu peynirlerin hijyenik olmayan şartlarda üretilip pazarlanması patojen mikroorganizmaların peynire geçmesine sebep olabilmekte ve insan sağlığı üzerine büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Akyüz ve Coşkun, 1996; Coşkun ve Tunçtürk, 1998). Nitekim yapılan araştırmalarda, otlu peynirlerin hijyenik

kalitesinin iyi olmadığı (Yetişmeyen ve ark., 1992; Sancak ve ark., 1996) ve incelenen 250 otlı peynir örneğinden 13'ünde (Sağun ve ark., 2001) *Listeria* türlerinin saptandığı ortaya konulmuştur.

Bu çalışma, *L. monocytogenes* ile kontamine edilen ve pastörize sütlerden yapılan otlı peynirlerin üretim ve olgunlaşma süresince bu patojenin canlı kalabilme yeteneğinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Otlı peynir yapımında Van Ziraat Meslek Lisesi Çiftliği'nden temin edilen deterjan ve antibiyotik kalıntıları içermeyen tam yağlı inek sütü (ortalama %3.7) ile piyasada salamura olarak satılan ve mahalli adıyla sirno (*Allium* sp.) olarak bilinen otlar kullanıldı. Test mikroorganizması olarak Refik Saydam Kültür Koleksiyonu (RSKK) Laboratuvarı'ndan temin edilen *L. monocytogenes* RSKK 472 (serotip 1/2b) ve *L. monocytogenes* RSKK 475 (serotip 4b) suşları kullanıldı ve her suş için peynir üretimi 3 kez tekrarlandı.

Denemede kullanılan sütler 65°C'de 30 dakika süreyle pastörize edilip 35°C'ye kadar soğutulduktan sonra 10³ kob/ml seviyesinde *L. monocytogenes* ile inokule edildi. İnokule sütler 60 dk bekletildikten sonra %1 oranında termofilik starter kültür (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) ilave edildi ve aynı sıcaklıkta 30 dk fermentasyona bırakıldı. Daha sonra maya (mayasan) ilave edilerek otlı peynir yapıldı. Üretilen otlı peynirler plastik bidonlara yerleştirildi ve boşluklar ufalanmış peynir parçalarıyla hava kalmayacak şekilde sıkıca dolduruldu. Bidonların ağızları asma yaprağı yerleştirildikten sonra çamur-saman karışımıyla kapatıldı, ters çevrilerek toprağa gömüldü ve olgunlaşmaya bırakıldı. *L. monocytogenes*'in seyri ile pH değerlerini belirlemek amacıyla üretim esnasında inokule süt, pıhtı ve telemeden, olgunlaşma sırasında ise 1., 7., 15., 30., 60., 90., 120 ve 150. günlerde örnekler alındı.

Çiğ süt, peynire katılan ot ve peynir örneklerinde *L. monocytogenes*'in izolasyonu Food and Drug Administration (FDA) tarafından önerilen Hitchins (2001)'in bildirdiği yöntemle göre yapıldı. Peynir üretiminde kullanılmak üzere laboratuvara getirilen süt ve otların *L. monocytogenes* ile kontamine olup olmadığını saptamak için 25 ml süt veya 25 g ot örneği 225 ml zenginleştirme besiyerine [*Listeria* Selective Enrichment Broth Base (LEB) (Oxoid CM862)+*Listeria* Selective Enrichment Supplement (Oxoid SR141)] ilave edilerek

30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda *Listeria Selective Agar (LSA)*'a [(Oxoid CM856)+*Listeria Selective Supplement (Oxoid SR140)*] ekim yapıldı ve 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı.

Peynir örneklerindeki *L. monocytogenes* sayısını belirlemek için, 10 g peynir örneği 90 ml %0.1'lik steril peptonlu su ile stomacherde (IUL Instruments Masticator) homojenize edildi. Bundan desimal dilüsyonlar hazırlanarak LSA'a yayma plak yöntemiyle ekim yapıldıktan sonra 35°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda etrafı siyah haleli ve 1-3 mm çapındaki tipik koloniler *L. monocytogenes* yönünden şüpheli koloni olarak değerlendirildi (Curtis ve ark., 1989). LSA'da üreme gösteren tipik 5 koloni alınarak saflaştırma ve identifikasyon için Tryptone Soya Agar (TSA)'a (Oxoid CM131) geçildi. TSA'da üreme gösteren kültürlerle temel izolasyon testleri (Gram boyama, Henry'nin aydınlatma testi, hareket testi, katalaz testi, oksidaz testi, SIM testi ve karbonhidrat fermentasyon testleri) yapıldı (Lachica, 1990; Harrigan, 1998; Hitchins, 2001). Süt ve peynir örneklerinin pH tayininde NEL-890 pH metre kullanıldı.

İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada uygulamalar üç tekerrürlü, analizler ise iki paralelli olarak yapıldı. Sonuçlarının ortalaması SAS bilgisayar programında Varyans Analizine tabi tutuldu. Gruplar arası ile üretim ve olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirildi (SAS/STAT Software, 1998).

Bulgular

Yapılan analizler sonucunda üretimde kullanılan çiğ sütlerin *Listeria* ile kontamine olmadığı saptanmıştır. Denemelerden elde edilen peynirlerin ortalama kurumadde, kurumaddede yağ ve tuz içerikleri *L. monocytogenes* 1/2b ile inokule edilmiş peynirlerde sırasıyla %45.47, %44.71 ve %4.91, *L. monocytogenes* 4b ile inokule edilen peynirlerde ise sırasıyla %45.06, %44.94 ve %3.74 olarak bulunmuştur.

Pastörize sütün mililitresi 10^3 düzeyinde *L. monocytogenes* 1/2b ve 4b suşları inokule edilerek üretilen otlu peynir örneklerinin üretim ve olgunlaşma aşamalarında bu bakterinin durumu Tablo 1'de, örneklerin pH değerleri ise Tablo 2'de gösterilmiştir.

Pıhtı aşamasına kadar her iki *L. monocytogenes* sayılarında inokulasyon seviyesine oranla önemli bir değişiklik gözlenmemiş ve bu durum *L. monocytogenes*'in yaklaşık 2 saatlik bir lag faza sahip olduğu görüşünü destekler niteliktedir (Rosenow ve Marth, 1987). *L. monocytogenes* 1/2b ve 4b ile inokule edilen örneklerin peynir altı suyunun süzülmesi esnasında bu bakterinin fiziksel olarak tutulmasından dolayı telemedeki popülasyonu inokule süte oranla sırasıyla 0.48 ve 0.72 log₁₀ kob/g'lık bir artış göstermiştir.

Olgunlaşma periyodunun 1. gününde tuzlama sonrasında rutubet kaybından dolayı *L. monocytogenes* 1/2b ve 4b sayılarında bir azalma saptanmış, daha sonra tekrar artarak olgunlaşmanın 30. gününde sırasıyla 4.58 ve 5.24 log₁₀ kob/g seviyesine ulaşmıştır. Olgunlaşmanın sonraki aşamalarında ise düzenli olarak düşerek 150. günde sırasıyla 2.13 ve 2.76 log₁₀ kob/g'a kadar gerilemiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda *L. monocytogenes* 1/2b sayısı için inokule süt ile 7., 15., 30., 90., 120. ve 150. günler arası, *L. monocytogenes* 4b sayısı için inokule süt ile teleme ve her bir olgunlaşma aşamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.001$). Tablo 1'den de görülebileceği gibi iki suş arasında üretimin teleme aşaması ile olgunlaşmanın 15., 30., 90. ve 150. günlerinde farklılığın önemli olduğu görülmektedir. Değişik peynirlerde yapılan araştırmalarda da *L. monocytogenes*'in farklı suşlarının farklı şekilde seyrettiği bildirilmiştir (Ryser ve Marth, 1987; Ryser ve Marth, 1989).

Listeria monocytogenes 1/2b ve 4b ile üretilen otlu peynir örneklerindeki pH değişimi iki peynir grubunda da benzer bir seyir izlemiş, pıhtıda süte kıyasla aynı düzeyde kalmış ve olgunlaşmanın 1. gününde 0.91 ve 0.95 birim kadar gerilemiştir. İlk 30 güne kadar düşme eğiliminde olup olgunlaşmanın sonraki aşamalarında artarak 150. günde sırasıyla 5.40 ve 5.46 olarak saptanmıştır. Örneklerin pH değerleri inokule süt ile kıyaslandığında teleme ve bütün olgunlaşma periyodu arasındaki farkın $P<0.001$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın 30. gününden sonra pH değerleri yükselmesine rağmen *L. monocytogenes* sayısının düşme eğilimi göstermesi muhtemelen β -oksidasyon yoluyla yağ asitlerinden serbest yağ asitleri ve metil ketonların oluşumu (Gripon, 1987) ile tuz oranındaki artıştan kaynaklanmış olabilir.

Sonuç

Bu araştırmanın sonuçlarına göre üretimde kullanılan süttten veya üretim esnasında çevreden *L. monocytogenes*'in peynire geçmesi durumunda bu bakteri üretim ve olgunlaşma aşamalarında gelişerek

4.58-5.24 log₁₀ kob/g'a kadar ulaşabilmektedir. Peynir olgunlaşma süresince bu patojeni inaktive etmek için çevresel faktörler çok fazla etkili olmamakta ve olgunlaşmanın 150. gününde bile insan sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek seviyede bulunabilmektedir. Pastörizasyon bazen *L. monocytogenes*'i bertaraf etmek için kafi gelmemektedir. Bundan dolayı *Listeria* ile kontamine olmamış otlu peynir üretebilmek için yapım aşamalarında bu patojeni peynirden uzak tutmak gerekmektedir. Özellikle *L. monocytogenes*'i inhibe kabiliyeti olan nisin üreten *Lactococcus lactis* suşları starter kültür olarak kullanılmalıdır. Sonuçta, bu patojen ile kontamine süttten otlu peynir üretilirse 150 günlük bir olgunlaştırma periyodu tüketici güvenliğini garanti etmeyecektir.

Kaynaklar

- Akyüz, N., Coşkun, H. (1996). Van Otlı Peynirlerinin Üretimi ve Peynire Katılan Otların Peynirin Çeşitli Özelliklerine Etkileri. In: Demirci, M. (Ed.), Her Yönüyle Peynir, 3. Baskı, Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul, 208-216.
- Bemrah, N., Sanaa, M., Cassin, M.H., Griffiths, M.W., Cerf, O. (1998). Quantitative risk assessment of human listeriosis from consumption of soft cheese made from raw milk. *Preventive Veterinary Medicine*, 37, 129-145.
- Coşkun, H., Tunçtürk, Y. (1998). Van Otlı Peyniri. (In): Demirci, M. (Ed.), Geleneksel Süt Ürünleri, Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları, No: 621, Mert Matbaası, Ankara, 20-32.
- Curtis, G. D.W., Mitchell, R.G., King, A.F. Emma, J. (1989). A selective differential medium for the isolation of *L. monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiology*, 8, 95-98.
- Farber, J.M., Peterkin, P.I. (1991). *L. monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological Reviews*, 55, 476-511.
- Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V., Reingold, A.L. (1985). Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *The New England Journal of Medicine*, 312, 404-407.
- Gripon, J.C. (1987). Mould-ripened cheeses. (In): Fox, P.F. (Ed.), Cheese: chemistry, physics and microbiology, Vol. 2. Major cheese groups. Elsevier Applied Science, London, pp. 121-149.
- Harrigan, W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology, 3rd Ed., Academic Press, London.

Hitchins, A.D. (2001). *L. monocytogenes*, Chapter 10, In "Bacteriological Analytical Manual Online". Lachica, R.V. (1990). Simplified Henry technique for initial recognition of listeria colonies. *Appl. Environ. Microbiol*, 56, 1164-1165.

Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes,

P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A., Broome, C.V. (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-Style cheese. *The New England Journal of Medicine*, 319, 823-828.

Rosenow, E.M. and Marth, E.H. (1987). Growth of *L. monocytogenes* in skim, whole and chocolate milk, and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35°C, *J. Food Protection*, 50, 452-459.

Ryser, E.T. and Marth, E.H. (1987). Behavior of *L. monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. *J. Food Protection*, 50, 7-13.

Ryser, E.T., Marth, E.H. (1989). Behavior of *L. monocytogenes* during manufacture and ripening of Brick cheese. *J. Dairy Science*, 72, 838-853.

Sağun, E., Sancak, Y.C., İşleyici, Ö., Ekici, K. (2001). Van ve çevresi süt ve otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. *Türk. J. Veterinary Ani. Sci*, 25, 15-19.

Sancak, Y.C., Kayaardı, S., Sağun, E., Ekici, K. (1996). Otlı peynirlerin kimyasal kompozisyonu, su aktivitesi (a_w) değeri ve mikroorganizmalar arasındaki ilişki. *Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2, 75-79.

SAS/STAT Software. (1998). *Changes and Enhancements through Release 6.12*, SAS Institute Inc., Cary, N.C., U.S.A.

Schlech III, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W.,

Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C.V. (1983). Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *The New England Journal of Medicine*, 308, 203-206.

Schuchat, A., Deaver, K., Wenger, J.D., Plikaytis, B.D. (1992). Role of food in sporadic listeriosis I: case control study of dietary risk factors. *JAMA*, 267, 2041-2045.

Yetişmeyen, A., Yıldırım, M., Yıldırım, Z. (1992). Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Otlı Peynirlerin Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Niteliklerinin Belirlenmesi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayın No: 1273, 1-17.

Tablo 1. Peynir üretim ve olgunlaşma süresince *L. monocytogenes*'in seyri (log₁₀ kob/ml-g)

Üretim Aşaması		<i>L. monocytogenes</i> 1/2b	<i>L. monocytogenes</i> 4b	F
Üretim Aşaması	İnokule süt	3.78±0.02 ^c	3.88±0.04 ^c	4.18
	Pıhtı	3.80±0.03 ^c	3.82±0.06 ^c	0.14
	Teleme	4.26±0.09 ^{abcA}	4.60±0.02 ^{cB}	14.44**
Olgunlaşma Periyodu (gün)	1	3.95±0.17 ^{bc}	4.12±0.03 ^d	0.97
	7	4.31±0.26 ^{ab}	4.58±0.10 ^c	0.93
	15	4.37±0.20 ^{abA}	4.91±0.06 ^{bB}	7.06*
	30	4.58±0.25 ^{aA}	5.24±0.09 ^{aB}	6.10*
	60	4.07±0.06 ^{bcA}	5.02±0.12 ^{bB}	51.863***
	90	3.32±0.45 ^{dA}	4.37±0.11 ^{cB}	24.89***
	120	3.07±0.05 ^d	3.05±0.08 ^f	0.04
	150	2.13±0.08 ^{eA}	2.76±0.07 ^{eB}	31.39***
	F	21.89***	106.21***	

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$ ***: $P<0.001$

a,b,c,d,e,f,g: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklıdır

A,B: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklıdır

Tablo 2. Peynir örneklerinin üretim ve olgunlaşma süresince pH değerleri

Üretim Aşaması		<i>L. monocytogenes</i> 1/2b	<i>L. monocytogenes</i> 4b	F
Üretim Aşaması	İnokule süt	6.37±0.13 ^a	6.43±0.10 ^a	0.12
	Pıhtı	6.30±0.14 ^a	6.35±0.09 ^a	0.11
	Teleme	5.79b±0.09 ^b	5.84±0.12 ^b	0.08
Olgunlaşma Periyodu (gün)	1	5.46±0.05 ^c	5.48±0.06 ^c	0.07
	7	5.29±0.07 ^c	5.45±0.06 ^c	3.24
	15	5.27±0.06 ^c	5.34±0.05 ^c	0.76
	30	5.24±0.08 ^c	5.29±0.04 ^c	0.32
	60	5.27±0.07 ^c	5.32±0.04 ^c	0.44
	90	5.29±0.06 ^c	5.32±0.04 ^c	0.16
	120	5.33±0.06 ^c	5.38±0.03 ^c	0.48
	150	5.40±0.07 ^c	5.46±0.05 ^c	0.45
	F	24.32***	36.11***	

***: $P<0.001$

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklıdır

OTLU PEYNİRLERDE ENTEROTOKSİJENİK *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARI VE ENTEROTOKSİN VARLIĞI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA*

Yakup Can SANCAK Mustafa ALIŞARLI Levent AKKAYA

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Van

Özet: Bu çalışmada, Van otlı peynirlerinde enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* suşlarının varlığı ve peynirde enterotoksinin olup olmadığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla, toplam 50 adet otlı peynir örneği kimyasal, mikrobiyolojik ve serolojik olarak analiz edilmiştir. Örneklerde pH ve a_w değeri ile tuz miktarları sırasıyla ortalama 4.445, 0.903 ve %6.211 olarak belirlenirken, toplam aerob canlı, enterobakteri, laktobasillus, maya/küf ve mikrokok/stafilokok sayıları sırasıyla ortalama 6.767, 3.523, 6.844, 5.783 ve 4.927 log/g seviyesinde saptanmıştır. *S. aureus*, örneklerin sadece 7 (%14)'ünde belirlenmiş olup 8.4×10^1 ile 5.2×10^4 kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. İzole edilen 7 (%14) *S. aureus* suşundan 3 (%42.8)'ünün enterotoksin C oluşturduğu belirlenmiştir. Hiçbir örnekte toksin bulunamamıştır. Sonuç olarak, incelenen otlı peynir örneklerinde enterotoksin tespit edilmemiş olmakla birlikte, örneklerin %14'ünde *S. aureus* bulunması ve bunların %42.8'inin enterotoksijenik olması, bu peynirlerin gıda zehirlenmesi açısından potansiyel bir risk oluşturabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Otlı peynir, *Staphylococcus aureus*, enterotoksin

A Study on the Presence of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Strains and Enterotoxin in Herby-Cheeses

Abstract: In this study, the presence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains and enterotoxin in Van Herby-Cheese was investigated. For this purpose, 50 cheese samples were analyzed chemically, microbiologically and serologically. The pH and a_w values and salt levels were 4.445, 0.903 and 6.211%, respectively. The total aerobic organisms, enterobacteria, lactobacillus, yeast/mould and micrococcus/staphylococcus number were 6.767, 3.523, 6.844, 5.783, 4.927 log/g, respectively. The presence of *S. aureus* was found only in

* Bu çalışma TÜBİTAK (Ankara) tarafından desteklenmiştir (VHAG-1497)

7 (14%) samples and their levels were between 8.4×10^1 and 5.2×10^4 cfu/g. Of the isolated 7 (14%) *S. aureus* strains 3 (42.8%) were determined as enterotoxin type C. Enterotoxin was found in no samples. As a result, enterotoxin was not found in any Herby-Cheese samples. *S. aureus* was found in 14% of the samples. 42.8% of them were enterotoxigenic and this indicates that the examined cheese could create serious health problem.

Key words: Herby-Cheese, *Staphylococcus aureus*, enterotoxin

Giriş

Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde özellikle Van, Siirt ve Diyarbakır illerinde üretilen otlu peynir, yöre insanı tarafından sevilerek ve çok tüketilen bir süt ürünüdür. Otlu peynirin üretimi geleneksel olarak çiğ süttten ve ilkel usullerle yapılmakta (Kurt ve Akyüz, 1984; Akyüz ve Coşkun, 1996), bu da gıda zehirlenmelerinde rol oynayan bir çok patojenin bu üründe bulunma olasılığını artırmaktadır. Peynirlerde sıklıkla izole edilen patojenlerden olan ve insanlarda besin zehirlenmelerinin önemli bir kısmını oluşturan enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* peynirlerde rahatlıkla gelişebilmektedir (Abbar ve Mohammed, 1986). Ubiquiter (her yerde bulunma) özelliğe sahip bir mikroorganizma olan *S. aureus*'un gıdalara bulaşması genel olarak insanlar, hayvanlar ve ekipmanlar vasıtasıyla olmaktadır (Alişarlı ve ark., 2000). *S. aureus*'un farklı suşları insanların el, burun ve boğaz bölgelerinde bulunabilmekte (Untermann, 1972; Gilmour ve Harvey, 1990), süt ve ürünlerine de bu yollardan bulaşabilmektedir (Beckers ve ark., 1980; Gilmour ve Harvey, 1990). Özellikle mastitisli hayvanlardan sağılan sütler enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının önemli bir kaynağını oluşturmaktadır (Müller, 1993; Gilmour ve Harvey, 1990). Yapılan araştırmalarda, gıda intoksikasyon olaylarında süt ve süt ürünlerinin önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (Todd, 1989; Alterkuse ve ark., 1998). Bunlar içinde peynir, *S. aureus* zehirlenmelerine en çok sebep olan bir süt ürünüdür (Raymond ve Josephin, 1988; Bone ve ark., 1989). Yapılan araştırmalarda, *S. aureus* ve toksinleri çeşitli peynirlerde tespit edilmiştir (Todd ve ark., 1981; Brodsky, 1984). Van'da, otlu peynirlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yapılan çalışmalarda, bir çok mikroorganizmanın ve besin zehirlenmeleri arasında önemli bir yeri olan stafilokokların varlığı tespit edilmiştir (Sancak, 1990; Sancak ve ark., 1996).

Bu çalışmanın amacı; Van ve yöresinde yaygın olarak tüketilen otlu peynirlerde, enterotoksijenik *S. aureus* suşları ve enterotoksinin olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada; Van'da tüketime sunulan otlu peynirlerden aseptik şartlarda 200'er g alınan toplam 50 adet örnek soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek aynı gün analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler kapsamında toplam aerob canlı, laktobasillus, enterobakteri ve maya/küf sayıları dökme plak tekniği ile belirlenirken, mikrokok/stafilokokların sayısı yayma metodu ile tespit edilmiştir (Baumgart, 1993; Pichhardt, 1993).

Örneklerin alınışı ve dilüsyonların hazırlanması: Mikrobiyolojik yönden analizi yapılacak her bir örnek steril stomacher torbalarında 10'ar g tartılarak üzerine 90'ar ml steril peptonlu fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl+%0.1 pepton) ilave edilip stomacherde 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Bu şekilde 1:10 sulandırılması sağlanan örneğin homojenizatından 10^{-7} 'e kadar desimal dilüsyonları hazırlanmıştır.

Bakteri sayısının değerlendirilmesi: Plate Count Agar (30°C, 48-72 saat, Aerob)'da üreyen kolonilerin tamamı toplam aerob canlı olarak değerlendirilmiştir. Violet Red Bile Glucose Agar (30°C, 48-72 saat, Aerob)'da 1-2 mm çapında, kırmızı ve etrafında halka şeklinde hale oluşturarak üreyen ve oksidaz testi negatif sonuç veren tüm koloniler enterobakteri olarak sayılmıştır. M17 Agar (35°C, 48saat, Aerob)'da üreyen, en az 1 mm büyüklüğünde ve katalaz testi pozitif sonuç veren koloniler laktobasillus olarak değerlendirilmiştir. Potato Dextrose Agar (25°C, 5-7 gün, Aerob)'da üreyen tüm koloniler maya/küf olarak sayılmıştır. Baird Parker Agar (37°C, 48 saat, Aerob)'da üreyen 1-3 mm çapında parlak, siyah (tellurit reaksiyonu) etrafı halesiz koloniler ile etrafı bir hale ile çevrili koloniler (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) mikrokok/stafilokok olarak sayılmıştır. Bu kolonilerden *S. aureus*'un identifikasyonu için 5 tipik ve/veya atipik koloni seçilerek Staphytest Plus testi uygulanmıştır.

Enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının ve peynirlerde enterotoksin belirlenmesi: Enterotoksin oluşturan *S. aureus*'ların belirlenmesi ve peynirlerde enterotoksin tayininde Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti kullanılmıştır (Rose ve ark., 1989).

Fiziko-kimyasal analizler: Örneklerin pH değerleri pH-metre ile belirlenirken, su aktivitesi (a_w) değerlerinin tespitinde Rödel ve ark.

(1971) tarafından geliştirilen A_w -Wert-Messer cihazı kullanılmıştır. Peynir örneklerinde tuz miktarı ve olgunlaşma değerinin belirlenmesi Kurt ve ark. (1993)'nın önerdiği şekilde yapılmıştır.

Bulgular

İncelenen otlu peynir örneklerinin kimyasal analiz sonuçları Tablo 1'de, mikrobiyolojik analiz sonuçları ise Tablo 2'de sunulmuştur.

S. aureus, örneklerin sadece 7 (%14)'sinde ve 8.4×10^1 - 5.2×10^4 kob/g arasında tespit edilmiştir. Otlu peynir örneklerinin tamamında *S. aureus* sayısı <2 log/g ile 4.71 log/g arasında ve ortalama 0.505 log/g olarak saptanmıştır (Tablo 2). İzole edilen 7 (%14) *S. aureus* suşundan 3 (%42.8)'ünün enterotoksin C sentezlediği tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada, otlu peynir örneklerinde enterotoksin varlığı incelenmiş ve örneklerin hiçbirinde enterotoksin tespit edilememiştir.

Tablo 1: Otlu Peynirlerin Kimyasal Analiz Bulguları

İncelenen Parametre	n	x	Sx	Minimum	Maximum
pH	50	4.445	0.054	4.336	4.554
a_w	50	0.903	0.004	0.896	0.911
Tuz (%)	50	6.211	0.225	5.760	6.663

Tablo 2: Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (log/g)

Mikroorganizma	n	x	Sx	Minimum	Maximum
Toplam aerob canlı	50	6.767	0.153	6.460	7.074
Enterobakteri	50	3.523	0.339	2.844	4.204
Laktobasillus	50	6.844	0.177	6.490	7.200
Maya/Küf	50	5.783	0.120	5.541	6.025
Mikrokok/Stafilokok	50	4.927	0.209	4.507	5.348
<i>S. aureus</i>	50	0.505	0.186	< 2	4.710

Sonuç

Bu çalışmada, 50 adet otlu peynir örneğinde, enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının varlığı ve peynirlerde enterotoksin olup olmadığı araştırıldı. Gıdalarda *S. aureus*'un gelişmesi ve toksin oluşturması bir

çok faktöre bağlıdır. Bunlar; pH, tuz miktarı, a_w değeri, rekabetçi mikroflora ve gıda maddesinin kimyasal içeriğidir (Sancak, 1990; Alisharlı, 1997; Alisharlı ve ark., 2000). Bununla birlikte gıdada bulunan rekabetçi floranın engelleyici veya destekleyici etkisinin de bulunduğu bildirilmiştir (Tatini, 1973; Alisharlı, 1997).

Peynir sahip olduğu pH, tuz, a_w ve besin içeriği yönünden *S. aureus*'un gelişimi için uygun bir ortamdır. Tatini (1973), *S. aureus*'un geliştiği pH değerinin minimum 4.0 ve optimum 6.0-7.0 olduğunu bildirmiştir. Suşlar arasında farklılıklar olmasına rağmen genellikle pH 5.0 ve altında enterotoksinlerin çok az oluştuğu veya oluşmadığı bildirilmiştir (Troller, 1976). İncelenen otlu peynir örneklerindeki pH değerleri belirtilen minimum pH değerinden yüksek olup 4.336-4.554 arasında bulunmuştur. *S. aureus*'un gelişmesi için minimum a_w değeri 0.83 (Tatini, 1973) ve 0.86 (Scott, 1953) olarak bildirilirken, Notermans ve ark. (1984) toksin oluşumu için *S. aureus*'un gelişiminden daha yüksek su aktivitesine ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir. Toksin oluşturan suşlar arasında da su aktivitesi ihtiyaçları yönünden farklılıklar vardır. Notermans ve Heuvelman (1983) yüksek stafilokok sayısına rağmen 0.93 su aktivitesinde B ve C tipi enterotoksin tespit edememişlerdir. Lotter ve Leistner (1978) yaptıkları araştırmada enterotoksin A oluşturan suşların, Ewald ve Notermans (1988) ise enterotoksin D oluşturan suşların 0.86 su aktivitesinde toksin oluşturabileceklerini saptamışlardır. İncelenen peynir örneklerindeki su aktivitesi bu sınırlar içerisinde olup 0.896 ile 0.911 arasındadır. Tuz, ortamın a_w değerini düşürerek rekabetçi florayı baskılaması (İbrahim ve ark., 1981) ve ayrıca pH değerini yükseltmesi ile (Bergdoll, 1990) *S. aureus* gelişimini ve enterotoksin oluşturmalarını olumlu etkilemektedir. Tatini (1973), *S. aureus*'un gıdalarda %0-20 arasındaki tuz konsantrasyonlarında gelişebildiğini ve %0-10 arasındaki tuz konsantrasyonlarında ise toksin oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada, peynirlerin ortalama tuz miktarı %6.211 olarak tespit edilmiş olup araştırmacının bildirdiği değerler arasındadır.

Çeşitli peynirler üzerine yapılan çalışmalarda süte katılan starter kültürün ve çiğ sütün doğal mikroflorasının *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Santos Clemente dos ve Genigeorgis, 1981; Bachmann, 1995). Gıdanın içerdiği rekabetçi mikroflora sayısının *S. aureus* sayısından daha düşük olduğu durumlarda enterotoksin sentezi engelenmemektedir (Bergdoll, 1990). Tatini ve ark. (1971), çiğ sütte *S. aureus*'un rekabetçi mikrofloradan etkilendiğini, ısı işlemi görmüş sütlerde ise daha kolay ürediğini ve toksin oluşturabildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *S.*

aureus sadece 7 (%14) örnekte 8.4×10^1 - 5.2×10^4 kob/g arasında tespit edilmiştir (Tablo 2). *S. aureus* tespit edilen peynir örneklerinin oranı, bazı araştırmacıların (Sert ve Özdemir, 1987; Bowen ve Henning, 1994; Şahan ve Var, 1998) bulduğu değerlerden yüksek ve bazılarının (Tekinşen ve Çelik, 1979; Patır ve ark., 1998) saptadığı değerlerden düşüktür. Bu farklılıklar, kullanılan hammaddenin hijyenik kalitesinden, farklı olgunlaştırma şartlarından ve üretimden tüketime sunuluncaya kadar uygulanan hijyenik koşullardan kaynaklanabilir.

Carter ve ark. (1995), izole edilen *S. aureus* suşlarının yaklaşık %50'sinin 1 veya daha fazla tipte enterotoksin oluşturabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen 7 (%14) *S. aureus* suşundan 3 (%42.8)'ünün enterotoksin C sentezlediği tespit edilmiştir. Bu değer bazı araştırmacıların (Hajek, 1978; Abbar ve Mohammed, 1986; Castro ve ark., 1986) bulduğu oranlardan yüksek, Carter ve ark. (1995)'nin bildirdiği değere yakın bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada, otlu peynir örnekleri *S. aureus* enterotoksinlerinin (Enterotoksin A, B, C ve D) varlığı yönünden de incelenmiş ve örneklerin hiçbirinde enterotoksin tespit edilememiştir. Enterotoksin oluşumu için, ortamda bulunan enterotoksijenik *S. aureus*'ların belirli bir sayısal yoğunluğa ulaşması gerekmektedir. Genel olarak enterotoksijenik *S. aureus* sayısı ortamda 10^5 kob/g (Bergdoll, 1991) ve daha fazla düzeyde olursa toksin oluşabileceği bildirilmektedir (Alişarlı, 1997). Bazı araştırmacılar pH'nın *S. aureus*'un gelişimi üzerine inhibe edici etkisi olduğunu (İbrahim ve ark., 1981; Patır, 1987) ve rekabetçi mikrofloranın enterotoksin oluşumunu baskıladığını (Santos Clemente dos ve Genigeorgis, 1981; Bachmann, 1995) bildirmişlerdir. Otlu peynir örneklerinin hiçbirinde enterotoksin saptanamaması; örneklerdeki pH'nın düşük (Tablo 1) ve rekabetçi mikrofloranın dominant (Tablo 2) olmasından kaynaklanabilir. Bu faktörler de, *S. aureus*'un toksin oluşturabilecek düzeye ulaşamamasına ve enterotoksin oluşturma yeteneğini baskılamasına neden olmaktadır.

Sonuç olarak, incelenen otlu peynir örneklerinde enterotoksin tesbit edilmemiş olmakla birlikte, örneklerin %14'ünde *S. aureus* bulunması ve bunların %42.8'inin enterotoksijenik olması, bu peynirlerin gıda zehirlenmesi açısından potansiyel bir risk oluşturabileceğini göstermiştir.

Kaynaklar

- Abbar F.M., Mohammed T. (1986). Identification of some enterotoxigenic strains of staphylococci from locally processed cheese. *Food Microbiol*, 3: 33-36.
- Akyüz N., Coşkun H. (1996). Van otlı peynirlerin üretimi ve peynire katılan otların peynirin çeşitli özellikleri üzerine etkisi. *Her Yönüyle Peynir*, Ed. Demirci M, Hasad Yayıncılık Ltd Şti, İstanbul.
- Alişarlı M. (1997). Vermehrung von *S. aureus* und Enterotoxinbildung in Türkischen Puddingspesien. *Vet. Med. Diss*, Zürich.
- Alişarlı M., Sancak Y.C., Akkaya L., Elibol C. (2000). Bazı sütü gıdalarda *Staphylococcus aureus* izolasyonu, termonükleaz aktivitesi ve enterotoksijenik özelliklerinin araştırılması. *IV. Ulusal Mikrobiyoloji Kongresi*, 18, Ankara.
- Alterkuse S.F., Timbo B.B., Mowbray J.C., Bean N.H., Potter M.E. (1998). Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992. *J Food Protect*, 61(10): 1405-1407.
- Bachmann H.P. (1995). The fate of potentially pathogenic bacteria in swiss hard and semihard cheeses made from raw milk. *J Dairy Sci*, 78: 476-483.
- Baumgart J. (1993). *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr's GmbH & Co, Hamburg.
- Beckers H.J., Coutinho R.A., Jansen J.T., Van Leeuwen W.J. (1980). Staphylococcal food poisoning by consumption of sterilized vanilla custard. *Antonie-van-Leeuwenhoek*, 46: 224-225.
- Bergdoll M.S. (1990) Staphylococcal Food Poisoning. (in) *Foodborne Diseases*. Ed. Cliver OD, Vol 5, 86-106, Academic Press, Wisconsin.
- Bergdoll M.S. (1991). *S. aureus*. *J. Assoc. Anal Chem.*, 74: 706-710.
- Bone F.J., Bogie D., Morgan-Jones S.C. (1989). Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese. *J. Food. Protect.*, 103: 449-458.
- Bowen D.A., Henning D.R. (1994). Coliform bacteria and *Staphylococcus aureus* in retail natural cheeses. *J Food Protect*, 57(3): 253-255.
- Brodsky M.H. (1984). Evaluation of the bacteriological health risk of 60-day aged raw milk cheddar cheese. *J. Food. Protect.*, 47(7): 530-531.
- Carter G.R., Chengappa M.M., Roberts A.W., Claus G.W., Rikihisa Y. (1995). Bacteria, (in) *Essential of Veterinary Microbiology*. Ed. Cann C, Vol 2, 109-241, Williams and Wilkins Co, Baltimore.
- Castro R., Schoebitz R., Montes L., Bergdoll M.S. (1986). Enterotoxigenity of *S. aureus* strains isolated from cheese made from unpasteurized milk. *Lebensm-Wiss U Technol*, 19: 401-402.

- Ewald S., Notermans S.(1988).Effect of a_w and enterotoxin D production of *S. aureus*. *Int J Food Microbiol*, 6: 25-30.
- Gilmour A., Harvey J. (1990).Staphylococci in milk and milk products. *J Appl Bacteriol Symposium Supplement*,147-166.
- Hajek V.(1978).Identification of enterotoxigenic staphylococci from sheep and sheep cheese. *Appl Environ Microbiol*, 35(2): 264-268.
- Ibrahim G.F., Baldock A.K., Radford D.R., Ireland L.B. (1981). Inhibition of *S. aureus* growth and enterotoxin-A production in cheddar cheese produced with variable starter activity. *J Food Protect*, 44(4): 263-267.
- Kurt A., Akyüz N. (1984).Van otlı peynirinin yapılışı ve mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal nitelikleri. *Gıda*, 9(3): 141-146.
- Kurt A., Çakmakçı S., Çağlar A. (1993). *Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi*. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Yay., Erzurum.
- Lotter L.P., Leistner L. (1978).Minimal water activity for enterotoxin A production and growth of *S. aureus*. *Appl Environ Microbiol*, 36: 377-380.
- Müller,C.(1993). Charakterisierung von *S. aureus* aus Mastitsmilchproben der Region Nordostschweiz. *Vet Med Diss*, Zürich.
- Notermans S., Heuvelman C.J. (1983). Combined effect of water activity, pH and sub-optimal temperature on growth and enterotoxin production of *S. aureus*. *J Food Sci*, 48: 1832-1835.
- Notermans S., Tips P., Heuvelman C.J.(1984). Einfluss der milieu-bedingungen auf das wachstum von *S. aureus* und die enterotoxin-bildung. *Fleischwirtsch*, 64: 1490-1496.
- Patır P. Şavak salamura beyaz peynirinin olgunlaşması sırasında enterotoksijenik koagülaz-pozitif *S. aureus*'un yaşam süreleri ile mikrobiyolojik ve kimyasal niteliklerinde meydana gelen değişimler. *Doğa Türk Vet ve Hay Derg*, 11(1): 59-67, (1987).
- Patır B., Arslan A., Güven A. (1998). Şavak salamura beyaz peynirlerinde bazı patojen mikroorganizmaların varlığı üzerine araştırmalar, *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg*, 24(1): 45-54.
- Pichhardt K. (1993).*Lebensmittel-Mikrobiologie*. Springer Verlag, Berlin.
- Raymond G., Josephin J. (1988).Selective enterotoxin production by A *S. aureus* strain implicated in a foodborne outbreak. *J Food Protect*, 51(2): 130-131.
- Rose S., Bankes P., Stringer M. (1989).Detection of staphylococcal enterotoxins in dairy products by the reversed passive latex agglutination (SET-RPLA) kit. *Int J Food Microbiol*, 8: 65-79.

Rödel L.(1971). Ein einfacher a_w -wert-messer für die praxis. *Fleischwirtschaft*, 51: 1800-1802.

Sancak Y.C.(1990).Van ve Yöresinde Olgunlaştırılmış Olarak Tüketime Sunulan Otlı Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Fiziksel Kaliteleri Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, *Doktora Tezi*, Ankara.

Sancak Y.C., Kayaardı S., Sağun E., Ekici K.(1996).Otlı peynirlerin kimyasal kompozisyonu, su aktivitesi (a_w) değeri ve mikroorganizmalar arasındaki ilişki. *Yüzüncü Yıl Üniv. Sağlık Bil. Derg.* 2(1-2): 75-79.

Santos Clemente dos E., Genigeorgis C.(1981).Survival and growth of *S. aureus* in raw commercial manufacturing of Brazilian minas cheese. *J Food Protect*, 44(3): 177-184.

Scott W.J.(1953).Water relations of *S. aureus* at 30°C. *Aust J Biol Sci*, 6: 549-564.

Sert S., Özdemir S. (1987).Erzurum'da kış aylarında tüketime sunulan taze beyaz peynir ve kahvaltılık tereyağları üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.* 1142-1153.

Şahan N., Var I.(1998). Taze Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri ve bazı patojen bakterilerinin aranması, Ed. Demirci M, *Geleneksel Süt Ürünleri*, MPM Yay. No: 621, Mert Matbaacılık, Ankara.

Tatini, S.R, Jezeski J.J, Jr Olson J.C, Casman E.P.(1971). Factors influencing the production of staphylococcal enterotoxin A in milk. *J Dairy Sci*, 54: 312-320.

Tatini, S.R.(1973). Influence of food environments on growth of *S. aureus* and production of various enterotoxins. *J Milk Food Technol*, 36(11): 559-563.

Tekinşen O.C, Çelik C.(1979).Şavak peynirinde staphylococcuslar ve micrococcuslar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 26(3-4): 47-63.

Todd E.C.D., Szabo R., Roborn H., Gleeson T., Park C., Clark D.S. (1981).Variation in counts, enterotoxin levels and tnase in swiss-type cheese contaminated with *S. aureus*. *J Food Protect*, 44(11): 839-848.

Todd E.C.D. (1989).Foodborne disease in Canada-a 10-year summary from 1975-1984. *J Food Protect*, 35(2): 123-132.

Troller J.A.(1976).Staphylococcal growth and enterotoxin production-factors for control. *J Milk Food Technol*, 39(7): 499-503.

Untermann F. (1972). Zum vorkommen von enterotoxinbildenden staphylokokken bei menschen. *Zbl Bakt Hyg I Abt Orig A* 222, 18-26.

VAN VE ÇEVRESİ SÜT VE OTLU PEYNİRLERİNDE *LISTERIA* TÜRLERİNİN VARLIĞI VE YAYGINLIĞI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Emrullah SAĞUN Yakup Can SANCAK Özgür İŞLEYİCİ
Kamil EKİCİ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Van

Özet: Bu araştırmada Van şehir merkezi ve merkeze bağlı çevre köylerden alınan 250 adet çiğ süt ve 254 adet otlı peynir örneğinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır. *Listeria* izolasyonunda Food and Drug Administration (FDA) tarafından önerilen metottan yararlanılmıştır. Çiğ süt örneklerinden 6 adedi (%2.40) *Listeria* yönünden pozitif bulunmuş olup, isolatların 3 adedi (%1.20) *L. monocytogenes*, 1 adedi (%0.40) *L. innocua* ve 1 adedi (%0.40) de *L. welshimeri*'dir. Otlı peynir örneklerinden 13 adedi (%5.11) *Listeria* yönünden pozitif bulunurken izole edilen suşlardan 10 adedi (%3.93) *L. monocytogenes*, 1 adedi (%0.39) *L. ivanovii*, 1 adedi (%0.39) *L. innocua* ve 1 adedi (%0.39) *L. welshimeri*'dir. *L. monocytogenes* olarak tanımlanan 13 isolatın serotip tayini için Difco Bacto O Antiserum Tip 1, Tip 4 ve Tip Poli kullanılmıştır. Yapılan tip tayini sonucu 6 *L. monocytogenes* izolatu Tip1, 2 izolat Tip 4, 3 izolat Tip Poli (Tip 2 veya 3) olarak belirlenirken, 2 izolat da tiplendirilememiştir.

Anahtar kelimeler: *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, çiğ süt, otlı peynir.

The Presence and Prevalence of *Listeria* Species in Milk and Herby Cheese in and Around Van

Abstract: In this study, 250 raw milk and 254 herby cheese samples collected from Van city center and neighboring villages investigated in terms of *Listeria* species. For *Listeria* isolation the method recommended by FDA was used. Of the raw milk samples 6 (2.40%) were found to be positive with regard to *Listeria*; 3 (1.20%) had *L. monocytogenes*, 1 (0.40%) *L. innocua* and 1 (0.40%) *L. welshimeri*. Of the herby cheese samples 13 (5.11%) were found to be positive

with regard to *Listeria*; 10 (3.93%) had *L. monocytogenes*, 1 (0.39%) *L. ivanovii*, 1 (0.39%) *L. innocua* and 1 (0.39%) *L. welshimeri*. For the serotype determination of 13 isolates defined as *L. monocytogenes* Difco Bacto O Antiserum Type 1, Type 4 and Type Poly were used. The results were as follows: 6 isolates Type 1, 2 isolates Type 4, 3 isolates, Type Poly. Two isolates were not typable.

Key words: *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, raw milk, herby cheese.

Giriş

Listeria cinsine bağlı *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri* ve *L. seeligeri* olmak üzere beş tür bulunmakla birlikte bunlardan sadece *L. monocytogenes* patojendir. (Seeliger ve Jones, 1986) Bu yüzden üzerine en çok araştırma yapılan tür *L. monocytogenes* olmuştur. Listeriozis yıllar önce tanımlanmış olmakla birlikte özellikle 1980'li yıllarda bazı ülkelerde ölümle sonuçlanan birçok enfeksiyon vakasının ortaya çıkması (Fleming ve ark, 1985; Mattingly ve ark, 1988; Linnan ve ark, 1988) dikkatlerin tekrar listerialar üzerine çekilmesine sebep olmuştur. Yapılan araştırmalarda insanlarda görülen listeriozis olaylarında süt ve süt ürünlerinin önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (Sana ve ark, 1983; Flemin ve ark, 1985; Rosenow ve Marth, 1987; Linnan ve ark, 1988). Konuyla ilgili yapılan çalışmalar sonucunda *Listeria* türleri çiğ süttten (Lovett ve ark, 1987; Farber ve ark, 1988; El Marrakchi ve ark, 1993; Rodriguez ve ark, 1994) ve çeşitli tipteki peynirlerden (Pini ve Gilbert, 1988; Gohil ve ark, 1995; Steinhäuserova ve Smola, 1996) değişik oranlarda izole edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da gerek çiğ sütlerde (Sharif ve Tunail, 1991; Eskizmirli, 1996) ve gerekse peynirlerde (Tümbay ve ark, 1988; Çiftçiöğlü ve Uğur, 1991). *Listeria* türleri tespit edilmiştir.

Bu çalışma Van ve çevre köylerinde üretilen sütlerin ve otlı peynirlerin *Listeria* türleri ile kontaminasyon düzeylerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada Van il merkezi ve merkeze bağlı Kasımoğlu, Atmaca, Otluca, Alaköy, Bardakçı, Dibekdüzü, Beyüzümü ve Yumrutepe köylerinden alınan 250 adet çiğ süt ve 254 adet de otlı peynir örneği materyal olarak kullanılmıştır.

Metot

Örneklerin zenginleştirilmesinde ve *Listeria* türlerinin izolasyonunda Food and Drug Administration (FDA) tarafından önerilen metot kullanılmıştır.

Zenginleştirme Aşaması: Örnekler aseptik şartlarda iyice karıştırıldıktan sonra her bir süt örneğinden 25 ml ve otlu peynir örneklerinden de 25'er g alınarak 225 ml *Listeria* Selective Enrichment Broth'a (Oxoid CM 862) ilave edilmiş ve blender ile homojenize edildikten sonra 30°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Lovett ve ark., 1987; Anonymus, 1995).

İzolasyon ve İdentifikasyon Aşaması: Zenginleştirme işlemine tabi tutulan homojenizattan *Listeria* Selective Agar'a (Oxoid CM 856) çizme yöntemiyle ekim yapılmış ve 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda 1-3 mm çapında ve etrafı siyah haleli olan tipik koloniler şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir (Curtis ve ark., 1989). Her petriden tipik 5 koloni saflaştırma ve identifikasyon işlemleri için, 50.6 Yeast Extract (YE) (Oxoid L 21) Tryptone Soya Agar'a (TSA) (Oxoid CM 131) koloniler tek düşecek şekilde çizilmiş ve 30°C'de 24 saat inkübasyon sonucunda oluşan koloniler morfolojik olarak ve Gram boyama yapılarak saflıkları kontrol edilmiştir. Saf olmayan petrilerdeki farklı olan her koloniden birer adedi aynı besi yerine ekilmiş ve bu işlem kolonilerin saflığından emin olununcaya kadar tekrarlanmıştır (Lovett ve ark., 1987; Lovett, 1988).

TSA'da üreyen kolonilerin önce Henry'nin oblik aydınlatmasında mavi gri renk verip vermedikleri incelenmiş (Henry, 1933; Seeliger ve Jones, 1986) daha sonra aynı kolonilere gram boyama, katalaz, oksidaz, nitrat, üre, SIM'de üreme, Metil red/Voges-Proskauer (MR/VP) testi ile karbonhidrat (dekstroz, maltoz ve eskulin) fermentasyon testleri uygulanarak bu kolonilerin *Listeria* cinsine ait olup olmadıkları belirlenmiştir (Temiz, 1994; Anonymus, 1995). *Listeria* olarak identifiye edilen kolonilere yukarıdaki testlere ilaveten β -hemoliz, CAMP testi ve karbonhidrat (mannitol, ramnoz, ksiloz ve sorbitol) fermentasyon testleri uygulanarak tür tespiti yapılmıştır (Seeliger ve Jones, 1986; Lovett ve ark., 1987; Temiz, 1994).

Serolojik Testler: İdentifiye edilen *L. monocytogenes* suşlarının serotiplerini belirlemek amacıyla ticari O-antiseralar (Difco)'dan Tip 1, Tip 4 ve Tip Poli kullanılarak lam aglutinasyon testleri yapılmıştır (Anonymus, 1984).

Bulgular

İncelen çığ süt ve otlı peynir örneklerindeki *Listeria* izolasyonu Tablo 1'de sunulmuştur. Sütlerden izole edilen ve *L. monocytogenes* olarak tanımlanan 3 izolatın 1 adedi Tip 1 ,2 adedi Tip Poli (Tip 2 veya Tip 3)olarak belirlenmiştir. Otlı peynirlerden izole edilen ve *L. monocytogenes* olarak tanımlanan 10 izolatın 8 adedi O Antiserum Tip Poli ile bunlardan 5 adedi O Antiserum Tip 1, 2 adedi O Antiserum Tip 4, 1 adedi sadece O Antiserum Tip Poli ile reaksiyon vermiştir. *L. monocytogenes* olarak tanımlana 2 izolat ise hem O Antiserum Tip Poli hem de O Antiserum Tip 1 ve 4 ile reaksiyon vermemiştir. Buna göre 5 izolat Tip 1 , 2 izolat Tip 4 ve 1 izolat Tip Poli (Tip 2 veya 3) olarak belirlenmiş, 2 izolat ise tiplendirilememiştir.

Tablo 1: İncelenen çığ süt ve otlı peynir örneklerindeki *Listeria* izolasyonu

Örnek Çeşidi	Örnek Sayısı	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. welshimeri</i>
Çığ süt	250	6(%2.40)	3(%1.20)	1(%0.40)	1(%0.40)	1(%0.40)
Otlı peynir	254	13(%5.11)	10(53.93)	1(%0.39)	1(%0.39)	1(%0.39)

Sonuç

Bu çalışmada çığ süt örneklerinde belirlenen değerler bazı araştırmacıların (Soncini ve Piantoni, 1993, Eskiizmirli, 1996) saptadığı değerlerden yüksek ve bazı araştırmacıları (Hayes ve ark, 1986; Lovett ve ark, 1987; Farber ve ark, 1988; Sharif ve Tunail, 1991) saptadığı değerlerden düşük çıkmıştır. Çığ sütlerde belirlenen *L. monocytogenes* oranları birçok araştırmacının (Lovett ve ark, 1987; Farber ve ark, 1988; Rodriguez ve ark, 1994) bildirdiği değerlerle benzerlik göstermektedir.

Çığ sütlerde yapılan çalışmalarda *Listeria* türlerinin farklı oranlarda izole edildiği görülmektedir. Bu farklılıklar çalışmalarda kullanılan metod farklılıkları, coğrafik (çevresel) farklılıklar, mevsim, ahırların ve hayvan popülasyonunun büyüklüğü, süt hayvanlarının bakımı ve sağım hijyenindeki kalite farklılıkları gibi faktörlerden kaynaklanabilir (Sana ve ark., 1983; Farber ve ark, 1988).

Listeria türleri çevrede, toprak, dışkı, kanalizasyon, su, bitkiler, hayvanlar, hayvan yemleri (özellikle silaj) ve besin maddeleri gibi hemen her ortamda bulunurlar. Sütlerle de bu kaynaklardan bulaşır. (Fenlon, 1985; Barza, 1985; Brackett, 1988). Çiğ sütlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyonunda meme enfeksiyonunun da önemi vardır (Eskiizmirliler, 1996). Sütün en fazla kontaminasyonu, hijyenik olmayan sağıım esnasında çevreden (toz, feçes, altlıklar, sağııcılar, sağıım yapılan kaplar vb.) olmaktadır (Sana ve ark., 1983; Barza, 1985). *Listeria* türlerinin çiğ sütlerle bulaşmasında silaj yemlerinin özel bir önemi vardır (Sana ve ark., 1983; Fenlon, 1985). Bu çalışmada, çiğ sütlerdeki *Listeria* kontaminasyonunun daha düşük olması Avrupa ülkeleri ve ABD’de süt hayvanlarının beslenmesinde bol miktarda kullanılan silajın bölgemizde hemen hemen hiç olmamamsından kaynaklanabilir.

Bu araştırmada, otlı peynirlerde tespit edilen değerler bazı araştırmacıların (El Marrachi ve ark., 1993; Gohil ve ark., 1995) bildirdiği değerlerden yüksek; bazı araştırmacıların (Pini ve Gilbert., 1988; Steinhauserova ve Smola., 1996) bildirdiği değerlerden de düşük çıkmıştır. *L. monocytogenes* izole edilen örnek oranları birçok araştırmacının (Tümbayve ark, 1988; Çiftçiöğlü ve Uğur, 1991; Gohil ve ark., 1995; Steinhauserova ve Smola, 1996) bildirdiği değerlerden daha yüksek çıkmıştır.

Bu çalışmada otlı peynir örneklerinde *Listeria* saptanan örnek sayıları, mevsimsel farklılıkları ortaya koyacak miktarda değildir. Ancak, en çok izolasyon yaz ve ikinci olarak da sonbaharda olurken ilkbahar ve kış aylarında hiç izolasyon olmamıştır. Bu durum, izolasyonun daha çok olduğu yaz ve sonbahar dönemlerinde piyasadaki peynirlerin henüz olgunlaşmamış peynirler olmasına bağlanabilir. Yeterince olgunlaşmamış ve olgunlaşmasını tamamlamış peynirlerden de bu bakterilerin izole edilmesi *Listeria*’ların otlı peynirlerde olgunlaşma süresince inaktif olmadıklarını düşündürmektedir. Yapılan bir araştırmada, *L. monocytogenes*’in Feta peynirinde 90 günden fazla bir süre canlı kaldığı bildirilmiştir (Papageorgiou, 1989). Sarımeahmetoğlu (1992), salamura beyaz peynirlerden olgunlaşmanın 90. gününde bile *L. monocytogenes* izole ettiğini bildirmiştir.

Peynirlerdeki kontaminasyon kaynaklarından birincisi kullanılan çiğ süt olduğu gibi, üretim aşamasında diğer kaynaklardan da (toprak, feçes, su, hayvan yemleri, işçiler, alet, malzeme vs.) kontaminasyon olabilmektedir (Linnan ve ark, 1988; El Marrakchi ve ark, 1993). Bu çalışmada otlı peynirlerden izole edilen *Listeria* oranının (%5,11), çiğ sütlerden izole edilen (%2,4)’den fazla olması, *Listeria*’ların

peynirlere çiğ sütlerle birlikte, üretim esnasında diğer kaynaklardan bulaşmış olabileceğini veya kros kontaminasyonlardan ileri gelebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile Van ve çevresindeki süt ve otlı peynirlerin düşük düzeylerde de olsa *Listeria* türleri ile kontamine olduğu ilk defa ortaya konulmuştur. Özellikle taze olarak tüketilen otlı peynirlerde *L. monocytogenes*'in izole edilmesi halk sağlığı açısından risk oluşturabilir. Nitekim hassas kişilerde çok az sayıdaki (100-1000) mikroorganizmanın bile enfeksiyon oluşturabileceği bildirilmiştir (Rosenow ve Marth, 1987; Pinner ve ark, 1992). Bu durum *L. monocytogenes*'in halk sağlığı açısından tehlike oluşturma ihtimalinin her zaman var olduğunu göstermektedir. Şimdiye kadar ülkemizde ciddi boyutlarda listeriosis olaylarının ortaya çıkmamış olması bundan sonra da çıkmayacağı anlamına gelmemelidir. Bu yüzden, diğer gıda maddelerinde de *Listeria* kontaminasyon düzeyleri araştırılmalı ve bu potansiyel tehlikeyi en aza indirmek için gıda endüstrisinde ve üretim yerlerinde azami hijyenik tedbirler alınarak rutin kontroller yapılmalıdır.

Kaynaklar

- Anonymous. Difco Manual. Tenth Edition. Detroit Michigan USA 1984
- Anonymous. The Oxoid Manual. 7th ed., Unipath Ltd. Hampshire, England. 1995
- Barza, M.D. Listeriosis and Milk. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312(7): 438-440
- Brckett, R.E. Presence and Persistence of *Listeria monocytogenes* in Food and Water. *Food Technol.* 1988; 42: 162-164
- Curtis, G.D.W., Mitchell, R.G., King, A.F., Emma, J. A Selective Differential Medium for the Isolation of *L. monocytogenes*. *Let. Appl. Micr.* 1989; 8: 95-98
- Çiftçioglu, G., Uğur, M. Ülkemizde Tüketilen Beyaz Peynirlerde *Listeria*'ların Varlığı Üzerine Bir Araştırma. II. Uluslar arası Gıda Sempozyumu, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Bursa. 1991; 179-190
- El Marrakchi, A., Hamama, A., El Othmani, F. Occurence of *L. monocytogenes* in Milk and Dairy Products Produced or Imported into Morocco. *J. Food Protect.* 1993; 56(3): 256-259
- Eskiizmirliler, S.N. İzmir Bölgesi Mastitisli İnek Sütlerinde *Listeria* spp. İzolasyonu. *Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Md. Deg.* 1996; 21(35): 43-53
- Farber, J.M., Sanders, G.W., Malcolm, J.A. The Presence of *Listeria* spp. in Raw Milk in Ontario. *Can. J. Microbiol.* 1988; 34: 95-100

Fenlon, D.R. Wild Birds and Silage as Reservoirs of *Listeria* in the Agricultural Environment. *J. Appl. Bacteriol.* 1985; 59: 537-543

Fleming, D.W., Cochi, S.L., McDonald, K.L., Brandum, J., Hayes P.S. Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *N.Engl.J. Med.* 1985; 312: 404-407.

Gohil, V.S., Ahmed, M.A., Davies, R., Robinson, R.K. Incidence of *Listeria* spp. in Retail Foods in the United Arab Emirates. *J. Food Protect.* 1995; 58(1): 102-104

Hayes, P.S., Feely, J.C., Graves, L.M., Ajello, G.W., Fleming, D.W. Isolation of *Listeria monocytogenes* from Raw Milk. *Appl. Environ. Micro.* 1986; 51(2): 438-440

Henry, B.S. Dissociation in the Genus *Brucella*. *J. Infect. Dis.* 1933; 52: 374-402. In: Farber, J.M., Sanders, G.W., Malcolm, J.A. The Presence of *Listeria* spp. in Raw Milk in Ontario. *Can. J. Microbiol.* 1988; 34: 95-100

Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W. Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-Style Cheese. *N.Engl. J. Med.* 1988; 319: 823-828

Lovett, J., Francis, D.W., Hunt, J.M. *Listeria monocytogenes* in Raw Milk: Detection, incidence and Pathogenicity. *J. Food Protect.* 1987; 50(3): 188-192

Lovett, J. *Listeria* Isolation, Bacteriological Analytical Manual, FDA: Supplement 9/87, 1988

Mattingly, J.A., Butman, T.B., Plank, M.C., Durham, R.J. Rapid Monoclonal Antibody-Based Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Listeria* in Food Products. *J. Assoc. Anal. Chem.* 1988; 71(3): 679-681

Papageorgiou, D.K., Marth, E.H. Fate of *Listeria monocytogenes* During the Manufacture, Ripening and Storage of Feta Cheese. *J. Food Protect.* 1989; 52(2): 82-87

Pini, P.N., Gilbert, R.J. The Occurrence in the U.K. of *Listeria* spp. in Raw Chickens and Soft Cheeses. *Int. J. Food Microbiol.* 1988; 6: 317-326

Pinner, R., Schuchat, A., Deaver, K. Role of Foods in Sporadic Listeriosis. II. Microbiological and Epidemic Investigation. *JAMA.* 1992, 267: 2046-2050

Rodriguez, J.L., Gaya, P., Medina, M. Incidence of *L. monocytogenes* and Other *Listeria* spp. in Ewes Raw Milk. *J. Food Protect.* 1994; 57(7): 571-575

Rosenow, E.M., Marth, E.H. Growth of *L. monocytogenes* in Skim, Whole and Chocolate Milk and in Whipping Cream During Incubation at 4, 8, 13, 21 and 35°C. *J. Food Protect.* 1987; 50(6): 452-459

Saana, M., Poutrel, M., Menard, J.L., Serieys, F. Risk Factors Associated with Contamination of Raw Milk by *L. monocytogenes* in Dairy Farms. *J. Dairy Sci.* 1983; 76: 2891-2898

Sarımeçmetoğlu, B. Türk Salamura Beyaz Peynirinde Yapım ve Olgunlaşman Aşamalarının *L. monocytogenes* Üzerine Etkisi. Doktora Tezi A. Ü. Sağlık Bil. Enst. Ankara. 1992

Seeliger, H.P.R., Jones, D. Genus *Listeria* in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ed: Sneath P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. Vol: 2 Williams and Wilkins, Baltimore. p: 1235-1245, 1986

Şarıf, A., Tunail, N. Çeşitli Yörelere Ait Çiğ Sütler ile Ankara Piyasasında Satılan Pastörize Sütlerde *L. monocytogenes* Kontaminasyonunun Araştırılması. *Microbiol. Bült.* 1991; 25: 15-20

Soncini, G., Piantoni, Incidence of *L. monocytogenes* in Raw Milk. Abstract 1993

Steinhauseroval, I., Smola, J. The Occurrence of *Listeria* spp. in Meat Products in Czech Republic, Meat for the Consumer. Ed. Hildrum, K.I. 42nd. ICoMST, Lillehammer-Norway. p: 6-7, 1996

Temiz, A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Şafak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 1994

Tümbay, E., Seeliger, H.P.R., İnci, R., Coşar, G., Langer, B. Isolation of *Listeria* from Cheese in Turkey. *İnfek. Derg.* 1988; 2(4): 593-595

BEYAZ PEYNİR YAPIMINDA BAZI PROBİYOTİK BAKTERİLERİN KULLANILMASININ *LISTERIA* *MONOCYTOGENES* ÜZERİNE ETKİSİ

Yeliz YILDIRIM

Belgin SARİMEHMETOĞLU

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Ankara

Özet: Bu çalışmada *L. plantarum* ve *L. acidophilus*'un beyaz peynirde *L.monocytogenes* üzerine etkileri araştırılmıştır. Probiyotik ve starterle birlikte ve yalnızca yaklaşık 10^3 ve 10^5 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilmiş pastörize sütlerden 7 farklı grup halinde beyaz peynir yapılmıştır. Peynir yapımı esnasında ve olgunlaşma sürecinde alınan örnekler mikrobiyel popülasyon ve pH analizi yönünden incelenmiştir. Olgunlaşmanın 0., 1., 3., 7., 10., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde *L. monocytogenes*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve mezofilik starter kültür (*Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*) sayımları yapılmıştır. Starter veya probiyotik kullanılmadan üretilen peynir örneklerinde *L. monocytogenes* sayısı ilk 24 saat içinde 2 log artış göstererek olgunlaşmanın takip eden 90 günü boyunca sabit kalmıştır. Starter kültür kullanılarak üretilen peynir gruplarından başlangıçta 10^3 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilen gruplarda 60-90. günlerde tam inhibisyon gözlenirken, 10^5 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilen gruplarda inhibisyon 90. günde gözlemlenmiştir. Starter ve probiyotik ilave edilerek üretilen peynirlerden başlangıç *L. monocytogenes* inokulasyonu 10^3 ve 10^5 kob/ml olan peynirlerde inhibisyon olgunlaşmanın sırasıyla 30 ve 60. günlerinde şekillenmiştir.

Buna göre starter kültür kullanılarak üretilen peynirlerde *L. monocytogenes*'in olgunlaşmanın son aşamalarında inhibe olduğu, starter kültüre ilaveten *L. plantarum* ve *L. acidophilus* katılarak üretilen peynirlerde etkenin daha erken dönemlerde inhibe olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar starter kültüre ek olarak katılan probiyotik kültürlerin *L. monocytogenes*'in kontrolü için ekstra bir güvenlik sağlayabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca probiyotik kültürlerin olgunlaşma periyodu sonunda probiyotik etkilerin gözlenebilmesi için kabul edilen değerlerde (10^6 kob/ml) canlılıklarını sürdürdükleri saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, probiyotik, *Listeria monocytogenes*.

The Effects of Probiotic Use Against *Listeria monocytogenes* during Manufacture of Turkish White Cheese

Abstract: In the present work *L. plantarum* and *L. acidophilus* were tested for their influence on the development of *L. monocytogenes* on Turkish white cheese. 7 different groups of white cheese was made from pasteurized milk inoculated with approximately 10^3 and 10^5 cfu/ml of *L. monocytogenes* with or without the probiotics and starter cultures. Samples of cheeses were taken during manufacturing and ripening and analysed for pH and microbial populations. *L. monocytogenes*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* and mesophilic starter cultures (*Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*) were counted on 0, 1, 3, 7, 10, 15, 30, 60 and 90 days of ripening period. *L. monocytogenes* counts in samples without added starter and probiotic cultures showed approximately 2 log increase in the first 24 h and remained constant during the following 90 days. In samples with added starter culture, complete inhibition occurred on days 60-90 for 10^3 cfu/g of *L. monocytogenes* inoculated groups while for 10^5 cfu/g of *L. monocytogenes* inoculated groups, inhibition observed on day 90 of ripening. Complete inhibition of *L. monocytogenes* in samples with added starter and probiotic cultures occurred on days 30 and 60 of ripening period for 10^3 and 10^5 cfu/g *L. monocytogenes* inoculated groups respectively.

It can be concluded that while the cheese fermented by starter culture was *L. monocytogenes* negative at late stage of ripening process, *L. plantarum* as well as *L. acidophilus* expressed additional antilisterial activity resulting listeria-negative Turkish white cheese at earlier stage of the ripening process. Results indicate that the addition of probiotic cultures as an adjunct to starter cultures may be an additional safeguard in control of *L. monocytogenes*. In addition viability of probiotic strains during ripening was sufficient to yield numbers that were at the accepted threshold (10^6 cfu/g) for probiotic effect.

Key words: White cheese, probiotics, *Listeria monocytogenes*.

Giriş

L. monocytogenes gıda kaynaklı patojenler içerisinde buzdolabı sıcaklığında üreyebilmesi ile öne çıkan önemli bir mikroorganizmadır. Bu yönü ile gıda endüstrisinde ciddi endişelere neden olan *L. monocytogenes* hamile kadınlarda düşüklere ve bağışıklık sistemi

baskılanmış yetişkin kadın ve erkeklerde meningitise neden olmaktadır (Ryser ve Marth, 1987, Bersot ve ark 2000).

L. monocytogenes'in neden olduğu ciddi sporadik enfeksiyonların bazılarında süt ürünleri sorumlu tutulmaktadır. İngiltere'de pastörize süt tüketimine bağlı ortaya çıkan (Fleming ve ark. 1985) ve ardından Meksika tipi yumuşak peynir tüketimine bağlı gelişen (Linnan ve ark 1988) listeriozis olguları bilim ve tıp çevrelerinin süt ürünlerinin güvenliği konusuna yönelmelerine neden olmuştur.

Laktik asit bakterilerinin çeşitli gram negatif ve gram pozitif bakterileri inhibe edebilme yetenekleri bilinmektedir. Bu inhibisyon potansiyelinin, *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'u da içeren farklı Laktobasil türleri tarafından üretilen organik asit, hidrojen peroksit ve bazı patojenlere karşı etkili olan bakteriyosin benzeri maddelerle ilişkili olabileceği veya bağırsak ortamında epitele patojenlerle yarışmalı olarak bağlanma yoluyla meydana geldiği bildirilmektedir (Chateau ve ark,1993, Jacobsen ve ark, 1999). Peynir işletmelerinde önemli bir problem oluşturan *L. monocytogenes*'in eliminasyonu için bakteriosin üreten probiyotik kültürlerin üretim aşamasında ürüne katılarak peynirlerin birçok çeşidinde istenilen kalite ve mikrobiyel güvenliğin sağlanabileceği bildirilmektedir (Buyong ve ark, 1998; Spelhaug ve Harlander, 1989).

Bu çalışmanın amacı peynir yapımında kullanılan peynir starter kültürlerine ilave olarak kullanılabilecek bazı probiyotik kültürlerin antilisterial özelliklerinin değerlendirilmesidir. Bu amaçla geleneksel yöntemle üretilen beyaz peynirlerde, *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'un *L. monocytogenes* üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Her deneysel üretim için 210 litre çiğ inek sütünden geleneksel yöntem (Anon 1983) uygulanmak suretiyle beyaz peynir yapılmıştır. Peynir yapımı sırasında 30'ar litrelik süttten 7 grup oluşturulmuştur.

- 1.Grup: (kontrol grubu) yalnız starter kültür
- 2.Grup: yalnız 10^3 kob/ml *L. monocytogenes*
- 3.Grup: 10^3 kob/ml *L. monocytogenes* + starter kültür
- 4.Grup: (kontrol grubu) 10^6 kob/ml *L. plantarum* + starter kültür
- 5.Grup: (kontrol grubu) 10^6 kob/ml *L. acidophilus* + starter kültür
- 6.Grup: 10^3 kob/ml *L. monocytogenes* + 10^6 kob/ml *L. plantarum* + starter

7.Grup: 10^3 kob/ml *L. monocytogenes* + 10^6 kob/ml *L.acidophilus* + starter kültür

içermektedir.

Kontrol grupları hariç diğer gruplardaki sütlere 10^3 kob/ml düzeyinde daha önceden Brain Heart Infusion Broth'da (BHI;Oxoid CM 225) üretilen *L. monocytogenes* 1/2 b test suşu (Almanya, RSKK No:472) inokule edilmiştir. Yalnızca *L. monocytogenes* içeren 2. grup hariç diğer gruplara steril sütte 30^0 C'de yaklaşık 18 saat rejenere edilen 2:3 oranında *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* suşlarının karışımından oluşan ticari liyofilize starter kültürden (Chr. Hansen'in R-703 No'lu mezofilik kültür) %2 oranında ilave edilmiştir. 4. ve 6. gruplardaki süte 10^6 kob/ml düzeyinde daha önceden De Man Rogosa Sharpe (MRS Broth; Oxoid CM 359) Broth'ta üretilen *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014, RSKK No:1062)inokule edilirken 5. ve 7. gruplardaki süte 10^6 kob/ml düzeyinde daha önceden MRS Broth'da üretilen *Lactobacillus acidophilus* (Pasteur Ens. 161, RSKK No:593) inokule edilmiştir. Üretilen peynirler $+4^0$ C'de 90 gün olgunlaşmaya bırakılmıştır.

10^3 kob/ml düzeyinde *L.monocytogenes* inokule edilerek yapılan bu çalışma 10^5 kob/ml düzeyinde *L. monocytogenes* inokulasyonu ile aynı şekilde yapılmıştır.Her iki üretim de ikiye kez tekrar edilmiştir.

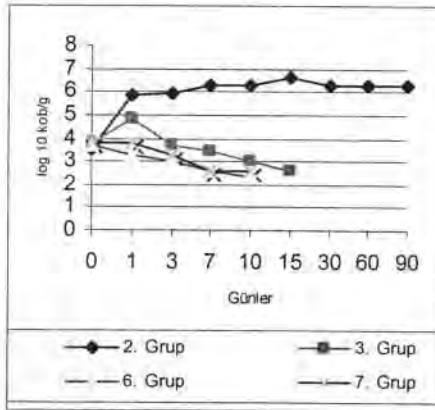
Deneysel peynir üretiminin yapıldığı gün pastörize süttten *L. monocytogenes* ile kontamine olup olmadığının kontrolü için örnekler alınmıştır. Buna ilaveten, inokulasyondan hemen sonra sütlerden, baskıya alma aşamasında peynir altı suyundan, baskıdan sonra telemeden ve peynir yapımını takiben peynir gruplarından olgunlaşmanın 1., 3., 7., 10., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde örnekler alınarak *L. monocytogenes*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve mezofil starter kültür düzeyleri belirlenmiştir.

Aseptik şartlarda alınan süt, peynir altı suyu, teleme ve peynir örneklerinden *L. monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonu için Hitchins(1992) tarafından belirlenen FDA metodu kullanılmıştır. Çalışmanın takip eden günlerinde *L. monocytogenes* düzeyinde azalma gözleendiğinde *L. monocytogenes* sayısı En Muhtemel Sayı (EMS) tekniği ile belirlenmiştir (De Man, 1983). *L. acidophilus* ve *L. plantarum* sayımı De Man Rogosa Sharpe (MRS Merck 1.10660) Agar'da yapılmıştır (Kandler ve Weiss, 1986). *L. Lactis* ve *L. cremoris* sayımı M17 Agar'da yapılmıştır (Terzaghi ve Sandine 1975).

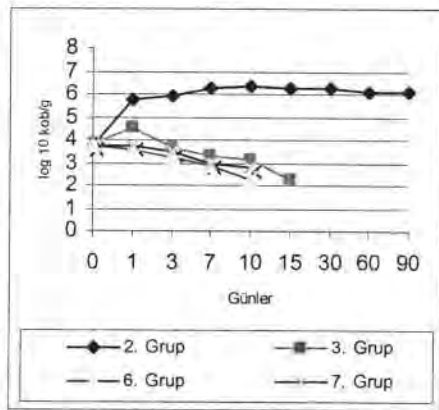
Çiğ sütlerde asitlik ve kuru madde tayini TS 1018'de bildirilen yöntemlere göre (Anon, 1981), tuz tayini kontrol grubu peynir örneklerinden TS 591'e göre (Anon 1983) yapılmıştır. Süt ve bütün peynir örneklerinin pH değerleri ise elektronik pH metre (Ingold) ile ölçülmüştür.

Bulgular

Her dört üretimde kullanılan pastörize sütlerin *L. monocytogenes* ile kontamine olmadığı belirlenmiştir. Birinci üretimde 4.6×10^3 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilen peynirlerdeki *L. monocytogenes* seyri Şekil 1'de gösterilmektedir. *L. monocytogenes*'in 5.0×10^3 kob/ml inokule edildiği peynirlerdeki seyri Şekil 2'de verilmiştir. Yaklaşık 4.5×10^5 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilerek üretilen peynirlerdeki *L. monocytogenes* seyri Şekil 3'de sunulmuştur. Tüm gruplara 8.0×10^5 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilerek üretilen peynirlerdeki *L. monocytogenes* seyri ise Şekil 4'de yer almaktadır.



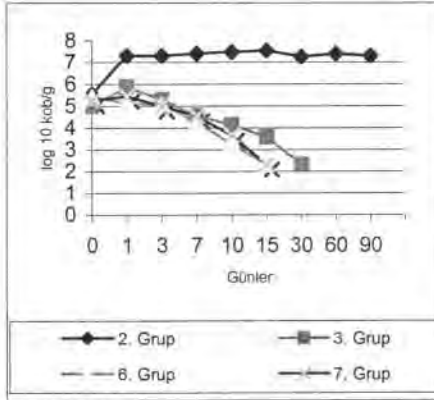
Şekil 1: 10^3 kob/ml inokule edilen birinci üretim peynir gruplarında *L. monocytogenes*'in seyri



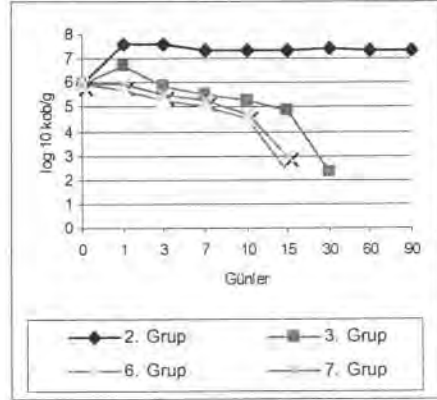
Şekil 2: 10^3 kob/ml inokule edilen ikinci üretim peynir gruplarında *L. monocytogenes*'in seyri

10^3 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilerek üretilen peynirlerde (2. grup) *L. monocytogenes* popülasyonunda ilk 24 saat içinde yaklaşık 2 log artış olmuş, olgunlaşma periyodunun sonuna kadar 3 log'a yaklaşan artışlar saptanmıştır. Başlangıçta 10^3 kob/ml düzeylerindeki *L. monocytogenes*'in starter kültür ile birlikte inokule edildiği peynirlerde (3. grup) 1. gün yaklaşık 1 log artış olmuş, birinci günden itibaren *L. monocytogenes* sayısı azalarak 15. günün sonunda saptama sınırlarının altına düşmüştür. 3. grup peynirlerinde etkenin 60 ila 90.

günde tamamen elimine olduğu EMS tekniği ile belirlenmiştir. 10^3 kob/ml *L. monocytogenes*'in, 10^6 kob/ml düzeylerinde *L. plantarum* (6. grup) ve 10^6 kob/ml düzeylerindeki *L. acidophilus* (7. grup) ile birlikte inokule edildiği peynirlerde ise *L. monocytogenes* popülasyonu inokulasyondan itibaren belirgin bir azalma kaydederek 10. gün saptama sınırının altına düşmüştür. Olgunlaşma periyodunun takip eden dönemlerinde peynirlerde etkenin 30. gün tamamen elimine olduğu EMS tekniği ile belirlenmiştir.



Şekil 3: 10^5 kob/ml inokule edilen birinci üretim peynir gruplarında *L. monocytogenes*'in seyri



Şekil 4: 10^5 kob/ml inokule edilen ikinci üretim peynir gruplarında *L. monocytogenes*'in seyri

Sadece 10^5 kob/ml *L. monocytogenes* inokule edilerek üretilen peynirlerde (2. grup) olgunlaşmanın 1. gününde yaklaşık 2 log artış saptanmış, olgunlaşmanın devamında sayının sabit kaldığı belirlenmiştir. Başlangıçta 10^5 kob/ml *L. monocytogenes*'in starter kültürle birlikte inokule edildiği peynir grubunda (3. grup) *L. monocytogenes* popülasyonunda olgunlaşmanın 1. gününde yaklaşık 1 log artış gözlenirken, 30. gününde etkenin saptama sınırının altına düştüğü belirlenmiştir. Bu grupta yer alan peynirlerde etkenin olgunlaşma periyodunun 90. gününde tamamen inhibe olduğu En Muhtemel Sayı (EMS) tekniği ile belirlenmiştir. 10^5 kob/ml düzeyinde *L. monocytogenes*'in, 10^6 kob/ml *L. plantarum* (6. grup) ve 10^6 kob/ml *L. acidophilus* (7. grup) ile birlikte inokule edildiği gruplarda etkenin 15. günde saptama sınırlarının altına düştüğü, EMS tekniğiyle 60. günde tamamen elimine olduğu gözlemlenmiştir. Peynirlerde *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'un olgunlaşma periyodu boyunca canlılıklarını sürdürdükleri, olgunlaşma periyodu sonunda probiyotik

etkilerin gözlenebilmesi için kabul edilen 10^6 kob/ml düzeylerinde canlı kaldıkları saptanmıştır.

Peynir yapımı için kullanılacak olan sütlerin pH değerleri 6,6-6,8 arasında değişirken, kontrol grubu peynirlerinde olgunlaşma periyodu boyunca ölçülen pH değerleri 4,5-4,7 arasında değişiklik göstermiştir. Peynirlerindeki tuz miktarının ortalama %6,6-7.2 olduğu saptanmıştır.

Sonuç

Listeria enfeksiyonlarında kritik gıdalar olarak nitelendirilen yumuşak peynirler üzerine yapılan birçok çalışmada, *L. monocytogenes*'in canlı kalabilme yeteneği ortaya konmuştur (Copes ve ark, 2000; Pini ve Gilbert, 1988; Ryser ve ark, 1985; Ryser ve Marth, 1987; Ryser ve Marth, 1987).

Bu çalışmada starter kültür kullanılarak üretilen peynirlerde *L. monocytogenes*'in olgunlaşmanın son aşamalarında inhibe olduğu, starter kültüre ilaveten *L. plantarum* ve *L. acidophilus* katılarak üretilen peynirlerde etkenin daha erken dönemlerde inhibe olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar starter kültüre ek olarak katılan bu probiyotik kültürlerin *L. monocytogenes*'in kontrolü için ekstra bir güvenlik sağlayabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca probiyotik kültürlerin olgunlaşma periyodu sonunda probiyotik etkilerin gözlenebilmesi için kabul edilen değerlerde (10^6 kob/ml) canlılıklarını sürdürdükleri gözlemlenmiştir.

İnsan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkisi olan probiyotik bakterilerin en uygun taşıyıcısı, fermente süt ürünleri olmuştur. Genetik teknolojilerindeki gelişmeler faz direnci yüksek, proteolitik aktivitesi belirgin ve daha hızlı asit üretebilen fermentasyon özellikleri gelişmiş starter kültür veya kültür ilaveleri geliştirmeyi mümkün kılmıştır. Genetik olarak geliştirilmiş olan süt ürünü kültürleri, özellikle bakteriyosinler olmak üzere çeşitli antimikrobiyeller üremek suretiyle son ürün peynirde mikrobiyel güvenliği artırdıkları gibi ürünün raf ömrünü de uzatabilmektedir. Kullanılan starter kültürlerin etkili bir performans sergilemelerine olanak sağlayan bakteriyosinleri üretebilecek aynı zamanda son ürün olan peynirin güvenilirliğine ve kalitesine katkıda bulunacak ticari kültürler geliştirme konusu halen çok büyük ilgi görmektedir.

Kaynaklar

- Anon (1981). Çiğ Süt. TS 1018, Udc 673.141. Türk Standartları Enstitüsü.
- Anon (1983). Beyaz Peynir. TS591, Udk 637.353. Türk Standartları Enstitüsü.
- Bersot, L.S., Landgraf, M., Franco, B.D.G.M., Destro, M.T. (2001). Production of Mortadella: Behavior of *Listeria monocytogenes* during Processing and Storage Conditions. *Meat Sci.*57(2001):13-17.
- Buyong, N., Kok, J., Luchansky, J.B. (1998). Use of a Genetically Enhanced, Pediocin- Producing Starter Culture, *Lactococcus Lactis* subsp. *Lactis* Mm217, to Control *Listeria Monocytogenes* in Cheddar Cheese. *Appl Environ. Microbiol.*64(12):4842-4845.
- Chateau, N., Castellanos, I., Deschamps, A.M. (1993). Distribution of Pathogen Inhibition in the *Lactobacillus* Isolates of a Commercial Probiotic Consortium. *J. Appl. Bacteriol.* 74: 36-40.
- Copes, J., Pellicer, K., Echeverria, H.G., Stanchi, N.O., Martinez, C., Leardini, N.(2000). Investigation of *Listeria monocytogenes* in Soft Cheeses.*Rev. Argent Microbiol.*32(1):49-52.
- De Man, J.C. (1983). Mpn-Tables, Corrected. *J.Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17:301-305.
- Fleming, D.W., Cochi, S.L., Macdonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V., Reingold, A.L.(1985). Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *N Engl. J. Med.*312(7):404-407.
- Hitchins, A.D., (1992). *Listeria monocytogenes*, Chapter 10. In: Fda Bacteriological Analytical Manuel. 7th Ed. Aoac Int, Arlington Va, P. 148.
- Jacobsen, C.N., Nielsen, R.V., Hayford, A.E., Moller, P.L., Michaelsen, K.F., Perregaard, A.P., Sandstrom, B., Tvede, M., Jacobsen, M. (1999). Screening of Probiotic Activities of Forty-Seven Strains of *Lactobacillus* spp. by in Vitro Techniques and Evaluation of Colonizing Ability of Five Selected Strains in Humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(11): 4949-4956.
- Kandler, O., Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus*. Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology. Vol(2). Ed. Hold, J.G., London 1209-1234.
- Kailasapathy, K., Chin, J. (2000). Survival and Therapeutic Potential of Probiotic Organisms with Reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* Spp. *Immunol. Cell Biol.* 78: 80-88.
- Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin,

- L., Kleks, A., Broome, C.V. (1988). Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-Style Cheese. *N. Engl. J. Med.* 319:823-828.
- Pini, P.N., Gilbert, R.J. (1988). A Comparison of Two Procedures for Isolation of *Listeria monocytogenes* From Raw Chickens and Soft Cheeses. *Int. J. Food Microbiol.* 7:331-337.
- Ryser, E.T.; Marth, E.H. (1987). Behavior of *Listeria monocytogenes* during the Manufacture and Ripening of Cheddar Cheese. *J. Food. Prot.* 50(1):7-13.
- Ryser, E.T.; Marth, E.H. (1987). Fate of *Listeria monocytogenes* during the Manufacture and Ripening of Camembert Cheese. *J. Food. Prot.* 50:372-378.
- Ryser, E.T.; Marth, E.H., Doyle M.P. (1985). Survival of *Listeria monocytogenes* during the Manufacture and Storage of Cottage Cheese. *J. Food. Prot.* 48:746-750.
- Spelhaug, S.R., Harlander, S.K. (1989). Inhibition of Foodborne Bacterial Pathogens by Bacteriocins from *Lactococcus lactis* and *Pediococcus pentosaceus*. *J. Food Prot.* 52(12):856-862.
- Terzaghi, B. E., Sandine W. E. (1975). Improved Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages. *Appl. Microbiol.* 29:807-813

RENDELENMİŞ TAZE KAŞAR PEYNİRLERİNİN FARKLI MODİFİYE ATMOSFERLERDE PAKETLENMESİNİN PEYNİRİN FLORASINA ETKİSİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Mehmet Emin ERKAN¹

Harun AKSU²

¹Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Diyarbakır

²İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı- İstanbul

Özet: Kaşar peynir beyaz peynirin ardından en yaygın tüketilen sert yapılı bir peynirdir. Hijyenik kalitesini ve duyu özelliklerini geliştirerek raf ömrünü uzatmak amacıyla farklı üretim ve ambalajlama teknikleri kullanılabilmektedir. Bunlardan biri de modifiye atmosfer paketlenme tekniğidir. Bu çalışma farklı gaz kompozisyonlarıyla paketlenen taze rende kaşar peynirlerinin muhafaza süresince mikrobiyolojik özelliklerindeki değişikliklerin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Rendelenmiş kaşar peynirleri paketlenme sırasında maruz kaldıkları gaz kompozisyonlarına göre 7'şer gruba ayrılmışlardır. 1.grup peynirler % 100 N₂ gazı ile, 2.grup peynirler % 25 CO₂ ve % 75 N₂ gazları ile, 3.grup peynirler % 50 CO₂ ve % 50 N₂ gazları ile, 4.grup peynirler % 75 CO₂ ve % 25 N₂ gazları ile, 5.grup peynirler % 100 CO₂ gazı ile paketlenmiştir. 6.grup peynirler kontrol grubu olarak ayrılıp normal atmosfer havasıyla paketlenirken 7.grup peynirlere vakum paketlenme uygulanmıştır. Tüm peynir grupları üretim ve ambalajlama işlemlerinin ardından 4 °C'de muhafazaya alınmış, muhafazanın 1., 15., 30., 60., 90., 120., 150., 180., 180., 210., ve 240. günlerinde mikrobiyolojik özellikler açısından incelenmiştir.

TMAB sayısında direkt MAP'e bağlı bir değişiklik tespit edilmemiştir. Staphylococcus- Micrococcus grubu mikroorganizmalar MAP'in etkisi ile sürekli bir düşüş göstermiştir. Peynir gruplarının hiç birinde küf üremedigi, MAP'in maya üremesini baskıladığı tespit edilmiştir. Koliform mikroorganizmalar 60. güne kadar canlılığını koruyabilmiştir.

Modifiye atmosfer paketlenme tekniğinin taze kaşar peynirlerde ürün özelliklerini ve raf ömrünü olumlu yönde etkileyeceği, uygun gaz kompozisyonu yanı sıra uygun ambalaj materyalinin kullanımına bağlı olarak bu etkinin daha da belirgin olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: MAP, kaşar

A Study about the Effect of Using Different Map Techniques on Minced Kaşar Cheese Flora

Abstract:“Kaşar” is a hard constituted cheese which is commonly consumed after the white cheese. Different production and packaging techniques can be used to prolong the shelf life, to improve the hygienic quality and the sensorial characteristics of this product. Modified atmosphere packaging (MAP) is one of these techniques. This study is planned to determine the microbiological characteristic of “kaşar” cheeses by using different gas concentrations of MAP.

Minced type “kaşar” cheeses were separated in to 7 groups according to applied gas composition. The 1st group of cheeses packed with %100 N₂, 2nd group is packed %75 N₂ and %25 CO₂, 3rd group %50 N₂ and %50 CO₂, 4th group %25 N₂ and %75 CO₂, 5th group %100 CO₂, 6th which is the control group packed with normal atmosphere and the 7th group packaged with vacuum. After packaging all groups have been stored at 4°C. All analyses were performed 1., 15., 30., 60., 90., 120., 150., 180., 210., and 240. days of storage.

There isn't any change is determined directly related with MAP in number of TMAB. The count of staphylococcus-Micrococcus were performed a continuous by the effect of MAP. In all groups mould formation couldn't detected and the yeast formation was prevented by MAP technique. It's determined that the coliform spp. can keep their liveliness until 60th day in Minced type “kaşar” cheeses

In conclusion, the MAP technique with the suitable gas composition and the use of suitable packaging material will effect positively to shelf life and product characteristics of “kaşar” cheese.

Key words: MAP, kaşar

Giriş

Tüketicilerin taze ve katkı maddesi içermeyen ürünlere olan taleplerinin artması, modifiye atmosfer paketleme (MAP) tekniğine olan ilgiyi arttırmaktadır. MAP tekniği son yıllarda başta meyve-sebze ve et ürünleri olmak üzere pek çok farklı gıda maddesinde yaygın olarak kullanılan, gıdaların raf ömrünü arttıran ve ürün imajını geliştiren önemli bir gıda muhafaza yöntemidir. Paket içindeki atmosfer kompozisyonunu değiştirmek amacıyla en yaygın olarak kullanılan gazlar oksijen (O₂), karbondioksit (CO₂) ve azot (N₂)'dur. Gıda maddesinin özelliğine göre bu gazların paket içinde farklı kompozisyonda olması amaçlanır (Kaya 2001, Üçünçü 2000) Aerobik

mikroorganizmalar karbondioksite duyarlıdır, bu sebeple mikroorganizmalar için gerekli olan oksijen oranı azaltılarak gıdaların bozulması kontrol edilir. Gram-negatif mikroorganizmalar genellikle karbondioksite Gram-pozitif mikroorganizmalardan daha duyarlıdır (Philips 1996).

CO₂'in az miktarda ortamda bulunması birçok mikroorganizmayı stimüle ederken, çok yüksek konsantrasyonlarda bulunması birçok mikroorganizmanın üremesini inhibe eder (Enfors 1980). Karbondioksitin % 5-10 civarındaki konsantrasyonları özellikle aerob mikroorganizmalar olmak üzere birçok mikroorganizmanın üremesini inhibe etmektedir (King 1975). Genellikle MAP tekniğinde %10-40 civarında CO₂ kullanılmaktadır (Siliker 1980). Küfler oksijene sıkı bir şekilde bağımlıdır. Gıdalardaki bozulmaların büyük bir çoğunluğu küflerden kaynaklanmaktadır. Karbondioksit kullanarak anaerobik bir MAP uygulaması ile gıda bozulmalarının geciktirilmesi ve raf ömrünün uzatılması mümkün olmaktadır (Philips 1996). Ambalaj içinde O₂'nin %2'nin altında ve CO₂'in % 27'nin üstünde olduğu durumlarda peynir yüzeyinde küf üremediği bildirilmektedir (Ural 1984.). Mayalar birçok farklı peynir çeşidinde bulunmakta ve peynir yapısındaki olumlu rolleri, lezzet ve olgunlaşmaya katkıları bilinmektedir (Westall 1998).

Bu çalışmada farklı gaz kompozisyonları kullanılarak yapılan modifiye atmosfer paketleme uygulamasının taze rende kaşar peynirinin mikrobiyolojik, özellikleri üzerine etkisinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan kaşar peynirleri Bahçıvan Süt ve Süt Ürünleri A.Ş. tesislerinde üretilmiş ve aynı firmada modifiye atmosfer paketlemeye tabi tutulmuştur. Paketlemede kullanılan gaz kompozisyonları ise, I.grup rendelenmiş kaşarlar için % 100 N₂, II.grup % 75 N₂ - % 25 CO₂, III.grup 50 N₂ - % 50 CO₂, IV.grup 25 N₂ - % 75 CO₂, V.grup 100 CO₂, VI.grup ortam havası (Kontrol grubu), VII.grup vakum paketlenerek + 4°C'de depolanmıştır. Örnekler 1., 15., 30., 60., 90., 120.,150., 180., 210. ve 240. günlerde analize tabi tutulmuştur. Denemeler farklı tarihlerde 3 kez tekrar edilmiştir.

Numune alımı, besiyerlerinin hazırlanması, homojenizasyon, dilüsyonlar, ekim, sayım işlemleri TSE'de belirtilen metotlara göre yapıldı. Herbir deneme grubuna ait peynir örneğinden 10 g alınarak, 90 ml steril % 0.1'lik peptonlu su ilave edilerek stomacherde homojenize edildi. Elde edilen ana homojenizattan (1/10) aynı

sulandırıcı kullanılarak 10^9 basamağına kadar seri dilüsyonlar hazırlandı (BAM 2001). Bu sulandırmalardan genel ve selektif besi yerlerine ekim yapılmıştır. Toplam aerob meofil mikroorganizma sayımı için Plate Count Agar (PCA, Oxoid CM 463); laktik asit bakterilerinin sayımı için de Man, Rogosa, Sharpe Agar (MRS, Oxoid CM361); laktik streptokok bakteri sayımı için M17 Agar (Oxoid CM 785); Staphylococ ve Mikrococ grubu bakterilerin sayımı için Baird-Parker Agar (BPA, Oxoid CM 275); küf-maya sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid CM139); koliform grubu bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB, Oxoid CM 107) ve Enterokok bakterilerin sayımı amacıyla Citrate Azide Twin Carbonat Agar (CATC, Merck 10279) kullanılmıştır. Ekim yapılan plaklar uygun sıcaklıklarda inkübe edilmiş ve süre sonunda koloni oluşumu yönünden incelenmiştir (FDA 1995, Oxoid 1990, Harrigan 1998)

Bulgular

Rendelenmiş formdaki peynirlerde muhafaza süresince yapılan analizler sonucunda elde edilen Toplam Mezofilik Aerob Bakterilere (TMAB) ait analiz sonuçları Tablo 1'de, koliform bakterilere ait analiz sonuçları Tablo 2'de, laktik streptokoklara ait analiz sonuçları Tablo3'te, laktik asit bakterilere ait analiz sonuçları Tablo 4'te, Staphylococcus-Micrococcus grubuna ait analiz sonuçları Tablo5'te, Enterococcus grubuna ait analiz sonuçları Tablo 6, küf ve mayalara ait analiz sonuçları Tablo 7'de topluca gösterilmiştir.

Tablo 1. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarlarda muhafaza sürecinde T. Mezofilik Aerob Bakteri sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	6,95 $\pm$ 0,330	6,04 $\pm$ 0,320	7,84 $\pm$ 0,310	8,86 $\pm$ 0,310	9,56 $\pm$ 0,330	9,04 $\pm$ 0,330	8,51 $\pm$ 0,310	8,49 $\pm$ 0,340	8,38 $\pm$ 0,310	8,20 $\pm$ 0,350
R ₂	6,90 $\pm$ 0,310	7,00 $\pm$ 0,320	7,70 $\pm$ 0,320	8,26 $\pm$ 0,330	8,41 $\pm$ 0,340	8,86 $\pm$ 0,370	8,64 $\pm$ 0,320	8,58 $\pm$ 0,340	7,99 $\pm$ 0,350	7,98 $\pm$ 0,370
R ₃	6,85 $\pm$ 0,430	6,99 $\pm$ 0,420	7,83 $\pm$ 0,430	8,43 $\pm$ 0,450	9,75 $\pm$ 0,430	8,89 $\pm$ 0,470	8,56 $\pm$ 0,430	8,30 $\pm$ 0,450	8,23 $\pm$ 0,430	8,04 $\pm$ 0,460
R ₄	6,92 $\pm$ 0,230	00 $\pm$ 0,250	7,86 $\pm$ 0,250	8,38 $\pm$ 0,200	9,76 $\pm$ 0,200	9,04 $\pm$ 0,270	8,38 $\pm$ 0,240	8,34 $\pm$ 0,220	8,20 $\pm$ 0,200	8,11 $\pm$ 0,200
R ₅	6,88 $\pm$ 0,170	7,08 $\pm$ 0,190	7,86 $\pm$ 0,170	8,36 $\pm$ 0,150	8,52 $\pm$ 0,150	9,00 $\pm$ 0,150	8,46 $\pm$ 0,180	8,45 $\pm$ 0,150	8,36 $\pm$ 0,150	8,18 $\pm$ 0,170
R ₆	6,85 $\pm$ 0,720	6,99 $\pm$ 0,710	7,80 $\pm$ 0,740	8,53 $\pm$ 0,710	8,68 $\pm$ 0,730	8,95 $\pm$ 0,710	8,59 $\pm$ 0,750	8,49 $\pm$ 0,710	8,08 $\pm$ 0,730	8,04 $\pm$ 0,710
R ₇	6,89 $\pm$ 0,470	7,08 $\pm$ 0,490	8,04 $\pm$ 0,470	8,40 $\pm$ 0,470	9,49 $\pm$ 0,480	8,92 $\pm$ 0,470	8,18 $\pm$ 0,450	8,49 $\pm$ 0,470	8,49 $\pm$ 0,460	7,90 $\pm$ 0,470

Tablo 2. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarlarda muhafaza sürecinde koliform bakteri sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	^a 2,81 $\pm$ 0,1	^b 2,74 $\pm$ 0,5	^b 1,30 $\pm$ 0,2	-	-	-	-	-	-	-
R ₂	^b 2,11 $\pm$ 0,2	^{a,b} 2,30 $\pm$ 0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
R ₃	^b 2,20 $\pm$ 0,2	^{a,b} 2,20 $\pm$ 0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
R ₄	^b 2,08 $\pm$ 0,1	^b 2,86 $\pm$ 0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
R ₅	^a 5,11 $\pm$ 0,5	^a 1,90 $\pm$ 0,2	^c 1,50 $\pm$ 0,2	-	-	-	-	-	-	-
R ₆	^a 2,85 $\pm$ 0,2	^a 3,58 $\pm$ 0,5	^a 0,80 $\pm$ 0,1	-	-	-	-	-	-	-
R ₇	^a 1,30 $\pm$ 0,1	^a 1,70 $\pm$ 0,5	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 3. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarlarda muhafaza sürecinde laktik streptokok sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	^a 6,63 $\pm$ 0,10	^a 6,86 $\pm$ 0,200	^a 7,49 $\pm$ 0,310	^b 8,65 $\pm$ 0,10	^d 9,45 $\pm$ 0,120	^{b,c} 8,28 $\pm$ 0,100	^{a,b} 8,20 $\pm$ 0,410	^a 8,08 $\pm$ 0,100	^b 8,00 $\pm$ 0,500	^a 7,97 $\pm$ 0,100
R ₂	^a 6,68 $\pm$ 0,30	^a 6,94 $\pm$ 0,300	^a 7,26 $\pm$ 0,300	^b 8,04 $\pm$ 0,40	^{b,c} 8,71 $\pm$ 0,310	^{b,c} 8,40 $\pm$ 0,400	^{a,b} 8,32 $\pm$ 0,300	^{a,b} 8,28 $\pm$ 0,300	^a 7,38 $\pm$ 0,300	^a 7,83 $\pm$ 0,310
R ₃	^a 6,70 $\pm$ 0,10	^a 6,98 $\pm$ 0,100	^a 7,59 $\pm$ 0,130	^b 7,13 $\pm$ 0,90	^a 7,30 $\pm$ 0,860	^{a,b} 7,67 $\pm$ 0,410	^a 8,33 $\pm$ 0,450	^a 8,88 $\pm$ 0,890	^{a,b} 8,08 $\pm$ 0,250	^a 7,52 $\pm$ 0,900
R ₄	^a 6,62 $\pm$ 0,10	^a 6,87 $\pm$ 0,100	^a 7,49 $\pm$ 0,100	^b 8,46 $\pm$ 0,20	^{b,c,d} 9,42 $\pm$ 0,060	^{a,b} 7,98 $\pm$ 0,100	^a 7,94 $\pm$ 0,110	^a 7,93 $\pm$ 0,100	^{a,b} 7,90 $\pm$ 0,100	^a 7,49 $\pm$ 0,100
R ₅	^a 6,68 $\pm$ 0,11	^a 6,99 $\pm$ 0,100	^a 7,54 $\pm$ 0,110	^b 8,32 $\pm$ 0,10	^{b,c} 8,79 $\pm$ 0,400	^{a,b} 8,04 $\pm$ 0,100	^a 7,94 $\pm$ 0,120	^a 7,91 $\pm$ 0,110	^{a,b} 7,81 $\pm$ 0,400	^a 7,66 $\pm$ 0,100
R ₆	^a 6,61 $\pm$ 0,12	^a 6,95 $\pm$ 0,110	^a 7,53 $\pm$ 0,110	^b 8,32 $\pm$ 0,10	^{a,d} 8,38 $\pm$ 0,100	^b 8,40 $\pm$ 0,120	^b 8,20 $\pm$ 0,110	^{a,b} 8,11 $\pm$ 0,120	^{a,b} 8,00 $\pm$ 0,110	^a 7,97 $\pm$ 0,100
R ₇	^a 6,63 $\pm$ 0,40	^a 6,96 $\pm$ 0,110	^a 7,96 $\pm$ 0,130	^b 8,28 $\pm$ 0,40	^{a,d} 9,23 $\pm$ 0,110	^b 8,71 $\pm$ 0,100	^a 8,58 $\pm$ 0,4	^{a,b} 8,18 $\pm$ 0,400	^{a,b} 7,57 $\pm$ 0,100	^a 7,53 $\pm$ 0,400

Tablo 4. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarların muhafaza sürecinde laktik asit bakterileri sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	^a 5,32 $\pm$ 0,70	^a 5,72 $\pm$ 0,690	^a 5,20 $\pm$ 0,700	^a 4,45 $\pm$ 0,69	^a 4,65 $\pm$ 0,700	^a 4,65 $\pm$ 0,700	^a 4,62 $\pm$ 0,700	^a 4,28 $\pm$ 0,700	^a 4,08 $\pm$ 0,690	^a 3,30 $\pm$ 0,700
R ₂	^a 4,43 $\pm$ 0,70	^a 4,57 $\pm$ 0,690	^a 4,72 $\pm$ 0,690	^a 5,49 $\pm$ 0,70	^{a,b} 4,91 $\pm$ 0,690	^a 4,90 $\pm$ 0,700	^a 4,43 $\pm$ 0,690	^a 3,95 $\pm$ 0,700	^a 3,85 $\pm$ 0,690	^a 3,48 $\pm$ 0,690
R ₃	^a 4,49 $\pm$ 0,69	^a 4,72 $\pm$ 0,700	^a 5,11 $\pm$ 0,690	^a 5,23 $\pm$ 0,70	^a 5,26 $\pm$ 0,690	^a 4,97 $\pm$ 0,700	^a 4,96 $\pm$ 0,680	^a 4,79 $\pm$ 0,690	^a 4,76 $\pm$ 0,680	^a 3,36 $\pm$ 0,700
R ₄	^a 4,04 $\pm$ 0,69	^a 4,51 $\pm$ 0,700	^a 4,75 $\pm$ 0,680	^a 5,20 $\pm$ 0,70	^a 6,18 $\pm$ 0,690	^a 5,34 $\pm$ 0,680	^a 5,23 $\pm$ 0,700	^a 5,00 $\pm$ 0,680	^a 4,98 $\pm$ 0,700	^a 3,18 $\pm$ 0,680
R ₅	^a 4,75 $\pm$ 0,70	^a 4,93 $\pm$ 0,680	^a 5,04 $\pm$ 0,690	^a 5,51 $\pm$ 0,68	^{a,b} 5,28 $\pm$ 0,700	^a 5,26 $\pm$ 0,690	^a 4,99 $\pm$ 0,680	^a 4,97 $\pm$ 0,700	^a 4,40 $\pm$ 0,700	^a 3,36 $\pm$ 0,700
R ₆	^a 4,34 $\pm$ 0,70	^a 4,90 $\pm$ 0,700	^a 5,11 $\pm$ 0,680	^a 5,11 $\pm$ 0,68	^{a,b} 5,15 $\pm$ 0,680	^a 5,36 $\pm$ 0,700	^a 4,95 $\pm$ 0,680	^a 4,20 $\pm$ 0,680	^a 4,48 $\pm$ 0,680	^a 2,80 $\pm$ 0,680
R ₇	^a 4,72 $\pm$ 0,68	^a 4,72 $\pm$ 0,680	^a 4,75 $\pm$ 0,690	^a 5,41 $\pm$ 0,70	^a 4,98 $\pm$ 0,680	^a 5,08 $\pm$ 0,680	^a 5,04 $\pm$ 0,700	^a 5,00 $\pm$ 0,700	^a 4,86 $\pm$ 0,700	^a 3,28 $\pm$ 0,680

Tablo 5. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarlarda muhafaza sürecinde Staphylococ-Micrococ sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	^a 3,48 $\pm$ 0,690	^a 3,53 $\pm$ 0,690	^{ab} 3,79 $\pm$ 0,700	^a 4,30 $\pm$ 0,700	^a 4,51 $\pm$ 0,710	^a 5,82 $\pm$ 0,710	^a 4,83 $\pm$ 0,700	^a 4,70 $\pm$ 0,690	^a 3,96 $\pm$ 0,700	^a 3,48 $\pm$ 0,690
R ₂	^a 3,23 $\pm$ 0,690	^a 3,36 $\pm$ 0,700	^a 3,52 $\pm$ 0,690	^{ab} 5,58 $\pm$ 0,690	^a 5,08 $\pm$ 0,710	^a 4,90 $\pm$ 0,700	^a 4,61 $\pm$ 0,700	^a 4,08 $\pm$ 0,690	^a 4,00 $\pm$ 0,700	^a 2,85 $\pm$ 0,710
R ₃	^a 3,6 $\pm$ 0,700	^a 3,70 $\pm$ 0,690	^{abc} 4,76 $\pm$ 0,700	^{ab} 4,80 $\pm$ 0,700	^a 5,15 $\pm$ 0,690	^a 5,04 $\pm$ 0,710	^a 4,92 $\pm$ 0,700	^a 4,93 $\pm$ 0,690	^a 4,54 $\pm$ 0,690	^a 3,59 $\pm$ 0,710
R ₄	^a 3,30 $\pm$ 0,700	^a 4,36 $\pm$ 0,700	^{abc} 4,75 $\pm$ 0,700	^{ab} 5,61 $\pm$ 0,700	^a 5,23 $\pm$ 0,690	^a 5,20 $\pm$ 0,700	^a 5,18 $\pm$ 0,690	^a 5,11 $\pm$ 0,700	^a 4,53 $\pm$ 0,710	^a 3,71 $\pm$ 0,690
R ₅	^a 3,79 $\pm$ 0,690	^a 3,97 $\pm$ 0,690	^{abc} 4,58 $\pm$ 0,690	^{ab} 5,18 $\pm$ 0,690	^a 5,18 $\pm$ 0,700	^a 5,00 $\pm$ 0,700	^a 4,89 $\pm$ 0,710	^a 4,62 $\pm$ 0,710	^a 4,54 $\pm$ 0,690	^a 3,36 $\pm$ 0,710
R ₆	^a 3,00 $\pm$ 0,700	^a 3,72 $\pm$ 0,700	^{bc} 4,95 $\pm$ 0,700	^{ab} 5,41 $\pm$ 0,710	^a 4,86 $\pm$ 0,690	^a 5,18 $\pm$ 0,700	^a 5,04 $\pm$ 0,690	^a 4,41 $\pm$ 0,710	^a 4,74 $\pm$ 0,710	^a 3,40 $\pm$ 0,690
R ₇	^a 4,11 $\pm$ 0,700	^a 4,71 $\pm$ 0,690	^c 5,32 $\pm$ 0,690	^b 5,76 $\pm$ 0,690	^a 5,57 $\pm$ 0,700	^a 5,34 $\pm$ 0,710	^a 5,23 $\pm$ 0,700	^a 5,08 $\pm$ 0,700	^a 4,83 $\pm$ 0,690	^a 3,84 $\pm$ 0,710

Tablo 6. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarların muhafaza sürecinde Enterokok sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	^a 6,71 $\pm$ 0,150	^a 7,00 $\pm$ 0,170	^a 7,40 $\pm$ 0,190	^c 8,41 $\pm$ 0,200	^b 8,18 $\pm$ 0,210	^a 8,15 $\pm$ 0,200	^b 8,11 $\pm$ 0,190	^b 8,08 $\pm$ 0,170	^c 7,99 $\pm$ 0,150	^b 7,92 $\pm$ 0,150
R ₂	^a 6,78 $\pm$ 0,170	^a 6,99 $\pm$ 0,190	^a 7,20 $\pm$ 0,200	^a 7,75 $\pm$ 0,210	^a 7,45 $\pm$ 0,200	^a 7,89 $\pm$ 0,190	^a 7,73 $\pm$ 0,170	^a 7,72 $\pm$ 0,150	^a 7,32 $\pm$ 0,150	^a 7,95 $\pm$ 0,200
R ₃	^a 6,53 $\pm$ 0,190	^a 6,88 $\pm$ 0,200	^a 7,36 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,96 $\pm$ 0,200	^a 8,86 $\pm$ 0,190	^a 7,94 $\pm$ 0,170	^{ab} 7,93 $\pm$ 0,150	^{ab} 7,9 $\pm$ 0,150	^{bc} 7,88 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,59 $\pm$ 0,200
R ₄	^a 6,60 $\pm$ 0,190	^a 6,92 $\pm$ 0,200	^a 7,51 $\pm$ 0,210	^{bc} 8,23 $\pm$ 0,200	^d 9,28 $\pm$ 0,190	^a 7,85 $\pm$ 0,170	^{ab} 7,81 $\pm$ 0,150	^{ab} 7,72 $\pm$ 0,150	^{bc} 7,57 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,52 $\pm$ 0,200
R ₅	^a 6,61 $\pm$ 0,190	^a 6,96 $\pm$ 0,200	^a 7,43 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,99 $\pm$ 0,200	^b 7,85 $\pm$ 0,190	^a 7,95 $\pm$ 0,170	^{ab} 7,92 $\pm$ 0,150	^{ab} 7,86 $\pm$ 0,150	^{bc} 7,86 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,66 $\pm$ 0,200
R ₆	^a 6,48 $\pm$ 0,210	^a 6,86 $\pm$ 0,200	^a 7,34 $\pm$ 0,190	^a 8,04 $\pm$ 0,200	^c 8,15 $\pm$ 0,210	^a 7,93 $\pm$ 0,200	^{ab} 7,91 $\pm$ 0,190	^{ab} 7,86 $\pm$ 0,170	^{bc} 7,84 $\pm$ 0,150	^{ab} 7,78 $\pm$ 0,150
R ₇	^a 6,72 $\pm$ 0,210	^a 6,96 $\pm$ 0,200	^a 7,43 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,92 $\pm$ 0,200	^c 8,83 $\pm$ 0,210	^a 8,04 $\pm$ 0,200	^{ab} 7,9 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,87 $\pm$ 0,200	^{bc} 7,85 $\pm$ 0,210	^{ab} 7,69 $\pm$ 0,200

Tablo 7. Farklı gaz kompozisyonlarında rende kaşarların muhafaza sürecinde küf-maya sayısı (log kob/g $\pm$ SD)

	1.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün	210.gün	240.gün
R ₁	a	ab	ab	ab	ab	ab	a	a	a	a
	4,04 $\pm$ 0,610	4,49 $\pm$ 0,600	4,65 $\pm$ 0,610	4,51 $\pm$ 0,600	4,26 $\pm$ 0,590	3,95 $\pm$ 0,600	3,90 $\pm$ 0,610	3,00 $\pm$ 0,600	2,95 $\pm$ 0,590	1,60 $\pm$ 0,600
R ₂	a	a	a	ab	abc	bc	abc	ab	ab	ab
	4,00 $\pm$ 0,610	4,04 $\pm$ 0,610	4,15 $\pm$ 0,590	4,56 $\pm$ 0,610	4,89 $\pm$ 0,600	4,90 $\pm$ 0,590	4,99 $\pm$ 0,600	3,96 $\pm$ 0,590	3,91 $\pm$ 0,610	2,18 $\pm$ 0,590
R ₃	a	a	a	a	bc	bc	abc	ab	ab	bc
	4,04 $\pm$ 0,600	4,08 $\pm$ 0,600	4,11 $\pm$ 0,600	4,48 $\pm$ 0,590	5,11 $\pm$ 0,600	5,00 $\pm$ 0,590	5,00 $\pm$ 0,610	4,04 $\pm$ 0,600	3,70 $\pm$ 0,600	3,04 $\pm$ 0,610
R ₄	a	ab	ab	ab	ab	bc	ab	ab	ab	bc
	4,11 $\pm$ 0,590	4,32 $\pm$ 0,610	4,46 $\pm$ 0,590	4,68 $\pm$ 0,590	5,00 $\pm$ 0,610	4,89 $\pm$ 0,590	4,48 $\pm$ 0,610	3,74 $\pm$ 0,600	3,65 $\pm$ 0,590	3,08 $\pm$ 0,590
R ₅	a	ab	ab	a	a	a	c	a	a	bc
	4,00 $\pm$ 0,600	4,26 $\pm$ 0,590	4,36 $\pm$ 0,610	4,30 $\pm$ 0,610	3,90 $\pm$ 0,600	3,40 $\pm$ 0,590	6,11 $\pm$ 0,600	3,04 $\pm$ 0,590	3,28 $\pm$ 0,600	2,90 $\pm$ 0,590
R ₆	a	b	b	b	c	a	bc	b	ab	cd
	5,04 $\pm$ 0,610	5,26 $\pm$ 0,590	5,43 $\pm$ 0,600	5,66 $\pm$ 0,600	5,70 $\pm$ 0,590	5,86 $\pm$ 0,610	5,46 $\pm$ 0,590	4,78 $\pm$ 0,600	3,85 $\pm$ 0,590	3,71 $\pm$ 0,590
R ₇	a	ab	ab	ab	ab	bc	ab	b	b	c
	4,89 $\pm$ 0,600	5,04 $\pm$ 0,590	5,08 $\pm$ 0,610	5,11 $\pm$ 0,600	4,80 $\pm$ 0,610	4,73 $\pm$ 0,610	4,60 $\pm$ 0,600	4,48 $\pm$ 0,600	4,48 $\pm$ 0,610	4,34 $\pm$ 0,590

a, b, c. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir.(P<0,05)

*SD: Standart sapma

Toplam mezofilik aerob bakteri sayısı 90- 120. günlerde en yüksek seviyelere ulaşmış akabinde düşüş görülmektedir. Rendelenen kaşar peynirlerinde koliform bakteriler 60. güne kadar canlılığını koruyabilmiştir. Staphylococ-Micrococ grubu mikroorganizmalar MAP'in etkisi ile sürekli bir düşüş göstermiştir. Peynir gruplarının hiç birinde küf üremediği, MAP'in maya üremesini baskıladığı tespit edilmiştir.

Sonuç

Sonuç olarak, % 100 CO₂ ve % 75 CO₂-% 25 N₂ ile paketlenen gruplarda duyusal olarak hafif değişiklikler oluşsa da kollapsın meydana gelmesi ve paket bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak raf ömrünün olumsuz etkilendiği gözlenmiştir. % 100 N₂ ve % 75 N₂-% 25 CO₂ ile paketlenen peynirlerde bombaj oluşumu gözlenmiştir. Hava ile paketlenen gruplarda 3.aydan sonra acılaşma belirtileri gözlenirken vakum paketlenen grupta paketlenme materyalinin sertliğine bağlı olarak kırılmalar ve vakum bozulması şekillenmiştir.

Modifiye atmosfer paketlenme tekniğinin rende kaşar peynirlerde ürün özelliklerini ve raf ömrünü olumlu yönde etkileyeceği, uygun gaz kompozisyonu yanısıra uygun ambalaj materyalinin kullanımına bağlı olarak bu etkinin daha da belirgin olabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Anon (1990). The Oxoid Manual. 6th ed. Unipath Ltd., Basingstoke.
- Anon (2001). Bacteriological Analytical Manual, AOAC Int., Gaithersburg.
- Day Bpf. (1990). Modified Atmosphere Packaging. Campden Food and Drink Research association Food Storage Symposium, 11-12 September.
- Enfors, S.O., Molin, G. (1980). Effect of High Concentration of Carbon Dioxide on Growth Rate of *Pseudomonas fragi*, *Bacillus cereus* and *Streptococcus cremoris*. *J. Appl. Bacteriol.* 48:409-416.
- Harrigan, W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, New York.
- Kaya, İ. (2001). Bazı Çerez Türü Gıdalarda Modifiye Atmosferde Paketlemeye Bağlı Kalite Değişimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- King, ADJR, Nagel C.W. (1975). Influence of Carbon Dioxide upon the Metabolism of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Food Sci.* 40:362-366.
- Phillips, C.A. (1996). Modified Atmosphere Packaging and its Effect on the Microbiological Quality and Safety of Produce *Int. J. Food Sci. Technol.* 31: 463-479.
- Siliker, J.H, Elliott, R.P, Baird-Parker, A.C, Brayn, F.L, Christian, JHB, Clark, D.S, Olson, J.C, Roberts TA. (1980). Microbial Ecology of Foods. Volume 1. Factors affecting life and death of microorganisms. Academic Press, New York, 171-203.
- Ural, A, Pazır, F. (1984). Koruyucu gazların gıda ambalajlamasında kullanımları. 242-257. İzmir Gıda ve Tarım Fuarı. 'Gıda Sanayiinde Teknolojik Gelişmeler Sempozyumu' 16-18 Mayıs.
- Üçüncü M. (2000). Gıdaların Ambalajlanması. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Westall, S, Filtenborg, O. (1998). Spoilage yeasts of decorated soft cheese packed in modified atmosphere. *Food Microbiol.* 15:243-249.

ELAZIĞ'DA TÜKETİME SUNULAN KAYMAKLI VE MEYVE AROMALI DONDURMALARDA KOLİFORM GRUBU MİKROORGANİZMALARIN DAĞILIMI

Bahri PATIR

Gülsüm Ates ÖKSÜZTEPE
İLHAK

O. İrfan

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Elazığ

Özet: Bu araştırmada, Elazığ'da açık olarak satışa sunulan kaymaklı (sade) ve meyve aromalı dondurmalarda koliform grubu mikroorganizmaların türleri ile dağılımları incelendi. Bu amaçla, 50 adedi kaymaklı ve 50 adedi de meyve aromalı (limonlu, kakaolu, fıstıklı, vişneli ve çilekli) olmak üzere toplam 100 adet dondurma örneği kullanıldı. Örneklerin tamamının koliform grubu mikroorganizmalarını içerdiği saptandı. Bu grup mikroorganizmaların örneklerde en az 1,00 en çok 5,74 Log₁₀ kob/g sayılarında bulunduğu görüldü. Örneklerden toplam olarak 632 suş izole edildi. İzole edilen suşların 186'sı kaymaklı, 149'u fıstıklı, 105'i kakaolu, 66'sı çilekli ve 63'ü limonlu, 63 adedi ise vişneli dondurma örneklerine aitti. Kaymaklı dondurma örneklerinden izole edilen 186 suşun 41'inin (% 22,04) *Escherichia coli* I mikroorganizmaları olduğu ortaya kondu. Suşların %74,04'ünün *Escherichia* cinsine, % 27,96' sının ise *Aerobacter* cinsine ait türler olduğu tespit edildi. Meyve aromalı dondurmalarından izole edilen 446 suşun yalnızca 26'sının (% 5,83) *Escherichia coli* I olduğu gözlemlendi. Suşların % 55,38' inin *Aerobacter* cinsine, %44,62'sinin ise *Escherichia* cinsine ait türler olduğu saptandı. Toplam 632 izolat içerisinde kaymaklı dondurmalarda *Escherichia coli* I' in (% 6,49), meyve aromalı dondurma örneklerinde ise *Aerobacter aerogenes* I mikroorganizmalarının daha yaygın olduğu görüldü. *Aerobacter aerogenes* I' in en az limon aromalı dondurma örneklerinde (% 23,81), en çok ise kakaolu örneklerde (% 41,90) olduğu belirlendi. Sonuç olarak veriler, Elazığ'da tüketime sunulan kaymaklı ve meyve aromalı dondurmaların koliform grubu mikroorganizmalarını, özellikle *Escherichia coli* I ile *Aerobacter aerogenes* I' i önemli oranlarda içerdiği, dolayısıyla ürünün hijyenik koşullarda yapılmadığını ve halk sağlığı açısından yeterli güvenceye sahip olmadığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Dondurma, koliform grubu, *Escherichia coli* I, *Aerobacter aerogenes* I, dağılım

Distribution of Coliform Bacteria in Vanilla or Fruit Flavored Ice-Cream in Elazığ

Abstract: In the present study, species of coliform bacteria and their distribution in ice cream with vanilla or ice cream with fruit flavor in Elazığ market was investigated. Fifty samples of vanilla ice cream and 50 samples of fruit flavored ice cream (lemon, cacao, peanut, sour cherry, and strawberry) were used resulting in total of 100 ice cream samples. Coliform bacteria were detected in all samples, regardless of the type of ice cream. Levels of coliforms in the samples were found between 1.0 and 5.74 log₁₀ cfu/g. A total of 632 isolates were obtained from the samples. The numbers of isolates were distributed based on the origin as 186 from vanilla ice cream, 149 from peanut flavored ice cream, 105 from cacao flavored ice cream, 66 from strawberry flavored ice cream, 63 from lemon flavored ice cream, 63 from sour cherry flavored ice cream. Forty two of the 186 isolates (22.04 %) from vanilla ice cream were identified as *Escherichia coli* type I. In vanilla ice cream, 74.04% of the isolates were the species of genus *Escherichia* whereas 27.96% of those were the species of genus *Aerobacter*. In fruit flavored ice cream, only 26 of the 446 isolates (5.83 %) were *Escherichia coli* type I. In this type of ice cream, 55.38 % of the isolates were the species of genus *Aerobacter* whereas 44.62 % of those were the species of genus *Escherichia*. Results indicated that in 632 isolates, *Escherichia coli* type I was more common in vanilla ice cream (6.49%) while *Aerobacter aerogenes* type I was more common in fruit flavored ice cream samples. *Aerobacter aerogenes* type I was the least common (23.81%) in lemon flavored ice cream while the most common (41.90%) in cacao flavored ones. As a result, these data demonstrate that vanilla or fruit flavored ice cream sold in Elazığ commonly contained coliform bacteria, especially *Escherichia coli* type I and *Aerobacter aerogenes* type I, indicating that the ice cream products were not produced under hygienic conditions and did not assure safety of these products to protect public health.

Key words: Ice cream, coliform bacteria, *Escherichia coli* type I, *Aerobacter aerogenes* type I, distribution

Giriş

Süt ve süt ürünlerinin üretiminde koliform grubu mikroorganizmaların varlığı hijyenik açıdan önem arz eder. Doğada yaygın olarak bulunan koliform grubu mikroorganizmalar içerisinde bir çok tür mevcuttur. Bunlar arasında yer alan *Escherichia coli* 1 (*E.coli* 1) insan ve sıcak kanlı hayvanların barsaklarından köken alır ve toprakta, bitkilerde, suda normal şartlarda bulunmaz. Koliformların diğer bazı üyelerinin

ise barsaklarda daha az sayıda bulunduğu ve bir kısmının da bitkisel orijinli olduğu bildirilmektedir. *E. coli* 1 feçeste koliformların en çok bulunan tipi olarak bilinir. *Aerobacter colacae* ve *Aerobacter aerogenes* predominant koliform türleridir. Onlar dondurmada nadiren bulunur ve fekal kontaminasyona işaret eder (Tekinşen,1976; Langree ve Armbruster, 1987; Massa, ve ark.,1989).

Ülkemizde kaymaklı ve meyve aromalı dondurmaların mikrobiyolojik kaliteleri üzerine yapılan çalışmalarda (Dığrak ve Özçelik,1991; Ergün ve Civar,1992; Çelik ve ark.,1995; Arslan ve ark.,1996; Yıldız,1996; Akın,1998; Şatır,1998; Bostan ve Akın,2000; Yücel ve Çıtak,2000; Patır ve ark.,2004) incelenen örneklerin tamamının veya önemli bir kısmının koliform grubu mikroorganizmalarını içerdđđ, *E. coli* 1 mikroorganizmalarının da önemli oranlarda olduğu ortaya konmuştur. Sonuçta ülkemiz dondurmalarının mikrobiyolojik kalitelerinin oldukça düşük olduğu vurgulanmaktadır. Bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda (Mohamed ve Al-Ashmawy,1981; Razavi-Rohani ve Sefidghar,1981; de Tamsut ve Garcia, 1989; Wilson ve ark.,1997) da, incelenen dondurma örneklerinin önemli miktarlarda koliform ve *E.coli* 1 mikroorganizmalarıyla bulaşık olduğu ve büyük çoğunluğunun ilgili standartlara uygun olmadığı bildirilmektedir.

Bu çalışma, Elazığ'da açık olarak tüketime sunulan kaymaklı (sade) ve meyve aromalı dondurmalarda koliform grubu mikroorganizmalar ile koliform grubuna ait türlerin varlığını ve dağılımını incelemek amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Materyal: Dondurma örnekleri, Elazığ'da çeşitli satış merkezlerinden temin edildi. Örneklerin 50 adeti kaymaklı (sade), 50 adeti ise meyve aromalı (limonlu, kakaolu, fıstıklı, vişneli ve çilekli) dondurmalarından alındı. Böylece toplam 100 adet dondurma örneği incelendi.

Metot: Örneklerin deneyler için hazırlanmasında ve seyreltilerinin yapılmasında bilinen klasik yöntemlere başvuruldu. Koliform grubu mikroorganizmaların sayımında Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar $30\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de 24 saat inkube edildi (Harrigan ve McCance, 1976; Türk Standardları Enstitüsü,1984; White ve ark.,1992).

Kültürlerin izolasyonu, karakterizasyonu ve sınıflandırılması

Koliform grubu bakterilere ait suşlar, inkübasyon sonrası 30-300 koloni içeren plaklardan izole edildi. Ancak, 30'dan az koloni içeren

plaklarda oluşan kolonilerin tamamı, 30-300 arasında koloni içeren plaklar ise 8 eşit kısma bölündükten sonra uygun bölümde bulunan bütün koloniler VRBA besiyerinden nutrient buyyona transfer edildi. Nutrient buyyonda 30 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra üreme görülen tüplerden steril bir özeyele kültür alındı ve Gram boyama reaksiyonu incelenerek saflık kontrolleri yapıldı. Gerektiğinde saflaştırılarak karakterize edildi.

Kültürlere Gram reaksiyonu, hareketlilik, indol, metil red, Voges-Proskauer, sitrat deneyi, Laktozun $44 \pm 0,25$ °C'de fermentasyonu, jelatin hidroliz deneyi, pektini sıvılaştırma, hidrojen sülfür oluşumu, ornitin dekarboksilaz, glikozdan gaz oluşumu, mannitol, sorbitol, lisin dekarboksilaz deneyleri uygulanarak identifikasyonları yapıldı (Simmons, 1926; American Public Health Association,1974; Buchanan ve Gibbons,1974; Harrigan ve McCance, 1976; Tekinşen, 1976). Kültürlerin sınıflandırmasında ilgili kaynaklardan yararlanıldı (Harrigan ve McCance,1976; Tekinşen, 1976; Harry ve ark.,1991; Hitchins ve ark.,1998).

Bulgular

İncelenen toplam 100 adet (50 adet kaymaklı, 50 adet meyve aromalı) dondurma örneğindeki koliform grubu mikroorganizmalarına ait elde edilen veriler Tablo 1-3'de gösterilmiştir.

Tablo 1: İncelenen Örneklerdeki Koliform Grubu Mikroorganizmaların Sayısı ($\log_{10}$ kob/g).

Dondurma Çeşidi	Ortalama ($\bar{x} \pm Sx$)	En az	En çok
Kaymaklı (Sade) n= 50	$3,14 \pm 0,97$	1,00	4,94
Limonlu n=10	$2,23 \pm 1,38$	1,00	4,09
Kakaolu n=10	$2,90 \pm 2,32$	1,00	5,74
Fıstıklı n=10	$2,90 \pm 1,37$	1,00	5,14
Vişneli n=10	$2,63 \pm 1,30$	1,00	4,70
Çilekli n=10	$2,29 \pm 0,79$	1,00	3,32

Tablo 2: Dondurma Örneklerinde Koliform Grubu Mikroorganizmaların Dağılımı ile *Escherichia coli* I İçeren Örneklerin Sayısı ve Yüzdesi

Dondurma Çeşidi	Mikroorganizma Düzeyi (Sayı/g)	Toplam Koliform İçeren Örneklerin		<i>Escherichia coli</i> I İçeren Örneklerin	
		Sayısı	%	Sayısı	%
Kaymaklı (Sade)	$< 1,0 \times 10 \text{ kob/g}$	-	-	19	38,00
	$1,0 \times 10 - 9,9 \times 10 \text{ kob /g}$	3	6,00		
	$1,0 \times 10^2 - 9,9 \times 10^2 \text{ kob/g}$	22	44,00		
	$1,0 \times 10^3 - 9,9 \times 10^3 \text{ kob/g}$	14	28,00		
	$1,0 \times 10^4 - 9,9 \times 10^4 \text{ kob/g}$	11	22,00		
	$> 1,0 \times 10^5 \text{ kob/g}$	-	-		
Limonlu	$< 1,0 \times 10 \text{ kob/g}$	5	50,00	1	10,00
	$1,0 \times 10 - 9,9 \times 10 \text{ kob /g}$	1	10,00		
	$1,0 \times 10^2 - 9,9 \times 10^2 \text{ kob/g}$	3	30,00		
	$1,0 \times 10^3 - 9,9 \times 10^3 \text{ kob/g}$	1	10,00		
	$1,0 \times 10^4 - 9,9 \times 10^4 \text{ kob/g}$	5	50,00		
	$> 1,0 \times 10^5 \text{ kob/g}$	-	-		
Kakaolu	$< 1,0 \times 10 \text{ kob/g}$	-	-	2	20,00
	$1,0 \times 10 - 9,9 \times 10 \text{ kob /g}$	6	60,00		
	$1,0 \times 10^2 - 9,9 \times 10^2 \text{ kob/g}$	-	-		
	$1,0 \times 10^3 - 9,9 \times 10^3 \text{ kob/g}$	-	-		
	$1,0 \times 10^4 - 9,9 \times 10^4 \text{ kob/g}$	4	40,00		
	$> 1,0 \times 10^5 \text{ kob/g}$	-	-		
Fıstıklı	$< 1,0 \times 10 \text{ kob/g}$	-	-	2	20,00
	$1,0 \times 10 - 9,9 \times 10 \text{ kob /g}$	3	30,00		
	$1,0 \times 10^2 - 9,9 \times 10^2 \text{ kob/g}$	2	20,00		
	$1,0 \times 10^3 - 9,9 \times 10^3 \text{ kob/g}$	3	30,00		
	$1,0 \times 10^4 - 9,9 \times 10^4 \text{ kob/g}$	1	10,00		
	$> 1,0 \times 10^5 \text{ kob/g}$	1	10,00		
Vişneli	$< 1,0 \times 10 \text{ kob/g}$	-	-	2	20,00
	$1,0 \times 10 - 9,9 \times 10 \text{ kob /g}$	3	30,00		
	$1,0 \times 10^2 - 9,9 \times 10^2 \text{ kob/g}$	2	20,00		
	$1,0 \times 10^3 - 9,9 \times 10^3 \text{ kob/g}$	4	40,00		
	$1,0 \times 10^4 - 9,9 \times 10^4 \text{ kob/g}$	1	10,00		
	$> 1,0 \times 10^5 \text{ kob/g}$	-	-		
Çilekli	$< 1,0 \times 10 \text{ kob/g}$	-	-	3	30,00
	$1,0 \times 10 - 9,9 \times 10 \text{ kob /g}$	2	20,00		
	$1,0 \times 10^2 - 9,9 \times 10^2 \text{ kob/g}$	7	70,00		
	$1,0 \times 10^3 - 9,9 \times 10^3 \text{ kob/g}$	1	10,00		
	$1,0 \times 10^4 - 9,9 \times 10^4 \text{ kob/g}$	-	-		
	$> 1,0 \times 10^5 \text{ kob/g}$	-	-		

Tablo 3: İzole Edilen Suşların Dondurma Çeşidine Göre Dağılımı

Mikroorganizma	Dondurma Çeşidi					
	Kaymaklı 186*	Limonlu 63*	Kakaolu 105*	Fıstıklı 149*	Vişneli 63*	Çilekli 66*
<i>Escherichia coli</i> I	41 (22,04)	3 (4,76)	10 (9,52)	4 (2,68)	7 (11,11)	2 (3,03)
<i>Escherichia coli</i> II	27 (14,52)	6 (9,52)	12 (11,43)	4 (2,68)	8 (12,70)	9 (13,64)
<i>Escherichia coli</i> III	21 (11,29)	12 (19,05)	8 (7,62)	3 (2,01)	6 (9,52)	9 (13,64)
<i>Escherichia freundii</i> I	21 (11,29)	5 (7,94)	12 (11,43)	16 (10,74)	10 (15,87)	7 (10,61)
<i>Escherichia freundii</i> II	24 (12,90)	5 (7,94)	3 (2,86)	21 (14,09)	3 (4,76)	14 (21,21)
<i>Aerobacter aerogenes</i> I	23 (12,37)	15 (23,81)	44 (41,90)	49 (32,89)	15 (23,81)	22 (33,33)
<i>Aerobacter aerogenes</i> II	20 (10,75)	17 (26,98)	15 (14,29)	17 (11,41)	5 (7,94)	3 (4,55)
<i>Aerobacter cloacae</i>	9 (4,84)	TE	1 (0,95)	35 (23,49)	9 (14,29)	TE

() : Yüzdeyi göstermektedir. * : İzole edilen suş sayısı. TE: Tespit edilemedi.

Sonuç

Süte; sağım, taşıma ve işleme sırasında bulaşan koliform bakterilerin dondurmalarda bulunması, dondurmanın koli grubu bakterilerini içeren maddelerle bulaşıklığını, özellikle ısı işleminin yetersiz yapıldığını, malzemelerin sterilize edilmediğini, kullanılan suyun bulaşık olduğunu ve hijyen kurallarına uyulmadığını gösterir. Dondurmada yapılan önemli hijyen kalite kontrollerinden birisi de koliform grubu mikroorganizmaların incelenmesidir. Bu mikroorganizmalar dondurmada, yetersiz veya yanlış pastörizasyon uygulamalarının sonucunda pastörizasyon sonrası kirlenmenin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Karakuş,1993).

İncelenen kaymaklı dondurma örneklerinin tamamı koliform grubu mikroorganizmalar yönünden pozitif olarak bulundu. Bu grup mikroorganizmalar kaymaklı dondurmalarda, ortalama $3,14 \pm 0,97$ Log₁₀ kob/g değerinde saptandı (Tablo 1). Koliform grubu mikroorganizmaların bu çeşit dondurmalarda $1,0 \times 10^2$ ile $9,9 \times 10^4$ kob/g arasında yoğunlaştığı tespit edildi (Tablo 2). Koliform ile ilgili bulgular, yapılan bazı çalışmalardaki (Massa ve ark.,1989;Ergün ve Civar,1992; Maifreni ve ark,1993; Reddy ve ark.,1994) bulgulara benzerlik göstermektedir. Koliform sayısı bakımından kaymaklı dondurma örneklerinin %100' ünün Türk Standardları Enstitüsü'nün (Türk Standardları Enstitüsü, 1984)' nün ilgili standardına (TS 4265) uygun olmadığı saptandı. Aynı şekilde Erol ve ark.nın (Erol ve ark,

1998) Ankara' da yaptıkları çalışmalarında inceledikleri 100 dondurma örneğinin %52,1 - 73,1' inin; Sarada ve Begüm' ün (Sarada ve Begüm, 1991), inceledikleri örneklerin %74'ünün; Kambamanoli ve Grigoriadis (Kambamanoli ve Grigoriadis,1990), %57,4' ünün; Abdel-Kader ve Saleem (Abdel-Kader ve Saleem,1988) ise örneklerin ancak %5,5' inin ilgili standartlara uygun olmadığını belirtmektedirler. Son bildirilen çalışma (Abdel-Kader ve Saleem,1988) hariç tutulursa, bu çalışmada elde edilen bulgular diğer araştırmacıların bulgularıyla nispeten uyum sağlamaktadır. Kaymaklı dondurma örneklerinin %38,00' inin *E. coli* 1 içerdiği bulundu. (Tablo 2). Yapılan araştırmalarda incelenen dondurma örneklerinde, en az %1,9, en çok %58,8 oranında *E. coli* 1 saptanmıştır (Mohamed ve Al-Ashmawy,1981; Dığrak ve Özçelik, 1991; Ergün ve Civar,1992; Arslan ve ark.,1996; Yıldız,1996; Wilson ve ark., 1997).

İncelenen 50 adet kaymaklı dondurma örneğinden toplam olarak 186 suş izole edildi. İzole edilen suşların 41'i *E. coli* I (%22,04) olduğu tespit edildi (Tablo 3). Kaymaklı dondurma örneklerinde fekal kökenli *E. coli* 1'in yüksek miktarlarda bulunması, dondurmanın elde edildiği hammaddenin, özellikle sütlerin hijyenik kalitelerinin düşük olmasına veya uygulanan ısı işleminin yetersizliğine bağlanabilir. Nihayet bazı ülkelerde, konu ile ilgili yapılan çalışmalarda (Masud,1989; Aidara-Kane ve ark.,2000; Windrantz ve Arias, 2000; Kruy ve ark, 2001), incelenen dondurma örneklerinin %10,6' sı ile %51,4' ünün fekal koliformları içerdiği tespit edilmiştir. Örneklerde belirlenen *E. coli* sayısı göz önüne alındığında genelde *E. coli* ' yi %2 oranında tespit eden Erol ve ark.nın (Erol ve ark.,1998); %0,4 - 2,5 oranındaki bulgusuyla Stengel'in (Stengel,1987); ve 1979-1989 yılları arasında inceledikleri örneklerde adı geçen mikroorganizmayı %1,69 oranında tespit eden Ecker ve Lenz' in (Ecker ve Lenz,1990); ayrıca örneklerin %9'unun >10 kob/g *E. coli* içerdiğini belirten Kambamanoli ve Grigoriadis' in (Kambamanoli ve Grigoriadis,1990) sonuçlarından oldukça yüksektir. Bulguların uyumsuzluğu, muhtemelen belirtilen araştırmalarda incelenen farklı çeşitteki dondurmalara ya da farklı çevre koşullarına bağlanabilir.

İncelenen 10 adet limonlu dondurma örneğinin hepsinde koliform mikroorganizmaları tespit edildi. Limonlu örneklerdeki koliform sayısının diğer örneklerle göre daha az olduğu gözlemlendi (Tablo 2). Koliform sayısının azlığı, pH değerinin düşük olmasıyla ilgili olabilir. Benzer olarak, limonlu dondurma örneklerinde koliform sayısının çilekli dondurma örneklerinden daha az sayıda olduğu Tamminga ve ark. tarafından da bildirilmektedir (Tamminga ve ark.,1980). Limonlu örneklerden izole edilen toplam 63 suşun dağılımına bakıldığında

izolatların 17 tanesinin (%26,98) *Aerobacter aerogenes* II olduğu saptandı. Yapılan identifikasyon testleri sonucunda 1 örneğin (%10) *E.coli* 1 içerdiği görüldü. Bu bulgu, Bursa’da limonlu dondurma örneklerinin %25’ inde fekal koli tespit ettiğini bildiren Günşen’ nin (Günşen, 2001) bulgusundan düşüktür.

Kakaolu dondurma örneklerinde 10 (%9,52), fıstıklı dondurma örneklerinde 4 (%2.68), vişneli dondurma örneklerinde 7 (%11,11), çilekli dondurma örneklerinde ise 2 izolatın (%3,03) *Escherichia coli* 1 olduğu saptandı (Tablo 3).

Meyveli dondurma örnekleriyle ilgili olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, izole edilen toplam 446 izolat içerisinde *Aerobacter aerogenes* I mikroorganizmalarının daha yaygın olduğu görüldü. Tüm meyveli dondurma örneklerindeki toplam koliform sayısının, kaymaklı dondurma örneklerine göre yaklaşık 1,00 Log₁₀ kob/g kadar daha az olduğu gözlemlendi. Bu durum, kaymaklı dondurma üretiminde ham maddenin (süt) yeterli ısı işlemine tabi tutulmadığını gösterir, yada meyveli dondurmalarda pH’ nın daha düşük olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Sonuç olarak, Elazığ’da açık olarak satılan dondurmalarda koliform grubu mikroorganizmaların oldukça yoğun olduğu, özellikle hijyen indeksi mikroorganizmalardan *Escherichia coli* 1 ‘ in önemli oranlarda bulunduğu, üretimde arzulanan işlemlerin yeterince uygulanmadığı, üretim yerlerinde gerekli hijyenik şartların oluşturulmadığı, dolayısıyla adı geçen ürünlerin halk sağlığı açısından yeterli güvenceye sahip olmadığı kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Abdel-Kader, A.K., Saleem, P.M. (1988). Status of Ice Cream in the Local Markets. In. Microbiological Properties. *Fsta Abs.* 20 (12): 142.
- Aidara-Kane A, Ranarivo A, Spiegel A, Catteau M, Rocourt J. (2000). Microbiological Quality of Street-Vendor Ice Cream in Dakar. *Dakar Med.*, 45 (1): 20 - 24.
- Akın,B. (1998). Endüstriyel Dondurma Üretiminde Mikrobiyolojik Kalite Üzerine Bir Araştırma. *Yüksek Lisans Tezi.* İstanbul.
- American Public Health Association.(1974). Standarts Methods for the Examination of Dairy Products. *13th.Ed.American Public Health Association.*Newyork, 1974.

- Arslan, A., Gönülalan, Z., Ateş, G., Güven, A.M.(1996). Elazığ'da Tüketime Sunulan Dondurmalarda Listeria, Salmonella, E. Coli Tip 1 ve K. Pneumoniae' Nın Araştırılması. *Türk Veterinerlik Ve Hayvancılık Dergisi*, 20,(2), 109-112,
- Bostan, K. Akın,B.(2002). Endüstriyel Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Bir Araştırma. *Türk Veterinerlik Ve Hayvancılık Dergisi*. 26 (3), 623-629.
- Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8 Th. Ed. Williams And Wilkins. Baltimore.
- Çelik,C., Patır, B., Saltan, S. Güven, A. (1995). Elazığ'da Tüketime Sunulan Dondurmaların Hijyenik Kalitesi ve Genel Koloni Sayısı ile Metilen Mavişi İndirgeme Süresi Arasındaki Korelasyon Üzerine Araştırmalar. *Selçuk Üniv. Vet. Bil. Derg.*,11(1), 67 - 72.
- De Tamsut, L.S. Garcia, C.E.(1999). Microbiological Quality of Pasteurized Milk Creams Manufactured in Venezuela. *Arch Latinoam Nutr.*, 49 (1): 76 - 80.
- Dıgırak,M. Özçelik, S.(1991). Elazığ'da Tüketime Sunulan Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitesi. *Gıda* 16, (3), 195-200.
- Ecker, C.H. Lenz, W. (1990). Enterotoxinnachweis Und Lysotype Bei *Staphylococcus Aureus*-Stämmen Im Rahmen Der Speiseeisüberwachung. *Arch. Lebensmittelhyg.* 41: 97 - 128.
- Ergün, Ö. Civar, E.(1992). İstanbul'da Tüketime Sunulan Ambalajlı Ambalajsız Yerli Ve İthal Dondurmaların Genel Mikrobiyolojik Kaliteleri. *Veterinarium*, 3, (1), 29-31.
- Erol,İ.,Küplülü,Ö.,Sırıken,B.,Çelik,T.H.(1998). Ankara'daki Çeşitli Pastanelere ait Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. *Türk Veterinerlik Ve Hayvancılık Dergisi*, 22,345 – 352.
- Günşen,U. (2001). Bursa İl Merkezinde Tüketime Sunulan Dondurmaların Hijyenik Kaliteleri. *Pendik Vet. Mikrobiyol.Derg.*, 32 (1-2),31-36.
- Harrigan, W.F. Mccance, M.E. (1976). *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised Ed., Academic Press, London.*
- Harry,W., Seely,J.R, Paul,J.,Van Demar John J.I. (1991). *Selected Exercises From Microbes In Action. A Laboratory Manual of Microbiology*. Fort Ed. W.H. *Freeman And Company*, New York.
- Hitchins,A.D, Feng,P., Watkins,W.D., Rippey ,S.R., Chandler,L.A.(1998). *Escherichia Coli* and the Coliform Bacteria. Chapter 4, *Food And Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual*. 8 Th Ed., Rev A Aoac International, Md Usa.
- Kambamanoli, D.A., Grigoriadis. S. (1990). Research on Hygienic Condition of Ice Cream in the Area of Thessalia. *Fsta Abs.* 22 (7), 165.

- Karakuş, M. (1993). Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji Ve Uygulamaları. *Tubitak Marmara Araştırma Merkezi, Gıda Ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, Gebze-Kocaeli*.
- Kruy S.L, Soares J.L, Ping S., Sainte-Marie F.F.(2001). Microbiological Quality of " Ice, Ice Cream Sorbet" Sold on the Streets of Phnom Penh; April 1996-April 1997. *Bull Soc Pathol Exot.* 94(5):411-414.
- Langree, K., Armbruster, G. (1987). Foodborne Illnesses. Quantity Food Sanitation. *Ed. Wilay, J.* 100-101, 141. New-York.
- Maifreni,M., Civilini,M., Domenis, C., Manzano,M., Di Prima,R., Comi, G. (1993). Microbiological Quality of Artisanal Ice Cream. *Zbl.Hyg.,* 553 – 570.
- Massa, S., Poda, G. Cesaron, D., Trovatelli, L.D. (1989). A Bacteriological Survey of Retail Ice –Cream. *Food Microbiology,* 6, 19-134.
- Masud T. (1989). Microbiological Quality and Public Health Significance of Ice-Cream. *J Pak Med Assoc.,* 39 (4):102 -104.
- Mohamed, S.M., Al-Ashmawy, A.M. (1981). Cairo Universty Veterinary Medical Journal , 28,59. Quated In: Robinson, R.K.(1990). Dairy Microbiology- The Microbiology of Milk Products. 2 Nd Ed. Vol.2., *Elsevier Applied Science,* London And New York.
- Patır, B., Öksüztepe, G., İlhak, İ., Bozkurt, P. (2004). Elazığ'da Tüketime Sunulan Kaymaklı (Sade) Dondurmaların Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi. *Vet.Bil.Derg.,* 20, 1; 23-29.
- Razavi-Rohani, N., Sefidghar, J. (1981). J. of Veterinary Faculty University of Tehran,37,(3), 1. Quated In: Robinson, R.K.(1990). Dairy Microbiology- The Microbiology of Milk Products. 2 Nd Ed. Vol.2., *Elsevier Applied Science,* London And New York.
- Reddy, R.B.B., Reddy Y.K. Ranganadham, M. Reddy, V.P.(1994). Bacteriological Quality of Ice Cream Marketed in Tirupati. a Pilgrimage Town of India. *J. Food Sci, Technol.* 31 (2), 151-182.
- Sarada. M., Begum. J.M. (1991). The Microbiological Quality of Ice Creams Sold in Bangalore City. *J. Food. Sci. Technol.* 28 (5): 317-318.
- Simmons, J.S. (1926). A Culture Medium for Differentiating Organisms of the Typhoid Colon-Aerogenes Groups and for the Isolation of Certain Fungi. *J. Infect. Dis.* 39, 209,
- Stengel,G.(1987).Ergebnisse Bakteriologischer Untersuchungen Von Speiseeis. *Milchwissenschaft.* 42 (10), 631-634.
- Şatır, G. (1998). Antalya Piyasasında Satılan Dondurmaların Hijyenik Kalitesi Ve Kimyasal Özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi.* Antalya.

Tamminga, S.K., Beumer, R.R., Kampelmacher, E.H. (1980). Bacteriological Examination of Ice Cream in the Netherlands, Comparative Studies on Methods. *J. App. Bact.*, 49, 239-253.

Tekinşen, O.C.(1976). Suyun Bakteriyolojik Muayenesi. *Ankara Üniv. Vet.Fak.Yay:* 324, Mon; 224. A.Ü. Basımevi; Ankara.

Türk Standardları Enstitüsü. (1984). Dondurma . *T.S. 4265, Tse.*, Ankara.

White, C.H., Bishop, J.R., Morgan, D.M. (1992). Microbiological Methods For Dairy Products. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. *American Public Health Association –Apha. 16 Th Edition*, 287-308, Washington Dc .

Wilson, I.G., Heaney, J.C.N., Weatherup, S.T.C.(1997). The Effect of Ice-Cream-Scoop Water on the Hygiene of Ice-Cream. *Epidemiol .Infect.* 119, 35-40.

Windrantz, P., Arias, M.L.(2000). Evaluation of the Bacteriological Quality of Ice Cream Sold at San Jose, Costa Rica. *Arch Latinoam Nutr.*, 50 (3):301-303.

Yıldız, S.(1996). İstanbul'da Satılan Dondurmaların Bakteriyoloji Yönünden İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. İstanbul.

Yücel, N., Çıtak, S. (2000). Dondurma Örneklerinde Bazı Mikroorganizmaların Varlığı Üzerinde Bir Araştırma. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 3.

ASİDOFİLUSLU YOĞURDUN ÜRETİMİ VE ÜRETİM SONRASI AŞAMASINDA *ESCHERICHIA COLI* O157:H7'NİN CANLI KALABİLME YETENEĞİ

Aylin KASIMOĞLU¹ Sadi AKGÜN²

¹ Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Kırıkkale

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Ankara

Özet: Bu çalışmada *Escherichia coli* O157:H7'nin asidofiluslu yoğurdun üretimi ve depolanması esnasında canlı kalabilme yeteneği araştırılmış ve geleneksel yoğurt ile karşılaştırılmıştır. Steril süt, farklı düzeylerde *E. coli* O157:H7 ile inokule edilerek (10^2 , 10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹) iki tip yoğurt üretilmiştir. İnokulasyonu takiben pH ölçümü ve mikrobiyolojik analiz için 0, 3, 24, 48 ve 72. saatlerde örnekler alınmıştır. *E. coli* O157:H7 analizinde En Muhtemel Sayı Tekniği, yoğurt starter kültürü ve *Lactobacillus acidophilus* sayımında ise klasik kültür metotları kullanılmıştır. *E.coli* O157:H7'nin asidofiluslu yoğurtta eliminasyon süresi, 10^2 kob mL⁻¹ için 3 saat, 10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹ dozları için 48 saat olarak belirlenmiştir. Geleneksel yoğurtta belirlenen *E. coli* O157:H7 eliminasyon süreleri ise 10^2 ve 10^4 kob mL⁻¹ için 48 saat, 10^6 kob mL⁻¹ lik doz için 72 saattir. Sonuç olarak, üretim ve üretim sonrası aşamalarda *E. coli* O157:H7'nin asidofiluslu yoğurtta geleneksel yoğurda oranla daha kısa sürede elimine olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Eliminasyon zamanı, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus acidophilus*, yoğurt üretimi

Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in the Processing and Post-Processing Stages of Acidophilus Yogurt

Abstract: In this study the survival of *Escherichia coli* O157:H7 in the production process and storage stage of acidophilus yogurt was examined and compared with traditional yogurt. Sterile milk was inoculated with different doses of *E. coli* O157:H7 (10^2 , 10^4 and 10^6 cfu mL⁻¹) and two kinds of yogurt were produced. Samples were

taken for pH measurements and bacterial enumeration at 0, 3, 24, 48, and 72 h after inoculation. *Escherichia coli* O157:H7 was analysed by using a Most Probable Number technique and yogurt starter culture and *Lactobacillus acidophilus* were counted by using classical culture methods. Elimination times of *E. coli* O157:H7 were determined for 10^2 cfu mL⁻¹ as 3 h, and for 10^4 and 10^6 cfu mL⁻¹ as 48 h in acidophilus yogurt. Elimination times in traditional yogurt were 48 h for 10^2 and 10^4 cfu mL⁻¹ and 72 h for 10^6 cfu mL⁻¹ *E. coli* O157:H7. In conclusion, the elimination time of *E. coli* O157:H7 in acidophilus yogurt was shorter than in traditional yogurt during the processing and post-processing stages.

Key words: Elimination times, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus acidophilus*, yogurt processing.

Giriş

Probiyotikler, bağırsaktaki mikrobiyel dengeyi korumaları nedeniyle tüketici sağlığını olumlu yönde etkileyen, canlı, mikrobiyel gıda katkılarıdır (Fuller, 1989). *Lactobacillus acidophilus* süt, yoğurt, todler gibi ticari gıdalarda ve diyet katkılarında bulunan probiyotik bir mikroorganizmadır. *L. acidophilus*'un bağışıklık sistemini uyarıcı, laktoz intoleransı önleyici, kolesterol düşürücü, tümör oluşumuna ve enfeksiyonlara karşı koruyucu etkileri bilinmektedir. Yine, *L. acidophilus*'un *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens* gibi gıda kaynaklı enfeksiyon etkenlerine karşı antagonistik etkileri bildirilmiştir (Gilliland and Speck, 1977; Gupta and Mital, 1996).

Escherichia coli O157:H7, 1982 yılındaki ilk identifikasyonundan bu yana, gıda kaynaklı bir patojen olarak nitelenmektedir. Etken, şiddetli karın ağrısı ve kanlı diyare ile karakterize hemorajik kolitis ve hemolitik üremik sendromdan sorumludur (Coia, 1998). Süt ürünleri *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu için risk grubu gıdalar arasında yer almaktadır. *E. coli* O157:H7'nin Cheddar peynirinde 158 gün (Reitsma and Henning, 1996), Türk beyaz peynirinde 120 gün (Küplülü ve ark., 2000), Camembert peynirinde 75 gün (Ramsaran et al., 1998) ve *E. coli* O157:H7 inokule edilen süttten üretilen bifidus yoğurtta 7 günden fazla (Maher et al., 1997) canlılığını koruduğu bildirilmiştir. *E. coli* O157:H7'nin asidofiluslu yoğurtta canlı kalma süresine ilişkin mevcut çalışmalar (Dineen et al., 1998; Guraya et al., 1998), etkenin yoğurda üretim sonrasında kontaminasyonuna yönelik olup, *E. coli* O157:H7'nin asidofiluslu yoğurdun üretim aşamasında canlı kalabilme yeteneğine ait bilgiye rastlanamamıştır. Çalışmanın

amacı, *E. coli* O157:H7'nin asidofiluslu yoğurt ve geleneksel yoğurdun üretimi esnasında ve depolama aşamasında canlı kalma süresini belirlemektir.

Materyal ve metot

Kültürler

Test suşları

Çalışmada test suşu olarak kullanılan *E. coli* O157:H7 (EDL 931, VT 1, 2(+)) test suşu Akita Halk Sağlığı Enstitüsü'nden (Akita, Japonya), *L. acidophilus* 593 N (1-4) ise Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Enstitüsü'nden (Ankara, Türkiye) temin edildi. *E. coli* O157:H7 tryptic soya brota (TSB; BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA), *L. acidophilus* MRS brota (de Man-Rogosa-Sharp; Oxoid, Basingstoke, UK) inokule edilerek, 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

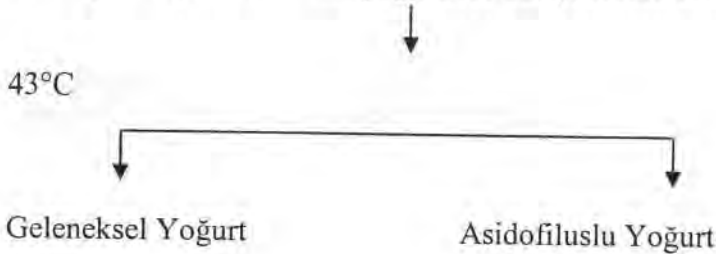
Starter kültür

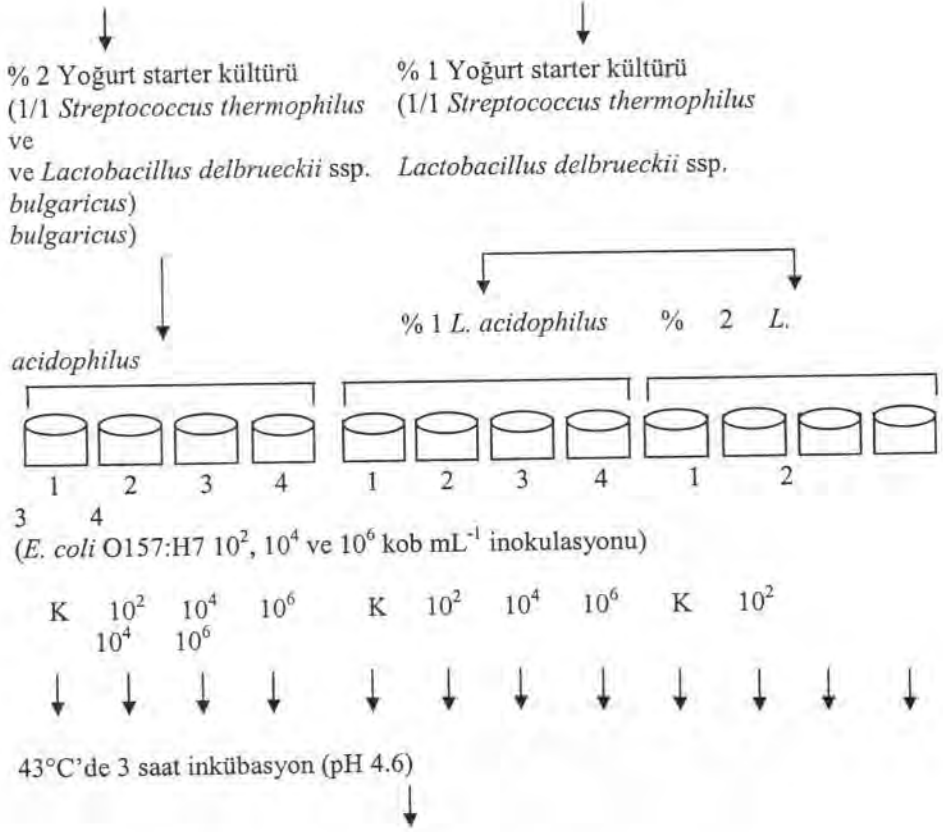
Deneysel yoğurt üretiminde, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* içeren Joghurt V1 ve JoMix VM 1-30 (Wiesby, Niebüll, Almanya) karışımı yoğurt starter kültürü olarak kullanıldı. Liyofilize starter kültürler 43°C'ye ısıtılan UHT süte (Pınar Süt, Türkiye) inokule edilerek, 43°C'de final pH 4.6'ya ulaşana kadar (yaklaşık 3.5 saat) inkübe edildi.

Deneysel yoğurt üretimi

Deneysel yoğurt üretimi Şekil 1'de görülmektedir. Yoğurt üretiminde Tamime ve Robinson (1985) tarafından önerilen yöntem temel alınmıştır.

Antibiyotik içermeyen tam yağlı UHT süt (Schmidt et al., 1985),





Şekil 1: Deneysel yoğurt üretimi.

(K : *E. coli* O157:H7 inokulasyonu yapılmayan kontrol grupları).

İnokulasyon sonrasında 0, 3, 24, 48, 72 saatlerde pH ölçümü ve bakteriyel sayım için örnekler alındı.

Bakteri Sayımı

E. coli O157:H7 sayımında, etkenin elimine olup olmadığını anlamak amacıyla En Muhtemel Sayı Tekniği kullanıldı. Bu amaçla, örneğin

seri dilüsyonlarından novobiocin ve 10 mL mEC brot içeren her 3 tüpe 1'er mL eklenerek 37°C'de 18 saat inkübe edildi. Üreme gözlenen tüplerden 0.1 mL SMA-MUG (% 0.1 oranında 4-methylumbelliferone β -D-glucuronid içeren sorbitol-MacConkey agar- Oxoid) agara ekim yapılarak, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda sorbitol ve MUG negatif beş koloni seçilerek O157 ve H7 antiserumlarıyla test edildi.

L. acidophilus ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayımlarında (pH 5.4) MRS agar kullanıldı. Plaklar *L. acidophilus* için 37°C'de, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* için 45°C'de 3 gün süreyle anaerobik koşullarda inkübe edildi. *S. thermophilus* sayımı ise M17 agarda 37°C, 48 saat ve aerobik inkübasyon koşullarında yapıldı.

pH ölçümleri

Örneklerin pH değerleri, pH metre (900 NEL marka pH metre) elektrodunu direkt örneğe batırarak ölçüldü. Hatalı okuma olasılığını elimine etmek için ölçümler her örnek için 5 dakika aralıkla 2 kere tekrarlandı.

İstatistik Analizler

Deneyisel yoğurt üretimi 3 kere tekrarlandı. Tekrarların ortalama değerleri hesaplandı. Tüm veriler SPSS 4.0 istatistik programında (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), iki yönlü ANOVA ve Student's *t*-test kullanılarak analiz edildi.

Bulgular

Asidofiluslu yoğurdun üretimi ve depolama aşamalarında, *E. coli* O157:H7 ve yoğurt starter kültürünün seyri Şekil 2'de görülmektedir. *L. acidophilus*, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* yaklaşık 10^9 kob mL⁻¹ düzeyine ulaşarak deneme periyodu boyunca sabit kalmıştır. *E. coli* O157:H7'nin üreme ve canlı kalma süresi yönünden, % 1 ve % 2 oranında *L. acidophilus* içeren asidofiluslu yoğurt grupları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). *E. coli* O157:H7'nin tüm inokulasyon dozları (10^2 , 10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹), asidofiluslu yoğurdun inkübasyon süresince (3 saat) logaritmik olarak azaldığı ve 10^2 kob mL⁻¹'lik inokulasyon dozunun inkübasyon süresi sonunda elimine olduğu (<0.3 EMS mL⁻¹) saptanmıştır. Etkenin diğer inokulasyon dozlarının (10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹) denemenin 48. saatinde,

soğuk depolama (+4°C) aşamasında elimine oldukları belirlenmiştir. *Asidofilus* yoğurdun pH'sı inkübasyon süresi sonunda 4.6, denemenin 24 ve 48. saatlerinde sırayla 4.0 ve 3.8 olarak belirlenmiştir.

Geleneksel yoğurdun tüm kaselerinde, 3 saatlik (pH 4.6) inkübasyon sonunda 10^2 , 10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹ düzeylerindeki *E. coli* O157:H7 inokulasyon dozları artarak sırayla 10^3 , 10^5 ve 10^7 kob mL⁻¹ düzeyine ulaşmıştır (Şekil 3). Her iki yoğurt tipinde inkübasyon periyodunda elde edilen sonuçlar farklıdır ($P < 0.05$). Geleneksel yoğurdun soğuk depolama aşamasında, yoğurdun 24, 48 ve 72 saatlerdeki pH değerleri sırayla 4.2, 4.0 ve 3.96 olarak belirlenmiştir. pH değerlerindeki düşüşe paralel olarak, tüm *E. coli* O157:H7 inokulasyon dozlarının elimine oldukları (<0.3 EMS mL⁻¹) saptanmıştır. Geleneksel yoğurta etken dozlarının eliminasyon süreleri 10^2 ve 10^4 kob mL⁻¹ için 48 saat, 10^6 kob mL⁻¹ için 72 saat olarak belirlenmiştir. Geleneksel ve asidofiluslu yoğurtların kontrol gruplarında, fermentasyon aşaması sonunda (3 saat, pH 4.6) *L. acidophilus*, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayıları yaklaşık 10^9 kob mL⁻¹ düzeyine ulaşmıştır.

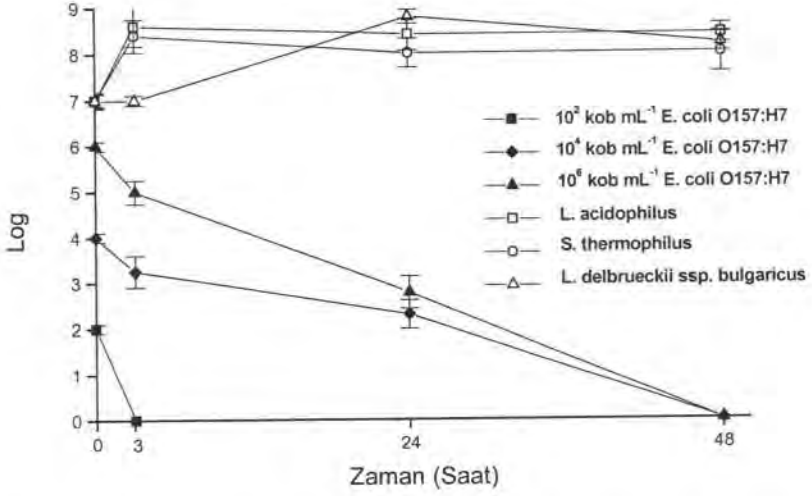
Sonuç

Çalışma sonuçları, yoğurdun üretim ve soğuk depolama aşamalarında *E. coli* O157:H7'nin eliminasyonuna, asidofiluslu yoğurdun geleneksel yoğurda oranla daha etkili olduğunu göstermektedir.

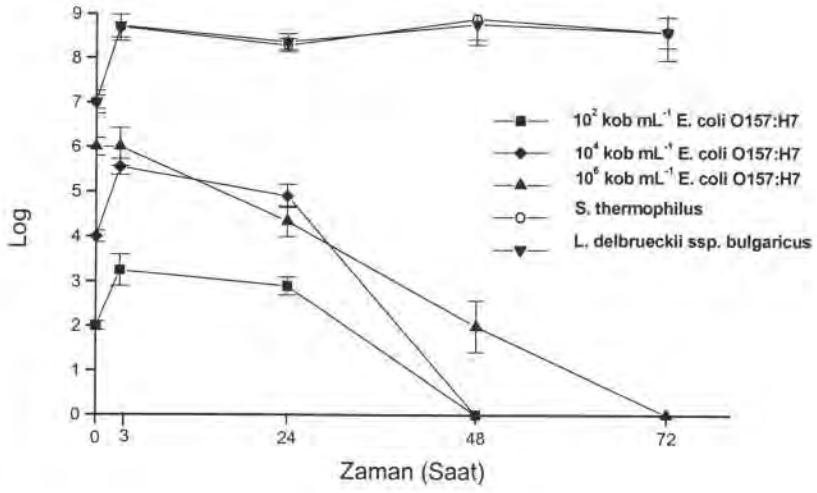
Kaynaklar

- Coia, J. E. (1998). Clinical, Microbiological and Epidemiological Aspects of *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Fems Immunology And Medical Microbiology*, 20 (1), 1-9.
- Dineen, S. S., Takeuchi, K., Soudah, J. E., Boor, K. J. (1998). Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Fermentation Systems. *Journal Of Food Protection*, 61 (12), 1602-1608.
- Fuller, R. (1989). A Review. Probiotics in Man and Animals. *Journal Of Applied Bacteriology*, 66 (5), 365-378.
- Gilliand, S. E., Speck, M. L. (1977). Antagonistic Action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and Foodborne Pathogens in Associative Cultures. *Journal Of Food Protection*, 40 (12), 820-823.
- Gupta, P. K., Mital, B. K. (1996). Antagonistic Activity of *Lactobacillus acidophilus* Fermented Milk Against Different Pathogenic Bacteria. *Indian Journal Of Experimental Biology*, 34, 1245-1247.

- Guraya, R., Frank, J. F., Hassan, A. N. (1998). Effectiveness of Salt, Ph, and Diacetyl as Inhibitors For *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Foods Stored at Refrigerated Temperatures. *Journal Of Food Protection*, 61 (9), 1098-1102.
- Küplülü, Ö., Kasımoğlu, A., Akgün, S. (2000). Türk Salamura Beyaz Peynirinin Yapımı ve Olgunlaşması Sırasında *E. coli* O157:H7'nin Canlı Kalabilme Yeteneğinin Saptanması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 46 (2-3), 337-346.
- Maher, M. M., Jordan, K. N., Upton, M. E., Coffey, A. (2001). Growth and Survival of *E. coli* O157 :H7 during the Manufacture and Ripening of Smear-Ripened Cheese Produced from Raw Milk. *Journal of Applied Microbiology*, 90 (2), 201-207.
- Massa, S., Altieri, C., Quaranta, V., De Pace, R. (1997). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Yogurt During Preparation and Storage at 4°C. *Letters in Applied Microbiology*, 24 (24), 347-350.
- Ramsaran, H., Chen, J., Brünke, B., Hill, A., Griffiths, M. W. (1998). Survival of Bioluminescent *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in Soft Cheeses. *Journal Of Dairy Science*, 81 (7), 1810-1817.
- Reitsma, C. J., Henning, D. R. (1996). Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the Manufacture and Curing of Cheddar Cheese. *Journal Of Food Protection*, 59 (5), 460-464.
- Schmidt, R. H., Vargas, M. M., Smith, K. L., Jezeski, J. J. (1985). The Effect of Ultra-High Temperature Milk Processing on Yogurt Texture. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 9, 235-240.
- Tamime, A. Y., Robinson, R. K. (1985). *Yoghurt Science and Technology*. Oxford: Pergamon Press Ltd.



Şekil 2: Asidofiluslu yoğurdun üretimi ve depolama aşamalarında *E. coli* O157:H7 (10^2 , 10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹), (%1) *Streptococcus thermophilus* - *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve (% 1) *L. acidophilus*'un seyri.



Şekil 3: Geleneksel yoğurdun üretimi ve depolama aşamalarında *E. coli* O157:H7 (10^2 , 10^4 ve 10^6 kob mL⁻¹), (%1) *Streptococcus thermophilus* - *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*'un seyri.

KEFİRDE LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN TÜR DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI*

Çiğdem SEZER

Abamüslüm GÜVEN

Kafkas üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Kars

Özet: Bu çalışmada, Ankara, Antalya ve İzmir illerinden alınan kefir taneleri ve bu tanelerden elde edilen kefir kültürü ile hazırlanan kefirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri araştırıldı. Örneklerde asitlik ve pH değişimi ile laktik flora arasındaki ilişki araştırılıp, kefirin nitelikleri belirlenmeye çalışıldı.

Kültür ve tane kullanılarak hazırlanan örneklerde inkübasyon ve soğuk muhafaza (4 ± 1 °C) periyodu boyunca koliform grubu bakteriye rastlanmadı, enterokok sayısı ise fermentasyonun ilk saatlerinde artmasına karşın daha sonra sayıca azaldı. Üç farklı kefir örneğinin her birinde laktobasil-maya oranları farklı bulundu ve bu oranın sabit olmadığı gözlemlendi.

Kefirde *Lactobacillus cellobiosus*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Streptococcus avium*, *Str. thermophilus*, *Str. cremoris*, *Str. lactis*, *Leuconostoc paramesenteroides* olmak üzere 8 ayrı laktik asit bakterisi tanımlandı.

Anahtar kelimeler: Kefir, laktik asit bakterileri

Identification of Lactic Acid Bacteria in Kefir Species Level

Abstract: In the present study kefir samples made by using kefir grains obtained from Ankara, Antalya and İzmir cities in Turkey and kefir culture were analysed for determination their some microbiological and chemical properties. Additionally, the relation between acidity and pH, and lactic flora were monitored to determine the quality of kefir.

No coliforms detected from samples made both culture and grain preparations, but enterococci were decreased in numbers during incubation and cold storage (4 ± 1 °C). Lactobacilli and yeast counts

* Ç.SEZER'in aynı adlı Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir

were determined at different rates from the three different kefir samples, and this rates did not remain as constant.

Eight strains of lactobacilli, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Streptococcus avium*, *Str. thermophilus*, *Str. cremoris*, *Str. lactis*, *Leuconostoc paramesenteroides* were identified from the kefir samples.

Key words: Kefir, Lactic acid bacteria

Giriş

Kafkasların dağlık bölgelerinden orijin alan kefir, sütün fermente edilmesi ile elde edilen hafif asitli, alkollü ve köpüklü bir fermente süt içeceğidir. Tipik bir kefirin duyuşal özelliklerinin, acıya kaçmayan, hoş giden ekşi bir tat, mayamsı bir aroma, içerdiği CO₂ nedeniyle hafif köpüklü, ferahlatıcı ve serinletici niteliklerden oluştuğu bildirilmektedir (Kemp, 1984). Kefire özgü tadın, laktik asit, etanol, CO₂, asetaldehit ve aseton gibi aroma ürünlerinin ve simbiyotik bakteri ile maya türlerinin metabolik aktivitelerinin bir sonucu olduğu belirtilmiştir (Vedamuthu, 1977). Kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran özellik, laktik asit ve alkol fermentasyonlarının birlikte yürümesidir.

Kefir üretiminde fermentasyonu sağlamak için kefir tanelerinden, kefirde ya da bunlardan üretilen starter kültürlerden faydalanılır. Kefir tanesinin genel olarak laktik asit oluşturan mezofilik streptokoklar, aroma oluşturan streptokoklar, mezofilik ve termofilik laktik asit bakterileri, laktozu fermente eden ve edemeyen mayalarla asetik asit bakterilerini içeren kompleks bir mikrofloraya sahip olduğu, bu mikroorganizmaların sayı ve oranlarının tanenin elde edildiği bölgeye ve üretim prosedürüne göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Roissart ve ark.,1994). Yapılan çalışmalardan kefirin karakteristik özellikleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin mikroflora kompozisyonuna bağlı olduğu anlaşılmaktadır. Ancak bu mikrofloranın sabit olmayıp birçok faktöre bağlı olarak değişebildiği de bildirilmektedir. Bu durumda öncelikle kefir mikroflorasının detaylı olarak ortaya konmasının yapılacak olan birçok araştırmaya başlamanın ön koşulu olabileceği de akla gelmektedir. Bu araştırmada üç farklı ilden (Ankara A, Antalya B, İzmir C) temin edilen kefir tanesiyle ve taneden elde edilen kefir ile üretilen kefirdeki laktik asit bakteri florasını araştırmak ve kefir mikroflorasını açığa çıkarmak

amaçlandı. Aynı zamanda kefir örneklerinde asitlik ve pH değişimi ile laktik mikroflora arasındaki ilişki araştırılmaya çalışıldı.

Materyal ve Metot

Kefir üretimi: Kefir üretimi geleneksel yöntem kullanılarak yapıldı. UHT steril sütler 25°C'ye kadar ısıtıldıktan sonra bir bölümü %5 oranında kefir taneleri ile; geri kalan bölüm ise %3 kefir kültürü ile mayalamp 25±1°C'de 20 saat inkübe edildikten sonra taneler pıhtıdan ayrıldı. Kefir 5±1°C'de olgunlaşmaya bırakıldı (Marshall ve ark.,1985).

Mikrobiyolojik Analizler: Kefir örneklerinin 1/4 ringer solüsyonunda dilüsyonları hazırlandı. Uygun dilüsyonlardan, sayılacak mikroorganizma grubuna göre seçilen besiyerlerine ekimler yapıldı. Laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*) izolasyonu için %2 laktoz içeren MRS agar ve Rogosa agarda anaerobik ve aerobik şartlarda 30°C'de 5 gün; laktik streptokoklar için M17 agarda aerobik şartlarda 30°C'de 2 gün; mayaküf sayımı için PDA'da 25°C'de 5 gün; toplam aerobik canlı sayısı için PCA'da, Enterobacteriaceae için VRBA'da 30°C'de 24-48 saat inkübe edildi. İçimlik kefir ve kefir tanelerinden elde edilen kefir den, farklı morfolojide koloni izole etme şansını arttırabilmek amacıyla farklı muhafaza süreleri kullanıldı. Muhafazanın 12. 24. ve 36. saatlerinde ekim yapıldı ve bu işlem 7 kez tekrarlandı. İnkübasyon sonrası MRS agar, Rogosa agar ve M17 agar üzerinde gelişen morfolojik görüntüleri birbirinden farklı (düz, şekilsiz, yuvarlak, yaygın, şişkin, konveks, mat, parlak, şeffaf, beyaz, renksiz, küçük ve büyük) 20 koloni belirlendi. Bu kolonilerden toplam 250'si denemelere alındı. MRS agar ve Rogosa agardan seçilen koloniler MRS buyyona, M17 agardan seçilen koloniler ise Yeast Glucose Buyyona ekildi.

Biyokimyasal testler: Gram boyama, katalaz testi, nitrat redüksiyon testi, tolerans testleri (15, 37 ve 45°C'de üreme, % 4 ile % 6,5 NaCl'de üreme, % 10 ve % 40 safra tuzunda üreme), glukozdan gaz oluşturma, arginin hidrolizi, eskulin hidrolizi, Voges Proskauer testi, anaerob üreme, hareketlilik, β- hemoliz testleri yapıldı. Karbonhidrat fermentasyon testleri için ise API 50 CHL test kiti kullanıldı. Test sonuçları Garvie (1986a,b), Hardie (1986) ve Kandler ve Weiss (1986)'nin belirttiği kriterlere göre değerlendirildi.

Kimyasal analizler: Kefir örneklerine kuru madde tayini, yağ tayini, pH değerinin ve titrasyon asitliğinin belirlenmesi testleri yapıldı (Kurt ve ark.,1993).

İstatistiksel analiz: İstatistiksel analizde ANOVA testi kullanıldı. Test Minitab bilgisayar programı ile yapıldı.

Bulgular

Tane ve içimlik kefir ile üretilen kefirlerde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde C grubu kefirde %37.49 maya, % 41.66 laktobasil, % 31.24 laktik streptokok izole edildiği görüldü. B grubunda %26.69 maya, % 36.93 laktobasil, % 36.93 laktik streptokok, A grubunda ise %28.69 maya, % 39.81 laktobasil, % 31.47 laktik streptokok izole edildi. Farklı muhafaza sürelerinde yapılan ekimlerde sayım sonuçları değerlendirildiğinde 12. saatte laktobasillerin sayısı 10^8 - 10^{10} kob/ml arasında değişirken 24. saatte bu sayıda bir azalma gözlemlendi. 36. saatte ise sayı en yüksek değere ulaştı. Maya sayısı ise muhafaza süresi boyunca arttı. Laktik streptokok sayısı mayaların aksine muhafaza süresi boyunca azaldı. Her üç örnekte de streptokok ve laktobasillerin sayısı mayalardan yüksek çıktı. C grubunda maya sayısının diğer iki örneğe göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Taneden elde edilen kefirde bulunan laktobasil sayısı, içimlik kefir ile mayalanan kefirde ki laktobasil sayısından daha düşük bulundu ($p<0,05$). Maya sayısının da aynı şekilde seyrettiği gözlemlendi. Enterokokların sayılarında muhafaza süresi artışına bağlı olarak oluşan asitlikten ve laktobasillerin baskılayıcı özelliğinden dolayı azalma görüldü ($p<0,05$).

Örneklerin hiç birinde koliform grubu bakteriye rastlanmadı. MRS agar ve M17 agarda izole edilen 250 suştan, 48 tanesi maya, 67 tanesi Gram negatif, 66 tanesi katalaz pozitif olarak belirlendi. 44 suşun izolasyonunda başarı sağlanamadı. Laktik asit bakteri özelliği gösteren toplam 25 suş üzerinde çalışma yürütüldü. Bu suşların tümü fakültatif anaerob ya da mikroaerofilik kolonilerdi. Morfolojik karakterleri laktik asit bakterilerine benzeyen bu izolatların Gram pozitif, sporsuz, katalaz negatif, çubuk ve kok şeklinde olduğu görüldü. 25 suş yapılan temel testlerin sonuçlarına göre 4 gruba ayrıldı. 13 suş *Streptococcus* ssp., 1 suş *Leuconostoc* ssp., 3 suş betabakterium grubunda ve 8 suş streptobakterium grubunda değerlendirildi.

25 izolattan 10 tanesi *Lactobacillus* ssp., 7 tanesi *Streptococcus* spp., 1 tanesi *Leuconostoc* ssp. olarak tanımlanarak belirlendi. 7 tane izolat isimlendirilemedi. Sonuçta *Lact.cellobiosus*, *Lact.casei*, *Lact. brevis*,

Strep. avium, *Strep. thermophilus*, *Strep. cremoris*, *Strep. lactis*, *Leuc. paramesenteroides* identifiye edildi. Kefir örneklerinde yağ oranı %2,9-2,6 arasındayken, kuru madde oranı % 9,82-9,63 arasında belirlendi.

Sonuç

Farklı kefir örneklerinde maya, laktik streptokok ve laktobasil sayıldı. Her üç grupta da streptokok ve laktobasillerin sayısı mayalardan yüksek bulundu. C grubu kefir örneğindeki maya sayısının diğer iki örneğe göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Bu sonuç Kuo ve ark.(1999)'nın bulduğu sonuçla benzerlik göstermektedir. En yüksek laktobasil sayısı C grubu kefirde bulundu. Kroger (1993) Avrupa'da marketlerde satılan kefirlerde 10^5 kob/ml maya, 10^8 - 10^{10} kob/ml laktik streptokok, 10^{10} kob/ml laktobasil identifiye etmiş ve Rusya'da kaliteli kefirde 10^9 kob/ml laktik streptokok, 10^7 - 10^8 kob/ml laktobasil ve 10^4 - 10^5 kob/ml maya bulunduğunu rapor etmiştir. Maya sayısı Kroger (1993)'in sonuçlarına göre üç kefir örneğinde yüksek çıkmasına rağmen, laktobasil sayısı benzerlik gösterdi. Fakat maya sayısı Kuo ve ark.(1999), Garrote ve ark.(1997) ile Marshall ve ark.(1984)'nın bulduğu sonuçlara benzer bulundu. C grubu kefirde %37,49 maya, %41.66 laktobasil, %31.24 laktik streptokok, A grubu kefirde %28.69 maya, %39,81 laktobasil ve % 31.47 laktik streptokok, B grubu kefirde ise bu oranlar %26.11 maya, %36.93 laktobasil, %36.93 laktik streptokok olarak belirlendi. Molska ve ark.(1983) kefir florasını %66-69 laktobasil, %16-22 laktik streptokok ve %18-20 maya şeklinde belirtmişlerdir. Libudzisz ve ark.(1990) ise florayı %65-80 laktobasil, %20 laktik streptokok ve % 5 maya olarak bildirmişlerdir. Araştırmamızda bulunan bakteri sayılarının Molska ve ark.(1983) ile Libudzisz ve ark.(1990)'nın belirttiği sonuçların aksine yüzde olarak dağılımları birbirine daha yakın çıktı.

Besin maddelerinin fazla olduğu muhafaza döneminin başında, diğer mikroorganizmalarla birlikte Laktobasil-Löykonostok-Pediokok (LLP) grubu bakterilerin sayısı artmıştır. Daha sonra tüm mikroorganizma gruplarının faaliyeti sonucu ortamdaki laktoz ve diğer besin maddelerinin azalmasına bağlı olarak LLP grubu bakterilerin sayısı da azalmış, ancak olgunlaşma sonuna doğru diğer mikroorganizma gruplarının çeşitli sebeplerle (bacteriosin, yüksek asitlik, düşük pH) azalmasıyla ortama yeniden LLP grubu bakteriler hakim olmuştur. Laktik streptokok grubu mikroorganizmalarla LLP grubu bakterileri arasındaki ilişki, laktik streptokoklar için kullanılan M17 agarda bu mikroorganizmalarında üremesine bağlanabilir. Laktik

streptokok grubu bakteriler ile maya-küf sayısı arasındaki ilişki, maya ve küflerin de düşük pH derecelerine nisbeten daha dayanıklı olmalarından ve olgunlaşma süresinin ilerleyen saatlerinde canlı kalarak daha yüksek sayılara ulaşmalarından kaynaklanmış olabilir.

Kefir örneklerinde koliform grubu bakteriye rastlanmadı. Pouillet ve ark.(1993) laktik streptokok grubu bakterilerin koliform grubu bakteriler üzerine inhibitör etkili olduklarını belirtmişlerdir. Rosi ve Rossi(1978) kefir florasında Enterobacteriaceae familyasının kontamine flora oluşturduğunu belirtmiş ve normal kefir florasında olmaması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Enterokokların sayısı muhafaza boyunca azaldı. Bunda en önemli etkenin fermantasyonda asitliğin hızla yükselmesi, düşük pH değeri ve laktobasillerin baskılayıcı özelliğinin olduğu sanılmaktadır. Diğer bazı bakterilerin yanında kefirin normal florası olarak kabul edilen kefir florasından *Leuc. paramesenteroides* identifiye edildi. Rosi ve Rossi (1978) *Leuconostoc ssp.*, asetik asit bakterileri (*Acetobacter ssp.*) ile Enterobacteriaceae familyası üyelerinin kefir tanesinde bulunabileceğini fakat bunların kefirin normal florası olmadığını ileri sürmüşlerdir. Buna karşın birçok araştırmacı (Hosono,1990; Pidoux,1989), löykonostok ve asetik asit bakterilerinin kefirin doğal florası olduğunu belirtmişlerdir. Kefir florasını inceleyen Libudzsiz ve ark.(1990) *Leuc. cremoris*, *Leuc. mesenteroides*; Lin ve ark. (1999) *Leuc. mesenteroides*'i tanımlamışlardır. Kefir örneklerinde fekal streptokoklara rastlanmadı. Garrote ve ark.(1997) ile Hosono ve ark.(1990) kefirde *Strep. faecalis* identifiye etmişler ve bunu hijyen kurallarına uyulmamasına bağlamışlardır. Bu çalışmada identifiye edilen *Strep. thermophilus*, *Strep. cremoris*, *Strep. lactis*, *Strep. avium* birçok araştırmacı (Kunath ve ark.,1983; Marshall ve ark.,1984; Rosi,1978) tarafından kefir tanesinden izole edilmiş fakat kefirde bulanamamıştır. Buna karşın Toba ve ark.(1991), Garrote ve ark.(1997) kefirde streptokok cinsi izole etmişlerdir. Libudzsiz ve ark.(1990) *Strep. lactis*, *Strep. cremoris*, *Strep. thermophilus*, *Strep. durans*, *Strep. filent*; Marshall ve ark. (1984) *Strep. lactis*, identifiye etmiştir. Kefir florasında yüksek sayıda laktobasil ssp. izole edildi. Hosono ve ark.(1990) *Lact. plantarum*, *Lact. brevis*, identifiye etmiş fakat çoğu araştırmacının identifiye ettiği *Lact. kefir*'i identifiye edememiştir. Pidoux ve ark.(1990) *Lact. casei ssp. casei*, *Lact. brevis*, *Lact. fermentum*, *Lact. hilgardi*, *Lact. paracasei*, *Lact. buncheri* identifiye etmişlerdir. Marshall ve Cole(1985) ise sadece *Lact. brevis*, Garrote ve ark.(1997) *Lact. brevis*, *Lact. kefir* ve *Lact. parakefir* identifiye etmişlerdir.

İdentifikasyonda, çoğu araştırmacı (Yaman,2000; Garrote ve ark.,1997; Pidoux, 1989;Toba ve ark.,1991)'nın kefir tanesinde veya kefirde identifiye ettiği *Lact. kefir*, *Lact.kefiranofaciens*, *Lact.delbruencki* identifiye edilemedi. İdentifiye edilen suşlardan biri de *Lact. cellobiosis*'dir. Libudzissz ve ark.(1990) ile Kwak ve ark. (1996) kefirde *Lact. cellobiosis* identifiye etmiştir. Kefirde yüksek oranda *Lact. casei* bulundu. Molska ve ark.(1983) kefir tanesinde yaptıkları mikrobiyolojik analizlerde *Lact. casei* identifiye ederken kefirde bu suşu identifiye edememişlerdir.

Kefir örneklerinde pH değeri ile titrasyon asitliği arasındaki ilişki incelendiğinde, pH değeri düştükçe titrasyon asitliğinin artması aerobik mezofilik mikroorganizmaların ve laktik streptokokların üremesinin yavaşlamasına, LLP grubu bakterilerin ortama hakim olarak, diğer mikroorganizmaları baskılamasına, böylece laktik asit üretiminin artarak pH'nın düşmesine bağlanabilir. Freitas ve ark. (1996)'nın da belirttiği gibi olgunlaşma boyunca muhafaza süresinin 24. saatinde özellikle titrasyon asitliğindeki hızlı artış, bu saatte laktik streptokokların sayılarının azalması ve muhafaza süresinin artmasıyla LLP grubu bakterilerinin sayılarında artış görülmesi Laktik streptokokların LLP grubu bakterileri kadar yüksek asitlik derecelerini iyi tolere edemediklerine bağlanabilir.

Sonuç olarak analiz edilen kefir örneklerinde identifiye edilen türlerin tanenin orijinine ve üretimde kullanılan yöntemlere bağlı olarak değiştiği gözlemlendi. Bu konuda yapılacak çalışmaların kefirin temel florası yanında farklı florasını belirlemede ve bu farklılığın kefirin probiyotik özelliğine ne yönde etkide bulunabileceği araştırılmalıdır. Fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan birçok suşu içermesi ve probiyotik nitelik taşıması açısından kefir önemli fermente süt içeceğidir. Ülke halkının sağlığı ve doğru beslenmesi bakımından kefirin tanıtımının çok iyi yapılması gerekmektedir. Diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde endüstriyel üretim için çalışmaların yapılmasında yarar vardır.

Kaynaklar

- Freitas, A. C., Pais, C., Malcata, F.X., Hogg, T.A.(1996). Microbiological Characterization of Picante Da Beira Baixa Cheese. *J. Food Prot.* 59(2):155-160.
- Garrote, G. L., Abraham, G. A., De Antoni, G. L.(1997). Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study, *Lebensm-Wiss. U. Tech.*, 30: 77-84,

- Garvie, E.J. (1986a). Genus *Leuconostoc*: In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2 (Eds P.H.A. Sneath N.S. Mair And M.E. Sharpe) Baltimore, Md: Williams And Wilkins Pp 1071-1075.
- Garvie, E.J. (1986b). Genus *Pediococcus*: In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2 (Eds P.H.A. Sneath N.S. Mair And M.E. Sharpe) Baltimore, Md: Williams And Wilkins Pp 1075-1079.
- Hardie, J. M.(1986).Genus *Streptococcus*: In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2 (Eds P.H.A. Sneath N.S. Mair And M.E. Sharpe) Baltimore, Md: Williams And Wilkins Pp 1043-1071.
- Hosono, A., Tanabe, T., And Otani, H. (1990). Binding Properties of Lactic Acid Bacteria. Isolated From Kefir Milk With Mutagenic Amino Acid Pyrolyzates, *Milchwissenschaft*, 45: 647-651.
- Kandler, O., Weiss N.(1986).Genus *Lactobacillus*: In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2 (Eds P.H.A. Sneath N.S. Mair And M.E. Sharpe) Baltimore, Md: Williams And Wilkins Pp 1209-1234,
- Kemp, N.(1984). Kefir, The Champagne of Cultured Dairy Products. *Cultured Dairy Products Journal* 19(3): 29-30,
- Kroger, M.: Kefir. *Cultured Dairy Products Journal*. 28: 26-29, 1993
- Kunath, P., Kandler, O.(1983).Symposium on Lactic Acid Bacteria in Foods, Wageningen, The Netherlands ,
- Kuo, Y. C., Lin, C. W.(1999).Taiwanese Kefir Grains: Their Growth, Microbial and Chemical Composition of Fermented Milk. *Aust. J. Dairy Technol.*, 54(1): 19-35.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. Çağlar, A.(1993). Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi. Atatürk Üniv. Yayınları No: 252/D. Erzurum. 238 S.,
- Kwak, H. S. Park, S. K. And Kim, D. S. (1996). Biostabilization of Kefir With a Nonlactose-Fermenting Yeast. *J. Dairy Sci*, 79, 937-942.
- Libudzisz, Z. And Piatkiewicz, A.(1990). Kefir Production in Poland. *Dairy Ind.Inter*. 55 (7), 31-33.
- Lin, C.W. Chen, L.H., Liu, J. R.(1999).Identification and Characteristics of Lactic Acid Bacteria and Yeast Isolated from Kefir Grains in Taiwan. *Aust. J. Dairy Tech.* 54: 5-9.
- Marshall, W. M., Cole, W. M.(1985). Methods For Making Kefir and Fermented Milks Based on Kefir. *J. Dairy Res.* 52: 451-456.
- Marshall, V. M., Cole, W. M., And Farrow, J. A. E.(1984). A Note On The Heterofermentative *Lactobacillus* Isolated From Kefir Grains, *J. Appl. Bact.*, 56, 503-505.

Molska, I., Moniuszko, I., Komorowska, M., And Merilainen, V.(1983).Characteristics of Bacilli of *Lactobacillus Casei* Species Appearing in Kefir Grains, *Acta Aliment. Polon.*, Vol. IX (Xxxiii), No: 1-4, 79-88.

Pidoux, M. (1989).The Microbial Flora of Sugary Kefir Grain. The Gingerbeer Plant. Biosynthesis Of The Grain From *Lactobacillus Hilgardii* Producing A Polysaccharide Gel. *Mircen J. Appl Micro. And Biotech.* 5: 223-238.

Pidoux, M., Marshall, V. M., Zaroni, P. Broker, B.(1990).Lactobacilli Isolated From Sugary Kefir Grains Capable Of Polysaccharide Production And Minicell Formation. *J. Appl. Bact.* 69: 311-320.

Pouillet,B., Huertas, M., Sanchez, A., Caceres, P., Larriba, G.(1993). Main Lactic Acid Bacteria Isolated During Ripening of Casar De Caceres Cheese. *J.Dairy Res.*, 60:123-127.

Roissart, H. And Luquet, F. M.(1994). Bacteries Lactiques II. Lorica Chemin De Saint Georges F- 38410 Uriage Isbn ; 2- 9507477-0-1 614 S.

Rosi, J.(1978).The Kefir Micro-Organisms: The Yeasts. *Scienza E Tecnica Lattiero-Caseria* 29:59-67.

Rosi, J., Rossi, J.(1978).The Kefir Micro-Organisms: The Lactic Acid Bacteria. Yeasts. *Scienza E Tecnica Lattiero-Caseria* 29: 291-305.

Toba, T., Uemura, H., Mukai, T., Fuji, Y., Itoh, T., Adachi, S. (1991). A New Fermented Milk Using Capsular Polysaccharide Producing *Lactobacillus Kefiranofaciens* Isolated From Kefir Grains. *J. Dairy Res.* 58, 497-502.

Vedamutlu, E.R.(1977)Exotic Fermented Dairy Foods. *J. Food Prot.* 40:801-802.

Yaman, H.(2000). Partial Characterisation of Lactobacilli Isolated From Commercial Kefir Grain. A Thesis Submitted to The Partical Fulfilment of the Requirements For the Degree of Doctor of Philosopy.

ANKARA'DA TÜKETİLMEKTE OLAN BAZI SÜT ÜRÜNLERİ VE GIDA ÜRÜNLERİNDEKİ AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan AYÇİÇEK¹ Abdurrahman AKSOY² Şahan SAYGI³

¹Gülhane Askeri Tıp Akademisi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bilim Dalı - Ankara

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim
Dalı -Van

³Gülhane Askeri Tıp Akademisi Toksikoloji Bilim Dalı-Ankara

Özet: Ankara'daki marketlerde satışa sunulan 223 süt ürünü örneği (49 eritme peyniri, 94 beyaz peynir, 53 kaşar peyniri ve 27 tereyağı), 51 fındık ve 40 kakaolu fındık ezme örneği, Eylül 2002- Eylül 2003 dönemi sırasında, aflatoksin M1 (AFM1), toplam aflatoksin ve AFB1 düzeylerinin belirlenmesi amacıyla, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) metoduyla analiz edildi.

Analiz edilen süt ürünlerindeki AFM1 kontaminasyonu %90.58 idi. Kırk üç (%84.32) iç fındık örneğinde (<1-10 ppb aralığında) ve 38 (%95) kakaolu fındık ezme örneğinde (<1-13 ppb aralığında) AFB1 kontaminasyonu belirlendi. Kırk yedi (%92.16) iç fındık ve 39 (%97.5) kakaolu fındık ezme örneğinde toplam aflatoksin tespit edildi.

İki yüz yirmi üç süt ürünleri örneğinin 19'undaki (%8.52) AFM1 düzeyleri Türk Gıda Kodeksinde müsaade edilen en yüksek sınırdan daha fazla olarak belirlenirken, 40 kakaolu fındık ezme örneğinin birinde ve 51 iç fındık örneğinin yine sadece birinde toplam aflatoksin düzeyleri yasal sınırların üzerinde idi.

Sürekli izleme programları insanlar tarafından tüketilen gıda ve gıda ürünlerindeki aflatoksin varlığının kontrol edilmesiyle kontrol altına alınabilir.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, süt ürünleri, fındık, ELISA

Determination of Aflatoxin Levels in Some Dairy and Food Products which Consumed in Ankara

Abstract: Two hundred and twenty-three samples of dairy products (49 samples of cheese, 94 samples of white cheese, 53 samples of Kashar cheese, and 27 samples of butter), 51 dehulled hazelnut and 40 cacao hazelnut cream, marketed in Ankara, Turkey during September 2002-September 2003 were analysed for aflatoxin M1 (AFM1), total aflatoxin and AFB1 by microtitre plate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The incidence of AFM1 contamination in dairy products analysed was 90.58%. AFB1 contamination was detected in 43 (84.32%) of dehulled hazelnut samples (ranging from <1 to 10 ppb) and in 38 (95%) samples of cacao hazelnut cream (ranging from < 1 to 13 ppb). Total aflatoxin contamination was determined in 47 (92.16%) of dehulled hazelnut samples and in 39 (97.5%) samples of cacao hazelnut cream.

AFM1 levels in 19 (8.52%) of 223 dairy product samples were determined higher than maximum tolerable limit of the Turkish Food Codex, whereas total aflatoxin levels in only one of 51 dehulled hazelnut and one of 40 hazelnut cacao cream samples were exceeded the legal limit.

Continuous surveillance programme may be warranted to monitor regularly the occurrence of aflatoxin in food and foodstuffs which consumed by human.

Key words: Aflatoxin, dairy products, hazelnut, ELISA

Giriş

Mikotoksikozlar, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler için küflerin gelişiminde uygun zemin hazırlayan çevresel, sosyal ve ekonomik şartların meteorolojik koşullarla (nem, sıcaklık) birleşmesiyle önemli problemlere yol açmaktadır.

Aflatoksinler, sadece B aflatoksin üreten *Aspergillus flavus* ve hem B hem de G aflatoksin üreten *A. parasiticus* mantarların oluşturduğu toksik bileşiklerdir. Başlıca aflatoksin fraksiyonları B1, B2, G1 ve G2'dir. Bunlar farklı gıda veya yemlerde farklı oran ve gruplarda bulunabilirler. Aflatoksin M1 ve M2 aflatoksin B1 ve B2'nin oksidatif metabolik ürünleri olup, aflatoksin ile bulaşmış olan gıda ve yemleri

tüketen inek, koyun gibi süt veren hayvanların süt, idrar ve dışkıları ile atılırlar (Kotsonis, Burdock, & Flamm, 1996; Galvano, Galofaro, & Galvano, 1996; Bakirci, 2001).

Süt ve süt ürünlerindeki AFM1 varlığı, hava şartlarına bağlı olarak yılın belirli dönemlerinde değişiklik gösterebilmektedir (Galvano, Galofaro, & Galvano, 1996).

Aflatoksinler, toksik, immün sistemi baskılayıcı, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik özellikte bileşiklerdir. Toksikite ve karsinojenite için hedef organ karaciğerdir (Kotsonis, Burdock, & Flamm, 1996; Peracia, Radić, Lucić, & Pavlović, 1999; Anon., 2001; Kocabaş & Şekerel, 2003).

Süt ve süt ürünleri özellikle çocuklar için temel bir besindir. Bununlabirlikte, bu ürünler insan sağlığı için tehlikeli olan AFM1 kalıntıları içerebilmektedir. Bu nedenle, çoğu ülke sütlerdeki AFM1 düzeylerini izin verilen sınırların altında tutabilmek amacıyla hayvan yemlerindeki aflatoksin B1 düzeylerini kontrol etmek için yasal düzenlemeleri uygulamaya koymaktadır (Sarımehmetoglu, Kuplulu, & Çelik, 2003; Rastogi, Dwivedi, Khanna, Das, 2003).

Gıdalardaki aflatoksin kontaminasyonlarının varlığını ve düzeyini belirlemek amacıyla birçok ülkede izleme ve inceleme programları yürütülmektedir (Galvano, Galofaro, & Galvano, 1996; Abdulkadar, Abdullah, & Jasim, 2000; Oruç & Sonal, 2001; Ayçiçek, Yarsan, Sarımehmetoglu, & Cakmak, 2002; Günşen & Büyükyörük, 2002; Rastogi, Dwivedi, Khanna, & Das, 2003).

Avrupa Komisyonu ve Türk hükümeti, yer fıstığı, fındık, kurutulmuş meyveler ve bunlara ait ürünlerde toplam aflatoksin ve AFB1 düzeyleri için izin verilecek sınırları belirlemiştir. Satış halindeki gıdalardaki bu sınır, toplam aflatoksinler için 4 µg/kg, AFB1 için 2 µg/kg'dır. Fındık (fiziksel muamele görmüş), kurutulmuş meyveler veya bazı gıdalara içerik olarak ilave edilen ürünler için limitler 10 µg/kg (toplam aflatoksinler) ve 5 µg/kg (AFB1) olarak belirlenmiştir. Avrupa komisyonu ve Türkiye, süt ve peynirlerdeki kabul edilebilir AFM1 düzeyini sırasıyla 0.05 µg/l ve 0.25 µg/kg olarak belirlemişlerdir (Codex Alimentarius Commission, 2001; Anon., 2002).

Türkiye, dünyadaki en büyük fındık üreticisi olan ve fındık ticaretinde kritik öneme sahip bir ülkedir. Diğer taraftan yaygın bir süt üretimi mevcuttur. Bu çalışmanın amacı, sıkça tüketilen bazı gıdalarda ve süt ürünlerindeki aflatoksinlerin varlığını ve düzeylerini belirlemektir.

Materyal ve Metot

Aflatoksin M1 analizi:

Ankara'daki marketlerde satışı sunulan 223 süt ürünü örneği (49 eritme peyniri, 94 beyaz peynir, 53 kaşar peyniri ve 27 tereyağı), 51 fındık ve 40 kakaolu fındık ezme örneği, Eylül 2002- Eylül 2003 dönemi sırasında, aflatoksin M1 (AFM1), toplam aflatoksin ve AFB1 düzeyleri ELISA ile analiz edildi. AFM1 ekstraksiyonu için 2 g örnek ve 40 ml dichloromethane kullanıldı. Süspansiyon filtre edildi ve 10 ml ekstrakt nitrojen altında buharlaştırıldı. Ekstraksiyon işlemi 0.5 ml fosfat buffer solüsyonu ve 1 ml heptane ile tekrarlandı ve 2500 rpm devirde 15 dk. süreyle 15 °C sıcaklıkta santrifüj edildi. AFM1 testi için methanol tabaka kullanıldı.

Toplam Aflatoksin ve Aflatoksin B1 analizi:

Total Aflatoksin ve Aflatoksin kolonu:

Immunoaffinity colonları (RIDA-Aflatoxin column-r-biopharm) analiz öncesi temizlendi. İki gram örnek ağız vidalı cam tüp içinde tartıldı. On ml methanol/distile su (70/30) eklendi ve 10 dk süreyle oda sıcaklığında karıştırıldı. Ekstrakt filtre kağıdı kullanılarak filtre edildi. Filtratın 100 µl'si 600 µl örnek sulandırma solüsyonu sulandırıldı ve sulandırılmış olan 50 µl filtrat kuyucuklara konuldu.

Aflatoksin B1 analizi:

Toplam 51 kavrulmuş fındık içi ve 40 kakaolu fındık ezmesi örneğinin AFB1 Konsantrasyonları ELISA (Ridascreen, aflatoxin B1-r-biofarm) ile analiz edildi.

AFB1 ekstraksiyonu için 2 g örnek ve 7 ml methanol (100%) kullanıldı. İki ml filtrate santrifüj tüpüne konuldu ve 2 ml distile su ve 3 ml dichloromethane eklenerek santrifüj edildi (5 dk/3250 rpm/15 °C). Süpernatant atıldıktan sonra kalan dichloromethane tabakası kullanıldı. Sonra dichloromethane tabaka 50-60 °C'de buharlaştırıldı. Ekstraksiyon işlemi 0.4 ml PBS ve 1.5 ml heptane ile tekrarlandı. AFB1 testi için üstteki heptane tabakası atılarak methanol tabakası kullanıldı.

Bulgular

Bu çalışmada, incelenen süt ürünlerinin (krem peynir, tereyağı, beyaz peynir ve kaşar peyniri) %90.58 (233 numunenin 202'sinde) AFM1 varlığı saptanırken, 21 örnekte (%9.42) AFM1 saptanamadı. Ürünlere göre AFM1 varlığı; 49 krem peynir numunesinin 44 tanesinde (%89.8), 27 tereyağı örneğinin 25'inde (%92.6), 94 beyaz peynirin 86'sında (%91.49) ve 53 kaşar peynir örneğinin 47 tanesinde (%88.68) pozitif olarak saptandı.

12 beyaz peynir (%12.76), 1 tereyağı (%3.7) ve 7 kaşar peynir (%13.20) numunesinde tespit edilen AFM1 düzeyi, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen maksimum kabul edilebilir limitleri (peyaz peynir için 250 ng/kg ve tereyağı için 50 ng/kg) aştığı saptandı.

Total aflatoksin ise 51 iç findık numunesinin 47'si (%92.16) ile 40 kakaolu findık ezmesi örneğinin 39 tanesinde (%97.5) tespit edildi. İç findık ve kakaolu findık ezmesi numunelerinden birer tanesinin Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği tarafından kabul edilen maksimum limit olan 10 µg/kg'ı geçtiği tespit edildi. AFB1 ise incelenen 51 findık numunesinin 43 tanesinde (%84.32) ve 40 adet kakaolu findık ezmesi örneğinin 38 (%95) tanesinde saptandı. İç findık numunelerinin bir tanesinde tespit edilen AFB1 düzeyi yasal limitlerin üzerinde bulunurken, kakaolu findık ezmelerinde ölçülen düzeyler yasal limitler içinde bulundu.

Bakırcı (2001) tarafından yapılan çalışmada; incelenen 90 süt örneğinin %87.77 (79)'sinde AFM1 saptanmıştır. AFM1 varlığı pozitif bulunan 35 (%38.89) örnekte ise AFM1 düzeyleri yasal limitlerin üzerinde bulunmuştur.

Sarımehmetoğlu ve ark. (2004) tarafından 400 peynir örneğinde yapılan çalışmada; örneklerin 327 tanesinde AFM1 tespit edilirken bu numunelerin 110 tanesinin yasal limitlerin üzerinde aflatoksin içerdiği saptanmıştır.

Oruç ve Sonal (2001) tarafından Bursa'da süt ve peynir örneklerinde AFM1 düzeyleri araştırılmış ve incelenen örneklerin %89.5 aflatoksin varlığı tespit edilmiştir. Tarafımızdan yapılan bu çalışmada süt ürünlerinde AFM1 kontaminasyonu %90.58 olarak bulunmuştur. Ayçiçek ve ark. (2002) tarafından İstanbulda tüketime sunulan 183 tereyağı ve peynir örneğinde AFM1 kontaminasyonu sırasıyla %65 ve %81 olarak bulunmuştur.

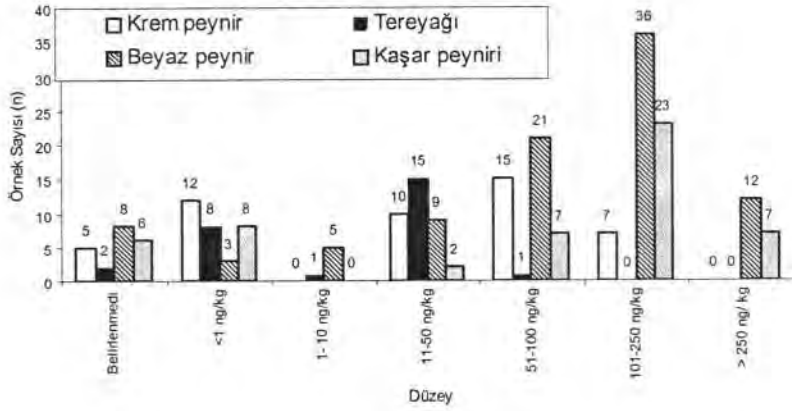
Sonuç

Sonuç olarak incelenen süt örnekleri ile iç fındık ve kakaolu fındık ezmesi örneklerinin büyük bir kısmında aflatoksin varlığı saptanmıştır. Büyük orandaki aflatoksin kontaminasyonu süt ve süt ürünleri ile bazı gıda maddelerinde periyodik olarak kontaminasyon belirleme çalışmalarının yapılmasını zorunlu kılmaktadır.

Kaynaklar

- Abdulkadar, A. H. W., Abdulla A., & Jasim A. (2000). Aflatoxin contamination in edible nuts imported in Qatar. *Food Control* 11, 157,160.
- Anonymous (2001). Aflatoxins in Foods. Risk Assessment Studies. Report no. 5. Food and Environmental Hygiene Department.
- Anonymous (2002a). Türk Gıda Kodeksi Tebliği. Resmi Gazete, 23 Eylül 2002, Sayı: 24885, Ankara: Başbakanlık Basımevi
- Anonymous (2002b). Commission Regulation (EC) No 257/2002. Amending Regulation (EC) No 194/97 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs and Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Communities. 13.2.2002. L41/12-15.
- Aycicek, H., Yarsan, E., Sarimehmetoglu, B., & Cakmak, O. (2002). Aflatoxin M1 in White Cheese and Butter Consumed in İstanbul, Turkey. *Veterinary and Human Toxicology*, 44 (5), 295-296.
- Bakirci, I. (2001). A study on the Occurence of Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products Produced in Van Province of Turkey. *Food Control*, 12, 47-51.
- Dagoglu, G., Keles, O., Yıldırım, M. (1995). Peynirlerde aflatoksin düzeylerinin ELISA ile araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21, 313-317.
- Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De Angelis, A., & Galvano, G. (2001). Survey of the Occurence of Aflatoxin M1 in Dairy Products Marketed in Italy: Second Year of Observation. *Food Additives and Contaminants*, 18, 7, 644-646.
- Garden, S. R., & Strachan, N. J. C. (2001). Novel colorimetric immunoassay for detection of aflatoxin B1. *Analytica Chimica Acta*, 444, 187-191.
- Günşen, U., & Büyükyörük, İ (2002). Aflatoxins in retail food products in Bursa, Turkey. *Veterinary and Human Toxicology*, 44, 289-290.

- Günşen, U., & Büyükyörük, İ. (2003). Determination of bacteriological qualities and aflatoxin M1 levels of commercially available fresh Kashar cheeses. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 27, 821-825.
- Kocabaş, C. N., & Şekerel, B. E. (2003). Does Systemic Exposure to Aflatoxin B1 Cause Allergic Sensitization? *Allergy*, 58, 363.
- Kotsonis, F. N., Burdock, G. A. & Flamm, W. G. (1996). Food Toxicology. In: Cassarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, Mc Graw-Hill, Chapter 30, (pp.938-939).
- Moss, M. O. (2002). Risk assessment for aflatoxins in foodstuffs. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50, 137-142.
- Oruc, H. H., & Sonal, S. (2001). Determination of aflatoxin M1 levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Veterinary and Human Toxicology*, 43, 292-293.
- Peraica, M., Radić, B., Lucić, A., & Pavlović, M. (1999). Toxic Effects of Mycotoxins in Humans. *Bulletin of the World Health Organization*. 77, 754-766.
- Pietri, A., Bertuzi, P., & Piva, G. (1997). Aflatoxin M1 occurrence in samples of Grana Padano cheese. *Food Additives and Contaminants*, 14, 341-344.
- Rastogi, S., Dwivedi, D. P, Khanna, K. S., & Das, M. (2003). Detection of Aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian Markets by ELISA. *Food Control*, (Article in press).
- Sarımehmetoglu, B., Küplülü, O., & Çelik, T. H. (2003). Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Control*, (Article in press).
- Selim, M. I., Popendorf, W., Ibrahim, M. S., el Sharkawy, S., & el Kashory, E. S. (1995). Aflatoxin B1 in common Egyptian foods. *Folia Microbiology (Praha)*, 40, 297-300.
- Stubblefield, R. D., & Shannon, G. M. (1974). Aflatoxin M1 analysis in dairy products and distribution in dairy foods made from artificially contaminated milk. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 57, 847



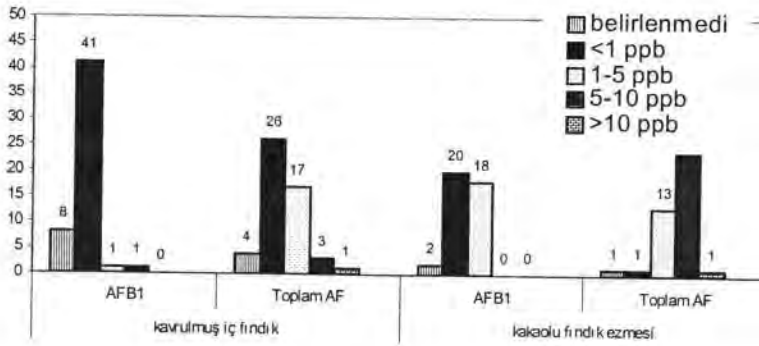
Şekil 1: Süt ürünlerindeki AFM1 düzeyleri

Tablo 1: Süt ürünlerindeki AFM1 konsantrasyonları

AFM1 düzeyi	Krem peynir (n)	Tereyağı (n)	Beyaz peynir (n)	Kaşar peyniri (n)
Belirlenmedi	5 (10.20%)	2 (7.40%)	8 (8.51%)	6 (11.32%)
<1 ng/kg	12 (24.48%)	8 (29.62%)	3 (3.19%)	8 (15.09%)
1- 10 ng/kg	0	1(3.70%)	5 (5.31%)	0
11-50 ng/kg	10 (30.61%)	15(55.50%)	9 (9.57%)	2 (3.77%)
51-100 ng/kg	15 (14.28%)	1(3.70%)	21(22.34%)	7 (13.20%)
101-250 ng/kg	7 (10.20%)	0	36 (38.29%)	23 (43.39%)
> 250 ng/ kg	0	0	12 (12.76%)	7 (13.20%)
Tespit edilen örnek	44 (89.80%)	25 (92.60%)	86 (91.49%)	47 (88.68%)
Toplam (n)	49	27	94	53

Tablo 2: Kavrulmuş iç fındık ve kakaolu fındık ezmesi örneklerindeki Toplam ve AFB1 düzeyleri

Toplam ve AFB1 Düzeyleri	Kavrulmuş iç fındık		Kakaolu fındık ezmesi	
	AFB1	Toplam AF	AFB1	Toplam AF
Tespit edilemeyen	8 (15.68%)	4 (7.84%)	2 (5%)	1 (2.5%)
<1 ppb	41 (80.39%)	26 (50.98%)	20 (50%)	1 (2.5%)
1-5 ppb	1 (1.96%)	17 (33.33%)	18 (45%)	13 (32.5%)
5-10 ppb	1 (1.96%)	3 (5.88%)	0	24 (60%)
>10 ppb	0	1 (1.96%)	0	1 (2.5%)
Toplam		51		40



Şekil 2: Kavrulmuş iç fındık ve kakaolu fındık ezmesi örneklerindeki Toplam ve AFB1 düzeyleri

ELISA TEKNİĞİ İLE ET VE ET ÜRÜNLERİNDE TÜR TAYİNİ

Yıldız AYAZ¹ N. Deniz AYAZ² İrfan EROL²

¹Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Gıda Kontrol Laboratuvarı-
Ankara

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Ankara

Özet: Et ve et ürünlerine hile amaçlı karıştırılan farklı et türlerinin tespiti, tüketicinin korunması, gıdalarda etiket bilgisi mevzuatının uygulanması ve haksız rekabetin önlenmesi açısından önem taşımaktadır. Et ve et ürünlerinde hayvan türlerinin tayininde, serolojik, histolojik, immünokimyasal ve moleküler biyolojik tekniklerle birlikte yüksek duyarlılığı, spesifitesi ve kullanımının pratik olmasına bağlı olarak ELISA tekniği en yaygın olarak kullanılan metotlardan biridir.

Bu çalışmada Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne getirilen 28 sucuk, 14 salam, 11 sosis, 9 parça et, 16 kıyma ve köfte, 10 pastırma, ham ve bacon, 7 kavurma ve 5 konserve olmak üzere çoğu şüpheli toplam 100 çiğ veya pişmiş et ve et ürünü materyal olarak kullanılmıştır. Örneklerin tür tayini ticari olarak bulunan, monoklonal antikor tekniği ile hazırlanmış ELISA test kitleri ile yapılmıştır. Yapılan analizler neticesinde, 28 sucuktan 11'inin (%39.2), 14 salamdan 5'inin (%35.7), 11 sosisten 3'ünün (%27.2), 9 parça etten 2'sinin (%22.2), 16 kıyma ve köfteden ise 1'inin (%6.25) olmak üzere toplam 100 çiğ veya pişmiş et ve et ürünlerinden 22'sinin (%22.0) etiket bilgileri ile bağdaşmadığı görülmüştür. Buna göre sığır eti olarak belirtilmiş 11 sucuk, 5 salam ve 3 sosis örneğinin sığır ve tavuk etinden yapılmış olduğu, sığır eti olarak bildirilmiş 2 parça et örneğinden birinin geyik eti, diğerinin tek tırnaklı hayvan eti olduğu ve sığır eti olarak bildirilmiş 1 köfte örneğinin ise tavuk etinden yapılmış olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak analizi yapılan çiğ veya pişmiş et ve et ürünlerinin %22'sinin Türk Gıda Kodeksine uygun olmadığı saptanmıştır. Bu veriler doğrultusunda, tüketicinin korunması, haksız rekabetin önlenmesi için devlet kuruluşlarının ilgili laboratuvarlarında söz konusu gıdaların sürekli ve düzenli olarak kontrollerinin yapılması gerekliliği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Et ve et ürünleri, tür tayini, ELISA

Detection of Species in Meat and Meat Products Using ELISA

Abstract: Detection of species adulteration in meat products is important for consumer protection and food labeling law enforcement. Meat species can be identified by serological, histological, immunochemical or molecular biological methods but ELISA, an immunological method, which is highly sensitive, specific and practical, is the most effective method to use of detecting meat species in meat and meat products.

In this study, 28 fermented sausages, 14 cooked salamis, 11 frankfurters, 9 raw meats, 16 raw ground meats and meat balls, 10 pastramies, hams and bacons, 7 cooked meats and 5 canned products, totally 100 generally uncertain meat and meat products, which were sent to Etlik Central Veterinary Control and Research Institute, were analyzed by commercially available ELISA test kit prepared with monoclonal antibody technic. In general, 11 of 28 fermented sausages (39.2%), 5 of 14 cooked salamis (35.7%), 3 of 11 frankfurters (27.2%), 2 of 9 raw meats (22.2%) and 1 of the 16 raw ground meats and meat balls (6.25%) were found to contain undeclared species. 11 fermented sausages, 5 cooked salamis, and 3 frankfurters which were declared as beef but found as a mix of beef and poultry meat. 2 raw meat samples declared as beef, one of these two samples was identified as horse and the other one as deer meat. One meatball declared as beef was found as poultry meat. So that 22.0% of the samples were against to Turkish Food Codex. In conclusion, in order to protect consumer and to avoid unfair competition, governmental laboratories must control the meat and meat products continuously and regularly.

Key words: Meat and meat products, species identification, ELISA

Giriş

Et ürünlerine istenmeyen veya düşük değerli et türlerinin karıştırılması, ekonomik, dinî ve sağlık yönünden olduğu kadar (Berger ve ark., 1988), et ürünleri üretiminde kullanılan et türlerinin tespiti ve mevzuata uygunluğunun kontrolü de gıda mevzuatı ve tüketici hakları yönünden büyük öneme sahiptir (Shericar ve ark., 1993).

Et ürünlerine hile amacıyla ucuz et türlerinin karıştırılması, üreticiye haksız ekonomik kazanç sağlarken, bazı et türlerine hassasiyet gösteren insanlarda alerjik reaksiyonların şekillenmesiyle sağlık problemlerine neden olmakta ve dini inanışlar doğrultusunda bazı et türlerini tüketmeyen insanlar aldatılmaktadır (Hsieh ve ark., 1997). Ayrıca BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy) hastalığının ortaya çıkmasına bağlı olarak et türlerinin tespiti daha da önem kazanmıştır (Necidova ve ark., 2002).

Kanatlı etinin memeli hayvan etlerine oranla daha az doymuş yağ ve kolesterol içermesi nedeniyle Avrupa'da kanatlı eti tüketiminin artmasına bağlı olarak kanatlı eti üretiminin arttığı, bu nedenle diğer kasaplık hayvanların etinden üretilen ürünlere hile amacıyla kanatlı dokularının mekanik olarak katılması olasılığının yükseldiği bildirilmiştir (Hsieh ve ark., 1996).

Et ve et ürünlerinde hayvan türlerinin tayininde serolojik (Reddy ve ark., 2000), histolojik (Tremlova, 2000), immünokimyasal (Rencova ve ark., 2000) ve moleküler biyolojik (Kremar ve Rencova, 2001) tekniklerin yanında, yüksek duyarlılığı, spesifitesi ve kullanımının pratik olması nedeniyle, ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) tekniği en yaygın olarak kullanılan metotlardan biridir (Hsieh ve ark., 1997). ELISA tekniği ile et türlerinin tespitinde, türe özgü antikorlar kullanılmaktadır. Bu amaçla, poliklonal ve monoklonal olmak üzere türe özgü iki tip antikor bulunmaktadır (Hsieh ve ark., 1997). Bu antikorların ikisi de kullanılmasına rağmen, poliklonal antikorların sınırlı üretilmeleri, kararsız afiniteleri ve türlerin identifikasyonunda çapraz reaksiyonların engellenmesi için geniş arındırma işlemi gerektirmeleri gibi bazı dezavantajları bildirilmiştir (Stevenson ve ark., 1994). Buna karşın monoklonal antikorlar, homojen antikor popülasyonuna sahip olmaları (Kohler ve ark., 1975), tanımlanmış biyolojik aktiviteleri, spesifiteleri ve sınırsız üretilmeleri ile testin kalitesini artırmaları yanında, test maliyetini düşürmeleri nedeniyle tercih edilmektedirler (Bilet ve ark., 1996). Bu nedenle ısı işlemi görmüş etlerin yanında çiğ kanatlı (Billett ve ark., 1996), at (Garcia ve ark., 1994) ve domuz (Morales ve ark., 1994) etlerinin tespiti amacıyla monoklonal antikorlarla hazırlanmış ELISA test kitleri geliştirilmiştir.

Bu çalışmada, monoklonal antikor sandviç (Mab sandwich) ELISA test kitleriyle et ve et ürünlerinin içerdiği et türleri tespit edilerek, ülkemizde üretilen bazı et ve et ürünlerinin Türk Gıda Kodeksi'ne uygunluğu araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada, Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne çoğu şüpheli olarak 14. 12. 2000 – 11. 12.2002 tarihleri arasında getirilen 28 sucuk, 14 salam, 11 sosis, 9 parça et, 16 kıyma ve köfte, 10 pastırma, ham ve bacon, 7 kavurma ve 5 konserve olmak üzere toplam 100 adet et ve et ürünü materyal olarak kullanıldı.

Isı işlemi görmüş et ve et ürünlerinde, et türlerinin ELISA yöntemiyle analizi Biokits Cooked Meat Species Identification Kit ile yapıldı.

Numunenin Teste Hazırlanması :

-Numunelerden (çiğ, pişmiş veya ısı işlemi görmüş et ürünlerinden) 25 g tartılıp, ince ince kıyılarak küçük parçalara ayrıldı.

-Üzerine 100 ml distile su veya serum fizyolojik eklenerek stomacher ya da blenderda homojen hale getirildi.

-Çiğ veya az pişmiş numuneler, su banyosunda kaynama derecesinde 10 – 15 dakika bekletildi. Soğuduktan sonra Whatman No: 4 filtre kağıdından süzülerek teste hazır hale getirildi.

Testin Yapılışı :

-Plaklarda her hayvan türü için 1 pozitif kontrol gözü, 2 negatif kontrol gözü için, diğer gözler ise numune/numuneler için ayrıldı.

-Pozitif kontrol gözüne stripte adı yazılı türe ait serumdan 100 µl konuldu.

-Negatif gözlere diğer pozitif serumlardan 100 µl konuldu.

-Diğer gözlere de 100 µl numunelerin sıvılarından konuldu.

-Plaklar oda ısısında 60 dk. çalkalayıcı da bekletildi.

-Plaklardaki sıvılar dökülerek, yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı, pleyt kurutma kağıdı üzerine vurularak kurutuldu.

-Bütün gözlere 50 µl kontrol edilecek tür spesifik antiserum (Anti-species Biotinylate) eklenerek, oda sıcaklığında 60 dakika çalkalayıcıda bekletildi.

-Plaklar boşaltılarak, yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı ve vurarak kurutuldu.

-Bütün gözlere 50 µl Avidin Peroxidase Conjugate konularak, oda sıcaklığında 30 dk çalkalayıcıda bekletildi.

-Plaklar boşaltılarak yıkama solusyonu ile 5 kere yıkandı ve vurarak kurutuldu.

-Bütün gözlere 100 µl substrat (Working ABTS solusyonu) konarak, oda sıcaklığında 60 dk çalkalayıcıda bekletildi.

-Süre sonunda her göze 50 µl Stop Solution eklenerek reaksiyon durduruldu.

-ELISA okuyucusunda OD→ 405- 420 (ortalama 414) nm de absorbans değerleri ölçüldü (sabit sayı).

$$\text{Cut Off değeri} = \frac{\text{Negatif Kontrollerin Abs.Değ. Toplamı}}{\text{Negatif kontrol Sayısı}} \times F$$

$$F = 2.5$$

Sonuç : Örneğin okunan absorbans değeri Cut off değerinden büyük veya eşitse sonuç pozitif olarak değerlendirilir.

Örneğin absorbans değeri Cut off değerinden küçükse sonuç negatif olarak değerlendirilir.

Bulgular

Yapılan analizler neticesinde, 28 sucuktan 11'i (% 39.2), 14 salamdan 5'i (% 35.7), 11 sosisten 3'ü (% 27.2), 9 parça etten 2'si (% 22.2), 16 kıyma ve köfteden 1'i olmak üzere, toplam 100 çiğ veya pişmiş et ve et ürününden 22'sinin (% 22) etiket bilgileri ile bağdaşmadığı görülmüştür (Tablo 1).

Tablo 1. Analizi yapılan et ve et ürünlerine ait sonuçlar

	Numune sayısı	Etiketten farklı numune sayısı	Hileli numune %
Sucuk	28	11	39.2
Salam	14	5	35.7
Sosis	11	3	27.2
Parça et	9	2	22.2
Kıyma-Köfte	16	1	6.25
Pastırma-Ham Bacon	10	0	0
Kavurma	7	0	0
Konserve	5	0	0

Buna göre sığır eti olarak hazırlanmış 11 sucuk, 5 salam ve 3 sosis örneğinin sığır ve tavuk etinden yapılmış olduğu, sığır eti olarak belirtilmiş 2 parça et örneğinin birinin geyik eti diğerinin tek tırnaklı hayvan eti olduğu ve sığır eti olarak bildirilen 1 köfte örneğinin ise tavuk etinden yapılmış olduğu tespit edilmiştir.

MAB sandviç ELISA tekniği ile çiğ veya ısı işlemi görmüş et ve et ürünleri ile yapılan çalışmada, numunelerin % 22'sinin etiket bilgileri ile uyuşmadığı ve Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olmadığı saptanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Analizi yapılan et ve et ürünlerinin Türk Gıda Kodeksine uygunluk durumu

Sonuç

Elde edilen veriler doğrultusunda, tüketicinin korunması ve haksız rekabetin önlenmesi için devlet kuruluşlarının ilgili laboratuvarlarında söz konusu gıdaların sürekli ve düzenli olarak kontrollerinin yapılması gerekliliği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Berger, R. G., R. P. Mageau, B. Schwab, R. W. Johnston, (1988). Detection of poultry and pork in cooked and canned meat foods by enzyme linked immunosorbent assays. *J. AOAC Int.* 71(2): 406- 409.
- Billett, E. E., R. Bevan, B. Scanlon, K. Pickering, B. Gibbons, (1996). The use of a poultry specific murine monoclonal antibody directed to the insoluble muscle protein desmin in meat speciation. *J. Sci. Food Agric.* 70: 396- 404.
- Cortecs Diagnostics. Cooked meat species identification kit.
- Garcia, T., R. Martin, P. Morales, A. I. Haza, G. Anguita, I. Gonzalez, B. Sanz, P. E. Hernandez, (1994). Production of a horse specific monoclonal antibody and detection of horse meat in raw meat mixtures by an indirect ELISA. *J. Sci. Food Agric.* 66: 411-415.
- Hsieh, Y. H. P., F. C. Chen, S. C. Sheu, (1997). A. AES research developing simple, inexpensive tests for meat products. *Highlights of Agricultural Research.* 44(2): Summer.
- Hsieh, Y. H. P., M. A. Johnson, C. J. Wetzstein, N. R. Green, (1996). Detection of species adulteration in pork products using agar gel immunodiffusion and enzyme linked immunosobent assay. *J. Food Quality* 19: 1-9.
- Kohler, G., C. Milstein, (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* 256: 495- 497.
- Kremar, P., E. Rencova, (2001). Identification of bovine specific DNA in feedstuffs. *J. Food Protect.* 64: 117- 119.
- Morales, P., T. Garcia, I. Gonzalez, R. Martin, B. Sanz, P. E. Hernandez. (1994). Monoclonal antibody detection of porcine meat. *J. Food Prot.* 57:146-149.
- Necidova, L., E. Recencova, L. Svoboda (2002). Counter immunoelectrophoresis: a simple method for detection of species specific muscle proteins in heat processed products. *Vet. Med.- Czech.* 47(5): 143- 147.
- Reddy, P. M., V. S. L. Reddy, Z. S. Rao, G. K. Murthy (2000). Identification of origin of fresh,cooked, and decomposed meats by using brain antigens. *J. Food Sci. Technol.* 37: 201- 203.
- Rencova, F., L. Necidova, L. Svoboda (2000). Identification by ELISA of poultry, horse, kangaroo, and rat muscle specific proteins in heat processed products. *Vet. Med. – Czech.* 45(12): 353-356.

Shericar, A. T., U. D. Karkare, J. B. Khot, B. M. Jayarao, K. N. Bhilegaonkar (1993). Studies on thermostable antigens, production of species specific antiadrenal sera and comparison of immunological techniques in meat speciation. *Meat Sci.* 33: 121- 136.

Stevenson, A., K. Pickering, M. Griffin. (1994). Detection of chicken meat in raw meat mixtures by the double method of an enzyme immunoassay and an immunoblotting technique. *Food Agric. Immunol.* 6:297-304.

Tremlova B. (2000). Histologischer Nachweis von Knochenpartikein in Fleischprodukten. *Fleiswirtsch.* 80: 73- 74.

KAZ ETİNİN PASTIRMA ÜRETİMİNDE KULLANILABİLME İMKANLARI

**Yusuf DOĞRUER Ahmet GÜNER Gürkan UÇAR Ümit
GÜRBÜZ Abdullah KELEŞ**

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Konya

Özet: Kaz etinden üretilen pastırmaların kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal niteliklerine tuzlama yöntemi ve dumanlama uygulamasının etkisini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada materyal olarak dondurulmuş kaz göğüs etleri kullanıldı. Deneysel pastırma üretiminde kullanılan kaz etleri önce iki gruba ayrıldı. Bir gruba geleneksel, diğer gruba da salamura yöntemiyle tuzlama işlemi uygulandı. Çemenleme işlemi sonrası bu iki ana grup iki alt gruba ayrıldı; bir gruba dumanlama işlemi uygulanırken diğerine herhangi bir işlem yapılmadı. Böylece uygulanan tuzlama yöntemi ve dumanlama işlemine göre birbirinden farklı dört grup elde edildi. Kaz pastırmaları üretim periyodunun belirli dönemlerinde (tuzlama öncesi ve sonrası, çemenleme öncesi ve sonrası) kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal nitelikleri yönünden analizlere tabi tutuldu.

Kimyasal analiz bulgularına göre; kaz pastırmalarının rutubet ve protein miktarlarında tuzlama sonrası, çemenleme öncesi ve sonrasında, aw değerlerinde çemenleme öncesi ve kül miktarlarında da çemenleme sonrasında gruplar arasında önemli fark meydana gelmiştir.

Mikrobiyolojik olarak tuzlama sonrasında *Staphylococcus-Micrococcus* bakteri sayısında ve çemenleme sonrasında da laktik asit bakterilerinin sayısında gruplar arasında ortaya çıkan fark önemli bulunmuştur.

Kaz pastırmalarına lezzet, tekstür, renk ve görünüm açısından yapılan duyuşal değerlendirmede, en yüksek puanlar sadece salamura uygulanan numunelere verilmiştir. Salamura+dumanlama işlemi uygulanan numunelerde bütün özellikler yönünden en düşük puanlarla değerlendirilmiştir.

Sonuçta, kaz etinden de hindi, tavuk ve sığır etinden üretilen özelliklerde pastırma üretiminin mümkün olabileceği, özellikle duyuşal değerlendirme bulguları dikkate alındığında kaz etinden yapılan pastırmalarda salamura yönteminin geleneksel tuzlama yöntemine iyi bir alternatif olacağı, dumanlama işleminin de pastırmanın kalitesine dikkate değer bir etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kaz eti, pastırma

The Possibility of Using Goose Meat in Pastırma Production

Abstract: This study was carried out to determine the effects of different salting methods and smoking application on chemical, microbiological and sensory properties of pastırma produced from frozen goose meat. Goose meat used in pastırma production was divided into two groups. First group was salted by dry salting (traditional method) the second group was salted by brining. After çemen coating these two groups were divided into two subgroups. And one group smoked and the other not. So experimental pastırma samples were produced in four groups. Samples were analyzed for chemical, microbiological and sensory properties on different stage of (before and after salting, before and after çemen coating) production period.

In chemical analysis of goose pastırma samples, significant differences were observed between groups in moisture and protein contents at the stages of after salting and before and after çemen coating. Aw values of goose pastırma samples were differed at the stage of before çemen coating. Ash contents were differed only in the stage of after çemen coating.

Microbiologically, there were significant differences between the groups in *Staphylococcus* and *Micrococcus* counts at the stage of after salting. After after çemen coating stage, significant differences were observed only in lactic acid bacteria counts.

In sensory analysis, brined samples were obtained highest scores. Brined and smoked samples were took the lowest points.

As a result, it was concluded that goose meat can be used in pastırma production. According to sensory analysis, brining method may be alternative to traditional salting techniques in pastırma production. Smoking application has no important effect on pastırma quality.

Key words: Goose meat, pastırma

Giriş

Pastırma, kendine özgü üretim teknolojisiyle asırlardan beri üretilen Türklere özgü bir et ürünüdür. Pastırma üretiminde çoğunlukla sığır gövde etleri kullanılır. Bunun yanı sıra deve, manda ve koyun etlerinden de pastırma yapılmaktadır (TSE, 1993). Pastırma üretiminde kırmızı etin yanı sıra başta hindi olmak üzere kanatlı hayvan etleri de kullanılmaktadır. Nitekim, tavuk etinden pastırma yapımı hakkındaki ilk yazılı bilgilere Fahriye Hanım (Tekinşen ve Doğruer, 2000) tarafından yazılan 1894 tarihli Ev Kadını adlı eserde rastlanılmaktadır. Eserde, pastırma yapımında tavuk göğüs etlerinin kullanıldığı, tuzlanıp baskıya alınan etlerin gölgede kurutulduktan sonra çemenlendiği belirtilmektedir. Ergün ve ark. (Ergün ve ark, 1995) da

tavuk ve hindi etlerinin but kısımlarının pastırma üretiminde kullanılarak değerlendirildiğini ifade etmişlerdir. Doğruer (Doğruer, 2001) tavuk ve hindi etlerinin göğüs kısımlarından pastırma üretilebileceğini ifade etmiştir.

Bu araştırmada, Türk halkının damak zevkine ters düşmeyecek aroma ve lezzette "kaz pastırması" üreterek kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal kaliteleri yönünden incelemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan kaz eti Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çiftliğinden sağlandı. Kesilmiş ve temizlenmiş kaz etleri, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nın Et ve Süt Ürünleri Araştırma-Geliştirme ve Uygulama Ünitesinde parçalanarak, et, deri ve kemiklerinden ayrıldı. Parçalama sonrası elde edilen göğüs etleri deneysel üretime alınmadan önce derin dondurucuda muhafaza edildi.

Deneysel pastırma üretiminde kullanılan kaz etleri önce iki gruba ayrıldı. Bu gruplara geleneksel ve salamura yöntemiyle tuzlama işlemi uygulandı. Kuru tuzlamada, et ağırlığının % 7'si nispetindeki karınca başı büyüklüğündeki tuza %1 oranında nitrat ilave edildi. Salamura, % 15 tuz, %0.1 şeker ve % 0.015 nitrat katılarak hazırlandı. Çemenleme işlemi sonrası bu iki ana grup iki alt gruba ayrıldı; bir gruba dumanlama işlemi uygulanırken diğerine herhangi bir işlem yapılmadı. Dumanlama işlemi 50 °C'de 2 saat süreyle gerçekleştirildi. Pastırma üretimindeki diğer aşamalarda geleneksel yöntemle bağlı kalındı (Tekinşen ve Doğruer, 2000). Kaz pastırmalarının kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri ile ilgili analizler üretim safhalarının 4 ayrı döneminde (tuzlama öncesi, tuzlama sonrası, çemenleme öncesi ve son ürün), duyuşsal analizler de son üründe yapıldı. Deneysel üretim farklı zamanlarda üç kez gerçekleştirildi.

Numunelerin bileşimsel analizlerinde protein, rutubet, yağ, kül ve tuz miktarları ve pH değerleri AOAC (AOAC, 1984)'nin referans metotlarına göre belirlendi. Numunelerin su aktivitesi değeri portatif bir higrometre cihazında (a_w , Wertmesser) ölçüldü (Leistner ve Rodel, 1975).

Genel canlı mikroorganizmaların sayımı için plate count agar (Oxoid), *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakterilerin sayımında violet red bile dextrose agar (Oxoid), *Staphylococcus-Micrococcus* bakterilerinin tespitinde Baird-Parker agar (Oxoid), *Lactobacillus* sayımı için Rogosa'nın acetate agarı (Oxoid), maya ve küf sayımında potato dextrose agar (Oxoid) kullanıldı. *Salmonella* aranmasında, ön zenginleştirme amacıyla laktoz broth besi yeri, izolasyon amacıyla da Rambach agar kullanıldı (Harrigan ve Mc Cance, 1976).

Pastırma numuneleri son üründe lezzet, tekstür (çiğneme özelliği ve sululuk derecesi), görünüş (iç ve dış) ve genel beğeni nitelikleri yönünden 6 kişilik uzman panelist tarafından değerlendirildi (Stone ve Sidel, 1985).

Araştırmada elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde Software paket programı SPSS/PC (versiyon 10.0) kullanılarak varyans analizi uygulandı (Steel ve Torrie, 1981).

Bulgular

Kaz etinden pastırma yapımının değişik safhalarında elde edilen bazı kimyasal analiz bulguları Tablo 1, mikrobiyolojik muayene bulguları Tablo 2 ve duyuşsal değerlendirme sonuçları Tablo 3'de gösterilmektedir.

Sonuç

Kaz pastırması üretiminde kullanılan kaz göğüs etlerinin rutubet miktarları %56.95-58.51 arasında tespit edildi (Tablo 1). Tuzlama işlemi sonrasında, kuru tuzlananların rutubetleri %47.37 ve 48.54, salamura uygulananlarınkı de %65.71 ve 67.41 olarak belirlendi (Tablo 1). Tuzlama yöntemi dikkate alındığında uygulamalar arasında meydana gelen fark önemli bulundu ($P<0.01$). Bu durum muhtemelen salamurada bekletme sırasında dondurulmuş et kullanımının bir sonucu olarak etlerin çözündürme sırasında kaybettikleri suyu tekrar absorbe etmelerinden kaynaklanabilir. Tuzlama işlemi sonrasında tespit edilen rutubet miktarları Doğruer'in (Doğruer, 2001) hindi ve tavuk pastırmalarında tespit ettikleri değerlerden düşük bulundu. Ancak, geleneksel tuzlama yöntemi uygulanan numunelerin rutubetlerinde belirlenen azalma oranı (%9-10), Doğruer (Doğruer, 2001)'in tavuk ve hindi pastırmalarında bildirdikleri değerlerle uyum içindedir. Çemenleme öncesinde ve sonrasında kuru tuzlama uygulanan numunelerin rutubetleri salamura yöntemi uygulananlara göre daha düşük bulundu. Ayrıca çemenleme sonrasında numunelerin rutubet miktarları bakımından gruplar arasında önemli fark meydana geldi ($P<0.05$)(Tablo 1). Çemenleme öncesi ve sonrasında kuru tuzlama yöntemiyle üretilen kaz pastırmasına ait rutubet değerleri ile bazı araştırmacıların (Doğruer, 2001; Doğruer ve Güner, 2001) tavuk ve hindi pastırmalarında tespit ettikleri değerler arasında paralellik söz konusudur. Kaz pastırmalarının rutubet miktarları Türk Standartları Enstitüsü (TSE, 1983) Pastırma Standardında ve Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği'nde (Resmi gazete, 2000) belirtilen değerin (≤ 40) üzerinde çıkmıştır.

Kaz pastırması yapımında kullanılan etlerin yağ miktarları %1.65-3.89 arasında değişkenlik gösterirken, çemenleme sonrasında pastırmaların yağ miktarları %3.35-4.64 arasında tespit edildi (Tablo 1). Kaz

pastırmalarının yağ miktarları ile bazı araştırmacıların (Doğruer, 2001; Doğruer ve Güner, 2001) tavuk ve hindi pastırmalarında tespit ettikleri değerler yakın bulundu.

Kaz pastırması üretiminde kullanılan etlerin protein miktarları %37.76-39.29 arasında değişkenlik gösterirken, kaz pastırmalarında bu değerler %40.61-49.35 arasında tespit edildi. Numunelerin protein oranları dikkate alındığında tuzlama öncesi dışında kalan diğer dönemlerde tuzlama yöntemine bağlı olarak ortaya çıkan fark önemli bulundu ($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.05$)(Tablo 1). Kuru tuzlama yöntemi uygulanan numunelerin protein miktarları salamura yöntemi tatbik edilenlere göre daha yüksek bulundu. Bu durum muhtemelen numunelerin rutubet miktarlarındaki farklılıktan ileri gelmektedir. Kaz pastırmalarının protein oranları ile Doğruer'in (Doğruer, 2001) hindi ve tavuk pastırmalarında belirlediği değerler arasında uyum belirlenmiştir.

Kaz pastırması yapımında kullanılan etlerin kül miktarları %1.36-1.59 arasında bulundu. Kaz pastırmalarının kül miktarları ise %5.62-7.69 arasında tespit edildi. Çemenleme sonrasında kül miktarlarında gruplar arasında ortaya çıkan fark önemli bulundu ($P<0.05$)(Tablo 1). Salamura uygulanan numunelerin kül miktarları kuru tuzlama yöntemiyle üretilenler göre daha yüksek bulundu.

Kaz pastırmalarının tuz miktarları %5.38-6.97 arasında tespit edildi. Salamura uygulanan numunelerin tuz miktarları kuru tuzlama yöntemiyle üretilenlere göre daha yüksek bulundu. Kaz pastırmalarının tuz miktarları Doğruer'in (Doğruer, 2001) tavuk ve hindi, Doğruer ve Güner'in (Doğruer ve Güner, 2001) hindi pastırmalarında tespit ettikleri değerlerden daha düşük bulundu. Kaz pastırmalarının tuz miktarları, Türk Standartları Enstitüsü (1983) Pastırma Standardında (TSE, 1983) ve Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği'nde (Resmi gazete, 2000) öngörülen sınırlar içerisinde olduğu saptandı.

Kaz pastırması yapımında kullanılan etlerin pH değerleri 5.53-5.66 arasında değişkenlik gösterirken çemenleme sonrasında pastırmaların pH değerleri 5.19-5.53 arasında tespit edildi. Kaz etinden üretilen pastırmaların pH değerleri Türk Standartları Enstitüsü (TSE, 1983) Pastırma Standardında ve Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği (2000)'nde öngörülen sınırlarda saptandı.

Kaz pastırması yapımında kullanılan etlerin su aktivitesi (a_w) değerleri 0.92-0.93, çemenleme sonrasında pastırmaların a_w değerleri 0.89-0.90 arasında tespit edildi. Çemenleme öncesinde, numunelerin a_w değerlerinde tuzlama yöntemine bağlı olarak gruplar arasında önemli fark meydana geldi ($P<0.01$)(Tablo 1). Kuru tuzlama uygulanan numunelerin daha düşük a_w değerine sahip oldukları gözlemlendi. Kaz pastırmalarının a_w değerleri bazı araştırmacıların (Anıl, 1988;

Doğruer, 1992; El-Khateib ve ark, 1987) bildirdikleri değerlerle uyum içersindedir.

Kaz pastırmalarının toplam mezofilik aerob bakteri sayısı tuzlama öncesinde 5.13-5.51 log₁₀ kob/g arasında tespit edilirken, bu değer kaz pastırmalarında 7.13-8.05 log₁₀ kob/g arasında bulundu. Kaz pastırmalarının toplam mezofilik aerob bakteri sayısının bazı araştırmacıların (Doğruer, 2001; Doğruer ve Güner, 2001) hindi ve tavuk pastırmalarında tespit ettikleri değerlerle uyum içinde olduğu saptandı. Buna karşın Türk Standartları Enstitüsü Pastırma Standardında (TSE, 1983) belirtilen değerlerin üzerinde bulundu.

Pastırma yapımında kullanılan kaz etlerindeki *Micrococcus-Staphylococcus* bakteri sayısı 2.48-3.31 log₁₀ kob/g arasında iken, pastırmalarda bu oran 6.42-6.73 log₁₀ kob/g arasında tespit edildi (Tablo 2). Tuzlama yöntemi dikkate alındığında, kuru tuzlama uygulanan numunelerdeki *Micrococcus-Staphylococcus* bakteri sayısı salamura uygulananlara göre daha yüksek bulundu (P<0.05)(Tablo 2). Kaz pastırmalarının *Micrococcus-Staphylococcus* bakteri sayısı Doğruer'in (Doğruer, 2001) hindi ve tavuk, Doğruer ve Güner'in (Doğruer ve Güner, 2001) hindi pastırmalarında elde ettikleri sonuçlarla paralellik arz etmektedir.

Numunelerdeki *Enterobacteriaceae* bakterilerinin sayısı başlangıçta 1.02-1.64 log₁₀ kob/g, üretim periyodunun sonunda ise 0.43-2.87 log₁₀ kob/g arasında saptandı.

Kaz pastırmalarının maya-küf sayısı tuzlama öncesinde 3.83-4.10 log₁₀ kob/g arasında tespit edilirken, bu değer kaz pastırmalarında 3.45-4.48 log₁₀ kob/g arasında belirlendi. Kaz pastırmalarının maya-küf sayısı bazı araştırmacıların (Doğruer, 2001; Doğruer ve Güner, 2001) hindi ve tavuk pastırmalarında tespit ettikleri değerler ve Türk Standartları Enstitüsü Pastırma Standardında (TSE, 1983) öngörülen sınırların üzerinde bulundu.

Üretim periyodunun bütün dönemlerinde numunelerde *Salmonella* bakterisi tespit edilmedi. Elde edilen bulgular Doğruer (2001) ile Doğruer ve Güner'in (2001) sonuçlarıyla uyum içinde bulundu.

Kaz pastırmalarına lezzet, tekstür, renk ve görünüm açısından yapılan duysal değerlendirme en yüksek lezzet ve tekstür puanlarının dumanlama işlemi uygulanmayan numunelere verildiği saptandı. Yalnızca salamura uygulanan numunelerin bütün duysal özelliklerinin en üstün olduğu belirlendi. Salamura+dumanlama işlemi uygulanan numunelere bütün özellikler yönünden en düşük puanların verildiği gözlemlendi. Numunelerin lezzet, tekstür, renk ve görünüm puanları dikkate alındığında, uygulanan faktörlere bağlı olarak gruplar arasında ortaya çıkan fark önemli bulundu (P<0.01, 0.05, 0.01, 0.01)(Tablo 3).

Sonuçta, özellikle duysal değerlendirme bulguları dikkate alındığında, kaz etinden pastırma üretiminde salamura yönteminin geleneksel

tuzlama yöntemine iyi bir alternatif olacağı, dumanlama işleminin pastırmanın kalitesine dikkate değer bir etkisinin olmadığı, özellikle salamurada tuzlanan etlerden üretilen pastırmaların duysal özelliklerini önemli ölçüde düşürdüğü kanaatine varıldı.

Kaynaklar

- Anıl, N.(1988). Türk pastırması; Modern yapım tekniğinin geliştirilmesi ve vakumla paketlenerek saklanması Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg.,4,1,363-375.
- Association of Official Analytical Chemist (1984). "Offical Methods of Analysis". 14th ed., Association of Official Analytical Chemist, Virginia.
- Doğruer, Y.(1992). "Farklı Tuzlama Süreleri ve Baskılama Ağırlıklarının Pastırma Kalitesine Etkileri Üzerine Araştırmalar". Doktora Tezi. S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Konya.
- Doğruer, Y (2001). Geleneksel Pastırma Üretiminde Hindi ve Tavuk Etinin Kullanılabilme İmkanları. Vet. Bil. Derg., 17, 3, 37-42.
- Doğruer, Y. ve Güner, A. (2001). Konya'da Tüketime Sunulan Hindi Pastırmalarının Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesi. Vet. Bil. Derg., 17, 3, 65-69.
- El-Khateib, T., Schmidt, U. and Leistner, L.(1987). Microbiological stability of Turkish pastırma. Fleischwirthschaft, 67,1,101-105.
- Ergün, Ö., Bostan, K. ve Gökçe, R. (1995). Kanatlı etlerinin değerlendirilme şekilleri. VI. Hayvancılık ve Beslenme Sempozyumu 95, Tavuk Yetiştiriciliği ve Hastalıkları 23-25 Ekim, Konya.
- Harrigan, W.F. and Mc Cance, M.E.: "Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology" Revised ed., Academic Press, London. 1976.
- Leistner L and Rodel W (1975). The Significance of Water Activity for Microorganisms in Meats. In "Water Relations of Foods" Ed. R B Duckworth, Academic Press, London.
- Steel RGD and Torrie JH (1981). Principles and Procedures of Statistic. 2nd ed Mc Graw -Hill International Book Company, Tokyo.
- Stone H, and Sidel JL (1985). Sensory Evaluations Practies. Food Sci. and Technol., A Series of Monographs, Academic Press Inc., London.
- Tekinşen, O.C. ve Doğruer, Y. (2000). Her Yönüyle Pastırma. Selçuk Üniv. Basımevi, Konya.
- Resmi Gazete (2000). Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2000/4) 10 Şubat 2000 Tarih ve Sayı 23960.
- Türk Standartları Enstitüsü (1983). *Pastırma*. Birinci Baskı.T.S.1071, Ankara
- Türk Standartları Enstitüsü (1993). *Pastırma Üretim Teknolojisi ve Kalite Kontrolü*. Birinci Baskı. T.S. 9628, Ankara.

Tablo 1: Kaz Pastırmalarının Kimyasal Analiz Bulguları

		Kuru Tuzlama		Salamura		F
		Dumanlama (-)	Dumanlama (+)	Dumanlama (-)	Dumanlama (+)	
TUZLAMA ÖNCESİ	Rutubet	58,51±3.03	56.97±3.91	56.95±0.80	57.75±2.38	0.07
	Yağ	1.69±0.38	3.89±1.47	2.38±0.43	1.65±0.26	1.69
	Protein	38.20±2.79	37.76±2.85	39.29±1.08	39.11±2.22	0.09
	Kül	1.59±0.14	1.37±0.06	1.36±0.32	1.48±0.12	0.34
	Tuz	0.44±0.03	0.51±0.02	0.45±0.01	0.46±0.06	0.69
	PH	5.53±0.04	5.58±0.06	5.66±0.07	5.59±0.03	0.82
	a _w	0.93±0.001	0.92±0.004	0.92±0.003	0.93±0.004	0.46
TUZLAMA SONRASI	Rutubet	48.54±4.84 ^b	47.37±4.47 ^b	65.71±1.28 ^a	67.41±1.36 ^a	9.87**
	Yağ	4.12±1.62	6.10±2.70	3.51±0.99	2.99±0.87	0.63
	Protein	40.41±3.35 ^a	39.25±2.31 ^a	24.16±1.09 ^b	23.28±1.25 ^b	17.89***
	Kül	6.91±1.41	7.26±0.51	6.60±0.48	6.31±0.51	0.24
	Tuz	7.02±0.88	7.32±0.41	7.51±0.14	6.80±0.55	0.31
	PH	5.54±0.07	5.61±0.09	5.58±0.16	5.50±0.21	0.10
	a _w	0.88±0.01	0.90±0.004	0.90±0.003	0.89±0.01	1.15
ÇEMENLEME ÖNCESİ	Rutubet	33.81±3.74 ^b	38.47±1.97 ^b	48.14±2.24 ^a	48.95±0.82 ^a	9.31**
	Yağ	7.34±2.63	5.60±1.41	5.08±0.95	5.79±1.26	0.32
	Protein	48.22±2.34 ^a	45.66±3.94 ^{ab}	36.62±2.98 ^{bc}	34.80±1.86 ^c	5.22*
	Kül	10.62±0.18	10.27±1.33	10.15±0.88	10.45±2.05	0.02
	Tuz	9.69±0.48	9.42±1.54	10.49±0.89	11.23±1.66	0.43
	PH	5.90±0.39	5.68±0.10	5.71±0.13	5.56±0.25	0.31
	a _w	0.79±0.01 ^b	0.81±0.007 ^b	0.85±0.004 ^a	0.85±0.009 ^a	9.91**
ÇEMENLEME SONRASI	Rutubet	41.85±2.36 ^{bc}	40.28±0.54 ^c	47.92±1.82 ^a	46.42±1.27 ^{ab}	4.86*
	Yağ	3.98±0.26	4.64±1.33	4.61±0.57	3.35±0.85	0.51
	Protein	47.51±2.43 ^{ab}	49.45±1.72 ^a	40.61±1.82 ^c	42.53±1.52 ^{bc}	4.71*
	Kül	6.65±0.47 ^{ab}	5.62±0.21 ^b	6.85±0.58 ^{ab}	7.69±0.30 ^a	4.08*
	Tuz	5.49±0.37	5.38±0.40	6.28±0.24	6.97±0.79	2.20
	PH	5.53±0.14	5.43±0.16	5.19±0.11	5.35±0.15	0.91
	a _w	0.89±0.006	0.90±0.01	0.89±0.002	0.89±0.0060	0.42

a, b: Aynı satırda değişik harf taşıyan gruplar birbirlerinden önemli derecede farklı bulunmuştur.

*: P<0.05, P<0.01, P<0.001.

Tablo 2: Kaz Pastırmalarının Mikrobiyolojik Muayene Bulguları
(log₁₀ kob/g)

		Kuru Tuzlama		Salamura		F
		Dumanlama Uygulanmamış	Dumanlama Uygulanmış	Dumanlama Uygulanmamış	Dumanlama Uygulanmış	
TUZLAMA ÖNCESİ	Top. Mez. Aerobik	5.49±0.67	5.41±0.42	5.13±0.53	5.51±0.47	0.10
	Laktik Asit Bakt.	5.06±0.82	4.90±0.67	5.01±0.87	5.77±0.30	0.31
	Enterobacteriaceae	1.64±0.10	1.02±0.53	1.33±0.78	1.39±0.68	0.22
	Microc.-Staph.	3.17±0.30	2.79±0.32	2.48±0.42	3.31±0.50	0.88
	Salmonella	0±	0±	0±	0±	
	Maya-küf	3.83±0.13	4.10±0.24	4.01±0.16	3.93±0.23	0.32
TUZLAMA SONRASI	Top. Mez. Aerob	7.68±0.32	7.65±0.20	7.53±0.22	7.49±0.31	0.11
	Laktik Asit Bakt.	7.67±0.44	7.40±0.35	7.66±0.37	7.75±0.40	0.15
	Enterobacteriaceae	2.23±1.36	2.63±0.37	2.82±0.46	1.87±1.02	0.22
	Microc.-Staph.	7.27±0.16 ^a	7.14±0.15 ^{ab}	6.83±0.07 ^b	6.83±0.07 ^b	3.21 [*]
	Salmonella	0±	0±	0±	0±	1.00
	Maya-küf	5.08±0.32	5.29±0.18	4.92±0.24	4.68±0.31	0.88
ÇEMENLEME ÖNCESİ	Top. Mez. Aerob	8.44±0.34	8.59±0.32	8.59±0.24	8.68±0.45	0.08
	Laktik Asit Bakt.	7.35±0.62	7.74±0.55	7.84±0.29	7.82±0.49	0.20
	Enterobacteriaceae	0.82±0.43	1.56±0.84	1.82±1.82	2.03±0.78	0.22
	Microc.-Staph.	7.20±0.58	7.39±0.57	7.06±0.65	6.97±0.84	0.07
	Salmonella	0±	0±	0±	0±	1.00
	Maya-küf	6.42±0.49	5.91±1.00	5.93±1.01	4.68±0.17	0.94
ÇEMENLEME SONRASI	Top. Mez. Aerob	7.13±0.37	7.76±0.34	8.05±0.40	7.53±0.32	1.11
	Laktik Asit Bakt.	7.44±0.19 ^b	8.10±0.23 ^a	8.22±0.09 ^a	7.90±0.21 ^{ab}	3.16
	Enterobacteriaceae	0.43±0.43	0.80±0.80	1.81±1.11	2.87±0.66	1.90
	Microc.-Staph.	6.46±0.50	6.73±0.56	6.68±0.57	6.42±0.61	0.07
	Salmonella	0.72±0.75	0±0.00	0±0.00	0±0.00	1.00
	Maya-küf	3.45±0.76	3.53±0.62	4.10±0.27	4.48±0.99	0.46

a, b: Aynı satırda değişik harf taşıyan gruplar birbirlerinden önemli derecede farklı bulunmuştur.

*: p<0.05.

Tablo 3: Kaz Pastırmalarının Duysal Değerlendirme Sonuçları

	Kuru Tuzlama		Salamura		F
	Dumanlama (-)	Dumanlama (+)	Dumanlama (-)	Dumanlama (+)	
Lezzet	7.66±0.34 ^{ab}	7.11±0.38 ^b	8.44±0.27 ^a	6.72±0.40 ^b	4.44 [*]
Tekstür	7.88±0.39 ^{ab}	7.16±0.33 ^b	8.22±0.27 ^a	7.05±0.37 ^b	2.62 [*]
Renk	7.38±0.51 ^b	7.66±0.33 ^b	8.83±0.23 ^a	7.16±0.32 ^b	4.07 [*]
Görünüm	7.22±0.52 ^b	7.55±0.27 ^b	8.72±0.23 ^a	7.05±0.37 ^b	4.11 [*]

a, b: Aynı satırda değişik harf taşıyan gruplar birbirlerinden önemli derecede farklı bulunmuştur.

*; $p<0.05$.

POSTER SUNUMLARI

TÜRKİYE'DEKİ MARKETLERDEN ELDE EDİLEN DEVE SUCUKLARINDAN *SALMONELLA* SPP'NİN İZOLASYONU VE PCR İLE TEYİT EDİLMESİ

Gökben ÖZBEY¹

Filiz KÖK²

¹ Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı- Elazığ

² Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı- Aydın

Özet : Bu çalışmada, Aydın ilindeki farklı marketlerden temin edilen toplam 100 deve sucuğu örneğinde kültür yöntemi ile *Salmonella* türlerinin varlığı araştırıldı. Sucuk örnekleri tamponlanmış peptonlu suda 37°C'de 18 saat ön zenginleştirme işlemini takiben Rappaport Vassiliadis broth'ta 42°C'de 24-48 saat inkube edilerek selektif zenginleştirme işlemi gerçekleştirildi. Zenginleştirme sıvı besi yerlerinden öze ile Brilliant Green Agar ve xylose lysine deoxycholate agara ekim yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı.

Şüpheli izolatların identifikasyonu için 16S rRNA geninin 572 bp'lik fragmenti 16SF1 ve 16SIII primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edildi. Kültür ve PCR yöntemi ile incelenen 100 deve sucuğu numunesinden 7 (%7) *Salmonella* spp identifiye edildi.

Sonuç olarak, bu çalışma Aydın'daki marketlerden temin edilen deve sucuklarında *Salmonella* spp varlığını ve PCR yönteminin *Salmonella* türlerinin kısa sürede saptanması için kullanılabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Salmonella* türleri, PCR, deve sucuğu

PCR Confirmation and Isolation of *Salmonella* spp. from Camel Sausage in the Turkey Retail Markets

Abstract: In this study, a total of 100 camel sausage samples from the different retail markets in Aydın province located in the South-west of Turkey were examined for the presence of *Salmonella* spp by culture. A sausage samples were subjected to pre-enrichment in buffered peptone water for 18 h at 37°C followed by enrichment in Rappaport

Vassiliadis broth for 24-48 h at 42°C. One loopful from each of the enriched broths was streaked onto plates of Brilliant Green Agar and xylose lysine deoxycholate agar and incubated for 24 h at 37°C.

A 572 bp fragment of the 16S rRNA gene was amplified using 16SF1 and 16SIII primers by polymerase chain reaction (PCR) for the identification of suspicious isolates. In the examination of 100 camel sausage samples by culture and PCR, 7 (7%) were identified as *Salmonella* spp.

It was showed the presence of *Salmonella* spp from camel sausage samples on the Aydın retail markets and that PCR utilized in this study may succesfully be used for rapid detection of *Salmonella* spp.

Key Words: *Salmonella* spp., PCR, camel fermented sausage.

Giriş

Fermente, kuru sucuklar çoğunlukla birçok ülkede sandviçlerle tüketilir (Nissen ve Holck, 1998). *Salmonella* türlerinin starter kültür kullanılmadan ve kısa bir fermentasyon süresinde hazırlanan sucuklarda gıda zehirlenmesine sebep olduğu bildirilmiştir (Gaier, 1995).

Salmonella türlerinin izolasyon ve identifikasyonları oldukça zor ve uzun zaman almaktadır (Worcmann-Barnink ve ark., 2001). Son yıllarda, *Salmonella*'ların identifikasyonunda, konvansiyonel yöntemlere alternatif olarak PCR tekniği kullanılmıştır. PCR tekniğinin *Salmonella*'ların identifikasyonunda diğer sistemlerden daha spesifik ve duyarlı olduğu ispat edilmiştir (Aabo ve ark., 1993; Kwang ve ark., 1996; Baümeler ve ark., 1997).

Bu çalışma ile Aydın ilindeki farklı marketlerden temin edilen deve sucuklarında *Salmonella* türlerinin varlığın araştırılması, izole edilmesi ve bu türlerin klasik yöntemler yanı sıra PCR ile de identifiye edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal: Bu çalışmada, Aydın ilindeki farklı marketlerden temin edilen 100 deve sucuğu örneği materyal olarak kullanıldı.

***Salmonella* izolasyonu:** Her bir sucuk numunesinden aseptik koşullarda steril plastik torbalara 25 g tartılarak, üzerine 225 ml tamponlanmış peptonlu su (BPW, Oxoid, Basingstoke, UK) ilave edildi, sonra 2 dak. stomacher (Interscience, 78860 St Nom-

France)'de homojenize edildi ve 37°C'de 18-20 saat inkube edildi (ön zenginleştirme). Bu sürenin sonunda, ön zenginleştirme besiyerinden 0.1 ml homojenizat 10 ml Rappaport-Vassiliadis broth (Oxoid) içeren tüplere aktarıldı ve 42°C'de 24-48 saat inkube edildi (selektif zenginleştirme). İnkubasyon süresi sonunda bu besiyerinden bir öze ile *Salmonella Shigella* Agar (SS Agar, Difco) ve Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD, Oxoid) selektif katı besiyerlerine sürme ekimler yapıldı ve besiyerleri aerobik şartlarda 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası SS agarda merkezleri siyah, şeffaf ve XLD agarda merkezleri siyah kırmızı renkli üreme gösteren *Salmonella* şüpheli kolonilerden preparat hazırlanarak Gram boyama yapıldı. Gram negatif çomak şeklinde görülen mikroorganizmaların kanlı agar ve MacConkey agarda saf kültürleri hazırlandı. Saf olarak izole edilen mikroorganizmalara biyokimyasal testler uygulanarak identifikasyonları yapıldı (Cowan, 1974; Ewing, 1986; Koneman ve ark., 1989).

DNA ekstraksiyonu: *Salmonella* referans kültüründen bir öze yardımı ile birkaç koloni alınarak 300 µl distile su içeren Eppendorf tüp içerisinde süspanse edildi. Süspansiyon bir vorteks vasıtasıyla karıştırıldıktan sonra 56°C'de 30 dak. su banyosunda inaktive edildi. Daha sonra süspansiyona 300 µl TNES buffer (20 mM Tris pH 8.0, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0.2% SDS) ve 200 µg/ml Proteinase K ilave edildi. Karışım 37°C'de 2 saat inkube edildi ve sonra 30 dakika su banyosunda kaynatıldı. Karışım soğuduktan sonra üzerine eşit hacimde Tris-HCl ile satüre edilmiş fenol ilave edildi ve süspansiyon 5 dak. süreyle elle iyice çalkalandıktan sonra 11.600 g'de 10 dak. santrifüj edildi. Fenollü kısma dokunmadan üstteki sıvı bir mikropipet yardımı ile dikkatli bir şekilde başka bir Eppendorf tüpe aktarıldı. DNA'nın presipitasyonu amacıyla süspansiyona 0.1 hacim (30 µl) 3 M Na-Asetat ve 2.5 hacim (750 µl) saf alkol ilave edilip karıştırıldıktan sonra -20°C'de 1 saat bekletildi. Karışım 11.600 g'de 10 dak. santrifüj edildi ve üst kısım döküldü. Pelet 300 µl miktarındaki %90'lık ve daha sonra da 70%'lik etanol ile her basamaktan sonra 11.600 g'de 5 dak. santrifüj işlemi uygulanarak yıkandı. Alkol döküldükten sonra pelet kurumaya bırakıldı ve 50 µl distile su ile süspanse edildi. Bu süspansiyondan 5 µl alınarak PCR'da hedef DNA olarak kullanıldı.

Metodun herhangi bir aşamasında meydana gelebilecek muhtemel bir kontaminasyonu tespit etmek amacıyla, DNA ekstraksiyonu ve PCR reaksiyonlarında pozitif kontrol olarak Dr. A.A. Mohamed Hatha, (Department of Biology, The University of the South Pacific, Private Mail Bag, Suva, FIJI)'dan temin edilen *Salmonella enteritidis* referans suşu ve negatif kontrol olarak da distile su kullanıldı.

Primer: Bu çalışmada kullanılan Lin and Tsen, 1996 tarafından dizayn edilen *Salmonella*'ların 16S rRNA geninden türetilen, 572 bp'lik DNA bölgesini çoğaltan 16SF1 (5'-TGTTGTGGTTAATAACCGCA-3') ve 16SIII (5'-CACAAATCCATCTCTGGA-3') primerleri kullandı.

PCR: PCR işlemi 50 µl toplam hacimde gerçekleştirildi. Karışım 5 µl 10 x PCR buffer (10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 50 mM KCl, 0.1% Triton® X-100), 5 µl 25 mM MgCl₂, 250 µM dNTP karışımı, herbir pimerden 10 pg ve 2 U of Taq DNA Polymerase enzimi (Fermentas, Litvanya) ile hazırlandı. 45 µl PZR karışımına 5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 50 µl hacim elde edildi. DNA amplifikasyonu 95°C'de 1 dak. denatürasyon, 58°C'de 2 dak. hibridizasyon ve 72°C'de 2 dak. polimerizasyon olmak üzere 35 siklus halinde gerçekleştirildi. Son siklustan sonra 72°C'de 5 dak.'lık bir sentez basamağı uygulandı. PZR işlemi Touchdown Thermal Cycler (Hybaid, Middlesex, England)'da gerçekleştirildi. Amplifiye edilen DNA ürünleri %1.5'luk agaroz jel içerisinde elektroforez yapıldıktan sonra ethidium bromide (0.5 µg/ml) ile boyandı ve sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi. Oluşan bantların molekül ağırlığını saptamak için 100 bp'lik DNA ladder (Promega, Maddison, USA) kullanıldı.

Bulgular

Kültür ve PCR Sonuçları: Şüpheli *Salmonella* kolonileri biyokimyasal testler ile *Salmonella* spp olarak tanımlanmış ve seçilmiştir. Selektif zenginleştirme ve konvansiyonel yöntemler sonucunda incelenen toplam 100 deve sucuğu örneğinden %7 oranında *Salmonella* spp izole ve tanımlanmıştır.

16SF1 ve 16SFIII primerleri ile yapılan PCR işleminde klasik kültür yöntemiyle *Salmonella* spp olarak tanımlanmış ve seçilmiştir. İzolatların 572 bp uzunluğunda pozitif bantlar elde edildi (Şekil 1).

Sonuç olarak, bu çalışmada sucuklarda saptanan insan sağlığı için potansiyel risk oluşturan *Salmonella* spp oranı nispeten düşük düzeyde olmasına rağmen, sucuk üretiminde kros-kontaminasyonun önlenmesi, tüm hijyenik ve teknik tedbirlerin alınması gereklidir.

Kaynaklar

- Aabo, S., Rasmussen, O. F., Rossen, L., Sorensen, P. D., Olsen, J. E. (1993). *Salmonella* identification by the polymerase chain reaction. *Molecular and Cellular Probes*. 7, 171-178.
- Abraham, A., Papa, A., Soultos, N. (1998). Antibiotic resistance of *Salmonella* spp. Isolates from traditionally made fresh sausage in Greece. *J. Food Protect.* 61(10): 1378-1380.
- Baumler, A. J., Heffron, F., Reissbrodt, R. (1997). Rapid detection of *Salmonella enterica* primers specific for *iroB*. *J. Clin. Microbiol.* 35, 1224-1230.
- Cano, R.J., Rasmussen, S.R., Fraga, G.S., Palomares, J.C. (1993). Fluorescent detection-polymerase chain reaction (FD-PCR) assay on microwell plates as a screening test for salmonellas in foods. *J. Appl. Bacteriol.* 75, 247-253.
- Chevrier, D., Popoff, M.Y., Dion, M. P., Hermant, D., Guesdon, J. L. (1995). Rapid detection of *Salmonella* subspecies I by PCR combined with nonradioactive hybridization using covalently immobilized oligonucleotide on a microplate. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 10, 245-252.
- Cohen, H. J., Mechanada, S. M., Lin, W. (1996). PCR amplification of the *fimA* gene sequence of *Salmonella* Typhimurium, a specific method for detection of *Salmonella* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 12, 4303-4308.
- Cowan, S.T. (1974). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 163, 171, 176-177.
- Doran J. L., Collinson, S. K., Burian, J., Sarlos, G., Todd, E.C.D., Munro, C. K., Kay, C. M., Banser, P.A., Peterkin, P.I., Kay, W.W. (1993). DNA-based diagnostic tests for *Salmonella* species targeting *agfA*, the structural gene for thin, aggregative fimbriae. *J. Clin. Microbiol.* 31, 2263-2273.
- Ewing, W.H. (1986). Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th edn. Elsevier, New York, pp. 527-528.
- Fluit, A.C., Torensms, R., Visser, M. J., Aarsman, C. J., Poppelier, M. J., Keller, B. H., Klapwijk, P., Verhoef, J. (1993). Detection of *Listeria monocytogenes* in cheese with the magnetic immuno-polymerase chain reaction assay. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1289-1293.
- Gomolka -Pawlicka M, Uradzinski, J. (2003). Antagonistic effect of chosen lactic acid bacteria strains on *Salmonella* species in meat and fermented sausages. *Pol. J. Vet. Sci.* 6(1): 29-39.
- Hartog, B. J., de Boer, E., Lenssinck, J. B., de Wilde G. J. (1987). The microbiological status of dry sausage in East Netherlands. *Tijdschr Diergeneesk.* 112(6): 322-33.

- Hashimoto, Y., Itho, Y., Fujinaga, Y., Khan, A.Q., Sultana, F., Miyake, M., Hirose, K., Yamamoto, H., Ezaki, T. (1995). Development of nested PCR based on the *viaB* sequence to detect *Salmonella typhi*. *J. Clin. Microbiol.* 33, 775-777.
- Koneman, E.W., Allen, S. D., Dowell, V. R., Sommers, H.M. (1989). Diagnóstico Microbiológico. Médica Panamericana, México, pp. 182-184.
- Kwang, J., Littledike, E.T., Keen, J.E. (1996). Use of the polymerase chain reaction for *Salmonella* detection. *Lett. Appl. Microbiol.* 22, 46-51.
- Mahon, J., Lax, A. J. (1993). A quantitative polymerase chain reaction method for the detection in avian faeces of *Salmonella* carrying the *spvR* gene. *Epidemiol. Infect.* 111, 455-464.
- Mattick, K.L., Bailey, R.A., Jørgensen, F. and Humphrey, T.J. (2002). The prevalence and number of *Salmonella* in sausages and their destruction by frying, grilling or barbecuing. *J. Appl. Microbiol.* 93(4): 541
- Nissen, H., Holck, A. (1998). Survival of *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella kentucky* in Norwegian fermented, dry sausage. *Food Microbiol.* 15, 273-279.
- Oyekole, O.D., Hassan, J.O. (1984). A survey of the bacteriological status of fresh and baked pork sausages produced in Ibadan, Nigeria. *Int. J. Zoonoses.* 11(2): 127-132.
- Rahn, K., De Grandis, S. A., Clarke, R. C., McEwen, S. A., Galan, J. E., Ginocchio, C., Curtiss, III, R., Gyles, C.L. (1992). Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol. Cell. Probes.* 6, 271-279.
- Rexach, L., Dilassier, F., Fach, P. (1994). Polymerase chain reaction for *Salmonella* virulence-associated plasmid genes: a new tool in *Salmonella* epidemiology. *Epidemiol. Infect.* 112, 33-43.
- Way, J.S., Josephson, K.L., Pillai, S.D., Abbaszadegan, M., Gerba, C.P., Pepper, L.L. (1993). Specific detection of *Salmonella* spp. by multiplex polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1473-1479.
- Worrcman-Barnink D, Destro MT, Fernandes SA, Landgraf M. (2001). Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiladis medium (MSRV) for the detection of *Salmonella* in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 64(3): 387-93.
- Yeh, K.-S., Chen, T.-H., Liao, C.-W., Chang, C.-S., Lo, H.-C. (2002). PCR amplification of the *Salmonella typhimurium* fimY gene sequence to detect the *Salmonella* species. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 227-234.

FARKLI DOZLARDAKİ GAMMA IŞINLAMANIN KÖFTELERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Aydın VURAL¹

Harun AKSU²

¹ Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Diyarbakır

² İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-İstanbul

Özet: Gamma ışınları ile gıdaların ışınlanması etkili bir gıda muhafaza yöntemidir. Bu sayede mikrobiyal kontaminasyonların azaltılması, bozulmanın geciktirilerek raf ömrünün uzatılması sağlanabilmektedir. Bu çalışmada kobalt⁶⁰ (Co⁶⁰) kaynağı kullanılarak farklı dozlarda uygulanan gamma ışınlama işleminin köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Deneyssel olarak üretilen köfte örnekleri altı gruba ayrılmıştır. 1. grup (kontrol) ışınlama işlemine tabi tutulmazken diğer gruplar 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 ve 7.0 kGy dozlarında ışınlama işlemine maruz bırakılmıştır. Köfte gruplarının ışınlamanın yapıldığı gün, 5, 10, 15, 20. ve 30. günlerde mikrobiyolojik özellikler açısından analizler yapılmıştır.

Çalışmamıza göre ışınlama işleminin uygulanması sonucu mikrobiyal floranın azaldığı ortaya konmuştur. Mikrobiyel floradaki azalma ışınlama dozuna bağlıdır. Işınlama uygulamalarının et ve et ürünlerinin muhafazası için başarı ile kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Gamma ışınlama, köfte, mikrobiyolojik kalite

Effect of Different Doses of Gamma Irradiation on Microbiological Quality of Meatball

Abstract: The irradiation of the food with gamma rays is an effective protection method. Microbial contamination are decreased, spoilage is delated and shelf life of the product is increased by this method. In this study cobalt⁶⁰ source is used in different doses and effect of

gamma irradiation on microbiological quality of the meatballs is explored.

The experimentally produced meatballs are different in six groups. The first group is determined as control group and the irradiation wasn't applied to this group. The other groups were irradiated at 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 and 7.0 kGy dosages respectively. Microbiological analysis were performed at 0, 5, 10, 15, 20 and 30 days.

According to our study we observed that microbial flora is decreased as a result of irradiation procedure. The level of decrease of the microbial flora depended on the dosage of irradiation. It is thought that applications of irradiation can be used successfully for preservation of the meat and meat products.

Key words: Gamma irradiation, meatball, microbiological quality

Giriş

İyonize ışınlarla gıdaların ışınlaması, taze gıdaların ve işlem görmemiş gıdalardan üretilen ürünlerin güvenliğini sağlamada etkili bir muhafaza yöntemidir. Güvenli, uzun ömürlü ve doğal şekline yakın gıda üretimi ve korunması ışınlama yöntemi ile mümkün olabilmektedir (Erkmen, 2000).

Düşük enerji gereksinimi, gıdaların besin değerinin ve hijyenik kalitesinin korunması, kimyasal katkılara duyulan gereksinimin ortadan kalkması, uluslararası gıda ticaretinin kolaylaştırılması, hasat sonrası gıdalarda oluşan kayıpların azaltılması ışınlamanın yararlarından bazılarıdır (Lee et al., 1999; Lefebvre et al., 1994; Loaharanu, 1994). Işınlama ile et, tavuk, balık ve deniz ürünlerindeki patojen bakterilerin, protozoon ve helmintlerin eliminasyonu, gıdaların raf ömürlerinin uzatılması (Naik et al., 1993; Thayer and Boyd, 1993), etin olgunlaştırılması, kahvenin kavrulması (Serdaroğlu ve Değirmencioğlu, 1998; Topal, 1988), taze meyva ve sebzelerdeki bozulma yapıcı mikroorganizmaların elimine edilmesi, gıdaların ve yemlerin sterilizasyonu, kurutulmuş baharat ve sebzelerin pastörizasyon veya sterilizasyonu, tahıl, kurutulmuş baharat, sebze ve meyvalarda insekt dezenfestasyonu, yumru köklerde ve soğanlarda filizlenmenin inhibe edilmesi, meyvelerin hasat sonrası olgunlaşmasının düzenlenmesi sağlanabilmektedir (ANTHAM, 2000; Thayer, 1995).

Bu çalışmada; farklı dozlarda gamma ışını (Kobalt⁶⁰) uygulamasının köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot

Köftelerin hazırlanması: Köfte yapımında % 74-75 oranında dana ve % 10 civarında kuzu eti kullanıldı. Köfte hamuruna etin kendi yağı dışında başka bir yağ katılmadı. Etler kıyma makinesinin 3 numaralı aynasında iki defa çekildi. Daha sonra kıyma % 6.0 galeta unu, % 1 tuz, % 5,0 soğan tozu, % 1 su, % 0.5 karabiber, % 0.5 kimyon, % 0.5 kırmızıbiber, % 0.5 yenibahar ve % 0.6 sodyum bikarbonat ve su ile homojen bir şekilde karıştırıldı ve tekrar kıyma makinesinden geçirilerek köfte hamuru elde edildi.

Köftelerin ışınlanması: Kontrol dışındaki beş gruba sırasıyla 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 ve 7.0 kGy dozda gamma ışını (Kobalt⁶⁰) uygulandı. Tüm örnekler 4 ± 1 °C' deki buzdolabı şartlarında muhafaza edildi. Köfte örneklerine soğuk muhafazanın 0, 5, 10, 15, 20 ve 30. günlerinde mikrobiyolojik analizler uygulandı.

Mikrobiyolojik analizler

Numune alımı, besiyerlerinin hazırlanması, sterilizasyon, homojenizasyon, dilüsyon, ekim, inkübasyon ve sayım işlemleri TSE ve uluslararası kabul görmüş metotlara göre yapıldı (Akçelik ve ark., 1999; Bacteriological Analytical Manual, 1995; Harrigan, 1998; Oxoid Manual, 1990)

Analiz sonuçlarının istatistiki olarak yorumlanması

İstatistiklerin yapılmasında SPSS paket programı ile çalışıldı ve varyans analiz yöntemi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arasındaki farkın belirlenmesi için ise Duncan çoklu analiz metodu uygulandı (Akgül, 1997; Tekinşen, 1994).

Bulgular

Tablo 1: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri sayısı değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	8,21 ^a $\pm$ 0,58	8,80 ^a $\pm$ 0,67	9,22 ^a $\pm$ 0,71	9,72 ^a $\pm$ 0,90	10,48 ^a $\pm$ 0,40	10,77 ^a $\pm$ 0,41
1.0	6,36 ^b $\pm$ 0,60	7,02 ^b $\pm$ 0,49	7,69 ^b $\pm$ 0,39	8,52 ^b $\pm$ 0,34	9,26 ^b $\pm$ 0,13	9,72 ^b $\pm$ 0,22
2.0	5,18 ^c $\pm$ 1,27	6,21 ^c $\pm$ 0,47	6,61 ^c $\pm$ 0,37	7,47 ^c $\pm$ 0,85	8,16 ^c $\pm$ 0,22	8,93 ^{bc} $\pm$ 0,24
3.0	4,28 ^{cd} $\pm$ 1,02	5,35 ^d $\pm$ 0,34	6,06 ^c $\pm$ 0,47	6,96 ^c $\pm$ 0,42	7,85 ^c $\pm$ 0,22	8,49 ^c $\pm$ 0,23
5.0	3,24 ^{de} $\pm$ 1,09	3,87 ^e $\pm$ 0,72	5,00 ^d $\pm$ 0,35	5,53 ^d $\pm$ 0,30	6,28 ^d $\pm$ 0,38	7,61 ^d $\pm$ 0,23
7.0	2,24 ^e $\pm$ 0,25	3,32 ^e $\pm$ 0,59	3,88 ^e $\pm$ 0,25	4,80 ^d $\pm$ 0,61	6,11 ^d $\pm$ 0,17	8,21 ^d $\pm$ 0,26

Tablo 2: Toplam Psikrofilik Aerob Bakteri sayısı değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	7,62 ^a $\pm$ 0,85	7,90 ^a $\pm$ 0,69	8,17 ^a $\pm$ 0,81	8,58 ^a $\pm$ 1,11	9,05 ^a $\pm$ 1,23	10,00 ^a $\pm$ 0,70
1.0	5,38 ^b $\pm$ 0,61	6,35 ^b $\pm$ 0,27	7,13 ^b $\pm$ 0,29	7,52 ^b $\pm$ 0,33	7,97 ^b $\pm$ 0,47	8,88 ^b $\pm$ 0,27
2.0	4,62 ^b $\pm$ 0,82	5,36 ^c $\pm$ 0,33	6,01 ^c $\pm$ 0,28	6,86 ^{bc} $\pm$ 0,43	7,43 ^{bc} $\pm$ 0,30	8,24 ^b $\pm$ 0,31
3.0	3,71 ^c $\pm$ 0,63	4,40 ^d $\pm$ 0,25	5,45 ^d $\pm$ 0,23	6,22 ^c $\pm$ 0,25	6,98 ^c $\pm$ 0,23	7,49 ^c $\pm$ 0,32
5.0	2,72 ^d $\pm$ 0,76	3,36 ^e $\pm$ 0,37	4,18 ^c $\pm$ 0,23	4,53 ^d $\pm$ 0,29	5,57 ^d $\pm$ 0,61	6,46 ^d $\pm$ 0,63
7.0	< 1,3	-	-	-	-	-

Tablo 3: Koliform Bakteri sayısı değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	3,77 ^a $\pm$ 0,37	5,71 ^a $\pm$ 0,37	7,31 ^a $\pm$ 0,37	7,91 ^a $\pm$ 0,37	8,22 ^a $\pm$ 0,37	8,41 ^a $\pm$ 0,37
1.0	2,66 ^b $\pm$ 0,37	3,61 ^b $\pm$ 0,37	4,26 ^b $\pm$ 0,37	4,71 ^b $\pm$ 0,37	6,11 ^b $\pm$ 0,38	6,92 ^b $\pm$ 0,33
2.0	1,54 ^c $\pm$ 0,39	2,64 ^a $\pm$ 0,39	3,44 ^a $\pm$ 0,39	3,54 ^c $\pm$ 0,39	3,62 ^c $\pm$ 0,41	4,74 ^c $\pm$ 0,39
3.0	< 1,3	-	-	-	-	-
5.0	< 1,3	-	-	-	-	-
7.0	< 1,3	-	-	-	-	-

Tablo 4: Fekal koliform bakteri değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	3,29 ^a $\pm$ 0,35	4,13 ^a $\pm$ 0,35	5,02 ^a $\pm$ 0,40	6,18 ^a $\pm$ 0,35	6,85 ^a $\pm$ 0,34	7,46 ^a $\pm$ 0,31
1.0	1,85 ^b $\pm$ 0,34	2,44 ^b $\pm$ 0,34	3,08 ^b $\pm$ 0,35	3,85 ^b $\pm$ 0,34	4,33 ^b $\pm$ 0,35	5,23 ^b $\pm$ 0,35
2.0	< 1,3	-	-	-	-	-
3.0	< 1,3	-	-	-	-	-
5.0	< 1,3	-	-	-	-	-
7.0	< 1,3	-	-	-	-	-

Tablo 5: Koagülaz pozitif *S. aureus* sayısı değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	5,53 ^a $\pm$ 0,70	6,42 ^a $\pm$ 0,72	6,71 ^a $\pm$ 0,67	7,32 ^a $\pm$ 0,42	8,08 ^a $\pm$ 0,42	8,52 ^a $\pm$ 0,30
1.0	4,43 ^b $\pm$ 0,69	5,45 ^b $\pm$ 0,72	5,77 ^a $\pm$ 0,84	6,78 ^a $\pm$ 0,45	7,18 ^b $\pm$ 0,46	8,03 ^a $\pm$ 0,23
2.0	2,83 ^c $\pm$ 0,86	3,59 ^c $\pm$ 0,88	4,28 ^b $\pm$ 0,87	5,61 ^b $\pm$ 0,43	6,54 ^{bc} $\pm$ 0,25	7,04 ^b $\pm$ 0,41
3.0	2,56 ^{cd} $\pm$ 0,84	2,76 ^{cd} $\pm$ 0,88	3,60 ^b $\pm$ 0,86	4,70 ^c $\pm$ 0,37	5,80 ^c $\pm$ 0,51	6,52 ^{bc} $\pm$ 0,52
5.0	1,80 ^d $\pm$ 0,71	1,96 ^{de} $\pm$ 0,78	2,34 ^c $\pm$ 1,12	3,74 ^d $\pm$ 0,19	4,44 ^d $\pm$ 0,53	5,94 ^c $\pm$ 0,30
7.0	< 1,3	-	-	-	-	-

Tablo 6: Laktik Asit Bakterileri değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	6,40 ^a $\pm$ 0,50	7,09 ^a $\pm$ 0,88	8,10 ^a $\pm$ 0,89	8,86 ^a $\pm$ 1,23	9,27 ^a $\pm$ 1,22	9,60 ^a $\pm$ 1,33
1.0	4,52 ^b $\pm$ 0,52	6,06 ^b $\pm$ 0,29	6,84 ^b $\pm$ 0,40	7,71 ^b $\pm$ 0,56	8,28 ^{ab} $\pm$ 0,36	8,49 ^{ab} $\pm$ 0,52
2.0	3,98 ^b $\pm$ 0,48	4,81 ^c $\pm$ 0,22	5,59 ^c $\pm$ 0,60	6,52 ^c $\pm$ 0,51	7,34 ^b $\pm$ 0,35	7,77 ^{bc} $\pm$ 0,70
3.0	3,19 ^c $\pm$ 0,38	4,28 ^c $\pm$ 0,34	4,80 ^c $\pm$ 0,49	5,32 ^d $\pm$ 0,70	6,15 ^c $\pm$ 1,07	6,91 ^{cd} $\pm$ 1,02
5.0	2,01 ^d $\pm$ 0,52	2,72 ^d $\pm$ 0,83	3,46 ^d $\pm$ 0,93	4,30 ^c $\pm$ 0,44	5,09 ^{cd} $\pm$ 0,86	5,95 ^{de} $\pm$ 1,10
7.0	1,41 ^e $\pm$ 0,29	1,83 ^e $\pm$ 0,42	2,30 ^c $\pm$ 0,49	3,13 ^f $\pm$ 0,56	4,46 ^d $\pm$ 0,92	5,13 ^c $\pm$ 1,13

Tablo 7: Küf ve maya sayısı değerleri (log kob/g) $\pm$ SS (N:5)

Grup (kGy)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün	30. gün
0.0	6,70 ^a $\pm$ 0,35	7,12 ^a $\pm$ 0,49	8,37 ^a $\pm$ 0,55	9,28 ^a $\pm$ 0,59	9,93 ^a $\pm$ 0,57	10,12 ^a $\pm$ 0,61
1.0	5,13 ^b $\pm$ 0,22	5,93 ^b $\pm$ 0,27	7,04 ^b $\pm$ 0,29	7,72 ^b $\pm$ 0,51	8,45 ^b $\pm$ 0,65	8,90 ^b $\pm$ 0,25
2.0	3,84 ^c $\pm$ 0,58	5,24 ^c $\pm$ 0,23	5,92 ^c $\pm$ 0,27	6,75 ^c $\pm$ 0,41	7,35 ^c $\pm$ 0,35	8,13 ^c $\pm$ 0,24
3.0	3,26 ^d $\pm$ 0,33	4,33 ^d $\pm$ 0,24	5,14 ^d $\pm$ 0,41	6,01 ^d $\pm$ 0,37	6,77 ^c $\pm$ 0,45	7,34 ^d $\pm$ 0,49
5.0	2,07 ^e $\pm$ 0,34	2,60 ^e $\pm$ 0,33	3,89 ^e $\pm$ 0,41	4,87 ^e $\pm$ 0,22	5,62 ^d $\pm$ 0,56	6,78 ^e $\pm$ 0,42
7.0	1,32 ^f $\pm$ 0,29	2,23 ^e $\pm$ 0,29	3,09 ^f $\pm$ 0,21	4,08 ^f $\pm$ 0,37	4,85 ^e $\pm$ 0,58	6,15 ^f $\pm$ 0,30

Sonuç

Bu çalışmada ışınlama uygulamaları ile tüm gruptaki bakteri sayılarında önemli azalmalar elde edilmiştir. Dozların artmasına paralel olarak bakteri sayılarında sağlanan redüksiyonla orantılı olarak köftelerin raf ömrü de önemli ölçüde artmıştır. Işınlama uygulaması ile ürünün hijyenik kalitesinin iyileştirildiği ve insan sağlığı için risk oluşturabilecek patojen, toksijen ve bozulma yapıcı bakteri sayısında azalma veya tamamen eliminasyon sağlanacağı açıkça görülmektedir. Bu sonuçların ışığında Türk Gıda Kodeksi Gıda Işınlama Yönetmeliği'nde izin verilen dozlardaki ışınlama ile istenilen amaçlara ulaşılacağı da görülmüştür. Işınlama işleminin yaygınlaşması hem tüketicileri sağlıklı gıda temini şeklinde koruyacak ve hem de gıda bozulmalarını geciktirerek ekonomik kayıpların da önlenmesini sağlayacaktır. Işınlama işlemi için önemli bir engel olarak görülen tüketici tercihlerinin ise bilinçli bir eğitimle değiştirilebileceği düşünülmektedir. Işınlama işleminin iyi üretim uygulamaları (GMP) ile birlikte uygulanması gıdanın kalitesi, besleyici değeri ve raf ömrü gibi nitelikleri açısından daha olumlu sonuçlara neden olacaktır.

Kaynaklar

- Akçelik M, Aydar L, Ayhan K, Çakır İ, Doğan Hb, Gürgün V, Halkman K, Kaleli D, Kuleaşan H, Özkaya Df, Tunail N, Tükel Ç. (1999) .Gıda Mikrobiyolojisi Ve Uygulamaları. 1.Baskı, Armoni Matbaacılık, Ankara
- Akgül A. (1997).Tıbbi Araştırmalarda İstatiksel Analiz Teknikleri-Spss Uygulamaları. Yök Matbaası. Ankara
- Antham. (2000).Gıda Işınlama 2000 Kursu. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu. Ankara,.
- Bacteriological Analytical Manual. (1995) 8th Ed. Aoac Int., Gaithersburg,.
- Erkmen O. (2000). Kaliteli Ve Güvenli Gıda Üretimi İçin Işınlama Yöntemi. Gıda.25(2): 58-61.
- Harrigan W.F. (1998).Laboratory Methods in Food and Dairy. Academic Press. New York.
- Lee J.W., Yook H.S., Kim S.A., Lee K.H., Byun M.W. (1999). Effects of Antioxidants and Gamma Irradiation on the Shelf Life of Beef Patties. J. Food Prot; 62 (6): 619-624.
- Lefebvre N., Thibault C., Charbonneau R., Piette J.P.G.(1994).Improvement of Shelf Life and Wholesomeness of Ground Beef by Irradiation – 2. Chemical Analysis And Sensory Evaluation. Meat Sci. 36: 371-380.
- Loaharanu P. (1994). Cost/Benefit Aspects of Food Irradiation. Food Tech. 48 (1): 104-108.
- Naik G.N., Paul P., Chawla S.P., Sherikar A.T., Nair P.M. (1993). Improvement in Microbiological Quality and Shelf Life of Buffalo Meat at Ambient Temperature by Gamma Irradiation. J. Food Safety; 13: 177-183.
- Oxoid Manual. (1990).6th Ed. Compiled By E.Y. Bridson, Unipath Ltd., Hampshire.
- Serdaroğlu M., Değirmencioğlu Ö. (1998).Et Endüstrisinde İyonize Işın Kullanımı. Gıda Teknolojisi; 2: 89-94.
- Tekinşen Oc., Keleş A. (1994). Besinlerin Duyusal Muayenesi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. Konya,
- Thayer D.W. (1995).Use of Irradiation to Kill Enteric Pathogens on Meat and Poultry. J. Food Safety; 15: 181-192.
- Thayer D.W., Boyd G (1993). Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in Meats by Gamma Irradiation. Appl. Environ. Microbiol. 59:1030-1034.
- Topal Ş.(1988). Işınlama Tekniği Ve Gıda Sanayiinde Kullanım Olanakları. Gıda. 13 (6): 417-423.

ISIL İŞLEM UYGULANMIŞ SIĞIR ETLERİNDE POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYON (PCR) YÖNTEMİYLE TÜR TAYİNİNİN SAPTANMASI

Ali ARSLAN

İrfan İLHAK

Mehmet ÇALICIOĞLU

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-
Elazığ

Özet: Bu çalışmada, haşlama, otoklavlama, fırınlama, ve kavurma işlemi yapılarak tüketime hazır hale getirilen sığır etinden Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) yöntemi ile tür tayini yapıldı. Pişirme şekline göre, haşlama işlemi 97,5 °C'de 140, 200 ve 230, otoklavlama işlemi 120 °C'de 30, 60 ve 90, fırınlama işlemi 200 °C'de 80,120 ve 150 dakikada yapıldı. Kavurma işleminde, et duyusal olarak tüketime hazır hale gelinceye kadar geçen süre 45 dakika, bu süre sonunda etin merkezi ısı 115 °C, kavurma yağının ısı 173°C olarak saptandı. Et duyusal niteliklerini kaybedinceye kadar kavurma işlemine devam edildi. Bu süre sonunda (toplam 80 dakika) yağın ısı 190 °C olarak tespit edildi. Çalışmada, sığır mitokondriyal DNA'sından (mtDNA) 271 bp'lik kısım çoğaltıldı. PCR ürünleri %1.5'lik agaroz jelde elektroforez işlemini takiben ethidium bromür (0.5 µg/ml) ile boyanarak UV transilluminator'de incelendi.

Sonuç olarak, 80 dakikalık kavurma işlemi hariç diğer pişirme yöntemlerine tabi tutulan etten, pişirme suyundan (haşlama ve otoklavlama) ve fırınlama sosundan PCR ile tür tayini yapıldı.

Anahtar kelimeler: Et, ısıtım işlemi, PCR, tür tayini

Identification of Heat Processed Beef Using Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique

Abstract: In the present study, effects of various cooking methods including boiling, roasting, pressure cooking, and pan frying on species determination of beef by PCR was studied. The meat was cooked by boiling at 97.5°C for 140, 200 and 230 min, by roasting at 200°C for 80, 120, or 150 min or by autoclaving at 120°C for 30, 60, or 90 min. The beef sample was pan fried until the meat was acceptable for sensory attributes (45 min, meat temperature 115°C, fat

temp 173°C) and further cooked until becoming not consumable (80 min, fat temp 190°C). DNA was extracted from samples taken after cooking and a 271 bp fragment of the mitochondrial DNA was amplified by PCR. The PCR products were separated by electrophoresis on 1.5% agarose gel and visualized by ethidium bromide staining.

The results indicated that with the exception of pan frying for 80 min, beef was determined in all meat samples including their broth and sauce of the roasted meat by PCR.

Key words: Meat, heat-treatment, PCR, identification

Giriş

Et ve et ürünlerinin ayırımında duyuşal niteliklere, anatomik farklılıklara, kılın histolojik farklılığına, doku yağlarının özelliklerine ve etlerdeki glikojen miktarına dayanan yöntemlerin yanı sıra immunolojik, elektroforetik ve DNA hibridizasyon yöntemleri de kullanılmıştır (Chikuni et al, 1990; Ebbehøj and Thomsen, 1991a;1991b; İlhak ve Arslan, 2003; Kamber, 1996; Koh et al, 1998; Martinez and Yman, 1998; Meyer et al, 1994)

Moleküler biyolojide son yıllarda kaydedilen hızlı gelişmeler, özellikle DNA'nın in vitro olarak çok kısa sürede çoğaltılmasını sağlayan Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (Polymerase Chain Reaction=PCR) geliştirilmesi bitki, bakteri ve hayvan türlerinin orijininin tespit edilmesinde büyük kolaylık sağlamış ve başarıyla kullanılmıştır (Meyer et al, 1996; Partis et al, 2000; Weder et al, 2001).

Meyer ve ark.(1994), Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) yöntemiyle 121°C' de 10 dakika ısıtılmış et ürünlerinde domuz etini tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar çiğ etlerde Ouchterlony metoduyla %2 ve %5' lik et karışımlarını tespit edemediklerini, 121°C'de 10 dakika ısıtılmış et karışımlarında da ELISA yöntemi ile ancak %50 oranında karıştırılmış et türlerini tespit edebildiklerini bildirmişlerdir. Hopwood ve ark (1999), PCR yöntemiyle 80,100 ve 120°C'lerde ısı işlemi uygulanmış tavuk etini tespit etmişlerdir. Matsunaga ve ark (1999), 100 ve 120°C'lerde 30 dakika boyunca ısı işlemi uygulanmış sığır, domuz, tavuk, koyun, keçi ve at etlerinde tür tayinini yapmışlardır. Sadece 120°C'de 30 dakika ısı işlemi uygulanmış at etinde tür tespitinin yapılamadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, sıklıkla kullanılan pişirme yöntemleri(haşlama, fırınlama, kavurma ve otoklavlama) uygulanarak tüketime hazır hale getirilen sığır etinden Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) yöntemi ile tür tayini yapılmasıdır.

Materyal ve Metot

Lokal bir mezbahadan elde edilen sığır eti kuş başı büyüklüğünde, yaklaşık 3x3x3 cm boyutlarında parçalanarak haşlama, otoklavlama, fırınlama ve kavurma işlemine tabi tutuldu. Bu pişirme yöntemlerinde gerek etin içinde bulunduğu suyun ve yağın, gerekse etin merkezi sıcaklığı zaman zaman K problu thermocouple ile ölçüldü. Her ısıtım işlem şeklinde 3 örnek incelendi, deney 2 kez tekrar edildi.

Haşlama işlemi için bir tencereye yeteri miktarda su, et ve etin %2'si miktarında tuz ilave edilerek 97,5 °C'de (laboratuvarımızda suyun kaynama sıcaklığı) tüketime hazır hale gelinceye kadar 140 dakika haşlandı. Süre sonunda etin merkezi ısı 86,4°C olarak saptandı. Yaklaşık 1 g haşlanmış et ve 5 ml haşlama suyu DNA ekstraksiyonu için alındı. Haşlama işlemine devam edilerek 200. ve 230. dakikada tekrar etten ve haşlama suyundan DNA ekstraksiyonu için numune alındı.

Otoklavlama işlemi için 150 g et 3 gruba ayrıldı. Cam kavanozlar içerisine 50 g et, 250 ml su ve et ağırlığının %2'si oranında tuz ilave edilerek 120°C'de 30, 60 ve 90 dakika ısı işlemi uygulandı. Her gruptan DNA ekstraksiyonu için 1 g et ve 5 ml pişirme suyundan örnek alındı.

Fırınlama işlemi, 100 g et, 50 g sos (ay çiçek yağı, kırmızı toz biber, salça, soğan, tuz, su) içerisinde 200°C'de 80 dakika ısıtım işlemi uygulanarak yapıldı. Duyusal bakımdan tüketime hazır hale gelen etin merkezi ısı 103°C olarak ölçüldü. DNA ekstraksiyonu için 1 g et ve 2 g da etin çevresindeki sosa alındı. Fırınlama işlemine devam edilerek 120. ve 150. dakikada etten ve sosa tekrar örnek alındı. 150. dakikada etin merkezi ısı 110°C olarak ölçüldü.

Kavurma işlemi için, 200 g et ve 75 g sığır iç yağına et ağırlığının %2'si oranında tuz karıştırılarak ısıtım işlemi uygulandı. Isıtım işlemi uygulandıktan 45 dakika sonra duyusal olarak lezzet analizi yapıldı ve kavurmanın tüketime hazır hale geldiği anlaşıldı. Thermocouple ile yağın ısı 173°C, etin merkezi ısı ise 115°C olarak ölçüldü. Tüketime hazır haldeki kavurmada DNA ekstraksiyonu için 1 g et örneği alındı. Kalan kavurmaya duyusal bakımdan tüketilemeyecek düzeye gelinceye kadar tekrar ısıtım işlemi uygulandı. Süre sonunda

(toplam 80 dakika) et kıvam bakımından çok katılaştığı için etin merkezi ısısı tespit edilemedi; ancak yağın ısısı 190°C olarak ölçüldü. Bu etten de DNA ekstraksiyonu için örnek alındı.

DNA Ekstraksiyonu

Et örneklerinden Koh ve ark. (1998)'nın bildirdiği ekstraksiyon yöntemi modifiye edilerek DNA izole edildi.

PCR

PCR işlemi, PCR Sprint (ThermoHybaid, England) cihazı ile yapıldı. Toplam hacmi 50 µl olacak şekilde eppendorf tüpe 5 µl 10xPCR buffer (10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 50 mM KCl, %0.1 Triton® X-100), 5 µl 25 mM MgCl₂, 250 µM deoksinükleotidtrifosfat (dNTP), 2 U Tag DNA polimeraz (Promega, Madison, USA), 5 µl 20 pmol sığır spesifik primeri ve 5 µl hedef DNA konuldu. Çalışmada sığır mtDNA'sından 271 bp'lik kısmı çoğaltmak için forwad primer (5'-GCCATATACTCTCCTTGGTGACA-3') reverse primer (5'-GTAGGCTTGGGAATAGTACGA-3') (Integrated DNA Technologies, Inc.) kullanıldı (10). Hazırlanan eppendorf tüpleri thermocycler cihazına yerleştirilip, sırasıyla 94°C'de 45 saniye, 58°C'de 45 saniye, 72°C'de 1.5 dakika bekletilerek toplam 30 siklusa PCR işlemi gerçekleştirildi.

Çoğaltılan DNA segmentleri 15 µl miktarında %1.5'lik agaroz jele (Sigma) yüklenerek 1 saat 100 voltta elektroforez işlemine tabi tutuldu. Elektroforez işlemi takiben jel ethidium bromide (0.5 µg/ml) ile boyanarak UV transilluminator'de incelendi ve fotoğrafi çekildi.

Bulgular

Haşlama, kavurma, konserve ve fırınlama işlemlerine tabi tutulmuş sığır etinden, pişirme suyundan ve sistan da DNA ekstrakte edilerek spesifik sığır primeri ile çoğaltıldı ve agaroz jelde görüntülendi (Şekil 1,2,3,4).

DNA molekülleri teknolojik işlemlere karşı proteinlerden çok daha dayanıklıdır (Meyer et al, 1995). Bu bilgi ışığında özellikle ısı işlem uygulanmış et ve et ürünlerinin orijinini tespit etmek için genetik materyale dayalı yöntemler (DNA hibridizasyonu, PCR) geliştirilmiştir (Erlich et al, 1991).

Yapılan literatür taramalarında, son zamanlarda ısı işlem uygulanmış et ve et ürünlerinin orijininin tespitinde PCR yöntemi kullanıldığı fakat uygulanan ısı işlemlerinin deneysel otoklavlama işleminden ibaret olduğu dikkati çekmiştir. Bu çalışmada daha uzun süre otoklavlama işlemi yapılmasının yanı sıra, tüketiciler tarafından yaygın olarak kullanılan pişirme yöntemleri de esas alınarak, et haşlama, fırınlama ve kavurma işlemine tabi tutulmuştur. Haşlama işleminde, hem alınan et örneklerinden hem de haşlama suyundan tür tespiti yapıldı (Şekil 1).

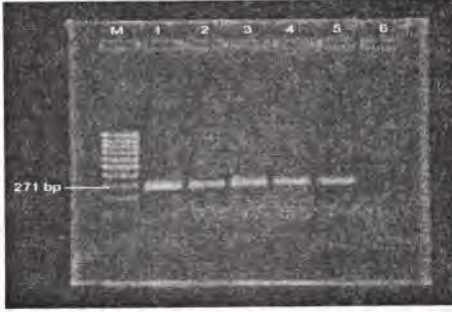
Şekil 1. Haşlanmış sığır etinden ve haşlama suyundan ekstrakte edilen DNA'nın tür spesifik primer ile çoğaltılmasıyla elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezdeki görünüşleri



- M- Marker
1- Taze sığır eti (pozitif kontrol)
2- 97,5 °C'de 140 dakika
3- 97,5 °C'de 200 dakika
4- 97,5 °C'de 230 dakika
5- 140. dakikadaki haşlama suyu
6- 200. dakikadaki haşlama suyu
7- 230. dakikadaki haşlama suyu
8- Negatif kontrol

Otoklavlama işleminde, et örneğinden ve pişirme suyundan yapılan tür tespiti şekil 2'de verilmiştir.

Şekil 2. Otoklavlanmış sığır etinden ve otoklavlama suyundan ekstrakte edilen DNA'nın tür spesifik primer ile çoğaltılmasıyla elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezdeki görünüşleri



- M- Marker
1- Taze sığır eti (pozitif kontrol)
2- 120 °C'de 30 dakika
3- 120 °C'de 60 dakika
4- 120 °C'de 90 dakika
5- 90. dakikadaki otoklavlama suyu
6- Negatif kontrol

Fırınlama işleminde, etlerden ve sostan alınan örneklerden de tür tespiti yapıldı (Şekil 3). Ancak 150. dakika sonunda alınan sos örneğine ait DNA bandı diğerlerine göre nispeten daha silik çıktı. Bunun nedeni DNA'nın bir kısmının denature olmasına bağlanabilir.

Şekil 3. Fırınlanmış sığır etinden ve fırınlama sosundan ekstrakte edilen DNA'nın tür spesifik primer ile çoğaltılmasıyla elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezdeki görünüşleri



- M- Marker
1- Taze sığır eti (pozitif kontrol)
2- 200 °C'de 80 dakika
3- 200 °C'de 120 dakika
4- 200 °C'de 150 dakika
5- 80. dakikadaki fırınlama sosu
6- 120. dakikadaki fırınlama sosu
7- 150. dakikadaki fırınlama sosu
8- Negatif kontrol

Kavurma işlemine tabi tutulmuş etlere ait bulgular şekil 4’de verilmiştir. PCR sonuçlarına bakıldığında 173°C’de 45 dakika ısı işlemi uygulanmış et örneğinde çok zayıf bir bant görüldü. Bunun nedeni DNA’nın bir kısmının denature olmasına bağlanabilir. Fakat 80 dakika sonunda alınan yanmış et örneğinde tür tayini yapılamadı (Şekil 4).

Şekil 4. Kavurma işlemine tabi tutulmuş sığır etinden ekstrakte edilen DNA’nın tür spesifik primer ile çoğaltılmasıyla elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezdeki görünümüleri



M- Marker

1- Taze sığır eti (pozitif kontrol)

2- 173°C’de 45 dakika

3- 190 °C’de 80 dakika

4- Negatif kontrol

Matsunaga ve ark. (1999), 120°C’de 30 dakika otoklavlanmış at etinde tür tespiti yapamadıklarını bildirmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada 439 bp’lik mitokondriyal bölgeyi çoğaltmak istediklerini fakat sonuç alamadıklarını belirtmişlerdir. Yüksek ısı işlemi görmüş etlerde, DNA ısı işlemi sonucu daha küçük boyutlara parçalanır. Bu gibi durumlarda etin türünü tespit etmek için küçük parçalara ayrılmış DNA’nın kullanılması önerilmektedir (Martinez and Yman, 1998). Yine yüksek ısı işlemi sonucu nükleer DNA zarar görebilir, fakat hücre içerisinde çok sayıda bulunan mtDNA sayesinde tür tespiti yapılabilir (Wan and Fang, 2003). Bu çalışmada da yüksek ısı işleminin DNA üzerindeki parçalayıcı etkisi göz önüne alınarak 271 bp’lik mtDNA kısmı çoğaltıldı.

Isı derecesi ve süresi ile çoğaltılacak baz bölgesinin uzunluğu da PCR yöntemiyle tür tayininde önemlidir. Yüksek ısı işlemi uygulanmış etlerde DNA’nın daha küçük boyutlara parçalanma olasılığı göz önüne alınarak çok uzun baz bölgeleri çoğaltılmamalıdır (Martinez and Yman, 1998; Matsunaga et al, 1999).

Sonuç olarak, sıklıkla uyguladığı pişirme yöntemleri esas alınarak, tüketime hazır hale gelmiş et ürünlerinde PCR yöntemiyle tür tespitinin kısa sürede, kesin olarak yapılabileceği saptandı. Ayrıca, haşlama, konserve ve fırınlama işleminin yapıldığı ve bu etlerin tamamen tüketildiği durumlarda arta kalan pişirme suyundan ve sos örneklerinden de etin orijininin saptanabileceği tespit edildi.

Kaynaklar

- Chikuni, K., Ozutsumi, K., Koishikawa, T., Kato, S. (1990). Species Identification of Cooked Meats By DNA Hybridization Assay. *Meat Science*. 27, 119- 128.
- Ebbehoj, F.K., Thomsen, D.P. (1991). Species Differentiation of Heated Meat Products By DNA Hybridization. *Meat Science*. 30, 221- 234.
- Ebbehoj, F.K., Thomsen, D.P. (1991). Differentiation of Closely Related Species by DNA Hybridization. *Meat Science*. 30, 359- 366.
- Erich, H.A., Gelfand, D., Sninsky J. J. (1991). Recent Advances in The Polymerase Chain Reaction. *Science*. 252, 1643-1651.
- Hopwood, J.A, Fairbrother, S.K., Lockley, K.A., Bardsley, G. R. (1999). An Actin Gene- Related Polymerase Chain Reaction (PCR) Test for Identification of Chicken in Meat Mixtures. *Meat Science*. 53, 227- 231.
- İlhak, İ., Arslan, A., (2003). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Yöntemiyle Sığır, Koyun, Keçi ve Yabani Domuz Etinin Ayırt Edilmesi. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*. 17 (1), 59-63.
- Kamber, U. (1996). Et Türlerinin İdentifikasyonu. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 67 (1), 34-40.
- Koh, M.C., Lim, C.H., Chua, S.B., Chew, S.T., Phang, S.T.W. (1998). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprints for Identification of Red Meat Animal Species. *Meat Science* . 48 (3/ 4), 275- 285.
- Martinez, I., Yman, M.Y. (1998). Species Identification in Meat Products By Rapd Analysis. *Food Res. Int*. 31 (6-7), 459-466.
- Matsunaga, T., Chikuni, K., Tanabe, R., Muroya, S., Shibata, K., Yamada, J., Shinmura, Y. (1999). A Quick and Simple Method for the Identification of Meat Species and Meat Products By PCR Assay. *Meat Science*. 51, 143- 148.
- Meyer, R., Candrian, U., Lüthy, J. (1994). Detection of Pork in Heated Meat Products by The Polymerase Chain Reaction. *J. Aoac Int*. 77 (3), 617- 622.

Meyer, R., Höfelein, C., Lüthy, J., Candrian U. (1995). Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis: A Simple Method For Species Identification (In): *Food. J. Aoac Int.* 78 (6), 1542-1551.

Meyer, R., Chardonens, F., Hübner, P., Lüthy, J. (1996). Polymerase Chain Reaction (PCR) In The Quality and Safety Assurance of Food: Detection of Soya in Processed Meat Products. *Z. Lebensm Unters Forsch.* 203, 339- 344.

Partis, L., Croan, D., Guo, Z., Clark, R., Coldham, T., Murby, J.(2000). Evaluation of a DNA Fingerprinting Method for Determining The Species Origin of Meats. *Meat Sci.* 54, 369-376.

Wan, Q.H., Fang, S.G. (2003). Application of Species-Specific Polymerase Chain Reaction in The Forensic Identification of Tiger Species. *Forensic Sci. Int.* 131, 75-78.

Weder, J. K. P., Rehbein, H., Kaiser, K. P. (2001). On The Specificity of Tuna-Directed Primers in PCR-Sscp Analysis of Fish and Meat. *Eur. Food Res. Technol.* 213, 139-144.

ANKARA'DA TÜKETİME SUNULAN MUTFAKLIK TEREYAĞI, KREMA VE KREM ŞANTİLİ PASTALARIN *BRUCELLA* SPP. YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Fulva TAŞCI

Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı- Burdur

Özet: Mutfaklık tereyağı, krema ve kremşantili pastalarda *Brucella* spp.'nin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, bir yıl boyunca Ankara'nın değişik market, pazar ve pastanelerinden alınan 35 mutfaklık tereyağı, 35 krema ve 35 kremşantili pasta olmak üzere toplam 105 örnek materyal olarak kullanıldı. *Brucella* izolasyonunda Farrel (1974) yöntemi, *Brucella* spp. düzeyinin belirlenmesinde ise De Man (1983)'in önerdiği MPN yöntemi uygulandı. Bu çalışma kapsamında çeşitli market, pazar ve pastanelerden alınan 35 mutfaklık tereyağı, 35 krema ve 35 kremşantili pasta örneklerinin *Brucella* ile kontamine olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında incelenen örneklerin *Brucella* spp. ile kontamine olmadığı fakat örneklerin pastörizasyon kontrollerinde çiğ veya yeterli ısı işlemi görmediği göz önüne alındığında, özellikle sıcak mevsimlerde uygun olmayan muhafaza ve hazırlama koşullarına bağlı olarak halk sağlığı riskinin önlenmesi bakımından mutfaklık tereyağı, krema ve kremşantili pasta üretiminde pastörize süt ve süt ürünleri kullanılması, gerekli tüm hijyenik ve teknik koşulların sağlanması önerilir.

Anahtar Kelimeler: Ankara, *Brucella* spp., krema, kremşantili pasta, mutfaklık tereyağı.

Investigation of Butter, Cream and Whipped Creamy Pastry for *Brucella* spp. Consumed in Ankara

Abstract: In this study, which aims to identify the existence and the contamination level of *Brucella* spp. considering the butter, cream and whipped creamy pastry, totally 105 materials have been used in one year, gathered from the various market places, bazaars and pastry shops of Ankara containing 35 samples of butter, 35 cream and 35 whipped creamy pastry.

In the isolation of *Brucella*, Farrel (1974), in the identification of *Brucella* spp. level, MPN method suggested by De Man (1983) have been used.

Within this scope, it has been determined that no existence of *Brucella* contamination found in the 35 samples of butter, 35 samples of cream and 35 samples of whipped creamy pastry gathered from the various markets, bazaars and pastry shop of Ankara.

As a result, samples examined in this study are not contamination with *Brucella* spp. but considering that these samples were either raw or not faced enough heat process, in order to protect the public health especially in warm seasons considering inappropriate preparing and protecting condition, it is suggested to use pasteurised milk and milk products in making butter, cream and whipped creamy pastry and also suggested maintaining all necessary hygienic and technical conditions.

Key Words: Ankara, *Brucella* spp., butter, cream, whipped creamy pastry.

Giriş

Brucella türlerinin neden olduğu Brucellosis; sığır, koyun, keçi, domuz, koç vb. gibi hayvanlarda özellikle testis, meme, uterus gibi genital organlara yerleşerek yavru atmalara ve infertiliteye neden olan kronik, bulaşıcı ve nekrotik, yangısal infeksiyonlarla ortaya çıkan zoonoz bir hastalıktır. *Brucella* cinsindeki etkenler, evcil hayvanlarda önemli ekonomik kayıplara neden olduğu gibi infekte hayvanların sütleri, sütlü yiyecekler ve hatta et ile insanlara da bulaştıkları ve infekte ettikleri için halk sağlığı yönünden de önemli bir grubu oluşturmaktadır (Arda ve ark., 1997).

Taze, pastörize olmamış infekte süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, hastalığın endemik seyrettiği ülkelerde en çok rastlanan bulaşma yollarından biridir (Syrjamaki ve ark., 1984). Türkiye’de özellikle kırsal kesimlerde çiğ süttten yapılan peynir, krema ve tereyağı önemli infeksiyon kaynağıdır (Sözen, 1996; Erol, 1997).

Materyal ve Metot

Bu araştırmada, Ankara’da bulunan değişik market, pastane ve semt pazarlarında tüketime sunulan 35 mutfaklık tereyağı örneği, 35 krema örneği ve 35 kremşantili pasta örneği olmak üzere toplam 105 örnek materyal olarak kullanıldı.

Çalışmada kullanılan örnekler kaynaklarına göre incelendiğinde; Beypazarı (n:10), Sincan (n:4), Aydınlikevler (n:4), Kırıkkale (n:5), Güdül (n:2), Kızılcahamam (n:2), Çubuk (n:2) semt pazarlarından ve marketlerden (n:6) olmak üzere 35 mutfaklık tereyağı; Beypazarı (n:2), Kazan (n:1), Kızılcahamam (n:2), Aydınlikevler (n:7), Küçükesat (n:5), Çankaya (n:3), Bahçelievler (n:5), Kızılay (n:5) ve marketlerden (n:5) temin edilen 35 krema; Aydınlikevler (n:7), Kızılay (n:15), Küçükesat (n:5), Çankaya (n:3), Basınevleri (n:1), Bahçelievler (n:4) semtlerindeki pastanelerden toplanan 35 kremşantili pasta örneği analize alındı.

Ön zenginleştirme besiyeri olarak Farrel Broth, etkenin üretilmesi için katı besi yeri olarak ise Farrel Agar kullanıldı (Farrel, 1974). *Brucella* türlerinin identifikasyonunda Gram boyama (Öktem, 1967; Corbel ve Brinley-Morgan, 1984), H₂S üretimi (Corbel ve Brinley-Morgan, 1984), Boya duyarlılık testleri (Corbel ve Brinley-Morgan, 1984), Lam Agglütinasyon testi (Alton ve ark., 1988) kullanıldı.

Farrel Broth

***Brucella* Broth Base (Sigma B-3051):** 28 gram *Brucella* Broth Base bir litre distile suda eritilip pH 7 ± 0.2'ye ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

***Brucella* Selective Supplement (Oxoid SR 83) Bileşimi:**

Polymyxin B	2500 IU
Bacitracin	12500 IU
Cycloheximide	50 mg
Nalidixic Acid	2.5 mg
Nystatin	50000 IU
Vancomycin	10 mg

Bir litrelik broth için 2 vial *Brucella* Selective Supplement 10 ml steril distile su ve 10 ml methanol'de eritilip, 37°C'lik etüvde 15 dakika bekletildikten sonra broth'a ilave edildi.

At serumu (Oxoid SR 35): Bir litrelik broth için 50 ml steril at serumu etüvde 56°C'de 30 dakika bekletilerek inaktive edildikten sonra broth'a ilave edildi.

Glukoz: % 10'luk glukoz solüsyonu filtre ile sterilize edilip % 1.5 w/v oranında broth'a ilave edildi.

Hazırlanıp, sterilize edilen, pH: 7 ± 0.2 'ye ayarlanmış ve 50-55°C'ye kadar soğutulmuş bir litre *Brucella* Broth Base'e 50 ml inaktive edilmiş at serumu, 10 gram filtre ile sterilize edilmiş glikoz ve 2 vial eritilmiş *Brucella* Selective Supplement ilave edilerek iyice karıştırıldı ve De Man (1983)'ın önerdiği MPN (Most Probable Number) yöntemi gereğince sterilize tüplere 9'ar ml dağıtıldı. Tüplerin ağızları kapatılarak kullanım zamanına kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

Farrel Agar

***Brucella* Medium Base (Oxoid CM 169):** 45 gram *Brucella* Medium Base 1 litre distile suda eritilip pH 7 ± 0.2 'ye ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

Bir litre *Brucella* Medium Base 50-55°C'ye kadar soğutulup 50 ml inaktive edilmiş At serumu ve 2 vial eritilmiş *Brucella* Selective Supplement ilave edilerek iyice karıştırıldı. Bu karışım 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere 15'er ml döküldü. *Brucella* Medium Base donduktan sonra kapaklar ters gelecek şekilde toplanarak kullanım zamanına kadar buzdolabında muhafaza edildi.

Kontrol Suşu: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan alınan *B. abortus* suşu ile Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığından temin edilen *B. melitensis* (RSKK 274) suşu kullanılmıştır.

Kontrol Serumu: Kullanılan polivalan *Brucella* antiserumu Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığından temin edildi.

Metot

Aseptik koşullarda özel termoslu kaplara alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuara getirildikten sonra *Brucella* türleri yönünden analiz edildi. *Brucella* izolasyonunda Farrel (1974) yöntemi kullanıldı. *Brucella* spp. düzeyinin belirlenmesinde ise De Man (1983)'in önerdiği MPN (Most Probable Number) yöntemi uygulandı. Yöntem gereğince mutfaklık tereyağı, krema ve kremşantili pasta örnekleri aşağıda açıklandığı üzere sırasıyla zenginleştirme işleminden sonra katı besiyerine geçildi ve kolonilerin değerlendirilmesi yapıldı.

Her bir örnekten, içinde 9'ar ml Farrel Broth bulunan 4 tüpe 1'er gram tartılarak geçildi. Tüplerden 3'ü MPN için ayrılırken, 1'i ikinci basamak için sulandırma tüpü olarak ayrıldı ve bu tüpten alınan 1'er

ml homojenat 9'ar ml Farrel Broth bulunan 4 tüpe aktarıldı (0.1 g Örnek + 9 ml Farrel Broth). Üçüncü basamakta da ikinci basamaktaki sulandırma tüpünden 1'er ml homojenat alınarak 9'ar ml Farrel Broth bulunan 3 tüpe geçildi (0.01 gram + 9 ml Farrel Broth).

Bu şekilde MPN için 3 x 1 g, 3 x 0.1 g ve 3 x 0.01 g zenginleştirme tüpleri oluşturuldu. Böyle iki grup hazırlandı. Birinci grup tüpler aerob, ikinci grup %10 CO₂'li ortamda (Gas generating kit Oxoid BR 038B) 37°C'de 5-7 gün inkübasyona bırakıldı. Tüpler inkübasyon süresince her gün bir kez çalkalandı ve süre bitiminde Farrel Agar'a çizme plak yöntemi ile ekimler yapıldı ve aynı şekilde yine iki grup hazırlandı. Birinci grup petrilere aerob, ikinci grup petrilere %10 CO₂'li ortamda 37°C'de 5-7 gün inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresi sonunda Farrel Agar'da oluşan koloniler önce morfolojik olarak *Brucella* yönünden değerlendirildi. *Brucella* şüpheli koloniler hakkında kesin karar verebilmek için mikroskopik bakı ile serolojik ve biyokimyasal testler yapıldı. Mikroskopik muayene için şüpheli kolonilerden preparat hazırlanarak Gram Boyama yapıldı ve immersiyon objektif altında *Brucella* yönünden incelendi. Yine şüpheli kolonilere Lam aglutinasyon testi, H₂S testi, boya duyarlılık testleri uygulandı (Öktem, 1967; Farrel, 1974; Corbel ve Brinley-Morgan, 1984; Alton ve ark., 1988).

Gram Boyama ve Mikroskopik Bakı: Şüpheli *Brucella* spp. kolonilerinden Gram boyama yapıldı. Mikroskopun (YS2 – H Nikon, Japan) immersiyon objektifinde pembe renkli tek tek, çiftler veya nadiren kısa zincirler halinde kısa oval çubuk formunda görülen mikroorganizmalar Gram negatif olarak değerlendirildi (Öktem, 1967; Corbel ve Brinley-Morgan, 1984).

Hidrojen Sülfür (H₂S) Testi: Test edilecek olan kültürler, serumlu *Brucella* Medium Base içeren yatık agar tüplerine inoküle edildi. % 10'luk neutral kurşun asetat solüsyonu ile doyurulmuş ve kurutulmuş şerit filtre kağıtları besiyeri ile temas etmeyecek şekilde tüpün kenarı ile kapak arasına yerleştirildi. Kültürlerin ihtiyacına bağlı olarak *B. abortus* için % 10 CO₂'li ve *B. melitensis* için aerob ortama inkübe edildi. H₂S oluştuğunda, kurşun asetat kağıtlarının uç noktalarında siyahlanmanın görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (Corbel ve Brinley – Morgan, 1984).

Thionin ve Basic Fuchsin'de Üreme: Thionin ve Basic Fuchsin'in % 0.1'lik stok solüsyonları hazırlandı. Bu iki stok solüsyon temel besiyerlerine ayrı ayrı son konsantrasyonları 1/25.000, 1/50.000, 1/100.000 olacak şekilde ilave edildi ve steril petrilere döküldü. *Brucella* medium Base'de üreyen şüpheli kolonilerden öze ile alınarak

belirtilen konsantrasyonlardaki thionin ve basic fuchsin içeren besiyeri yüzeylerine bir hat şeklinde sürülerek inokule edildi. Plaklar çift seri olarak hazırlandı ve inokule edilen plakların bir serisi aerob, diğer serisi de % 10 CO₂ içeren ortamda 37⁰C'de 3-4 gün süreyle inkübe edildi ve bu süre sonunda plaklar üreme yönünden incelendi (Corbel ve Brinley – Morgan, 1984).

Lam Aglutinasyon Testi: Lam üzerine öze yardımıyla alınan şüpheli kolonilerin üzerine bir damla polivalan *Brucella* antiserumu eklenerek aglutinasyon oluşturup oluşturmadığı yönünde gözlemlendi (Alton ve ark., 1988).

Pastörizasyon Kontrolü

Fischer Metodu:

Kullanılan ayraçlar

Fischer - 1

Dinatriumphenylphosphate	1 g
Natrium carbonat	1 g
Natrium bicarbonat	9 g
Distile su	1000 ml

Fischer - 2

2,6 dibromchinonchlorimid	0.01 g
Ethyl alkol (96 °C)	10 ml

Deney tüplerine 10'ar ml Fischer-1 solüsyonundan kondu. Üzerine 0.5-1 ml örnek ilave edildi ve 37⁰C'lik etüvde 4 saat beklettikten sonra etüvden çıkarılarak 10 damla Fischer-2 solüsyonundan damlatıldı. Mavi renk oluşumu (++) fosfataz pozitif, açık mavi-gri renk oluşumu (+) tam olmayan ısıtma, sarı-kahve renk oluşumu ise (-) fosfataz negatif olarak değerlendirildi. Pastörize edilmemiş süt kontrol grubu olarak kullanıldı (Schonberg, 1956).

Örneklerin pH Değerlerinin Ölçülmesi: Mikrobiyolojik analiz için örnek alımını takiben, örneklerin pH değerleri, elektronik pH metre (pH 900, NEL Elektronik, Ingold LOT 406-MG-DXK-57/25) ile ölçüldü.

Bulgular

Bu çalışmada Ankara'da tüketime sunulan 35 mutfaklık tereyağı, 35 krema ve 35 krem şantili pasta örneği *Brucella* spp yönünden incelendi ve örneklerden *Brucella* spp izole edilemedi.

Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan alınan *B. abortus* suşu ile Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığından temin edilen *B. melitensis* (RSKK 274) suşu kontrol grubu olarak kullanılmış, besiyerinin ve inkübasyon ortamının uygun olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada yapılan pastörizasyon kontrollerinde analize alınan 35 mutfaklık tereyağı örneğinin 3 tanesinde mavi renk oluşumu (++) fosfataz pozitif, 17 tanesinde açık mavi – gri renk oluşumu (+) tam olmayan ısıtma, 15 tanesinde sarı – kahve renk oluşumu (–) fosfataz negatif; 35 krema örneğinin 10 tanesinde mavi renk oluşumu (++) fosfataz pozitif, 10 tanesinde açık mavi – gri renk oluşu (+) tam olmayan ısıtma, 15 tanesinde sarı – kahve renk oluşumu (–) fosfataz negatif; 35 krem şantili pasta örneğinin 11 tanesinde açık mavi – gri renk oluşumu (+) tam olmayan ısıtma, 24 tanesinde sarı – kahve renk oluşumu (–) fosfataz negatif olarak değerlendirildi.

Bu çalışmada örneklerin pH ölçümlerinde pH değerlerinin 3.5 – 5.1 arasında değiştiği tespit edildi.

Sonuç

Bu çalışma kapsamında çeşitli market, pazar ve pastanelerden alınan 35 mutfaklık tereyağı, 35 krema ve 35 kremşantili pasta örneklerinin *Brucella* ile kontamine olmadığı tespit edilmiştir.

Örneklerden izolasyon yapılamamasına karşın, örneklerin pastörizasyon kontrollerinde, 35 mutfaklık tereyağ örneğinin 3'ünün çiğ, 17'sinin yeterli ısı işlemi görmediği; 35 krema örneğinin 10'unun çiğ, 10'unun yeterli ısı işlemi görmediği ve 35 kremşantili pasta örneğinin 11'inin yeterli ısı işlemi görmediği göz önüne alındığında, özellikle sıcak mevsimlerde uygun olmayan muhafaza ve hazırlama koşullarına bağlı olarak sağlık riski oluşturacağı dikkate alınmalıdır.

Çalışmada kullanılan besi yerlerinin uygunluğu incelendiğinde *Brucella* kontrol suşlarının üretilebilirliği göz önüne alındığında, besi yeri seçiminin doğru olduğu kanısına varılmıştır. Ancak çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda, çiğ ve yetersiz ısı işlemi görmüş tereyağı, krema ve kremşantili pasta örneklerinin tespit edildiği dikkate alındığında, etkenin izole edilememiş olmasının, ülkemizde

Brucella spp.'nin bulunmadığı anlamına gelmeyeceği ve yeterli ısı işlemi görmemiş ürünlerin Brucellosis yönünden sağlık riski oluşturmaları bakımından önem taşıdığı düşünülmektedir.

Halk sağlığı riskinin önlenmesi için, pastörize süt ve süt ürünleri kullanılması, gıda kontrolüne önem verilmesi, gıda sektöründe çalışan personelin eğitimi, tüketicinin bilinçlendirilmesi, insanların infekte hayvanlarla temasın önlenmesi, riskli mesleklerde çalışanların eldiven gibi kişisel koruyucular kullanmaları önerilir.

Kaynaklar

- Alton, G. G., Jones, L. M., Angus, R. D., Verger, J. M. (1988). Techniques For The *Brucellosis* Laboratory. Paris: Institut National De La Recherche Agronomique 147, Rue De l'université, 75007.
- Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, Kahraman, M., Akay, Ö. Ilgaz, A., İzgür, M., Diker, K. S. (1997). Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Enfeksiyonlar. Ankara: Medisan Yayın Serisi, No: 26.
- Corbel, M. J., Brinley-Morgan, N. J. (1984). Genus *Brucella* In: Krieg, N. R., Holt, J. G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Baltimore / London: Williams And Wilkin, 1: 377-389.
- De Man, J. C. (1983). Mpn Tables, Corrected. *Eur. S. Appl. Biotechnol.*, 17: 301-305.
- Erol, İ. (1997). Gıda Kaynaklı *Brucella* Enfeksiyonlarının Halk Sağlığı Yönünden Önemi. *Üretim*, 3 - 4: 33 - 37.
- Farrel, I. D. (1974). The Development of A New Selective Medium for The Isolation of *Brucella Abortus* From Contaminated Sources. *Res. Vet. Sci.*, 16: 280-286.
- Öktem, Z. (1967). *Brucella*. Tıbbi Bakteriyoloji. İkinci Cilt, 3üncü Baskı, İstanbul: Menteş Kitabevi, S.: 303-323.
- Schonberg, F. (1956). *Milchkunde Und Milchhygiene*, Verlag, M. Ve H. Schaperi Hanover. In: Özalp, E. (1971). Ankara Piyasasında Satılan Kahvaltılık Tereyağların Hijyenik Kalitesi Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 265, Çalışmalar: 167.
- Sözen, H. T. (1996). Bruselloz Enfeksiyon Hastalıkları, Nobel Tıp Kitapevi, S.: 486 - 491.
- Syrjamaki, C., Migliazzo, A., Yarbrough, J., Meyer, L. E. (1984). *Brucella Abortus* Endocarditis Following Ingestion of Cow's Blood. *Nebr. Med. J.*, 69: 141-142.

DONDURMALARDA *BRUCELLA* SPP. İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU

Özlem KÜPLÜLÜ

Belgin SARİMEHMETOĞLU

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Ankara

Özet: Bu çalışmada, 80'i vanilyalı, 75'i çikolatalı ve 62'si meyveli olmak üzere toplam 187 dondurma örneği *Brucella* spp. kontaminasyon düzeyinin ve tür dağılımının belirlenmesi amacıyla incelenmiştir. Dondurma örneklerinde *Brucella* spp. izolasyon ve identifikasyonu Farrel'in önerdiği yöntemle göre yapılırken, *Brucella* spp. düzeyi MPN tekniği ile belirlenmiştir. Analize alınan çikolatalı ve meyveli dondurma örneklerinde *Brucella* spp. izole edilemezken, vanilyalı dondurma örneklerinin % 6.25'inde *B. abortus* izole edilmiştir. *B. abortus*'un dondurmalarda ortalama 5.4×10^2 MPN/g düzeyinde bulunduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada dondurmaların halk sağlığı açısından potansiyel brusellozis riski taşıdığı belirlenmiştir. Bu nedenle, dondurma üretimi yapılan işletmelerde kritik kontrol noktalarının belirlenerek gerekli hijyenik önlemlerin alınmasının ve düzenli olarak denetimlerin yapılmasının brusellozisin önlenmesinde gerekli olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Brucella* spp.; *Brucella abortus*; dondurma

Isolation and Identification of *Brucella* spp. in Ice Cream

Abstract: In this study, a total of 217 samples consisting of 80 vanilla flavoured, 75 chocolate flavoured and 62 fruit flavoured ice cream, were examined for their level of *Brucella* spp. contamination and species distribution. Whilst the isolation and identification of *Brucella* spp. in the ice cream samples was done according to the method described by Farrel, the level of *Brucella* spp. was determined by the MPN technique.

Whereas no *Brucella* spp. was isolated in the chocolate and fruit flavoured ice cream samples taken for analysis, *B. abortus* was isolated in 6.25% of the vanilla flavoured ice cream samples. *B.*

abortus was found to be present in ice cream samples at the level of 5.4×10^2 MPN/g.

In conclusion, the results of this study have established ice cream produced in Turkey as a public health threat in view of its potential risk of brucellosis. It is in view of this fact that we deem it necessary that, to curb the spread of brucellosis in this community, establishing critical control measures in ice cream production units and provision of the necessary hygienic measures with regular supervision be made mandatory.

Key words: *Brucella* spp.; *Brucella abortus*; ice cream

Giriş

Brusellozis insanlarda ciddi sağlık sorunlarına, hayvanlarda büyük ekonomik kayıplara neden olan önemli bir zoonotik hastalıktır. Günümüze kadar yapılan eradikasyon çalışmalarına rağmen hastalık Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere tüm dünyada güncelliğini korumaktadır (Anon, 1997; Manes, 1984; Roux, 1989). Hastalık etkeni ilk defa 1887 yılında Malta adasında Sir David Bruce tarafından bir askerin dalağından izole edilmiştir. *Brucella* genusu içerisinde *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. canis*, *B. ovis*, ve *B. neotomae* olmak üzere 6 tür yer almaktadır. *B. abortus* sığırlarda, *B. melitensis* koyun ve keçilerde, *B. suis* domuzlarda, *B. canis* köpeklerde, *B. ovis* koçlarda, *B. neotomae* ise çöl farelerinde abort ve/veya reproduktif hastalıklara neden olmaktadır. İnsanlarda en patojen türün *B. melitensis* olduğu, bunu *B. suis* ve *B. abortus*'un izlediği, *B. ovis* ile *B. neotomae*'nin insanlar için patojen olmadığı bildirilmektedir. İnsanlarda ondulan ateş, malta humması, Akdeniz humması adıyla bilinen brusellozis, hayvanlarda yavru atma, infertilite, mastitis, orşitis ve artritise neden olmaktadır (Bispink ve Amsberg, 1988; Garin-Bastuji ve Verger, 1994; Mikolich ve Boyce, 1990). Brusellozisli sığır, koyun ve keçiler abort veya normal doğum sonrası sütleriyle etkeni yaymaya devam ederler. Sütte bulunan *Brucella* spp. pastörizasyon sıcaklıklarında yıkımlanır. Bu nedenle sıcaklık-zaman parametrelerine uyularak pastörize edilen süt ve bu sütlerden yapılan süt ürünlerinde brusellozis riski yoktur (Bryan, 1983; Eyles, 1992).

Brucella spp.'nin insanlara bulaşması etkenle kontamine gıdanın tüketilmesi, hayvanlarla ve çiğ hayvansal gıdalarla direkt temas ve inhalasyon yolu ile olmaktadır. Kontamine materyal ile direkt bulaşma riski, veteriner hekimler, çiftçiler, süt işletmelerinde ve mezbahalarda çalışan personel için yüksektir. Inhalasyon yolu ile bulaşma ise daha

çok laboratuvar çalışanlarında görülür. Risk grubu mesleklerde çalışmayan kişiler için en önemli bulaşma yolu alimenter bulaşmadır. Bu çerçevede, kontamine çiğ süt ve çiğ süttten yapılan süt ürünlerinin tüketimi hastalığın insanlara bulaşmasına neden olmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda da brusellozise neden olan gıdaların çiğ süt ve süt ürünleri olduğu bildirilmektedir. Brusellozis de süt kaynaklı zoonotik enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır (Garin-Bastuji ve Verger, 1994; Herr ve Roux,1981; Jawetz ve ark, 1987).

Çiğ süttten yapılan peynir başta olmak üzere krema, tereyağı gibi süt ürünlerinin yanısıra dondurmanın da brusellozis riski taşıyabileceği bildirilmektedir. Dondurma üretiminde pastörize edilmemiş süt kullanılması, işletmenin hijyenik kurallara uygun olmaması, alet-ekipmanın temizlik ve dezenfeksiyonuna gereken önemin verilmemesi, dondurma karışımının dondurulmadan önce yetersiz soğutulması ve uzun süre bekletilmesi ile çözünmüş dondurmanın tekrar dondurulması gibi faktörlerin etkisiyle, dondurma, patojenlerle kontamine olur ve mikroorganizma yükü artar. Dondurmanın *Brucella spp.* ile kontaminasyonunda ise etken ile kontamine çiğ süt kullanılmasının en önemli neden olduğu bildirilmektedir (Anon, 2002a; Bryan,1983; Eyles,1992, Keren 1999; Tekinşen,1997).

Endüstriyel tipte kapasitesi büyük işletmelerde üretilen ve ambalajlı tüketime sevk edilen dondurmaların üstün hijyenik kalitede oldukları, gıda enfeksiyon ve intoksikasyon riski oluşturmadıkları, küçük işletmelerde üretilen dondurmaların ise hijyenik kalitelerinin kötü olduğu ve çeşitli gıda patojenleri ile kontamine oldukları bildirilmektedir (Ergün ve Cıvar, 1984). Türkiye’de küçük işletmelerden örnekler alınarak yapılan çalışmalarda da (Akol ve Uğur, 1984; Ergün ve Cıvar,1984; Erol ve ark.,1998; Omurtag ve ark,1977) dondurmaların hijyenik kalitelerinin çok düşük olduğu ve dondurmalarda *Salmonella*, koagülaz pozitif stafilokok, *E. coli* gibi gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarına neden olabilecek patojen mikroorganizmaların izole edildiği, bu durumun üretimde kullanılan süttün pastörize edilmemesinden, hijyen kurallarına uyulmamasından ve personelden kaynaklandığı bildirilmektedir. Türkiye’de üretilen dondurmaların büyük çoğunluğunun küçük işletmeler tarafından üretildiği ve üretimde hijyenik yönden uygun olmayan hammadde kullanıldığı gözönüne alındığında dondurmanın tüketici sağlığı açısından brusellozis riski taşıyabileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taramalarında dondurmalarda *Brucella spp.*nin aranmasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır.Bu çalışma, başta küçük çocuklar olmak üzere tüm yaş gruplarınca yaygın olarak tüketilen

dondurmanın brucellozis riski taşıyıp taşımadığının saptanması amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Ankara'nın çeşitli semtlerindeki küçük işletmelerden temin edilen 80 vanilyalı, 75 çikolatalı ve 62 meyveli olmak üzere toplam 187 dondurma örneği materyal olarak kullanıldı. Dondurma örnekleri, aseptik şartlarda, soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek aynı gün analize alındı.

Dondurma örneklerinden *Brucella* spp.nin izolasyon ve identifikasyonu :

Her bir dondurma örneğinden stomacher torbalarına 10'ar g alınarak 90'ar ml Farrel's broth ile homojenizatörde (Lab.Lemco 400) 1-2 dakika süre ile homojenize edildi. Dondurma örneklerinden hazırlanan diğer dilusyonlar ise 9 ml Farrel's broth kullanılarak yapıldı. İki seri halinde hazırlanan her bir dilusyondan bir serisi aerob ortamda diğer serisi ise % 10 CO₂'li ortamda 37°C'de 5 gün süre ile inkube edildi. Farrel's broth *Brucella* broth içerisine (BBL 4311088) % 5 inaktive at serumu (OXOID SR35), 10 g/l glukoz (Merck 1.08346.1000) ve 1 vial/ 500 ml *Brucella selective supplement* eklenerek hazırlandı. Inkubasyon sonrası, her bir zenginleşme homojenatından Farrel's agara 0.1 ml ekim yapıldı. Aerobik zenginleşme homojenatından ekilen plaklar aerobik, % 10 CO₂'li ortamdaki homojenatlardan ekilen plaklar ise % 10 CO₂'li ortamda 37 °C'de 5 gün inkubasyona bırakıldı. Farrel's agar *Brucella Medium Base* (OXOID CM169) içerisine 1 vial/500 ml *Brucella selective supplement* eklenerek hazırlandı. Inkubasyon sonrası 1-2 mm çapındaki kenarları sınırlı sarı, şeffaf şüpheli kolonilere Gram boyama, H₂S oluşturma, ürease, katalaz, lam aglutinasyon testi (*Brucella abortus* antisera, Difco 2871-47-7, *Brucella melitensis* antisera 2889-47-7) ve boya duyarlılık testleri uygulanarak identifikasyon yapıldı. Pozitif örneklerde *Brucella* Spp. Düzeyinin belirlenmesinde MPN tekniği kullanıldı. (Farrell,1974; Preeler ve ark,1992).

Bulgular

Analize alınan 75 çikolatalı ve 62 meyveli dondurma örneğinden *Brucella spp.* izole edilemezken, 80 vanilyalı dondurma örneğinin 5'inden (% 6.25) *Brucella spp.* izole edilmiştir. *Brucella spp.* olduğu belirlenen isolatların identifikasyonunda 5'inin de *Brucella abortus* olduğu saptanmıştır. Pozitif bulunan vanilyalı dondurma örneklerindeki *B. abortus* düzeyi MPN /g olarak tablo 1 de verilmiştir. Bu çerçevede, pozitif dondurma örneklerinden 1.1×10^2 - 2.3×10^3 MPN/g arasında olmak üzere ortalama 5.4×10^2 MPN/g düzeyinde *B. abortus* izole edilmiştir.

Tablo 1: Pozitif dondurma örneklerinde *Brucella abortus*'un düzeyi (MPN/g)

Pozitif örnek (n=6)	<i>Brucella abortus</i> (MPN/g)
A	2.3×10^3
B	1.1×10^2
C	9.3×10^2
D	1.1×10^2
E	1.5×10^3

Sonuç

Bu çalışmada, analize alınan vanilyalı dondurma örneklerinin % 6.25'inden *B. abortus* izole edilmesi dondurmaların potansiyel brusellozis riski taşıdığını ortaya koymaktadır. Dondurma üretiminde kullanılan çiğ sütün pastörize edilmesi, kullanılan katkı maddelerinin hijyenik kalitelerinin yüksek olmasına dikkat edilmesi, işletmede HACCP (Hazard analysis critical control point) sistemi uygulaması ile yeterli hijyenik koşulların sağlanmasının halk sağlığının korunması için gerekli olduğu görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

Anonymous (1997). Brucellosis: an Overview. 1st International Conference on Emerging Zoonoses Jerusalem, Israel. Emerging Infectious Disease, 3(2), 213-221.

Anonymous (2002a). Brucellosis.

<http://www.nbcmed.org/SiteContent/MedRef/FieldManualsmedman/Brucellosis.htm>

Anonymous (2002b). Public Health Fact sheet-Brucellosis.

Available:<http://www.state.ma.us/dph/cdc/factsheets/brucellosis.htm>.

Akbulut, N., & Kavas, G. (1993). İzmir ilinde satılan sokak sütlerinin mikrobiyolojik özellikleri üzerinde bir araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 30(1-2), 89-96.

Akol, N., & Uğur, M. (1984). İstanbul piyasasında satılmakta olan kaymaklı dondurmaların hijyenik kalitesi üzerine araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 10(1), 53-59.

Bisping, W., & Amtsberg, G. (1988). Colour atlas for the diagnosis of bacterial pathogens in animals. Hamburg: Paul Parey Scientific Publishers (pp. 246-262).

Bryan, F. L. (1983). Epidemiology of milkborne diseases. J. Food Prot., 46(7), 637-649.

Ergün, Ö., & Cıvar, E. (1984). Zur bakteriologischen qualitat von in İstanbul angebotenen einheimischen und importierten Speiseeis (Fertiggepackte und konditories). Veterinarium, 3(1), 29-31.

Erol, İ., Küplülü, Ö., Sırken, B., & Ç Elik, T. H. (1998). Ankara'daki çeşitli pastanelere ait dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. DOĞA, Turk J.Vet. Anim. Sci., 22(4), 345-352.

Eyles, M. (1992). Fresh milk cheese: the issues. Aust J Dairy Technol, 47, 102-105.

Farrel, I. D. (1974). The development of a new selective medium for the isolation of *Brucella melitensis* from contaminated sources. Res. Vet. Sci., 16, 280-286.

Garin-Bastuji, B., & Verger, J. M. (1994). *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. The Significance of Pathogenic Microorganism in Fresh milk. Int. Dairy Fed., No: 9405.

Herr, S., & Roux, D. (1981). The efficacy of bacteriological procedures for the isolation of *Brucella abortus* from abattoir material. J. Vet. Res., 48, 7-12.

Ilhan, Z., Keskin, O., Sareyyüpoğlu, B., Kökçü, L., & Akan, M. (1999). Bir sığırcılık işletmesinde *Brucella* salgını. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 46(2-3), 257-262.

Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (1987). Review of medical microbiology. California: Appleton & Lange (pp. 265-267).

Keren, G. (1999). Brucellosis: clinical manifestations and treatment. Available:http://www.fao.org/ag/aga/agah/id/brunet/public_sub2_pl.html.

Manes, G. (1984). Epidemiological situation of brucellosis in the mediterranean countries. Development of Biological Standards, 56, 739-747.

Mert, A. (1984). Ankara yöresinde pazarlanan taze beyaz peynirlerde *Brucella*'ların varlığı üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Mikolich, D. J., & Boyce, J. M. (1990). *Brucella* species. In G. L. Mandell, R. G. Douglas, & J. E. Bennett (Eds.), *Principle and practice of infectious diseases* (pp. 1735–1742). London: Churchill Livingstone.

Omurtag, A. C., Ceran, G., & Akın, A. (1977). Denizli ilinde satılan kaymaklı dondurmaların hijyenik kaliteleri üzerinde araştırmalar. *Türk Veteriner Hekimliği Derneği Dergisi*, 47(1), 40–47.

Preeler, J. T., Houghtby, G. A., & Rainosek, A. P. (1992). The most probable number technique. In C. Vanderzant, & D. F. Splittstoesser (Eds.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (pp. 106–117). Washington: American Public Health Association.

Roux, J. (1989). Brucellosis hastalığının halk sağlığı yönünden önemi. In Uluslararası *Brucella* sempozyumu. Hayvan hastalıkları Merkez Aras_tırma Enstitüsü Yayınları, No: 9, Pendik. İstanbul.

Sancak, Y. C., Boynukara, B., & Yardımcı, H. (1993). The existence and lifetime of *Brucella* species in Van herby cheese. *Veterinarium*, 4, 1–3.

Tekinşen, O. C. (1997). Süt Ürünleri Teknolojisi (pp. 257–316). Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Unitesi, Konya.

Tunçbilek, M. (1992). Ankara piyasasında satılan taze beyaz peynirlerin brucellosis riski yönünden incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

CARRA PEYNİRLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ*

Osman AYGÜN¹ Özkan ASLANTAŞ² Süleyman ÖNER¹

¹Musatafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Hatay

² Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-
Hatay

Özet: Bu çalışmada Hatay yöresinde tüketime sunulan 50 adet Carra peyniri örneğinin mikrobiyolojik kalitesi ve bazı kimyasal özellikleri araştırıldı. İncelenen peynir örneklerinde ortalama olarak 1.87×10^8 kob/g toplam aerobik mezofilik bakteri, 2.51×10^3 kob/g *Staphylococcus aureus*, 4.40×10^5 kob/g enterokok, 5.60×10^5 kob/g enterobakteri, 4.80×10^7 kob/g maya ve küf, 1.02×10^4 kob/g koliform, 4.27×10^3 kob/g *Escherichia coli* saptandı. *Salmonella*'lara ise hiçbir peynir örneğinde rastlanmadı. Analiz edilen peynirlerdeki ortalama rutubet ve tuz miktarları sırasıyla %41.26 ve %7.82, pH değeri ise 5.24 olarak tespit edildi. Bu araştırma ile piyasada tüketime sunulan Carra peynirlerinin hijyenik kalitelerinin yetersiz olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Carra, peynir, mikrobiyolojik kalite, Hatay.

A Survey on the Microbiological Quality of Carra, a Traditional Turkish Cheese

Abstract: In this study, fifty randomly selected samples of Carra cheese, raw milk cheese, were purchased from different retail markets in the Antakya (Antioch) region and were investigated for microbiological quality and some chemical analyses. In these samples, the numbers of microorganisms were found as follows: Total mesophilic bacteria 1.87×10^8 cfu/g, *Staphylococcus aureus* 2.51×10^3 cfu/g, enterococci 4.40×10^5 cfu/g, *Enterobacteriaceae* 5.60×10^5 cfu/g,

*Bu çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir(Proje No: 01 G 0202) **Yazışma Adresi: Osman Aygün, Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 31040- HATAY, E-mail, oaygun@mku.edu.tr.

yeast & mould 4.80×10^7 cfu/g, coliform 1.02×10^4 cfu/g, *Escherichia coli* 4.27×10^3 cfu/g. *Salmonella* were not detected in any of the samples. Mean moisture and salt contents of Carra cheese were found as 41.26% and 7.82% respectively. The pH value of the samples varied between 4.53 and 6.32 with a mean of 5.24. The microbiological findings showed the presence of high counts of microorganisms investigated and the poor hygienic quality of Carra cheese.

Key words: Carra, cheese, microbiological quality, Hatay.

Giriş

Geleneksel olarak üretimi yapılan peynirlerin büyük bir kısmı, yetersiz hijyenik koşullar altında ve bölgelere göre değişebilen çeşitli üretim teknikleriyle imal edilmektedir. Bu nedenle, Avrupa ülkelerinde peynirlerin mikrobiyolojik bakımdan güvenliğinin sağlanabilmesi amacıyla süt ve süt ürünleri için mikrobiyolojik standartlar belirlenmiştir (Anonim, 1992).

Yöresel olarak Testi peyniri anlamına da gelen Carra peyniri, Hatay yöresinde yaygın olarak tüketilen bir peynir çeşididir. Geleneksel olarak evlerde, küçük süt işletmelerinde veya çiftliklerde üretilen Carra peyniri, sert veya yarı sert bir yapı göstermektedir. Genellikle keçi inek sütünden yapılan Carra peynirin üretimi için, ısıtılmış ve pastörize edilmemiş süte ($\sim 30-32^\circ\text{C}$) piyasadan temin edilen peynir mayası ilave edilmekte ve yaklaşık bir saat sonra pıhtı oluşmaktadır. Oluşan pıhtı parçalanarak bir tülbent yardımıyla süzülmekte ve yaklaşık yarım saat kadar baskıda tutulduktan sonra 1 cm kalınlığında dilimler halinde kesilip tuzlanmaktadır. Bir kat tuz, bir kat peynir şeklinde yapılan tuzlamadan sonra 2-3 gün beklenip

peynirin sertleşmesi sağlanmaktadır. Diğer taraftan, yağı alınmış yoğurttan yapılmış çökeleğe yaklaşık %4 oranında tuz ilave edilmekte ve bez torbaya konulup baskıda tutularak suyu süzülmemektedir. Bu çökeleğin içerisine her birinden yaklaşık %5 oranında olmak üzere kekik (*Thymus vulgaris*) ve çörek otu (*Nigella sativa*) katılıp iyice yoğrulmaktadır. Hazırlanan peynirler, carra denilen testilere bir kat çökelek, bir kat peynir olacak şekilde basılıp doldurulmaktadır. Dolu testiler baş aşağı çevrilip 3-4 gün bekletildikten sonra tekrar çevrilerek üzerine biraz tuz, beyaz bir kağıt ve kekik konup bir bezle bağlanmaktadır. Testinin ağzı biraz tuz, kül, zeytinyağı ve su karışımından oluşturulan bir harçla sıvanmakta, bu harç kuruduktan

sonra bir bezle bağlanmaktadır. Daha sonra testiler, serin bir yerde toprağa gömülmekte ve yaklaşık 3 aylık bir olgunlaştırmadan sonra peynirler tüketime sunulmaktadır (Konar ve Güler, 1998). Carra peynirinin, bugüne kadar standardize edilmiş bir üretim tekniği bulunmamaktadır.

Bu çalışma ile, Hatay yöresine özgü Carra peynirinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Peynir örnekleri: Araştırmada kullanılan toplam 50 adet Carra peyniri örneği, Mayıs 2002 – Ekim 2002 tarihleri arasında Antakya piyasasında satışa sunulan peynirlerden (her birinden yaklaşık 200 g) temin edildi. Örnekler, steril plastik torbalar içerisinde ve soğuk zincir altında laboratuara getirildi ve 1-2 saat içerisinde mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerine başlandı.

Mikrobiyolojik analizler: 10 g peynir örneği 90 ml %0,1'lik steril peptonlu su (Merck, 107228) solüsyonu ile en az 2 dk süreyle homojenize (Stomacher, Lab-Blender 400, Interscience, France) edildi ve tekrar steril peptonlu su solüsyonu ile 10'luk dilüsyonları hazırlanarak spesifik besiyerlerine paralel ekimleri yapıldı.

Mikroorganizmalardan toplam aerob mezofilik bakteriler (TAMB) ve koliformların tespiti Hatzikamari ve ark. (1999)'nın, *Escherichia coli* sayısı Marth'ın (1978), *Enterobacteriaceae* ve *Salmonella* spp. sayımı Baumgart'ın (1993), *Staphylococcus aureus*, enterokok ve maya/küf sayılarının tespiti Bridson'ın (1998) bildirdikleri yöntemlere göre yapıldı. Sonuçlar, bir gram peynirde koloni oluşturan birim (kob/g) olarak verildi.

Kimyasal analizler: Peynir örneklerinin pH değeri elektronik pH-metre ile (Orion, 420A-USA) tespit edildi; rutubet ve tuz oranları ise sırasıyla Hatzikamari ve ark. (1999) ile Uluslararası Süt Federasyonu (IDF) metotlarına (1988) göre saptandı.

İstatistiksel analizler: Sayısal verilerde ortalama (X) ve standart sapma (SD) değerleri, SPSS bilgisayar programı (SPSS for Windows, 9.05 program) kullanılarak elde edilmiştir.

Bulgular

Carra peynirinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 1, 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Carra peynirinde saptanan mikrobiyolojik sonuçlar (n=50, kob/g)

Mikroorganizma	X	SD	En düşük	En yüksek
TAMB	1.87x10 ⁸	1.11x10 ⁹	3.70x10 ⁴	7.90x10 ⁹
<i>Enterobacteriaceae</i>	5.60x10 ⁵	2.40x10 ⁶	<10 ²	1.30x10 ⁷
Koliform	1.02x10 ⁴	3.13x10 ⁴	<10 ²	1.90x10 ⁵
Enterokok	4.40x10 ⁵	1.30x10 ⁶	<10 ²	8.20x10 ⁶
Maya/Küf	4.80x10 ⁷	8.73x10 ⁷	2.10x10 ³	3.30x10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.51x10 ³	9.97x10 ³	<10 ²	6.00x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	4.27x10 ³	1.57x10 ⁴	<10 ²	9.00x10 ⁴
<i>Salmonella</i> spp.	s*			

*: Saptanamadı.

Tablo 2: 50 Carra peyniri örneğinde saptanan mikroorganizmaların bulunuş sıklığına göre dağılımı (%)

Mikroorganizma	<10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴	10 ⁴ - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁶	10 ⁶ - 10 ⁷	10 ⁷ - 10 ⁸	10 ⁸ - 10 ⁹	10 ⁹ - 10 ¹⁰
TAMB				12	30	30	16	10	2
<i>Enterobacteriaceae</i>	66	4	10	10	4	2	4		
Koliform	66	8	10	14	2				
Enterokok	30	6	10	16	30	8			
Maya/Küf			2	16	6	32	28	16	
<i>Staphylococcus aureus</i>	80	12		8					
<i>Escherichia coli</i>	82	2	8	8					

Tablo 3: Carra peynirinin kimyasal özellikleri

Özellik	X ± SD	En düşük	En yüksek
pH	5.2± 0.4	4.5	6.3
Tuz (%)	7.8±2.6	4.2	12.6
Rutubet (%)	41.3±5.1	32.7	51.9

Sonuç

Peynir örneklerinde bulunan toplam aerob mezofilik bakteri ile maya/küf sayısı, olgunlaştırılmış ve pastörize edilmemiş süttten üretilen Van otlı, Tulum (Şavak) ve Beyaz peynirlerinde tespit edilenlerden (Kıvanç, 1989) düşük bulunmuştur. Kıvanç (1989), Van otlı, Tulum (Şavak) ve Beyaz peynirlerinde toplam aerob mezofilik bakteri sayısını sırasıyla 8.96, 9.35 and 9.58 $\log_{10}$ cfu/g, maya/küf sayısını da 7.25, 7.00 and 6.74 $\log_{10}$ cfu/g olarak saptamıştır. Araştırmacı, Van otlı peynirlerinde maya/küf sayısının yüksek olmasının, bu peynire katılan otlardan kaynaklanabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca Beresford ve ark. (2001), peynirlerdeki düşük pH, rutubet ve ısı ile yüksek tuz oranının, olgunlaştırma sırasında maya gelişimine katkıda bulunduklarını bildirmektedirler. Carra peynirinde bulunan maya/küf gelişiminin, peynirde bulunan kekik ve/veya çörek otundan, tuz miktarının yüksek ve rutubet oranının ise nispeten düşük olmasından kaynaklanabilir (Table 3).

De Boer ve Kuik (1987), pastörize edilmemiş süttten yapılan çeşitli küflü peynirlerden (Gorgonzola, Roquefort ve Danish) toplam 256 örneğin 13'ünde (%5) 10^2 - 10^4 kob/g arasında *Staphylococcus aureus* tespit etmişlerdir. Carra peynirinde ise bu sayı, 1.0×10^2 - 6.0×10^4 kob/g arasında bulunmuştur. Kıvanç (1989)'ın, Van otlı peyniri hariç, Tulum ve Beyaz peynirlerinde bulduğu *S. aureus* sayısı (2.52 - 2.62 $\log_{10}$ kob/g), Carra peynirinde bizim bulduğumuz değerlere yakın olmakla birlikte, çok az miktarda düşük olduğu görülmektedir. Araştırmacı, Van otlı peynirinde ise, Carra peynirine oranla daha düşük miktarda *S. aureus* (0.95 $\log_{10}$ kob/g) tespit etmiştir. Carra peynirinde bulunan *S. aureus* sayısının, Turantaş ve ark. (1989)'nın Beyaz peynirde saptadığı *S. aureus* miktarından (1.30-1.70 $\log_{10}$ kob/g) yüksek olduğu görülmüştür. Avrupa Birliği'nde çiğ sütlerden üretilmiş peynirlerdeki *S. aureus* sayısının 5 örnekte 10^3 /g'ı aşmaması, bu 5 örneğin ikisinde bulunabilecek en yüksek *S. aureus* miktarı ise 10^4 /g olarak belirlenmiştir (Anonim, 1992).

Carra peynirinde tespit edilen koliform sayısının, Van otlı, Tulum ve Beyaz peynirlerde (Kıvanç, 1989) saptananlardan (sırasıyla 0.94, 2.37 ve 2.42 $\log_{10}$ kob/g) yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmacı, Van otlı peynirlerindeki koliform ve stafilokok sayısının düşük olmasını, peynirdeki yüksek tuz oranına (%6,5) bağlamaktadır. Bu iki mikroorganizmanın Carra peynirinde yüksek bulunması, peynir yapımında çiğ süt kullanılmasından ve üretim, depolama ve pazarlama aşamalarında hijyenik koşulların yetersiz olmasından kaynaklanabilir.

De Boer ve Kuik (1987), küflü peynir örneklerinin %42'sinde *Enterobacteriaceae* sayısının, %26'sında ise *Escherichia coli* sayısının 10^2 kob/g'dan fazla bulunduğunu, en yüksek değerlerin ise sırasıyla 10^8 and 10^5 kob/g olduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar, en yüksek *Enterobacteriaceae* ve *E. coli* sayısının, incelenen peynir çeşitleri arasında en yüksek rutubet oranına (%45,5), yüksek pH değerine (6,4) ve düşük tuz miktarına (%2) sahip olan Gorgonzola türü peynir örneklerinde saptandığını bildirmektedirler. Buna karşılık, Carra peynirinde *Enterobacteriaceae* ve *E. coli* bulunma oranlarının daha düşük (sırasıyla %34 ve %18) olduğu görülmektedir. Buna neden olarak, Gorgonzola peynirine göre Carra peynirinin daha düşük rutubet oranına ve daha fazla tuz miktarına sahip olması (Tablo 3) gösterilebilir. Araştırmacılar, küflü peynirlerde *Enterobacteriaceae* ve *E. coli* varlığının, çiğ süt kullanımından ve/veya üretim sırasındaki kontaminasyonlardan kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir. Avrupa Birliği'nde çiğ sütlerden üretilmiş peynirlerdeki *E. coli* sayısının 5 örnekte 10^7 /g'ı, bu 5 örneğin ikisinde bulunabilecek en yüksek *E. coli* miktarının da 10^5 /g'ı geçemeyeceği belirtilmiştir (Anonim, 1992).

İtalya'nın güney bölgelerinde çiğ süttten üretilen, olgunlaştırılarak tüketilen ve yarı sert bir peynir olan Caciocavallo Silano'da bulunan enterokokların sayısı 5,0 – 6,1 log kob/g arasında tespit edilmiştir (Corsetti ve ark., 2001). Bu sayıların, Carra peynirinde bulunan enterokok sayılarından (Tablo 1) yüksek olduğu görülmektedir. Corsetti ve ark. (2001), peynirde bulunan stafilokok ve enterokokların hammaddeden, çevreden ve üretim tekniğinden kaynaklanabileceğini bildirmektedirler.

Carra peynirinde, Avrupa Birliği'nin (Anonim, 1992), süt ürünlerine için öngördüğü mikrobiyolojik kriterlere uygun olarak *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak Carra peyniri üretiminin, depolanmasının ve pazarlanmasının yetersiz hijyenik koşullar altında yapıldığı kanısına varılmıştır. Peynir örnekleri arasında mikrobiyolojik ve kimyasal sonuçların farklı olmasının, üretim tekniklerinin farklılığından ve üretimden tüketime kadar olan süreçte hijyenik koşulların yetersizliğinden kaynaklandığı söylenebilir. Carra peynirinin mikrobiyolojik kalitesinin yükseltilmesinde, çiğ süt yerine pastörize süt kullanılması, üretim, olgunlaştırma, depolama ve pazarlama aşamalarında hijyenik koşullara uyulması ve üretimden sonra tüketime kadar geçen sürede peynirin soğuk ortamda muhafaza edilmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, Carra peyniri üretiminin standardize edilebilmesi için başka araştırmaların yapılmasına da ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Anonim (1988). *Determination of Salt Content* – Standard 12B. International Dairy Federation, Brussels.
- Anonim (1992). Laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products. European Council Directive 92/46/EEC of 16 June 1992. Official Journal of the European Communities, L268, 14.9.1992, p.1.
- Baumgart, J. (1993). *Mikrobiologische Untersuchungen von Lebensmitteln*, Behr's Verlag, Hamburg.
- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L. Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *Int. Dairy J.*, 11, 259–274.
- Bridson, E. Y. (1998). *The Oxoid Manual*, Published by Oxoid Limited, 8th Edition, Hampshire.
- Corsetti, A., Corbo, M. R., Albenzio, M., Di Cagno, R., Gobetti, M. ve Fox, P. F. (2001). Microbiology and biochemistry of caciocavallo silano cheese. *Italian J. Food Sci.*, 13, 297–309.
- De Boer, E. ve Kuik, D. (1987). A survey of the microbiological quality of blue-veined cheeses. *Neth. Milk Dairy J.*, 41, 227–237.
- Hatzikamari, M., Litopoulou-Tzanetaki, E. ve Tzanetakis, N. (1999). Microbiological characteristics of Anevato: a traditional Greek cheese. *J. Appl. Microbiol.*, 87, 595–601.
- Kıvanç, M. (1989). A survey on the microbiological quality of various cheeses in Turkey. *Int.J.Food Microbiol.*, 9, 73–77.
- Konar, A. ve Guler, M. B. (1998). Manufacturing, chemical compositions and proteolysis levels of Hatay Carra cheese (in Turkish). *5. Symposium of Milk and Milk Products, 21-22 May, Tekirdag, Turkey.*
- Marth, E. H. (1978). *Standart Methods for the Examination of Dairy Products*, American Public Health Association Inc. Washington D. C.
- Turantaş, F., Ünlütürk, A. ve Gökten, D. (1989). Microbiological and compositional status of Turkish white cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 8, 19–24.

BİR SÜT FABRİKASINDA BEYAZ PEYNİR ÜRETİM AŞAMALARINDA MİKROBİYOLOJİK KONTAMİNASYON KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ

Seran TEMELLİ Şahsene ANAR M.K. Cem ŞEN Pelin AKYUVA

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Bursa

Özet: Bu çalışma, bir süt fabrikasında beyaz peynir üretim aşamalarındaki mikrobiyolojik kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 31 kontrol noktası aerob mezofil genel canlı, stafilocok-mikrokok, koagülaz pozitif stafilocok, enterokok, enterobakteriler, koliform bakteri, *E. coli*, *C. perfringens*, psikrofil bakteri, maya ve küf sayıları yönünden incelenmiştir.

Çalışma sonucunda, işçi elleri ve starter kültürün koagülaz pozitif stafilocoklar yönünden, dinlenme tankı ve salamuranın koliform bakteri, enterobakteri ve enterokoklar yönünden, işletme havasının da maya ve küf yönünden kontaminasyon kaynağı olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, mikrobiyolojik kontaminasyon

Determination of Microbiological Contamination Sources White Cheese during Production Stages in Dairy Plant

Abstract: This study has been conducted to determine the microbiological contamination sources during production stages of white cheese. Aerob mesophilic viable count, staphylococci-micrococci, coagulase positive staphylococci, Enterobacteriaceae, enterococci, coliform bacteria, *E.coli*, *C.perfringens*, psychrophilic bacteria, yeast and moulds were checked out in 31 control points.

It was determined that; hands of workers and starter culture contamination sources for coagulase positive staphylococci, balance tank and brine was a contamination sources for Enterobacteriaceae, enterococci, coliform bacteria and the air in the facility was a contamination sources for yeast and moulds

Key words: White cheese, microbiological contamination

Giriş

Peynir, sütteki besin unsurlarının önemli bir kısmını içermesi, uzun dayanma süresi, sevilen bir tat ve aromaya sahip olması nedeni ile tarih boyunca en fazla tüketilen gıdalardan birisidir (Tekinşen, 2000; Anar, 1999). Salamura olgunlaştırılan peynirlerin tipik bir örneği olan beyaz peynir, ülkemizin peynir üretiminde % 67'lik bir paya sahip olup aynı zamanda en fazla tüketilen peynir çeşididir (DPT, 2001). Son yıllarda, patojen mikroorganizmalar ve/veya toksinleri ile kontamine olan peynirlerin tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan infeksiyon ve intoksikasyonlar halk sağlığını tehdit ederken, üretim sırasında veya sonradan bulaşabilen mikroorganizmalar da peynirde kalite bozukluklarına ve dolayısı ile büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle, süt işletmelerinde tespit edilen kontrol noktaları mikrobiyolojik analizlere alınarak ekonomik ve sağlık açısından doğabilecek riskler ortaya konulmalı hijyenik uygulamalara ve kontrollere önem verilmelidir (Mavropoulos ve Arvanitoyannis, 1999; Untermann, 1998)

Ülkemizde en çok tüketilen peynir çeşidi olan beyaz peynirlerle ilgili çok sayıda çalışma yapılmasına karşın bu çalışmalar daha çok peynirin kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri ile ilgilidir (Gülmez ve ark., 2001; Nizamlioğlu ve ark., 1989; Kalkan ve ark., 1991). Bununla birlikte beyaz peynir üretim aşamalarında, peynirde kalite kaybına yol açan ve tüketici sağlığını tehdit eden mikroorganizmalar ile bulaşma kaynaklarının belirlenmesine yönelik çalışma sayısı oldukça azdır (Kasimoğlu, 1998; Evrensel ve ark., 2003).

Bu çalışma, bir süt fabrikasında üretim aşamalarındaki mikrobiyolojik kontaminasyon kaynaklarının ve bu kaynaklardaki bulaşma düzeylerinin belirlenmesi, patojen mikroorganizmalar ile kontamine olan beyaz peynirlerin tüketiminden doğan sağlık risklerinin ve peynirlerde kalite bozukluklarından doğacak ekonomik kayıpların önlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma, Bursa'da faaliyet gösteren özel sektöre ait bir süt fabrikasına değişik zamanlarda haber verilmeksizin 10 kez gidilerek, sütün kabulünden peynirlerin vakum ambalaja konulana kadar geçen tüm

Üretim aşamalarından, üretim sırasında kullanılan materyallerden, katkı maddelerinden, üretim yapılan bölümlerden aseptik koşullarda numune alınmak suretiyle gerçekleştirildi.

Materyal olarak, peynir üretiminde kullanılan çiğ sütten (1), 74°C’de 2 dakika pastörize edilen sütten (2), dinlenme tankı sütünden (3), peynir teknesine gelen boru çıkışı sütünden (4), tekne sütünden (5), kesilmiş pıhtıdan (6), baskı sonrası tuzsuz peynirden (7), % 16’lık salamurada bekletilen peynirden (8), soğuk depoda 1 gün bekletilen peynirden (9), paketlenmiş peynirden (10), ayrıca starter kültür (11), peynir mayası (12), kalsiyum klorür (13), salamura (14), tekne (15), muşamba ve cendere bezi (16,17), pıhtı ve kalıp kesme bıçakları (18,19), süt karıştırıcısı (20), yan süzme ve baskı plağı (21,22), peynir tavası (23), paketleme materyali olan vakum poşet (24), üretimde görevli iki işçi eli (25,26), soğuk depo ve üretim bölümünün ortam havası (27,28), zemin, duvar (29,30) ve üretimde kullanılan sudan (31) olmak üzere 31 kontrol noktasından örnekler alındı.

rnek alımında, peynir üretiminde kullanılan materyallerden, zemin, duvar ve vakum ambalajdan swap yöntemi (TS, 1991), işçi ellerinden eldiven yöntemi (De Witt ve Kampelmacher, 1988), ortam havasından ise hava akımı olmayan bir yerde agar plakların 15 dakika süre ile açık tutulması yöntemi (ISO, 1986) kullanıldı. Mikrobiyolojik analizler için, sıvı materyallerden steril kaplara en az 200 ml, katı materyallerden steril poşetlere 500 g alınan (TS, 1977) rnekler soğuk zincir altında laboratuara getirildikten sonra 10^{-8} basamağına kadar dilue edilerek dökme ve yayma plak tekniklerine göre ekimleri yapıldı. Koagülaz pozitif stafilocoklar stafilocok test kiti, *E. coli* ise IMVIC testi kullanılarak değerlendirildi (ICMSF, 1982). Ayrıca retimde kullanılan su, aerob mezofil genel canlı, koliform bakteri ve *E.coli* varlığı açısından incelendi (TS, 1984). Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besi yerleri ile inkübasyon süre ve koşulları Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besi Yerleri ve İnkübasyon Koşulları (ICMSF, 1982)

Aranan Mikroorganizma	Besi Yeri Adı		İnkübasyon		
			Koşulları	Sıcaklık	Süre
			Aerob/Anaerob		
Aerob Mezofil Genel Canlı	Plate Count Agar	(OXOID-CM 131)	37°	24-48 saat	Aerob
Koliform Bakteri	Violet Red Bile Agar	(OXOID-CM 107)	37°	24-48 saat	Anaerob
Enterobakteriler	Violet Red Bile Glucose Agar	(OXOID-CM 485)	37°	24-48 saat	Anaerob
Enterokok	Slanetz Bartley Medium	(OXOID-CM 377)	37°	24-48 saat	Aerob
Stafilokok ve Mikrokok	Baird Parker Agar	(OXOID-CM 275)	37°	24-48 saat	Aerob
Maya ve Kûf	Rose Bengal Chloramphenicol Agar	(OXOID-CM 549)	20°	4-5 gün	Aerob
Psikrofil Bakteri	Plate Count Agar	(OXOID-CM 131)	10°	5 gün	Aerob
<i>C. perfringens</i>	Sulfit-Polymyxin-Sulfadiazine Agar	(DIFCO-0845-01-8)	37°	24-48 saat	Anaerob

Bulgular

Çalışmada, süt fabrikasında peynir üretim aşamalarındaki kontrol noktalarının mikrobiyolojik analizi sonrasında elde edilen sonuçlar Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4’de belirtilmiştir. Analize alınan tüm kontrol noktalarında *C. perfringens*’e rastlanılmamıştır.

Sonuç

Süt fabrikasında beyaz peynir üretim hattında mikrobiyolojik kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi amacı ile yapılan bu çalışmada, toplam 31 kontrol noktası aerob mezofil genel canlı, stafilokok-mikrokok, koagülaz pozitif stafilokok, enterokok, enterobakteriler, koliform bakteri, *E. coli*, *C. perfringens*, psikrofil bakteri, maya ve küf sayıları yönünden incelenmiştir.

İşletmeye gelen çiğ sütlerde aerob mezofil genel canlı sayısının 10^8 kob/ml, koliform bakterilerin 10^7 kob/ml, enterobakterilerin 10^7 kob/ml düzeylerinde olması ve dönem dönem *E.coli* ve koagülaz pozitif stafilokokların bulunması ülkemiz koşullarında çiğ sütlerin hijyenik kalitesinin düşüklüğünün ve çiğ sütlerin Türk Gıda

Kodeksi'nde belirtilen limitlere uymadığının göstergesidir. Pastörize edilen sütte, aerob mezofil genel canlı sayısının 10^3 kob/ml düzeyinde ve diğer mikroorganizmaların ise saptama sınırının altında bulunuşu, uygulanan sıcaklık derecesi ile ilgilidir. Zira fabrikada peynir yapılacak sütlere 74°C'de 2 dakika ısıtma işlemi uygulanmaktadır. Dinlenme tankında zaman zaman koliform bakterilerin 10^1 kob/ml, enterokoklar ile maya ve küf sayısının 10^2 kob/ml düzeyinde bulunuşu tanktan ve özellikle maya ve küfler için havadan gelen kontaminasyona bağlıdır. Çalışmada, üretim bölümü ve soğuk depo havasında 10^3 kob/plak düzeyinde maya ve küf bulunduğu saptanmıştır. İşletme havasının maya ve küf kontaminasyonunda önemli rol oynadığı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Civan, 1993; Anar ve Temelli, 2000; Kasımoğlu, 1998). Baskıdan çıkan tuzsuz peynir ve salamurada bekletilen peynirlerde koliform bakteriler, enterobakteriler, stafilokok-mikrokoklar ile maya ve küflerin 10^3 kob/g enterokokların ise 10^4 kob/g düzeylerinde bulunması, muşamba, peynir mayası, salamura, kalıp kesme bıçağından ileri gelen kontaminasyonun göstergesidir. Üretimde kullanılan ekipmanlardan kaynaklanan kontaminasyonlar son ürünün kalitesini etkilemektedir (Legnoni ve ark., 2004). İşletmede kullanılan cendere bezlerinin sodyum hipokloritli suda 1 saat bekletilip tekneye yayıldıktan sonra buharla sterilizasyona devam edildiği ancak aynı özenin muşambaların temizliğinde gösterilmediği gözlenmiştir. Benzer şekilde salamurada zaman zaman koliform bakterilerin, enterobakterilerin ve enterokokların 10^2 kob/ml düzeyinde bulunması, fabrikada salamuranın 15 günde bir pastörize edilmesinin bir sonucudur.

Pıhtıda belli dönemlerde koagülaz pozitif stafilokoklara rastlanması starter kültürden kaynaklanan kontaminasyonun sonucudur. Zira işletmede, UV lambaları ile sterilize edilen özel bir starter kültür odasının bulunmadığı ve starterin uzman bir personel tarafından hazırlanmadığı belirlenmiştir. Bu durum, diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Mavropoulos ve Arvanitoyannis, 1999; Anar, 2000). İşçi ellerinde *E.coli*'ye rastlanılmaması, işçilerin tuvalet sonrası el temizlik ve dezenfeksiyonu konusunda eğitildiklerinin ancak stafilokok-mikrokok sayısının 10^3 kob/cm² düzeyinde ve ara sıra koagülaz pozitif stafilokoklara rastlanması üretim sırasında ağız veya burunlarına dokunduklarının ve hijyen kurallarına yeterince uymadıklarının göstergesidir. Bu durum, çeşitli araştırmacıların bulguları ile uyumludur (Griffith ve ark., 2003; Heggum, 2001). Paketleme materyalinde koliform bakteriler, enterobakteriler, enterokoklar ile maya ve küf sayılarının saptama sınırının altında bulunması, ambalaj materyalinin orijinal ambalajında tutulması ve

sadece kullanılacağı zaman çıkarılması ile ilgilidir. Paketlenmiş peynir örneklerinde, psikrofil bakterilerin 10^5 kob/g düzeyinde bulunup zemindeki yükün de 10^4 kob/cm² olması, üretimde kullanılan hortum, kesme bıçakları ve benzeri materyallerin zeminle temas etmelerinin bir sonucudur.

Çalışma sonucunda, işçi elleri ve starter kültürün, koagülaz pozitif stafilokoklar, dinlenme tankı ve salamuranın koliform bakteri, enterobakteri, enterokoklar, işletme havasının da maya ve küf yönünden kontaminasyon kaynağı olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, süt fabrikalarında peynir üretiminde kontaminasyona yol açan pastörizasyon sonrası kullanılan materyallerin, görevli personelin ve üretim bölümünün hijyen ve sanitasyon uygulamalarına önem verilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Anar Ş, Temelli S. (2000). Ayran Üretim Aşamalarında Kritik Kontrol Noktalarının Saptanması. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19: 19-22.
- Anar Ş. (1999).Ülkemizde Üretilen Çeşitli Tip Yerli Peynirler. *Gıda Dergisi*, Mart: 53-54.
- Anar Ş. (2000).Yoğurt Üretiminde Kritik Kontrol Noktalarının Belirlenmesi. *Gıda Dergisi*, Ocak: 36-39.
- Civan E. (1993). İstanbul Bölgesi Hayvansal Gıda İşletmelerinde Personel, Çevre Ve Üretim Hijyeni. *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- De Wit J.C (1988).Kampelmacher Eh. Some Aspects of Bacterial Contamination of Hands of Workers in Food Service Establishments. *Zentralblatt Fur Bakteriologie Microbiologie Und Hygiene B*, 186: 45-54.
- Dpt. Devlet Planlama Teşkilatı. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı. (2001). *Süt ve Süt Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu*, Dpt: 2636- Öik: 644, Ankara.
- Saltan Evrensel S, Temelli S, Anar Ş. (2003). Mandıra Düzeyindeki İşletmelerde Beyaz Peynir Üretiminde Kritik Kontrol Noktalarının Belirlenmesi. *Türk. J. Vet. Anl. Sci.* 27: 29-35.
- Griffith Cj, Malik R, Cooper Ra, Looker N. (2003).Environmental Surface Cleanliness and the Potential for Contamination During Handwashing. *American Journal of Infection Control*, 31(2): 93-96.

Gülmez M, Güven A, Çetinkaya A. (2001).Karsta Tüketime Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(1): 55-62.

Heggum C. (2001).Trends in Hygiene Management- The Dairy Sector Example. *Food Control*, 12: 241-246.

Icsmf. Inretnational Commission of Microbiological Spesifications for Foods. (1982). *Microorganisms. (In): Foods. Their Significance And Methods of Enumeration*. 2nd Ed. University of Toronto Press,

Iso. International Standard Organization. (1986). *Dairy Plant Hygiene Conditions General Guidance on Inspection and Sampling Procedures*. No:8086. International Organization for Standardization Case Postale 56. Ch-1211 Geneve 20, Switzerland.

Kalkan A, Altan Ht, Kamber U. (1991). Beyaz Peynirlerde Koliform Bakteriler (*E.Coli* ve *K. Pneumoniae*)'in Bulunuşu Üzerinde Araştırma. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 38; (1-2): 108-113.

Kasımoğlu A. (1998). Beyaz Peynir Üretim Aşamasındaki Kontaminasyon Kaynaklarının Belirlenmesi ve Önleme Yollarının Araştırılması. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Legnoni P, Leonı E, Bervegheri M, Mirolo G, Alvaro N. (2004). Hygienic Control of Mass Catering Establishments, Microbiological Monitoring of Food And Equipment. *Food Control*, 15: 205-211.

Mavropoulos Aa, Arvanitoyannis Is. (1999). Implementation of Hazard Analysis Critical Control Point to Feta and Manouri Cheese Production Lines. *Food Control*, 10(3): 213-219.

Nizamlioğlu M, Yalçın S, Tekinşen Oc. (1989). Konya ve Yöresindeki Salamura Beyaz Peynirin Kalitesi. *Türk Veterinerlik Ve Hayvancılık Dergisi*, 13: 136-142.

Tekinşen Oc. (2000). Süt Ürünleri Teknolojisi. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını*, Konya.

Ts. Türk Standardı. (1977). *.Ts 2530 Süt ve Süt Ürünleri Numune Alma*, Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey Caddesi, 112 Bakanlıklar, Ankara.

Ts. Türk Standardı. (1984). *.Ts 266 İçme Suları*, Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey Caddesi, 112 Bakanlıklar, Ankara.

Ts. Türk Standardı. (1991). *Ts 8906 Süt İşletmeleri Hijyenik Şartların Muayene ve Numune Alma İşlemlerinin Genel Kuralları*, Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey Caddesi, 112 Bakanlıklar, Ankara.

Untermann F. (1998). Microbial Hazards in Food. *Food Control*, 9(2-3): 119-126.

SALAMURA OTLU PEYNİRDE OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE MİNERAL MADDE DEĞİŞİMİ

Emrullah SAĞUN¹ Zekai TARAKÇI¹ Hakan SANCAK¹
Hisamettin DURMAZ²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Van

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı- Şanlıurfa

Özet: Bu araştırma, 90 gün süreyle salamurada olgunlaştırılan otlu peynirde bazı kimyasal özellikler ve mineral madde değişimini incelemek amacıyla yapılmıştır. Örneklerin Ca, Na, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni ve Cd miktarları atomik absorbsiyon spektrofotometresinde, P miktarı ise UV spektrofotometresinde belirlenmiştir. Peynirlerde olgunlaşma süresince kurumadde miktarında önemli bir değişiklik olmadığı ($P>0.05$), tuz ve kül miktarlarında 15. güne kadar önemli bir artış ($P<0.05$) ve pH değerlerinde ise önemli bir değişim olduğu ($P<0.05$) gözlenmiştir. Na miktarının tuz alımına bağlı olarak olgunlaşma periyodunun 30. gününe kadar arttığı ($P<0.05$) ve sonraki günlerde önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cr ve Ni miktarları azalmış ($P<0.05$) ve P, Cu, Co ve Cd miktarlarında ise önemli bir değişim olmamıştır ($P>0.05$). P miktarındaki azalmanın Ca miktarındaki azalmadan daha az olması, Ca/P oranını etkilemiş ve olgunlaşmanın 1. günü 1.98 ± 0.03 olan Ca/P oranı 90. gün 1.72 ± 0.06 'ya düşmüştür ($P<0.05$).

Sonuç olarak, salamura otlu peynirde Na hariç diğer minerallerin farklı oranlarda azalması minerallerin zamanla salamuraya geçtiğini göstermektedir. Bununla birlikte, otlu peynirin insanların mineral madde ihtiyacını karşılamada önemli katkı sağlayabileceği ve günlük tüketilen otlu peynir miktarının Zn, Fe, Cu ve Cd yönünden bir toksikasyona sebep olmayacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Salamura otlu peynir, olgunlaşma periyodu, mineral madde

Change of Mineral Content in Pickled Herby Cheese during Ripening

Abstract: In this study, some chemical properties and changes in mineral contents were investigated in pickled herby cheese ripened during 90 days. Ca, Na, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni and Cd contents of samples were determined in atomic emission spectrometry and P content of samples was determined in UV spectrometry. The dry matter content of cheeses had not changed significantly ($P>0.05$) during ripening, the salt and ash contents increased significantly ($P<0.05$) up to 15 days. There was a significant change in pH values ($P<0.05$). Na content increased in cheese up to 30 days ($P<0.05$) due to the salt intake and then had not showed a significant change ($P>0.05$). While Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cr and Ni contents of cheeses decreased ($P<0.05$), P, Cu, Co and Cd contents did not show a significant ($P>0.05$) change during ripening. The lower level of decrease in P content than Ca content affected Ca/P ratio. The level of Ca/P at the beginning of ripening was 1.98 ± 0.03 and this level decreased to 1.72 ± 0.06 at the end of ripening.

In conclusion, the decrease in different levels of minerals except Na in pickled herby cheese is an indication of the transferring of minerals to the pickle by the time. However, these results also show that herby cheese can contribute a considerable proportion of the supply of mineral in the human diet and daily consumption of herby cheese does not cause toxication in respect of Zn, Fe, Cu and Cd.

Key words: Pickled herby cheese, ripening period, mineral content

Giriş

Otlu peyniri toprağa gömerek olgunlaştırmanın yanı sıra, özellikle kısa sürede tüketime sunulacak peynirlerin salamura olgunlaştırılması da tercih edilmektedir (Coşkun ve Tunçtürk, 1998). Peynir içerdiği protein, yağ, vitamin ve mineral maddeler yönünden değerli bir besin maddesidir (Renner, 1993). Peynirlerin mineral madde içeriği sütün niteliği ile üretim ve olgunlaştırma gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir (Feeley ve ark., 1972). Salamura peynirlerde pH'ya bağlı olarak Ca ve P'un %25-30'u salamuraya geçmekte (Abd El-Salam, 1993) ve peynirin besleyici değeri olgunlaşma süresince farklılık göstermektedir (Gambelli ve ark., 1999).

Salamura beyaz peynirlerin kurumadde oranlarında önemli bir değişiklik olmadığı; tuz, kül ve pH'nın arttığı bildirilmiştir (Çakmakçı ve Kurt, 1993). Salamura taze Urfa peynirinde ortalama kurumadde %36.52, tuz %0.17, kül %1.63, Ca 350.47, P 348.72, Na 44.31 ve Mg 31.54 mg/100g (Akin ve Şahan, 1998); örgü peynirinde ortalama kurumadde %44.84, tuz %6.02, kül %7.43, Ca 459.04, P 368.74, Na 2731.49 ve Mg 40.79 mg/100g olarak belirlenmiştir (Özdemir ve ark., 1998).

Prato peynirinde, olgunlaşma süresince kurumadde düzenli olarak artarken tuz ve kül oranlarında önemli bir değişiklik olmamış ve 30. güne kadar düşen pH daha sonra yükselmiştir. Kurumadde üzerinden Ca 14.35 ± 2.66 'dan 12.95 ± 1.54 g/kg'a, P 8.90 ± 1.44 'ten 8.57 ± 1.13 g/kg'a, Na 6.92 ± 2.84 'ten 6.48 ± 2.71 g/kg'a, Mg 0.55 ± 0.09 'dan 0.52 ± 0.06 g/kg'a, Zn 36.60 ± 6.60 'dan 30.80 ± 5.09 mg/kg'a, Cu 0.64 ± 0.38 'den 0.61 ± 0.28 mg/kg'a, Fe 3.34 ± 1.45 'ten 3.11 ± 1.47 mg/kg'a ve Mn 0.36 ± 0.13 'ten 0.26 ± 0.07 mg/kg'a düşmüş, ayrıca 1. gün 1.61 ± 0.06 olan Ca/P oranı 60. gün 1.51 ± 0.09 olarak belirlenmiştir (Cichoski ve ark., 2002).

Azarnia ve ark. (1997) 45. güne kadar $14-18^{\circ}\text{C}$ 'de ve 90. güne kadar 5°C 'de olgunlaştırdıkları İran salamura peynirinde, olgunlaşma süresince kurumadde oranının arttığını ve pH değerinin azaldığını bildirmişlerdir.

Kurumadde üzerinden İtalyan Gorgonzola peynirinde Ca 513 ± 16 , Na 645 ± 5 , Mg 20 ± 4 , Zn 2.81 ± 0 ve Fe 0.14 ± 0.01 mg/100g, Co 0.35 ± 0.01 ve Cr 5.90 ± 0.60 µg/100g (Gambelli ve ark., 1999); taze Picon Bejes-Tresviso peynirinde tuz 0.20 ± 0.1 , kül 3.30 ± 0.5 , Ca 9.80 ± 1.5 , P 6.80 ± 0.7 , Na 0.80 ± 0.1 ve Mg 0.40 ± 0.1 g/kg, Zn 58.6 ± 19.2 , Cu 1.2 ± 0.6 , Fe 2.0 ± 0.4 ve Mn 0.2 ± 0.04 mg/kg (Prieto ve ark., 2000); taze Leon peynirinde tuz 0.57 ± 0.24 , kül 2.58 ± 0.25 , Ca 3.55 ± 0.35 , P 4.62 ± 0.42 , Na 1.60 ± 0.28 ve Mg 0.33 ± 0.04 g/kg, Zn 27.46 ± 3.53 , Cu 1.07 ± 0.18 , Fe 5.18 ± 0.87 ve Mn 0.31 ± 0.06 mg/kg olarak belirlenmiştir (Prieto ve ark., 2002).

Bu araştırma, salamura olgunlaştırılan otlu peynirin bazı kimyasal özellikleri ile mineral madde içeriğindeki değişimleri belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Üretimde, özel bir çiftlikten alınan ve kurumaddesi %12.45, yağı %3.50 ve asitliği %0.20 LA olan inek sütü, Christina Hansen's

şirketinden (Danimarka) sağlanan starter kültür (1:1 oranında *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), 1/12.000 kuvvetinde ticari maya (Pınar) ve salamura ot (*Allium* sp.) kullanılmıştır. Süt 65°C'de 30 dakika pastörize edildikten sonra 32°C'ye kadar soğutulmuş, %1 oranında starter kültür ilave edilerek 30 dakika bekletilmiş ve mayalanarak pıhtılaşması sağlanmıştır. Pıhtıya süt ağırlığı esas alınarak %2 oranında ot katılarak süzme bezi ile pıhtının süzülmesi sağlanmış ve 2 saat baskı işlemi uygulanmıştır. Pıhtılar 7x7x5 cm boyutlarında kesilerek %16'lık salamurada 24 saat bekletildikten sonra yeni hazırlanan %16'lık salamurada 4±1°C'de olgunlaşmaya bırakılmıştır. Peynir üretimi 5 defa tekrarlanmış ve olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde bazı kimyasal ve mineral madde analizleri yapılmıştır. Kurumadde gravimetrik yöntemle, tuz Mohr metoduyla, kül yakma ile ve pH metrede (NEL-890) belirlenmiştir (AOAC, 2000). Ca, Na, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Ni ve Cd miktarları atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (Unicam 929, Cambridge-İngiltere), P miktarı ise UV spektrofotometresinde (Shimadzu UV-1201 V, Kyoto-Japonya) standart eğrilere göre okunmuş ve sulandırma katsayıları göz önünde tutularak hesaplamaları yapılmıştır (AOAC, 2000). Elde edilen veriler SAS (1998) paket programında varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki fark Duncan çoklu karşılaştırma testiyle belirlenmiştir.

Bulgular

Salamura otlı peynirlerde olgunlaşma süresince belirlenen kimyasal analiz bulguları Tablo 1'de, mineral madde değişimleri ise Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Salamura otlı peynirlerde belirlenen kimyasal analiz bulguları (n=5)

Özellikler	Olgunlaşma zamanı (gün)				
	1	15	30	60	90
Kurumadde (%)	43.33±1.46 a	44.49±1.85 a	44.37±2.25 a	43.93±2.01 a	44.37±2.25 a
Tuz (%)	4.35±0.40 b	7.47±1.03 a	7.72±0.77 a	7.42±1.04 a	7.58±0.59 a
Kül (%)	5.80±0.44 b	8.93±1.08 a	9.07±0.79 a	8.83±1.10 a	8.98±0.66 a
pH	5.36±0.07 b	5.27±0.03 c	5.39±0.04 ab	5.42±0.03 ab	5.44±0.05 a

^{abc} Farklı harfler dönemler arasındaki farklılığı gösterir ($P<0.05$)

Tablo 2. Salamura otlu peynirlerde belirlenen mineral madde değişimleri (n=5)

Mineraller	Olgunlaşma zamanı (gün)				
	1	15	30	60	90
<i>Kurumadde mg/100g</i>					
Ca	904.05±5.27 a	884.20±7.36 b	800.40±7.86 c	809.10±4.63 c	755.45±18.55 d
P	457.40±9.02 a	457.19±14.50 a	447.18±17.58 a	443.70±19.27 a	438.70±12.39 a
Na	2628.5±94.35 c	3324.9±35.77 b	3459.5±47.61 a	3327.5±43.91 b	3379.5±54.30 a
Mg	32.75±1.19 a	31.95±0.91 a	30.25±1.09 b	25.25±0.92 c	25.35±1.21 c
Ca/P	1.98±0.03 a	1.94±0.06 a	1.79±0.06 bc	1.83±0.08 b	1.72±0.06 c
<i>Kurumadde mg/kg</i>					
Zn	35.08±0.49 a	34.98±0.36 a	34.22±0.58 b	33.81±0.41 b	33.63±0.34 b
Cu	9.54±0.67 a	9.61±0.63 a	10.10±0.19 a	9.92±0.87 a	9.37±0.46 a
Fe	27.94±0.34 a	27.58±0.21 a	27.73±0.28 a	25.60±0.38 b	25.41±0.31 b
Mn	3.55±0.24 b	3.80±0.16 a	3.43±0.12 b	3.17±0.13 c	3.51±0.17 b
Co	0.05±0.06 a	0.06±0.06 a	0.06±0.01 a	0.06±0.04 a	0.07±0.02 a
Cr	0.19±0.03 a	0.16±0.06 ab	0.18±0.06 a	0.11±0.03 b	0.11±0.05 b
Ni	0.19±0.02 a	0.18±0.01 ab	0.18±0.01 ab	0.16±0.01 b	0.17±0.02 b
Cd	0.17±0.04 a	0.18±0.03 a	0.16±0.02 a	0.16±0.03 a	0.16±0.02 a

^{abcd} Farklı harfler dönemler arasındaki farklılığı gösterir ($P<0.05$)

Sonuç

Salamura otlu peynirlerin kurumadde oranları olgunlaşma süresince önemli bir değişim göstermemiş ($P>0.05$), tuz ve kül oranları tuz alımına bağlı olarak 15. güne kadar artmış ($P<0.05$) ve sonraki günlerde sabitlenmiştir. pH değerleri, 15. güne kadar düşmüş ve daha sonra artmıştır ($P<0.05$). pH'nın 15. güne kadar düşmesi laktozun parçalanarak laktik aside dönüşmesi ve yağların hidrolizine bağlı olarak yağ asitlerinin miktarının artmasına bağlı olabilir (Azarnia ve ark., 1997). Daha sonra pH'nın yükselmesi ise asitlerin maya ve küfler tarafından parçalanması ve olgunlaşmanın ilerleyen aşamalarında proteoliz sonucu meydana gelen peptit ve amino asitlerin amfoter özelliklerinden kaynaklanmış olabilir (Alonso ve ark., 1987).

Olgunlaşmanın 1. günü 904.05±5.27 mg/100g olan Ca miktarı olgunlaşma süresince azalarak ($P<0.05$) 90. günde 755.45±18.55 mg/100g olarak belirlenmiştir. Bu değerler, olgunlaşma süresince peynirlerde Ca miktarının azaldığını bildiren Cichoscki ve ark. (2002)'nin değerleri ile uyumludur. P miktarı 1. gün 457.40±9.02

mg/100g iken 90. gün 438.70 ± 12.39 mg/100g düzeyine düşmüştür ($P > 0.05$). Belirlenen bu değerler olgunlaşma süresince P miktarının önemli bir azalma göstermediğini bildiren Cichoscki ve ark. (2002) ile Prieto ve ark. (2002)'nin değerlerine yakın bulunmuştur. Olgunlaşma süresince P miktarındaki azalmanın Ca miktarındaki azalmadan daha az olması, Ca/P oranını da etkilemiş ve 1. gün 1.98 ± 0.03 olan Ca/P oranı 90. gün 1.72 ± 0.06 'ya düşmüştür ($P < 0.05$).

Na düzeyi tuz alımına bağlı olarak 30. güne kadar artmıştır ($P < 0.05$). Olgunlaşmanın başında 2628.50 ± 94.35 mg/100g olan Na miktarı 30. gün 3459.50 ± 47.61 mg/100g ve 90. gün 3379.50 ± 54.30 mg/100g olarak belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince Na miktarının azaldığını bildiren Cichoscki ve ark. (2002)'nin sonuçları ile uyum göstermeyen bu değerler, Akın ve Şahan (1998), Gambelli ve ark. (1999) ile Prieto ve ark. (2000)'nin belirlediği değerlerden yüksek, Özdemir ve ark. (1998)'nin bildirdiği değerlere yakın bulunmuştur. Olgunlaşma süresince önemli bir azalma gösteren Mg miktarı ($P < 0.05$) olgunlaşma süresince Mg miktarında önemli bir değişiklik olmadığını bildiren Cichoscki ve ark. (2002)'nin sonuçları ile uyum göstermezken, Prieto ve ark. (2002)'nin belirledikleri değerlere yakın bulunmuştur.

Olgunlaşma süresince Zn, Fe, Cr ve Ni miktarları azalmış ($P < 0.05$) ve olgunlaşmanın bu iz elementlerini aynı şekilde etkilediği belirlenmiştir. Miktarlar farklı olmakla birlikte olgunlaşma süresince Zn seyri Cichoscki ve ark. (2002)'nin verileri ile benzer, Fe seyri ise farklı bulunmuştur. Zn miktarı Gambelli ve ark. (1999)'nin belirledikleri değerlere benzer, Prieto ve ark. (2000)'nin bildirdikleri değerlerden düşük bulunmuştur. Fe miktarının Gambelli ve ark. (1999), Prieto ve ark. (2000) ile Prieto ve ark. (2002)'nin belirledikleri değerlerden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneklerde Fe miktarının yüksek olması üretimde kullanılan otlardan kaynaklanmış olabilir. Nitekim bitkilerin yüksek miktarda Fe içerdiğinin bildirilmesi bunu destekler mahiyettedir (Walstra ve Jenness, 1984; deMan, 1990; Miller, 1996). Mn miktarı düzensiz bir seyir izleyerek 90. gün 3.51 ± 0.17 mg/kg olarak belirlenmiş ve bu sonuç Cichoscki ve ark. (2002), Prieto ve ark. (2000) ile Prieto ve ark. (2002)'nin bildirdikleri değerlerden yüksek bulunmuştur. Cu, Co ve Cd miktarları olgunlaşma süresince önemli bir değişiklik göstermemiş ($P > 0.05$) ve Cu seyrinin Cichoscki ve ark. (2002) ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Otlu peynirde olgunlaşma süresince Na hariç diğer minerallerin azalması, peynirdeki minerallerin zamanla salamuraya geçmesinden kaynaklanmaktadır (Abd El-Salam, 1993). Vücut ağırlığı 60 kg olan yetişkin bir kişinin tolere edebileceği günlük Zn, Fe, Cu ve Cd

alışımının sırasıyla 60 mg, 48 mg, 3 mg ve 60 µg olduğu bildirilmiştir (Anonim, 1999). Bu araştırmada, örneklerde belirlenen Zn, Fe, Cu ve Cd miktarları sağlık için bir risk oluşturacak düzeyde değildir.

Sonuç olarak, salamura olgunlaştırılan otlu peynirlerde olgunlaşma süresince Na miktarında önemli bir artış, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cr ve Ni miktarlarında önemli bir azalma, P, Cu, Co ve Cd miktarlarında ise önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, otlu peynirin insanların mineral madde ihtiyacını karşılamada önemli katkı sağlayabileceği ve günlük tüketilen miktarın Zn, Fe, Cu ve Cd yönünden bir toksikasyona sebep olmayacağı kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

Abd El-Salam, Mh. (1993). Domiati and Feta Type Cheeses. (In): *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol 2, Major Cheese Groups, Pf Fox (Editör), 2nd Ed., 301-335, Chapman and Hall, London, Uk.

Akın, M.S., Şahan, N (1998). Şanlıurfa'da Üretilen Taze Urfa Peynirlerinin Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. (İçinden) Geleneksel Süt Ürünleri, V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 21-22 Mayıs 1998, Tekirdağ, M Demirci (Editör), 282-296, Milli Prodüktivite Merkezi Yay. No: 621, Ankara.

Alonso, L., Juárez, M., Ramos, M., Martín-Álvarez, P.J. (1987). Overall Composition, Nitrogen Fractions and Fat Characteristics of Cabrales Cheese During Ripening. *Zeitschrift Für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 185: 481-486.

Anonim (1999). *Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives*, Summary and Conclusions, 53rd Meeting, Rome.

Aoac (2000). *Official Methods of Analysis of Aoac International*. Vol. 2, 17th Ed., Gaithersburg, USA.

Azarnia S, Ehsani Mr, Mirhadi Sa (1997). Evaluation of The Physico-Chemical Characteristics of the Curd During The Ripening of Iranian Brine Cheese. *International Dairy Journal*, 7: 473-478.

Cichoski, A.J., Valduga, E., Valduga, A.T, Tornadijo M.E, Fresno J.M (2002): Characterization of Prato Cheese, A Brazilian Semi-Hard Cow Variety: Evolution of Physico-Chemical Parameters and Mineral Composition During Ripening. *Food Control*, 13: 329-336.

Coşkun, H., Tunçtürk, Y (1998). Van Otlı Peyniri. (In): Geleneksel Süt Ürünleri, Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 21-22 Mayıs 1998, Tekirdağ, M

Demirci (Editör), 20-32, Milli Prodüktivite Merkezi Yay. No: 621, Ankara.

Çakmakçı, S., Kurt, A. (1993). Salamura Tuz Oranı ve Olgunlaşma Süresinin CaCl_2 ve Lesitin İlavesiyle Üretilen Beyaz Peynir Kalitesine Etkisi. *Gıda*, 18: 21-28.

Deman, J.M (1990). *Principles of Food Chemistry*. 2nd Ed., P469, Van Nostrand Reinhold, New York, USA.

Feeley, R. M, Criner, P.E, Murphy, E.W, Toepfer, E.W (1972). Major Mineral Elements in Dairy Products. *J. Dairy Research*, 61: 505-510.

Gambelli, L., Belloni, P., Pizzoferrato, L., Santoroni, G. P (1999). Minerals and Trace Elements in Some Italian Dairy Products. *Journal Food Composition And Analysis*, 12: 27-35.

Miller, D.D (1996). Minerals. (In): *Food Chemistry*. or Fennema (Editör), 3rd Ed., 617-1069, Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Özdemir, S., Çelik, Ş., Özdemir, C., Sert, S. (1998): Diyarbakır Karacadağ Yöresinde Mahalli Olarak Yapılan Örgü Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri. (In): Geleneksel Süt Ürünleri, Süt Ve Süt Ürünleri Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 21-22 Mayıs 1998, Tekirdağ, M Demirci (Editör), 154-166, Milli Prodüktivite Merkezi Yay. No: 621, Ankara.

Prieto, B., Franco, I., Ganzalez, J., Bernardo, A., Carballo, J. (2000). Picon Bejes-Tresviso Blue Cheese: An Overall Biochemical Survey Throughout The Ripening Process. *International Dairy Journal*, 10: 159-167.

Prieto, B., Franco, I., Ganzalez, J., Bernardo, A., Carballo, J. (2002). Compositional and Physico-Chemical Modifications During The Manufacture And Ripening of León Raw Cow's Milk Cheese. *Journal Food Composition And Analysis*, 15: 725-735.

Renner, E. (1993). Nutritional Aspects of Cheese. (In): *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1, General Aspects, Pf Fox (Editör), 2nd Ed., 557-579, Chapman and Hall, London, Uk.

Sas/ Stat (1998): Software: Changes and Enhancements Through Release 6.12. Sas Institute Inc., Cary, Nc, USA.

Walstra P, Jenness R (1984): *Dairy Chemistry and Physics*. P467, John Wiley And Sons Inc., New York, USA.

AKDENİZ VE KARADENİZ'DEN SAĞLANAN BAZI BALIK TÜRLERİNDE AĞIR METALLERİN ARAŞTIRILMASI

A. BAYHAN ÖKTEM¹

Aydın KOÇER²

Buket ER¹

¹ Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Besin Analizleri Bilim Dalı-Ankara

² Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Gıda Güvenliği ve Beslenme
Araştırma Müdürlüğü-Ankara.

Özet: Bu araştırmada, Ankara piyasasından temin edilen Karadeniz'e ait balık türlerinden Hamsi (*Engraulis encrasicolus*), İstavrit (*Trachurus trachurus*), Kefal (*Mugil chelo*), Levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve Adana, Mersin piyasasından sağlanan Akdeniz'e ait Kefal (*Mugil chelo*), Levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve Mercan (*Pagellus erythrinus*) balıkları olmak üzere yedi farklı balık türünde ağır metal (kurşun, kadmiyum, bakır) miktarlarının saptanması amaçlanmıştır.

Ankara piyasasından sağlanan kırk balık örneği ve Adana, Mersin piyasasından sağlanan otuz balık örneği olmak üzere toplam yetmiş adet balık örneğinin kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve bakır (Cu) miktarları araştırılmıştır.

Kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve bakır (Cu) analizleri için Atomik Absorpsiyon Spektrometresi- Grafit Fırın metodu kullanılmıştır.

Kurşun ve kadmiyum için ortalama değerler, Karadeniz'e ait istavrit (*Trachurus trachurus*) balıklarında sırasıyla 1.07780 ± 0.08203 mg/kg ve 0.1380 ± 0.0120 mg/kg olarak bulunmuştur. Kadmiyum ortalama değerleri, Karadeniz'e ait Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında 0.11240 ± 0.01814 mg/kg ve Akdeniz'e ait Kefal (*Mugil chelo*) balıklarında 0.13700 ± 0.07602 mg/kg olarak bulunmuştur.

Çalışmalardan elde edilen sonuçlar yönetmelik değerleri ile karşılaştırıldığında, kurşun için bulunan sadece bir balık türündeki ortalama değerinin sınır değerlerin üzerinde olduğu, kadmiyum için tespit edilen ortalama değerlerin ise Uluslararası yönetmelik değerinin altında olduğu ancak Karadeniz'e ait İstavrit (*Trachurus trachurus*),

Levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve Akdeniz'e ait Kefal (*Mugil chelo*) balıkları için ülkemiz yönetmeliğinde izin verilen değerlerden yüksek olduğu, bakır için ise, bütün balık türlerinde bulunan ortalama değer yönetmelik değerlerinin altında bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Balık, ağır metaller, atomik absorpsiyon spektrometresi- grafit fırın metot.

Research of Heavy Metals in Some Fish Species of the Mediterranean Sea and the Black Sea

Abstract: In this research, our aim was to determine the heavy metals (lead, cadmium, copper) in 7 different species of fish which were Anchovy (*Engraulis encrasicolus*), Horse mackerel (*Trachurus trachurus*), Grey mullet (*Mugil chelo*) and Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) that of the Black Sea and were sold in Ankara local markets and Grey mullet (*Mugil chelo*), Sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Coral (*Pagellus erythrinus*) that of the Mediterranean Sea and were sold in Adana and Mersin local markets.

Lead (Pb), cadmium (Cd) and copper (Cu) levels were investigated in total 70 fish samples of which 40 samples from Ankara local markets, 30 samples from Adana and Mersin local markets.

Lead (Pb), cadmium (Cd) and copper (Cu) were determined by applying Atomic Absorption Spectrometry- Graphite furnace method.

Mean levels ($\pm$ S.E) for lead and cadmium were found as 1.07780 ± 0.08203 mg/kg and 0.1380 ± 0.0120 mg/kg, respectively in Horse mackerel (*Trachurus trachurus*) fishes of Black Sea.

Mean levels ($\pm$ S.E) for cadmium were found as 0.11240 ± 0.01814 mg/kg in Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fishes of Black Sea and 0.13700 ± 0.07602 mg/kg in Grey mullet (*Mugil chelo*) fishes of the Mediterranean Sea.

According to the results that were compared with the permitted levels reported in the legislation, for lead; only in one species of fish (Horse mackerel) the levels were determined higher than permitted levels. In the case of cadmium all of the fishes' mean levels were obtained lower

than the international permitted levels, however Horse mackerel (*Trachurus trachurus*), Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fishes of Black Sea and Grey mullet (*Mugil chelo*) fishes of the Mediterranean Sea, where the levels were obtained higher than permitted levels reported in the legislation of our country while for copper all of fishes' mean levels were found lower than the permitted levels reported in the legislation.

Key words: Fish, heavy metals, atomic absorption spectrometry-graphite furnace method.

Giriş

Çağımızda doğal dengeyi ve insan sağlığını tehdit eden en önemli tehlikelerin başında çevre sorunlarının geldiği artık bütün dünyada tartışmasız bir gerçek olarak kabul edilmektedir. Toprak ve su gibi ortamlarda karşılaşılan metal kirliliği, genelde maden ocakları metal üretim, işleme ve kullanma tesislerinde ortaya çıkmaktadır. Karada oluşan yağmur ve rüzgar gibi olaylarla metaller suya karışmaktadır. Sulardaki ağır metallerde, endüstriyel sıvı ve tarımsal atıklar, fosil yakıtlar, hayvan ile insan atıkları ve evsel atıklarında katkısı vardır. Metallerin ya da metalik bileşiklerin çevresel şartlara dayanıklı olmaları miktarlarını giderek artırmaktadır (Yavuz ve Filazi, 1995; İcela ve ark., 2000; Chandra ve ark., 2003).

Ağır metal içeren atıkların su sistemlerine boşaltılması sonucunda balıklar ve diğer organizmalarda ağır metal birikmesi olmaktadır. Sonuçta bu tür su ürünleri tüketicisi olan insanlarda sağlık sakıncası yaratırlar (Filazi ve ark., 2003).

Balıklar su ekosistemleri kalitesinin çevresel indikatörü olarak kullanılmaktadır. Balığın dokusundaki metal konsantrasyonlarının tespiti, halk sağlığı ve akuatik yaşamın korunması açısından önemlidir (Filazi ve ark., 2003; Henry ve ark., 2004).

Bu araştırmada, Ankara piyasasından temin edilen Karadeniz'e ait balık türlerinden Hamsi (*Engraulis encrasicolus*), İstavrit (*Trachurus trachurus*), Kefal (*Mugil chelo*), Levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve Adana, Mersin piyasasından sağlanan Akdeniz'e ait Kefal (*Mugil*

chelo), Levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve Mercan (*Pagellus erythrinus*) balıkları olmak üzere toplam yedi farklı balık türünde ağır metal (kurşun, kadmiyum, bakır) miktarlarının ve Türk Gıda Kodeksi ve Codex Alimentarius'ta belirten değerlere uygunluğunun saptanması amaçlanmıştır (Anon, 2002; Anon, 2002a).

Materyal ve Metot

Ankara piyasasından sağlanan kırk balık örneği ve Adana, Mersin piyasasından sağlanan otuz balık örneği olmak üzere toplam yetmiş adet balık materyal olarak kullanılmıştır. 15 Ekim 1999 - 30 Ocak 2000 tarihleri arasında alınan balık örnekleri deep-freeze'de muhafaza edilip, analize hazırlanmadan bir gün önce deep-freeze'den çıkartılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Ayrıca Akdeniz bölgesine ait balıklar Adana ve Mersin'den soğuk zincir ile getirilmiştir.

Karadeniz'e ait Hamsi, İstavrit, Kefal, Levrek balıklarının ortalama ağırlıkları ve boyları sırasıyla; 7-18 g ile 9-12 cm, 17-50 g ile 11-17 cm, 70-131 g ile 19-27 cm, 83-105 g ile 18-21 cm'dir.

Akdeniz'e ait Mercan, Kefal ve Levrek balıklarının ortalama ağırlıkları ve boyları sırasıyla 41- 62 g ile 15-17 cm, 99-193 g ile 25-33 cm, 130-264 g ile 25-32 cm'dir.

Bu balık türlerinin seçilmesindeki en önemli etkenlerden biri halkımız tarafından en çok tüketilen balık türleri olmasıdır.

Balık örneklerinin kurşun, kadmiyum ve bakır yönünden analizinde Atomik Absorbsiyon Spektrometresi-Grafit fırın yöntemi uygulanmıştır (Anon, 1978; TSE, 1981; Salisbury ve Chan, 1985; Anon, 1996a; Anon, 1996b).

Balık türlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi, Duncan testi ve student-t testi kullanılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1997).

Bulgular

Balık örneklerinden elde edilen bulguların istatistiksel analiz sonuçları Tablo 1, 2, 3'de görülmektedir.

Tablo 1: Karadeniz ve Akdeniz Bölgelerine Ait Balık Örneklerinde Saptanan Kurşun Miktarına İlişkin Ortalama (X) Standart Hata (Sx), Minimum ve Maksimum Değerler (mg/kg)

Balık Türü	Karadeniz				Akdeniz				t
	n	X ± Sx	Min.	Max.	n	X ± Sx	Min.	Max.	
Mercan	10	0.6932 ^a ± 0.07227	0.35	1.14	10	0.5044 ± 0.08749	0.25	1.12	0.160
Kefal	10	0.6746 ^a ± 0.08628	0.38	1.37	10	0.6790 ± 0.05183	0.41	0.88	
Levrek	10	0.8372 ^a ± 0.08495	0.57	1.47	10	0.7634 ± 0.09226	0.44	1.33	
Hamsi	10	1.0778 ^b ± 0.08203	0.79	1.62					
İstavrit	10								
F		5.209**				0.276			

(**):p>0.01 önemsizdir, (-):Önemsizdir.

a, b: aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark önemlidir.

Tablo 2: Karadeniz ve Akdeniz Bölgelerine Ait Balık Örneklerinde Saptanan Kadmiyum Miktarına İlişkin Ortalama (X) Standart Hata (Sx), Minimum ve Maksimum Değerler (mg/kg)

Balık Türü	Karadeniz				Akdeniz				t
	n	X ± Sx	Min.	Max.	n	X ± Sx	Min.	Max.	
Mercan	10	0.07878 ^a ± 0.01745	0.04	0.22	10	0.04050 ± 0.00445	0.02	0.07	0.746
Kefal	10	0.1124 ^{ab} ± 0.01815	0.03	0.24	10	0.1370 ± 0.07602	0.04	0.82	
Levrek	10	0.06708 ^a ± 0.01506	0.01	0.15	10	0.08780 ± 0.01814	0.03	0.22	
Hamsi	10	0.1380 ^b ± 0.01200	0.09	0.21					
İstavrit	10								
F		4.154*				1.140			

(*):p>0.05 önemsizdir, (-): önemsizdir.

a, b, ab, aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark önemlidir.

Tablo 3: Karadeniz ve Akdeniz Bölgelerine Ait Balık Örneklerinde Saptanan Bakır Miktarına İlişkin Ortalama (X) Standart Hata (Sx), Minimum ve Maksimum Değerler (mg/kg)

Balık Türü	Karadeniz				Akdeniz				t
	n	$\bar{X} \pm Sx$	Min.	Max.	n	$\bar{X} \pm Sx$	Min.	Max.	
Mercan					10	0.3830 ± 0.05600	0.26	0.86	
Kefal	10	0.6420 ± 0.08952	0.35	1.32	10	0.3432 ± 0.05943	0.04	0.60	2.781
Levrek	10	0.5569 ± 0.09146	0.19	0.92	10	0.3884 ± 0.04331	0.19	0.67	1.722
Hamsi	10	0.6972 ± 0.08566	0.16	1.01					
İstavrit	10	0.5116 ± 0.02350	0.37	0.58					
F		1.185				0.214			

(-): önemsizdir.

Sonuç

Balık örneklerinden elde edilen bulguların istatistiksel analiz sonuçları Tablo 1, 2, 3'de gösterilmiştir.

Bu araştırmada, balık örneklerinde yapılan analiz sonucunda saptanan ortalama değerlere bakıldığında; kurşun için bütün balık türlerinin, kadmiyum için beş balık türünün ortalama değerleri Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği ve Codex Alimentarius'un değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bakır için bulunan ortalama değerler Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nin değerlerinden oldukça düşüktür.

Codex Alimentarius'a ve Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre kurşun için İstavrit türünde kabul edilebilir en yüksek miktar 0.4 mg/kg, diğer balık türlerinde ise 0.2 mg/kg olarak sınırlandırılmıştır. Kadmiyum için ise Codex Alimentarius'a ve Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre Hamsi ve İstavrit türlerinde kabul edilebilir en yüksek miktar 0.1 mg/kg, diğer balık türlerinde ise 0.05 mg/kg'dır (Anon, 2002; Anon, 2002a). Bakır için ise Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre kabul edilebilir en yüksek miktar 20 mg/kg olarak belirlenmiştir (Anon,2002).

Balık örneklerinde saptanan ortalama kurşun değeri İstavrit için 1.0778 ± 0.08203 mg/kg olarak bulunmuş, ancak diğer 6 balık türü ile karşılaştırıldığında, örnek ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.01$) olduğu saptanmıştır. Balıkta kurşun için verilen yönetmelik değerlerinin İstavrit türünde 0.4 mg/kg ve diğer balık türlerinde 0.2 mg/kg olduğu göz önünde tutulduğunda bütün balık türlerinde bu değerin aşıldığı saptanmıştır.

Balık örneklerinde saptanan ortalama kadmiyum değeri İstavrit için 0.1380 ± 0.01200 mg/kg, Karadeniz Levrek için 0.1124 ± 0.01815 mg/kg, Akdeniz Kefal için 0.1370 ± 0.07602 mg/kg olarak bulunmuştur. Ancak diğer balık türleri ile karşılaştırıldığında, örnek ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) olduğu saptanmıştır. Balıkta, kadmiyum için verilen yönetmelik sınır değerlerinin Hamsi ve İstavrit türlerinde 0.1 mg/kg, diğer balık türlerinde ise 0.05 mg/kg olduğu göz önünde bulundurulduğunda, Karadeniz'e ait İstavrit, Levrek, Kefal'de ve Akdeniz'e ait Kefal ile Levrek'de bu değerlerin aşıldığı diğer türlerde ise saptanan değerlerin sınır değerlerinin altında olduğu görülmektedir.

Bakır için kabul edilebilir en yüksek değer 20 mg/kg'dır. Elde edilen verilerin hepsi bu değerin altında bulunmuştur.

Denizler arası karşılaştırma için seçilen Kefal ve Levrek için yapılan karşılaştırmada Kadmiyum için Akdeniz Kefal, Karadeniz'de ise Levrek ve İstavrit de bulunan ortalama değerlerin Türk Gıda Kodeksine göre bu değerlerin limit değerlerin üstünde olduğu ancak istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde, Karadeniz ve Akdeniz den temin edilip tüketilen balıklarda ağır metal miktarlarına bakıldığında kurşun, kadmiyum metallerinin bazı türlerde izin verilen değerleri aştığı ve bakır metallerinin de balıklarda mevcut olduğu görülmüştür ki bu sonuçlar deniz ürünlerindeki mevcut kirliliğin ve dolayısıyla denizlerimizdeki kirliliğin boyutunu açıkça ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

Anonim (2002). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Metal ve metaloidlerin maksimum bulaşıklık limitleri, Resmi Gazete No:24885 ve 23.09.2002 tarih.

Anonymous (1978). Atomic absorption, furnace technique, US EPA Method, 239.2.

Anonymous (1996a). EMEP Co- operative program for monitoring and evaluation of the long- range tranmission of air pollutants in Europe, Norway.

Anonymous (1996b). EMEP Manual for sampling and chemical analysis, Norway: EMEP/CCC Report 1/95, 0-7726.

Anonymous (2002a).Comission Regulation, *Offical Journal of the European Communities*, L 37, 4-6, (EC) No 221/2002.

- Chandra Sekhar, K., Chary, N.S., Kamala, C.T., Suman Raj, D.S., Sreenivasa Rao, A., (2003). Fractionation studies and bioaccumulation of sediment- bound heavy metals in Kolleru Lake by Edible Fish, *Environment International*, 29, 1001-1008.
- Filazi, A., Baskaya, R., Kum, C., Ve Hismioğulları, S., E., (2003). Metal concentrations in tissues of The Black Sea fish *Mugil auratus* from Sinop-Icliman, Turkey, *Human&Experimental Toxicology*, 22, 85-87.
- Henry, F., Amara, R., Courcot, L., Lacouture, M., Bertho, L., (2004). Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of The North Sea, *Environment International*, 30, 675-683.
- Icela, D., Hugo, E., Juan, A., (2000). Determination of cadmium and lead species in the water cloumn of the Jose Antonio Alzate reservoir, Mexico, *Water Environment Research*, 72, 2, 132-140.
- Salisbury, C.D., Chan, W., (1985). Simple automed wet digestion of animal tissues for determination of seven elements by atomic absorption spectroscopy, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68, 2, 218-219.
- Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V., (1997). Biyoistatistik, 7. Baskı, 112-122, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Türk Standart Enstitüsü (1981). Meyve, sebze ve mamullerinde ağır metal iyonlarının tayini, TS 3606, Ankara: TSE Yayınları.
- Yavuz, H., Filazi, A., (1995). Ankara Mogan gölünden sağlanan su, çökelti ve balık örneklerinde ağır metal düzeyleri, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 66, 2, 4-7.

**ANKARA İLİNDEKİ BAZI GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
(*ONCORHYNCHUS MYKISS*) ÇİFTLİKLERİNE AİT SU, YEM
VE BALIKLARIN MİKROBİYOLOJİK YÖNDEN
İNCELENMESİ**

Göknur TERZİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı- Samsun

Özet: Bu çalışmada Ankara ili ve çevresine ait 3 alabalık çiftliğinden temin edilen 84 gökkuşağı alabalığı deri örneği, 21 yem ve 21 su örneği olmak üzere toplam 126 örnek mikrobiyolojik yönden incelendi. *Salmonella* spp. 'nin izolasyonunda zenginleştirme yöntemi, aerob mezofil genel canlı, *Enterobacteriaceae*, *Coliform*, *Pseudomonas* spp. ve maya-küf sayısının belirlenmesinde damla plak tekniği kullanıldı. Analiz bulguları çerçevesinde alabalık deri örneklerinde aerob mezofil genel canlı sayısı A, B ve C çiftliklerinde sırasıyla ortalama 1.4×10^6 kob/cm², 2.9×10^6 kob/cm² ve 5.5×10^6 kob/cm² düzeyinde, su örneklerinde 1.2×10^5 kob/ml, 3.6×10^6 kob/ml, 2.3×10^4 kob/ml düzeyinde, yem örneklerinde 1.3×10^5 kob/g, 3.2×10^5 kob/g, 9.7×10^5 kob/g düzeyinde bulundu. Alabalık deri yem ve su örneklerinde *Salmonella* spp. izole edilemedi.

Anahtar kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, mikrobiyolojik kalite, *Salmonella*.

**Microbiological Investigation of Water, Feed and Fish belong to
Some Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Farms in Ankara.**

Abstract: In this study a total of 126 samples as about to 84 rainbow trout skin samples, 21 feed and 21 water samples, assured from 3 trout farm in Ankara region, were investigated for microbiological. The enrichment method was used in the isolation of *Salmonella* spp. and drop, plate technique was used in aerob mesophyl viable count, *Enterobacteriaceae*, *Coliform*, , *Pseudomonas* spp. and yeast-mould counts. In the frame of analysis, aerob mesophyl viable counts of trout skin samples were found in A, B and C farms as 1.4×10^6 cfu/cm², 2.9×10^6 cfu/cm² and 5.5×10^6 cfu/cm², respectively; 1.2×10^5 cfu/ml, 3.6×10^6 cfu/ml and 2.3×10^4 cfu/ml in water samples; 1.3×10^5 cfu/g,

3.2×10^5 cfu/g and 9.7×10^5 cfu/g in feed samples, respectively. *Salmonella* spp. couldn't isolated from skin, feed and water samples of trout.

Key Words: Rainbow trout, microbiological quality, *Salmonella*.

Giriş

Gıda kaynaklı hastalıklar nedeniyle her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 76 milyon hastalık olgusunun meydana geldiği ve bunların 5 milyonunun ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir (Anon, 2001a). Gıda kaynaklı infeksiyonların etiyojisine bakıldığında başta *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E. coli* O157, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* ve *Vibrio* spp. olmak üzere bakteriyel patojenlerin (%75) büyük rol oynadığı bildirilmiştir (Anon, 2000).

Hayvansal kaynaklı gıdalar içinde yer alan balık eti, protein, vitamin ve mineral bakımından zengin, sindirimi kolay bir besin kaynağıdır. Bu özelliklerinin yanı sıra yapısal özellikleri bakımından yumuşak ve sulu olması, bağ dokusunun çok az olması (%2), pH sınır 6.8-7.2 arasında olması, doymamış yağ asitlerinden zengin olması, iç organlarının çıkartılmaması nedeniyle mikroorganizmaların üremesi ve gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmakta ve bunun sonucu olarak da yeterli hijyenik ve teknolojik koşullarda muhafaza edilmediği takdirde insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Tolgay ve Kaymaz, 1995).

Bu çalışmada alabalıkların çeşitli patojenlerle kontamine olması sonucu insan sağlığını olumsuz etkilemesi nedeniyle alabalıkların derisindeki mikroorganizma düzeyinin belirlenmesi, ayrıca yem ve sudaki mikroorganizma yüküne bakılarak kontaminasyon nedenlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada, Ankara'daki 3 alabalık çiftliklerinden temin edilen 84 gökkuşağı alabalığı, 21 yem ve 21 su örneği olmak üzere toplam 126 örnek materyal olarak kullanıldı.

Metot

1. Genel Mikrobiyolojik Analizler:

a. Alabalık örneklerinin hazırlaması: Alabalıkların derisinden 10 cm x 1 cm alanında swap örnekleri alınarak % 0.1 'lik 10 ml peptonlu su içerisine konuldu.

b. Yem ve su örneklerinin hazırlanması: Steril plastik torbalar içerisine 10 g yem örneği, 10 ml de su örneği alınarak üzerlerine 90 ml peptonlu su (% 0.1) ilave edildi.

Alınan alabalık, yem ve su örneklerinden peptonlu su ile 10^{-6} 'ya kadar dilüsyonlar hazırlanarak aerob mezofil genel canlı, *Enterobacteriaceae*, *Coliform*, *E.coli*, *Pseudomonas* spp., maya-küf izolasyonu için Tablo 1'de belirtilen besi yerlerine damla plak yöntemi ile ekimler yapıldı (Anon,1997; Nedoluha ve Westhoff, 1993).

2. *Salmonella* İzolasyonu:

a. Alabalık örneklerinin hazırlaması :Bir adet alabalık steril plastik torba içerisine konarak üzerine 225 ml Tamponlanmış Peptonlu Su ilave edildi. 1-2 dakika masaj işlemi yapıldı, alabalık çıkarıldıktan sonra ön zenginleştirme homojenatı 37 °C' de 24 saat inkubasyona bırakıldı (Fricker, 1987; Nedoluha ve ark., 2001).

b. Yem ve su örneklerinin hazırlanması :Steril plastik torba içerisine 25 g yem örnekleri, 25 ml de su örnekleri de tartılarak üzerine 225 ml TPS ilave edildi ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı (Anon, 1993; Williams, 1984).

Alabalık örneklerinden hazırlanan ön zenginleştirme sıvısından 0,1 ml alınarak Rappaport-Vasilliadis Broth'a (RapV) geçildi ve 42 °C'de 24-48 saat, 1 ml de Selenit Sistin Broth' a (SC) geçilerek 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Yem ve su örneklerinden hazırlanan ön zenginleştirme homojenatından ise 1 ml alınarak SC'e geçildi ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda selektif zenginleştirme sıvı besi yerinden birer öze dolusu alınarak Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS) ve Xylose Lysine Deoxycholate Agar'a (XLD) çizme yöntemi ile ekim yapıldı ve plaklar 37 °C'de 24-48 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası BPLS agarda üreyen laktoz negatif, pembe kırmızı renkli kenarları düzgün; XLD agarda üreyen büyük, parlak, siyah kolonilerden alınarak Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Lysine Iron Agar (LIA) ve

Üre Agar'a ekim yapıldı ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda LIA'da mor renk ve siyahlaşma, TSIA 'da dip sarı üst pembe renk ve siyahlaşma, Üre Agar'da sarı renk *Salmonella* şüpheli kabul edildi. Biyokimyasal testler sonucu şüpheli olan koloniler *Salmonella* poly A-1 ve Vi antiserumu ile test edilerek aglütinasyon veren koloniler *Salmonella* pozitif olarak değerlendirildi (Anon 1998; Cherry ve ark., 1972; Hatha ve Lakshmanaperumalsamy, 1997; Yoshimura ve ark., 1979).

3. E. coli İzolasyonu: Violet Red Bile Agar'da üreyen prespitasyon oluşturan vişne renkli koloniler Endo Agar'a çizme plak yöntemi ile ekim yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Endo agarda metalik parlaklık veren *E. coli* şüpheli kolonilerden Indol, Metil red, Voges Proskauer ve Sitrat (IMVC) testleri yapıldı. IMVC testinde +, +, -, -, veya -, +, -, - şeklinde elde edilen bulgular *E. coli* olarak değerlendirildi (Hitchins ve ark., 1992).

İstatistiksel analizler: Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel yönden değerlendirilmesinde varyans analiz testi ve duncan yöntemi uygulanmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1994).

Tablo 1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve İnkubasyon Koşulları

Mikroorganizma Süre/Koşul	Besiyeri	Sıcaklık
Aerob Genel Canlı 48-72saat/Aerob	Plate Count Agar	30°C
Enterobakteriler 24-48saat/Anaerob	Violet Red Bile Lactose Glucose Agar	37 °C
Koliform 24-48saat/Aerob	Violet Red Bile Agar	37 °C
E.coli 24-48saat/Aerob	Endo Agar	37 °C
Pseudomonas 24-48saat/Aerob	Pseudomonas Agar Base	30°C
Maya/Küf 4-5 gün/Aerob	Rose Bengal Cloramphenicol Agar	25 °C

Bulgular

Ankara ili ve çevresine ait 3 alabalık çiftliğinden temin edilen 84 alabalık deri örneğinde aerob mezofil genel canlı sayıları A, B ve C çiftliklerinde sırasıyla ortalama 1.4×10^6 kob/cm², 2.9×10^6 kob/cm² ve 5.5×10^6 kob/cm² düzeyinde olup çiftlikler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Yine aynı alabalık örneklerinde *Enterobacteriaceae* sayıları ortalama 2.6×10^3 kob/cm², 2.6×10^5 kob/cm², 5.2×10^4 kob/cm², *Coliform* sayıları ortalama 1.5×10^1 kob/cm², 1.3×10^3 kob/cm², 5.0×10^4 kob/cm², maya-küf sayıları ortalama 1.1×10^5 kob/cm², 2.1×10^5 kob/cm², 9.7×10^4 kob/cm², *Pseudomonas* spp. sayıları ortalama 1.0×10^4 kob/cm², 2.1×10^5 kob/cm², 3.7×10^2 kob/cm² düzeyinde saptanmıştır. İncelenen alabalık örneklerinin 2'sinde B çiftliğinde *E.coli* izole edilmiştir. İncelenen alabalık deri örneklerinde çiftlikler arasında *Enterobacteriaceae*, *Coliform*, *Pseudomonas* spp açısından fark önemli olup B çiftliğinde en yüksek bulunmuştur. Alabalık örneklerinde mikroorganizmaların izolasyon oranlarına bakıldığında örneklerinin 56'sında (%66.6) *Enterobacteriaceae*, 33'ünde (%39.2) *Coliform*, 2'sinde (%2.3) *E. coli*, 80'inde (%95.2) maya-küf, 34'ünde (%40.4) *Pseudomonas* spp., izole edilmiştir. Alabalık deri örneklerinde *Salmonella* spp. izole edilememiştir.

İncelenen 21 su örneğinde aerob mezofil genel canlı sayıları A, B ve C çiftliklerinde sırasıyla ortalama 1.2×10^5 kob/ml, 3.6×10^6 kob/ml, 2.3×10^4 kob/ml düzeyinde saptanmıştır. Çiftlikler arasında fark önemli olup B çiftliğinde aerob mezofil genel canlı sayısı en yüksek bulunmuştur. Yine aynı su örneklerinde *Enterobacteriaceae* sayıları ortalama 2.0×10^2 kob/ml, 7.2×10^1 kob/ml, 2.9×10^1 kob/ml, *Coliform* sayıları ortalama 1.1×10^2 kob/ml, 2.9×10^1 kob/ml, $<2.0 \times 10^2$ kob/ml, maya-küf sayıları ortalama 7.8×10^2 kob/ml, 2.2×10^3 kob/ml, 1.4×10^3 kob/ml, *Pseudomonas* spp. sayıları ortalama 7.5×10^4 kob/ml, 3.9×10^5 kob/ml, 1.2×10^3 kob/ml düzeyinde bulunmuştur. Su örneklerinde mikroorganizmaların izolasyon oranlarına bakıldığında örneklerinin 4'ünde (%19) *Enterobacteriaceae*, 2'sinde (%9.5) *Coliform*, 19'unda (%90.4) maya-küf, 15'inde (71.4) *Pseudomonas* spp. izole edilmiştir. *E. coli* ve *Salmonella* spp. saptama sınırının altında ($<2.0 \times 10^2$ kob/ml) bulunmuştur.

İncelenen 21 yem örneğinde aerob mezofil genel canlı sayıları A, B ve C çiftliklerinde sırasıyla ortalama 1.3×10^5 kob/g, 3.2×10^5 kob/g, 9.7×10^5 kob/g, maya-küf sayıları ortalama 9.1×10^3 kob/g, 1.4×10^4 kob/g, 2.6×10^3 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Yem örneklerinde mikroorganizmaların izolasyon oranlarına bakıldığında örneklerin

1'inde (%4.7) *Enterobacteriaceae*, 10'unda (%47.6) maya-küf izole edilmiştir. *Coliform*, *E.coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. saptama sınırının altında ($<2.0 \times 10^2$ kob/g) olup yem örneklerinde çiftlikler arası fark önemsiz bulunmuştur.

Sonuç

Bu çalışmada, Ankara ili ve çevresine ait 3 alabalık çiftliğinden temin edilen 84 gökkuşağı alabalığı deri örneği, 21 yem ve 21 su örneğinde aerob mezofil genel canlı, *Enterobacteriaceae*, *Coliform*, *E.coli*, *Salmonella* spp., maya-küf ve *Pseudomonas* spp. bakılmıştır.

Çalışmada A, B ve C alabalık işletmelerindeki alabalıkların derisindeki aerob mezofil genel canlı sayısı sırasıyla 1.4×10^6 kob/cm², 2.9×10^6 kob/cm², 5.5×10^6 kob/cm² olarak bulunmuştur. Diler ve ark. (2000) alabalıkların derisinde aerob mezofil genel canlı sayısını 10^2 - 10^7 kob/g, Horsley (1973) tatlı su salmonunda 10^2 - 10^4 kob/cm² bulmuşlardır. Bulunan değerler pek çok literatürle benzerlik gösterirken International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF)' un önerdiği değer olan 5.0×10^5 den ve ayrıca Su Ürünleri Yönetmeliği'nde belirtilen 1.0×10^5 'den daha yüksek bulunmuştur (Anon 1986; Anon 2001b). Bu çalışmadan daha düşük olarak Nedoluha ve ark. (2001) aerob mezofil genel canlı sayısını levrekde 3.1×10^4 kob/cm², Gonzalez ve ark. (1999) gökkuşağı alabalığında 8.0×10^2 kob/g olarak bulmuşlardır. İstatistiki açıdan çiftlikler arası fark önemli olup B ve C bölgesinden alınan alabalıklardaki *Enterobacteriaceae* ve *Coliform* oranı A bölgesinden alınan alabalıklardan daha yüksek, *Pseudomonas* spp. oranı ise B bölgesinde en yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmada *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae*' nin gökkuşağı alabalığında dominant olduğu belirlenmiştir. Horsley (1973) Atlantik salmonunun bakteriyel florasını araştırdığında balığın mikroflorasının yaşadığı ortamı yansıttığı görüşünü vurgulamıştır. Alabalıklar yaşadıkları suyun bakteriyel florasını taşımakla birlikte derilerindeki mukusun inhibe edici etkisi nedeniyle bakteri kompozisyonunda değişiklikler meydana gelebilmekte buda farklı balık işletmelerine ait alabalıklarda bakteriyel floranın değişebileceği görüşünü desteklemektedir.

Çalışmada A, B ve C alabalık işletmelerine ait havuz suyundaki aerob mezofil genel canlı sayısı sırasıyla 1.2×10^5 kob/ml, 3.6×10^6 kob/ml, 2.3×10^4 kob/ml olup B işletmesinde yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmayla benzer olarak Austin ve Austin (1987) havuz suyundaki aerob mezofil genel canlı sayısının 10^1 - 10^6 kob/ml, Diler ve ark., (2000) Seniçbey işletmesinde 10^2 - 10^5 kob/ml, Aksu işletmesinde ise 10^2 - 10^4 kob/ml arasında değiştiğini, çalışmadan daha düşük olarak da Gonzalez ve ark. (1999) aerob mezofil genel canlı sayısının 1.0×10^3 kob/ml olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmada A,B ve C alabalık işletmelerindeki alabalıkların pelet yemlerindeki aerob mezofil genel canlı sayısı sırasıyla 1.3×10^5 kob/g, 3.2×10^5 kob/g, 9.7×10^5 kob/g olarak bulunmuştur. Austin ve Zahradi (1988) pelet yemdeki bakteri sayısının 4.0×10^3 kob/g, Diler ve ark. (2000) 10^4 kob/g olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada üç çiftlikte de pelet yemlerdeki bakteri yükünün “yem maddeleri ve karma yemlere ilişkin tebliğde” (Anon, 1980) belirtilen 2.0×10^6 ’dan yüksek olduğu, bunun da balık yemlerinin depolama koşullarının yetersizliğinden kaynakladığı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

Anon (1980).Yem Hammadeleri ve Karma Yemlerde Bulunan Bakteri ve Mantarların Seyreltme Metodu ile Kültürel Sayımları. Tebliğ. 6 Ağustos 1980, Sayı:17070.

Anon (1986). Microorganisms in Foods. Sampling For Microbiological Analysis: Principles and Scientific Application, 2nd., University of Toronto Press, Toronto, Canada.

Anon (1993). Microbiology-General Guidance on Methods For The Detection of *Salmonella*. Iso. 6579(E).

Anon (1997). Sular-İçme Ve Kullanma Suları, Türk Standardı, Ts 266.

Anon (1998). Bacteriological Analytical Manual.Fda, 8th Edt. Revision Aoac International, USA.

Anon (2000). Surveillance For Foodborne Disease Outbreaks --United States, 1993-1997, *Mmwr*, 49 (Ss01);1-51.

Anon (2001a). Preliminary Foodnet Data on the Incidence of Foodborne Illness- Selected Sites, United States, 2000. *Mmwr*, 50(13).

Anon (2001b). Yönetmelikler. Su Ürünleri Yönetmeliğinde Değişiklik. 3 Şubat 2001, S: 24307.

Austin B, Austin DA (1987). Bacterial Fish Pathogens. *Disease in Farmed And Wild Fish New York Ellis Harwood Lmt.*, P.: 346.

Austin, B., Zahradí M.J (1988). The Effect of Antimicrobial Compounds on The Gastrointestinal Microflora ff Rainbow Trout. *J. Fish Biol.*, 33:1-4.

Cherry, W.B., Hanks, J.B., Thomason, B.M., Murlin, A.M., Biddle, J.W., Crom, J.M. (1972). *Salmonellae* As An Index of Pollution of Surface Waters. *Appl. Microbiol.*, 24(3): 334-340.

Diler, Ö., Altun, S., Çalıkuşu, F., Diler, A. (2000). Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*)'nin Yaşadığı Ortam ile İlişkili Kalitatif ve Kantitatif Bakteriyel Florası Üzerine Bir Araştırma. *Turk. J. Vet Anim. Sci.*, 24:251-259.

Fricker, C.R. (1987). The Isolation of *Salmonellas* and *Camplobacters*. *J. Appl. Bacteriol.*, 63:99-116.

Gonzalez ,C.J., Lopez-Diaz, T.M., Garcia Lopez, M.L., Prieto, M., Otero, A. (1999). Bacteriol Microflora of Wild Brown Trout (*Salmo Trutta*), Wild Pike (*Esox Lucius*) and Aquacultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *J. Food Prot.*, 62(11):1270-1277.

Hatha, A.M., Lakshmanaperumalsamy, P. (1997). Prevalence of *Salmonella* in Fish and Crustaceans from Markets in Coimbatore, Sounth India. *Food Microbiol.*, 14: 111-116.

Hitchins, A.D., Hartman, P.A., Todd, E.C.D. (1992). Coliforms-*Eschericha coli* and its Toxins. Compendium of the Methods For The Microbiological Examinations of Foods. Ed.C.Vanderzant. D.F. Splittstoesser. *American Public Health Association* . P.: 325-367.

Horsley, R.W. (1973). The Bacterial Flora of Atlantic Salmon (*Salmo Salar L.*) in Relation to its Environment. *J. Appl. Bacteriol.*, 36: 377-386.

Nedoluha, P.C., Westhoff, D. (1993). Microbiological Flora of Aquacultured Hybrid Striped Bass. *J. Food Prot.*, 56(12):1054-1060.

Nedoluha, P.C., Owens, S., Cohen, E.R., Westhoff, D.C. (2001). Effects of Sampling Method on the Representative Recovery of Microorganisms from the Surfaces of Aquacultured Finfish. *J. Food Prot.*, 64(10): 1515-1520.

Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V. (1994). Biyoistatistik. Özdemir Yayın., Ankara.

Tolgay, Z., Kaymaz, Ş. (1995). Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Su Ürünleri, A. Ü. Vet. Fak., Ankara.

Williams, S. (1984). *Salmonella. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. 14nd Ed., Usa, P.: 963-971.

Yoshimura, H., Nakamura, H., Sato, S (1979). Incidence of *Salmonellae* in Animal Feed Ingredients in Japan. *Inst. Anim. Hlth Quart.*, 19: 107-113.

KONVANSİYONEL VE MİKRODALGA İLE PİŞİRMENİN VAN BALIĞI'NIN (*CHALCALBURNUS TARİCHİ*, PALAS 1811) D₃ VİTAMİN DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Emrullah SAĞUN¹ Haluk TESTERECİ² İbrahim H. YÖRÜK³
Kamil EKİCİ¹**

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı-Van

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı-Trabzon

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü-Van

Özet: Bu çalışmada, Van Balığı'ndaki (*Chalcalburnus tarichii*, Pallas 1811) D₃ vitamini ve rutubet kayıpları üzerine mikrodalga ile ve konvansiyonel pişirmenin etkisi incelenmiştir. D₃ vitamini tayini HPLC ile yapılmıştır. Çiğ, mikrodalga ile ve konvansiyonel yöntemle pişirilen balıkların D₃ vitamini miktarları sırasıyla 274.20±140.86, 139.84±87.71 ve 227.91±130.79 İ.Ü./g KM'dir. Mikrodalga ile pişirmede D₃ vitamini kaybı %49.01 olup, çiğ örneklerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemlidir (p<0.01). Konvansiyonel yöntemle pişirilen örneklerdeki D₃ vitamini kaybı ise %16.89 olup, istatistiksel olarak önemsizdir (p>0.05). Her iki pişirme yöntemi arasındaki D₃ vitamini kaybı farkı %32.12 olarak görülmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Rutubet kaybı mikrodalga ile pişirmede %4.29, konvansiyonel yöntemle pişirmede ise %2.8 olup, her iki pişirme arasındaki fark önemli bulunmamıştır (p>0.05).

Anahtar kelimeler: D₃ vitamini, HPLC, Van Balığı, mikrodalga, konvansiyonel pişirme.

The Effect of Conventional and Microwave Cooking on Vitamin D₃ Levels of Van Lake Fish (*Chalcalburnus tarichi*, Palas 1811)

Abstract: In this study, the effect of microwave and conventional cooking on vitamin D₃ and moisture loss of the Van Lake Fish (*Chalcalburnus tarichii*, Pallas 1811) has been examined. Vitamin D₃ levels of fish meat has been determined by HPLC. Mean vitamin D₃ levels for raw, microwave and conventionally cooked fish are

274.20±140.86, 139.84±87.71 and 227.91±130.79 I.U./g DM respectively. Vitamin D₃ loss by microwave cooking is about 49.01% and statically significant ($p<0.01$) comparing to the raw samples. Vitamin D₃ loss for conventional method is also 16.89% and not significant statically ($p>0.05$). Although there seem to be 32.12% differences in loss of the vitamin D₃ between both cooking method this is not significant ($p>0.05$). The moisture loss is 4.29% for microwave and 2.8% for conventionally cooked samples, but the differences seem not to be significant ($p>0.05$).

Key words: Vitamin D₃, HPLC, Van lake fish, microwave, conventional cooking.

Giriş

D vitamini, antirakitik etkisi olan birbiri ile ilgili bir grup maddenin adıdır. Bunlar içinde çok tanınan iki tanesi D₂ vitamini olarak bilinen ergokalsiferol ve D₃ vitamini olarak bilinen kolekalsiferoldür. D₂ vitamini bitkilerde, D₃ vitamini ise hayvansal dokularda bulunur (Oral,1986; Keskin, 1987). En önemli D₃ vitamini kaynakları balık karaciğer yağı ve balık etidir (Suzuki ve ark.,1988; Göğüş ve Kolsarıcı,1992). Keskin (1987) vücut yağı fazla olan balıkların en zengin doğal D vitamini kaynağı olduğunu bildirmiştir. Etlerinde bulunan D₃ vitamini miktarları bakımından balık türleri arasında büyük farklılıklar vardır. (Göğüş ve Kolsarıcı, 1992).

Yeterli ve dengeli bir beslenmenin sağlanmasında değişik türden yeterli miktarda besin sağlanması kadar, elde edilen besinleri besleyici değerlerini yitirmeden tüketmek de önem taşır. Besinleri tüketime hazırlama, pişirme ve saklama sırasında en çok kayıp vitaminlerde meydana gelir (Baysal, 1986). Besinlerin pişirme şeklinin (haşlama, ızgara, fırın, mikrodalga v.s.) vitamin kayıpları üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (Kavas,1986; Knutson ve ark.,1987) .

Geleneksel yöntemler ve mikrodalga ile pişirmenin karşılaştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar alınmakla birlikte, mikrodalga ile pişirilen etler diğer geleneksel yöntemlerle pişirilenlerden besin miktarı bakımından bir miktar yüksek bulunmuştur. Ancak gözlenen bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tömek ve Sedaroğlu,1988).

Bu çalışma; önemli bir D₃ vitamini kaynağı olan balıkların, konvansiyonel yöntemlerle ve mikrodalgalarla pişirilmesi sırasında meydana gelen D₃ vitamini kayıplarını ve her iki pişirme arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak kullanılan Van Balığı (İnci Kefali) örnekleri balıkların tekneden boşaltıldığı sırada taze olarak alınmış ve 1 saat içinde laboratuvara getirilerek hemen analizlere başlanmıştır.

Örneklerin analize hazırlanması: Laboratuvara getirilen balıkların kafaları gövdeden ayrılarak iç organları çıkarılmış ve su ile temizlenmiştir. Temizlenen balık örneklerinden 12 adedi elektrikli fırında, 12 adedi mikrodalga fırında pişirilmiş ve 12 adedi de çiğ (kontrol) olarak analizlere alınmıştır.

Mikrodalga fırında pişirme: Hazırlanan örnekler bir cam kap üzerine yerleştirildikten sonra 550 W gücünde ve mikrodalga salınımı 2450 MHz olan bir mikrodalga fırında (Vestel ER-535 MT) üstü açık olarak, fırının kullanma kılavuzunda tarif edildiği gibi 10 dakika müddetle pişirilmiştir (Baker ve ark.,1983).

Konvansiyonel pişirme: Bu amaçla iç ısıyı kontrol edilebilen elektrikli bir fırın kullanılmıştır. Fırın 170°C'ye kadar ısıtıldıktan sonra balıklar bir tepsiye yerleştirilerek elektrikli fırında 170°C'de 70 dakika müddetle pişirilmiştir (Baker ve ark.,1983; Kotula ve ark.,1983).

Her iki fırında da pişirilen örnekler soğuduktan sonra, çiğ (kontrol) örneklerle birlikte D₃ vitamini tayinleri yapılmıştır.

D₃ Vitaminin Tayini

Doku Ekstraksiyonu: Balık örneklerinin dorsal kaslarından 1'er gr alınarak bir tüpe konulmuş ve üzerine 4 ml %10'luk askorbik asit (Merck) ilave edildikten sonra 4 ml %96'lık metanol (Merck) eklenen örnek cam bagetle iyice ezilmiştir. Vorteksde (Nüve NM 110) 30 sn. karıştırıldıktan sonra üzerine 2 ml hekzan (Merck) ilave edilerek tekrar Vorteks ile 30 sn. daha karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra elde edilen süspansiyon 5000 rpm'de 10 dak. (+4° C'de)

santrifüje (soğutmalı, Minifuge RF, Heraus Spacaten) edilmiştir. Üst kısımda oluşan hekzan fazından 1 ml alınıp argon gazı altında, 40-50°C'deki su banyosunda (Nüve BM 101) evapöre edilmiş ve kalan kısım üzerine 1 ml metanol eklenip 0.45 µm filtreden (Milipore) süzülerek HPLC'ye enjekte edilmiştir (Testereci, 1994).

Sıvı kromatografisi: Hazırlanan standartlar kullanılarak düzenek analizler için hazır hale getirildikten sonra hazırlanan örneklerden 20 µl sıvı kromatografi kolonuna (Shimadzu LC-10 AD) enjekte edilmiştir. D₃ vitamininin 260 nm dalga boyunda Philips pye unicom UV marka dedektörle standarda göre tanısı yapılmıştır. D₃ vitamininin ayrılmasında Bundapak C18 kolonundan (4 mm x 30 cm) faydalanılmıştır. Mobil faz olarak %96'lık metanol kullanılmıştır. Örneklerdeki D₃ vitamini miktarları external standarda göre Chromatopac CR-6A integratörde (Schimadzu) İ.Ü./gr. doku bazında hesaplanmıştır (Testereci, 1994).

Rutubet tayini: Rutubet tayinleri Anonim (1983)'e göre yapılmıştır.

Pişmiş balık örneklerindeki kalan (tutulan) D₃ vitamini yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kalan D}_3\text{Vit. (\%)} = \frac{\text{Pişmiş balığın D}_3\text{ vit. içeriği (kurumaddede)}}{\text{Çiğ balığın D}_3\text{ vit. içeriği (kurumaddede)}} \times 100$$

İstatistiksel analiz: Veriler SPSS istatistiksel programında t testine tabi tutulmuştur (Cochran ve Cox, 1950).

Bulgular

İncelenen çiğ, mikrodalga ile ve konvansiyonel olarak pişirilmiş örneklerin D₃ vitamini miktarları, kurumadde ve vitamin kaybı oranları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1: Çiğ ve pişmiş balıkların ortalama D₃ vitamini miktarları, kurumadde ve vitamin kaybı oranları.

Örnek Tipi	Örnek sayısı	Vit.D ₃ içeriği (İ.Ü./g. yaş doku)	Kurumadde oranı (%)	Vit. D ₃ içeriği (İ. Ü./g Km)	Vit D ₃ kaybı (%)
Çiğ balık	12	74.94±38.49	27.33±6.79	274.20±140.86 a	-
Pişmiş balık (mikroalga)	12	44.21±27.74	31.62±5.54	139.84±87.71 be	49.01
Pişmiş balık (konvansiyonel)	12	68.67±39.41	30.13±4.94	227.91±130.79 aç	16.89

* Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Sonuç

İncelenen çiğ, mikroalga ile ve konvansiyonel yöntemle pişirilmiş Van Balıkları'ndaki D₃ vitamini miktarları ve kurumadde oranları Tablo 1'de sunulmuştur. Kurumadde esas alındığında mikroalga ile pişirmede meydana gelen D₃ vitamini kaybı %49.01 (tutulma oranı %50.99), geleneksel yöntemle pişirmede ise %16.89 (tutulma oranı %83.11) düzeyindedir. Çiğ balıkla kıyaslandığında, mikroalga ile pişirmede önemli ölçüde vitamin kaybı söz konusudur (p<0.01). Geleneksel yöntemle pişirmede ise %16.89'luk bir vitamin kaybı olmasına rağmen bu kayıp istatistiksel olarak önemsizdir (p>0.05). Her iki pişirme arasında %32.12 oranında bir fark söz konusu olmasına rağmen bu sonuç istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Mikroalga ile pişirmede ortaya çıkan yüksek D₃ vitamini kaybı (%49.01) mikroalgaların D₃ vitamininin steroid yapısını bozmalarına bağlanabilir.

Kavas (1986) pişirme ile besinlerdeki D vitamini kaybının %0-40 arasında olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada geleneksel yöntemle pişirilen örneklerdeki D₃ vitamini kaybı %16.89 olup, Kavas (1986)'ın bildirdiği değerlerle uyumludur. Ancak mikroalga ile pişirmede belirlenen vitamin kaybı oranı (%49.01) bildirilen değerden daha yüksek çıkmıştır.

Mikroalga ile pişirilen örneklerde %4.29, geleneksel yöntemle pişirilenlerde ise %2.8 oranında bir rutubet kaybı söz konusu olup her iki pişirme arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (p>0.05).

Odabaşıoğlu (1993) Van Balığı etindeki rutubet oranının %72.74 olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada çiğ balık örneklerinde saptanan ortalama rutubet oranı %72.67 olup bildirilen değerle uyumludur.

Mikrodalga enerjinin gıdalarda bulunan yağda eriyen vitaminlere etkisi üzerine yapılan araştırmalar oldukça sınırlıdır. Sadece bir kaç araştırmada bu konu ele alınmış ve bu çalışmalarda mikrodalgalarla pişirmenin önemli bir A vitamini kaybına neden olmadığı belirtilmiştir (Tömek ve Sedaroğlu,1988). Mikrodalgalarla pişirmenin D vitaminine etkisi üzerine yapılan bir çalışmaya ise rastlanmamıştır.

Balık elindeki D₃ vitamini üzerine güneşte kurutmanın etkisinin incelendiği bir araştırmada, güneşte kurutma ile D₃ vitamininde bir azalma olduğu bildirilmiştir (Suzuki ve ark.,1988).

Takeuchi ve ark. (1987), 22 çeşit balığın karaciğerindeki D₃ vitamini miktarını incelemişler ve balıkların karaciğerindeki D₃ vitamini miktarının 84-260.000 ng/g. yaş doku arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Knutson ve ark. (1987) thiamin kaybı yönünden mikrodalga ile konvansiyonel pişirme arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan bir araştırmada 16 adet kalkan balığı fletosu mikrodalga ve elektrikli fırında pişirilmiş, her iki pişirme arasında rutubet kaybı bakımından önemli bir fark bulunmamıştır. Çiğ örneklerdeki ortalama rutubet %71.11±8.51, mikrodalga ile pişirilenlerde ortalama %65.80±0.48 ve elektrikli fırında pişirilenlerde ise %65.46±0.45 olarak bulunmuştur (Madeira ve Penfield, 1985). Bu çalışmada elde edilen değerler araştırmacıların bildirdiği değerlere oldukça yakındır.

Kylen ve ark. (1964) sığır köftelerinde hem geleneksel pişirmede hem de mikrodalga fırında pişirmede rutubet kaybını aynı bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar geleneksel yöntemlerle pişirilen sığır ve domuz butlarındaki rutubet kaybını mikrodalga ile pişirilenlere göre önemli derecede daha düşük bulmuşlardır ($p<0.05$).

Van ve çevresinde yaygın olarak tüketilen Van Balığı'nın besinsel değeri üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır (Odabaşıoğlu, 1993; Testereci ve ark.,1997). Van Balığı ve ülkemizde diğer balıkların D₃ vitamini düzeyleri ve pişirme tekniklerinin bu vitamin üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmaya ise henüz rastlanmamıştır. Bu çalışma, konuyla ilgili olarak yapılan ilk araştırma olma özelliğini taşımaktadır.

Sonuç olarak; bu çalışmada D₃ vitamini yönünden konvansiyonel pişirmenin mikrodalga ile pişirmeye göre daha az vitamin kaybına neden olduğu kanaati oluşmuştur. Pişirme tekniklerinin balıklarda bulunan D₃ vitamini kayıpları üzerine daha önce yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olması bu konuda daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Pişirme tekniklerinin balıklardaki vitaminler üzerine olan olumlu ve olumsuz etkileri detaylı olarak araştırılmalı ve en az vitamin kaybına sebep olan pişirme teknikleri belirlenmeli ve geliştirilmelidir.

Kaynaklar

- Anon. (1983). Tokib Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri Kitabı. Yay No 65, Merkez İkmal Müdürlüğü Basımevi, Ankara.
- Baker, R.G., Poon W., Vadehra, D.V.(1983). Destruction of *S. typhimurium* and *S. aureus* in Poultry Products Cooked in a Conventional and Microwave Oven. *Poultry Sci.*, 62: 805-810.
- Baysal, A.(1986). Ev Koşullarında Besinlerin Hazırlanması, Pişirilmesi ve Saklanması Sırasında Oluşan Vitamin Kayıpları, Editör Egemen A, Vitaminlerin Sağlığımızdaki Önemi, İstanbul, 80-88.
- Cochran, W.G., Cox, G.M. (1950). Experimental Designs. John Willey., Sons, Newyork.
- Göğüş, A.K., Kolsarıcı, N. (1992). Su Ürünleri Teknolojisi. A.Ü Ziraat Fak Baskı Ofset Ünitesi. Ankara.
- Kavas A.(1986). Gıda İşlemenin Yol Açtığı Vitamin Kayıpları ve Önleme Yolları, Editör Egemen A, Vitaminlerin Sağlığımızdaki Önemi, İstanbul, 89-101.
- Keskin, K(1987). Besin Kimyası, L. Güray Matbaacılık Tic Ltd Şti, İstanbul.
- Knutson K.M., Marth E.H., Wagner M.K. (1987). Microwave Heating of Food. *Lebensm Wiss U- Technol.*, 20 (3): 101-110.
- Kotula, A.W., Murrel, K.D., Acosta-Stein L., Lamb, L., Douglas, L. (1983). Destruction of *Trichinella Spiralis* During Cooking. *J. Food Sci.*, 48: 765-768.
- Kylen, A.M., Mc Grath, B.H., Hallmark, E.L., Van Duyne., F.O (1964). Microwave and Conventional Cooking of Meat. *J. Am. Diet Assoc.*, 45: 139-145.

Madeira, K., Penfield, M.P. (1985). Turbot Fillet Sections Cooked By Microwave and Conventional Heating Methods, Objective and Sensory Evaluation. *J. Food Sci.*, 50: 172-177.

Odabaşıoğlu, F.(1993). Van Gölü'nde Yaşayan İnci Kefali (*Chalcalburnus Tarichii*) Balığının Çeşitli Dokularının Kimyasal Bileşimi. Yüksek Lisans Tezi. Y.Y. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van

Oral, S.N. (1986). Raşitizm ve D Vitamini, Editör Egemen A, Vitaminlerin Sağlığımızdaki Önemi, İstanbul, 47-53.

Suzuki, H., Hayakawa, S., Wada, S., Okazaki, E., Yamazawa, M. (1988). Effect of Solar Drying on Vitamin D₃ and Provitamin D₃ Contents in Fish Meat. *J Agric. Food Chem.*, 36: 803-806.

Takeuchi, A., Okana, T., Torii, M., Hatakana, Y., Kobayashi, T. (1987).Comparative Studies on the Contents of Vitamin D₃, 25-Hydroxy Vitamin D₃ and 7-Dehydrocholesterol in Fish Liver. *Comp Biochem Physiol.*, 88 B (2): 569-573.

Testereci, H., Yörük, İ.H., Akyüz A., Sağmanlıgil, H.. (1997). Retinol Asetat, Vitamin A Palmitat, A- ve Γ-Tokoferol'ün Geri Dönüşümlü Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Ayrılması ve Bu Vitaminlerin Van Gölü Balığı'nda (*Chalcalburnus Tarichi*) Tayini. *T.r J. Veterinary and Animal Sciences.*, 21: 17-22.

Testereci, H. (1994). Yağda Eriyen Vitaminlerin Analizinde Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Kullanımı. *Van Tıp Derg.*, 4: 5-13.

Tömek, O.S., Serdaroğlu, M. (1988). Microwave Yöntemiyle Etlerin Pişirilmesi. *E.Ü. Müh Fak Gıda Müh. Derg.*, 6 (1): 111-124.

GIDA PATOJENİ *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN İDENTİFİKASYONUNDA STANDART BİYOKİMYASAL TESTLER İLE KROMOJENİK RAPID' L.MONO'NUN KARŞILAŞTIRILMASI

Recep ÇIBIK **Figen ÇETİNKAYA**

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
- Bursa

Özet : Bu çalışma, *Listeria monocytogenes*'in (*L.monocytogenes*) identifikasyonunda standart biyokimyasal testler ile fosfatidilinozitol fosfalipaz C (PI-PLC) aktivitesine dayanan kromojenik RAPID' L.Mono besi yerinin karşılaştırılması amacıyla gerçekleştirildi. Bu amaçla, gıdalardan izole edilen 26 *listeria* izolatu test materyali olarak kullanıldı. İzolatlardan 19 adedi her iki teknik ile *L. monocytogenes* olarak tanımlanarak edildi. Biyokimyasal testlerle *L.monocytogenes* olarak tanımlanan 8 adet suştan hiçbirisi RAPID'L.Mono besi ortamında turkuvaz renkli tipik koloniler oluşturmadı. Diğer taraftan; biyokimyasal testlerle *L.welshimeri* olarak tanımlanarak edilen bir izolat PI-PLC aktivitesi göstererek kromojenik besi yerinde *L.monocytogenes* benzeri koloniler oluşturdu. Sonuç olarak, standart tekniklerle kıyaslanabilecek sonuçlar verebilen kromojenik RAPID' L.Mono besi yerinin; kolay uygulanabilirliği, daha kısa sürede sonuç vermesi ve koloni seviyesinde ayırım imkanı sağlamasına rağmen, yalnızca PI-PLC aktivitesine dayalı bir teknik olması nedeniyle bazı dezavantajlara da sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler:*Listeria* spp., *L.monocytogenes*, RAPID' L.Mono, identifikasyon

Comparative Analysis of Standart Biochemical Tests and Chromogenic RAPID' L.mono Medium for Identification of Foodborne Pathogen

Listeria monocytogenes

Abstract: The aim of this work was to compare the standart biochemical tests and chromogenic RAPID' L.Mono medium that is based on the activity of phosphatidylinositol specific phospholipase C

(PI-PLC) to identify *Listeria monocytogenes* (*L.monocytogenes*). A total of 26 food originated *listeria* isolates were used as test material. Of these, 19 were identified as *L.monocytogenes* by both techniques. Though 8 strains exhibited *L.monocytogenes* profile with standard tests there were no typical turquoise colored colonies on RAPID' L.Mono medium. On the other hand, one isolate which was identified as *L.welshimeri* with biochemical tests, produced PI-PLC activity on chromogenic medium. Consequently, although the chromogenic medium RAPID' L.Mono provided results comparable to standard techniques, it is quite easy to handle and provides faster results on colony level, since it is based on the measurement of only PI-PLC activity it has some disadvantages.

Key words: *Listeria* spp., *L.monocytogenes*, RAPID' L.mono, identification

Giriş

Doğada oldukça yaygın olarak bulunan *L.monocytogenes*, evcil ve yabani hayvanlardan, su, toprak ve bitkilerden sıklıkla izole edilen bir mikroorganizmadır (Sheehan ve ark., 1994). Etken, insanlarda genellikle meningitis ve sepsise yol açarken, hamilelerde abort, erken ve premature doğumlara neden olmaktadır. Hastalığın insidensi düşük olmasına rağmen (yılda her bir milyon kişi için 2-15 vaka), yüksek mortalite oranı (%25-30) ile seyretmesi halk sağlığı açısından ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (Schuchat ve ark., 1991).

İnsanlardaki listeriosis vakalarının başlıca kaynağı, *L.monocytogenes* ile kontamine gıdalardır (Farber ve Peterkin, 1991; Jacquet ve ark., 1995; Siragusa ve ark., 1993; Ueno ve ark., 1996). Son 20 yıl içerisinde, farklı ülkelerde ortaya çıkan gıda kökenli listeriosis salgınlarının çoğu yumuşak ve yarı yumuşak peynirler, çiğ sebzeler, su ürünleri, kanatlı, domuz ve sığır etleri ile hamurlu gıda maddelerinin tüketiminden kaynaklanmıştır. Etken, vakum paketlenmiş balıkların % 20'sinden (Loncarevic ve ark., 1996), çiğ süttten yapılan peynirlerin % 42'sinden (Loncarevic ve ark., 1995), kanatlı, sığır ve kuzu etlerinin sırasıyla %66, %38 ve %40'ından ve sucukların %35'inden izole edilmiştir (Macgowan ve ark., 1994). Buzdolabı ısısında canlı kalabilme ve çoğalabilme kabiliyeti bulunan etken, ayrıca yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük pH gibi çevresel stres koşullarına da dayanıklıdır (Farber ve Peterkin, 1991; Jacquet ve

ark., 1995; Mccarthy, 1991; Siragusa ve ark., 1993; Ueno ve ark., 1996).

Geleneksel kültür metotlarıyla *L.monocytogenes*'in gıdalardan izolasyonu ve identifikasyonu oldukça zaman alıcıdır ve bunun için yaklaşık 4-6 gün gerekmektedir. Son yıllarda geliştirilen selektif zenginleştirme ve ekim teknikleri, identifikasyon için gerekli süreyi önemli ölçüde kısaltmaktadır. *L.monocytogenes*'in 2 günde spesifik olarak belirlenmesini sağlayan ve fosfatidilinozitol fosfolipaz C (PI-PLC) aktivitesine dayalı olarak geliştirilmiş olan RAPID[®] L.Mono besi yeri bu amaçla kullanılmaktadır (Notermans ve ark., 1991; Wadsworth ve Goldfine, 1999). PI-PLC, listeriozin O ile birlikte *L.monocytogenes*'in önemli virulans faktörlerindendir ve patojen olan *Listeria* türlerinin patojen olmayanlardan ayırımında önemli bir rol oynamaktadır (Bubert ve ark., 1999; Notermans ve ark., 1991).

Bu çalışmada, *L.monocytogenes*'in identifikasyonunda standart biyokimyasal teknikler ile RAPID[®] L.Mono besi yerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Mikroorganizmalar ve Kültür Şartları

Laboratuvarımızda daha önce çeşitli gıda örneklerinden izole edilen ve -80°C de % 20 gliserol içeren kryo-tüplerde saklanan *Listeria* izolatları kullanıldı. Referans *L.monocytogenes* SLCC 2371 serotip 1/2a ve SLCC 2375 serotip 4b suşları ise Dr. C.Jacquet (Institut Pasteur, Centre National des Reference des Listeria, Paris, Fransa)'dan temin edildi. Bakteriyel kültürler Brain-Heart Infusion Broth (BHI, Oxoid CM 225) sıvı besi yerinde gece boyunca 37°C'de çoğaltıldı. Üreyen tüplerden öze ile Oxford Agar (Oxoid, CM 856) besi yerine yüzeye ekim yapıldı ve plaklar 37°C'de 48 saat süre ile inkübasyona bırakıldı.

Doğrulama Testleri

A) Standart Biyokimyasal Testler

Her bir plakta üreyen tipik kolonilerden alınarak morfoloji, hareket, katalaz aktivitesi, oksidaz, β -hemoliz, CAMP ve şeker fermentasyon (ksiloz, ramnoz, mannitol, riboz) testlerine tabi tutuldu (Hitchins, 1995).

B) Kromojenik Besi Yeri

BHI sıvı besi yerinde üreyen suşlar, içerisinde substrat olarak 5-bromo-4-kloro-3-indoksil-myo-inozitol-1-fosfat ve ksiloz içeren RAPID' L.Mono (BIO RAD) besi yerine yüzeye ekildi ve 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edildikten sonra PI-PLC aktivitesi pozitif olan, turkuvaz renkli, çevresinde sarı zon bulunmayan koloniler *L.monocytogenes* açısından pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 1).



Şekil 1. RAPID' L.Mono besiyerinde üreyen tipik *L.monocytogenes* kolonileri

Bulgular

Biyokimyasal testler ve RAPID' L.Mono direk ekim plakları kullanılarak, *Listeria* izolatlarının *L.monocytogenes* açısından identifikasyonuna ilişkin karşılaştırmalı sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Standart biyokimyasal testler ve RAPID' L.Mono ile *L. monocytogenes*'in identifikasyonu

<i>Listeria</i> spp. İzolatları	Standart Biyokimyasal Testler	RAPID' L.Mono
<i>L.monocytogenes</i> SLCC	+	+
2371 serotip 1/2a		
<i>L.monocytogenes</i> SLCC	+	+
2375 serotip 4b		
UVF 128	+	+
UVF 106	+	+
UVF 107	+	+
UVF 109	+	-
UVF 110	+	+
UVF 111	+	+
UVF 114	+	+
UVF 127	+	-
UVF 118	+	+
UVF 115	+	+
UVF 116	+	+
UVF 119	+	+
UVF 122	+	-
UVF 123	+	-
UVF 124	+	+
UVF 125	-	+
	(<i>L.welshimeri</i>)	
UVF 126	+	+
UVF 129	+	+
UVF 130	+	-
UVF 131	+	-
UVF 132	+	+
UVF 133	+	+
UVF 135	+	+
UVF 136	+	-
UVF 142	+	+
UVF 144	+	-

*UVF : Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı İzolatları

Çalışmamızda gıdalardan izole edilen 26 adet *Listeria* izolatu ve referans laboratuvarından temin edilen iki *L.monocytogenes* suşu kullanıldı. Test edilen referans suşlar ile 19 adet gıda izolatu hem biyokimyasal testler hem de RAPID' L.Mono besisi yerinde *L.monocytogenes* olarak identifiye edildi. Sekiz izolat ise biyokimyasal testlerle *L.monocytogenes* açısından pozitif yanıt verirken, RAPID' L.Mono plaklarında turkuvaz renkli tipik koloniler gözlenmedi. İzolatlardan sadece bir tanesi RAPID' L.Mono besisi yerinde patojene özgü tipik koloniler oluştururken, biyokimyasal testlerle *L.welshimeri* olarak tanımlandı.

Sonuç

Kromojenik RAPID' L. Mono besisi yeri *L.monocytogenes*'in direk ve kısa süre içerisinde tek bir koloni olarak identifikasyonunda avantaj sağlaması yanında, sadece PI-PLC aktivitesine spesifik olması ve diğer bazı türlerin de bu aktiviteyi göstermesi bir dezavantaj olarak görülebilir. Gıdalardan *L.monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonunda, kromojenik besisi yerinin diğer standart testlerle birlikte kullanımının daha etkin ve güvenilir sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Bubert, A., Hein, I., Rauch, M., Lehner, A., Yoon, B., Goebel, W. And Wagner, M. (1999). Detection and Differentiation of *Listeria* spp. by A Single Reaction Based on Multiplex PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 4688-4692.
- Farber, J.F., Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes* A Food-Borne Pathogen. *Microbiological Reviews*, 55: 476-511.
- Hitchins, A.D. (1995). *Listeria monocytogenes*. (In): FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, P.10.01-10.13. Aoac International, Githersburg.
- Acquet, C., Catimel, B., Brosch, R., Buchrieser, C., Dehaumont, P., Goulet, V., Lepoutre, A., Veit, P., Rocourt, J. (1995). Investigations Related to The Epidemic Strain Involved in The French Listeriosis Outbreak in 1992. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 2242-2246.

Loncarevic, S., Tham, W., Danielsson-Tham, M.L. (1996). Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in Smoked and 'Gravad' Fish. *Acta Vet. Scandinav.* 37: 13-18.

Loncarevic, S., Danielsson-Tham, M.L., Tham, W. (1995). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Soft and Semi-Soft Cheeses in Retail Outlets in Sweden. *Int. J. Food Microbiol.* 26: 245-250.

Macgowan, A.P., Bowker, K., Mclauchlin, J., Bennett, P.M., Reeves, D.S. (1994). The Occurrence and Seasonal Changes in The Isolation in *Listeria* spp. In: Shop Bought Food Stuffs, Human Faeces, Sewage and Soil from Urban Sources. *Int. J. Food Microbiol.* 21: 325-334.

Mccarthy, S.A. (1991). Pathogenicity of Nonstressed, Heat-Stressed, and Resuscitated *Listeria monocytogenes* Lal Cell. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2389-2391.

Notermans, S.H., Dufrenne, J., Leimeister-Wacher, M., Domann, E., Chakraborty, T. (1991). Phosphatidylinositol-Specific Phospholipase C Activity As Marker to Distinguish Between Pathogenic and Nonpathogenic *Listeria* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2666-2677.

Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C.V. (1991). Epidemiology of Human Listeriosis. *Clin. Microbiol. Res.* 4: 169-183.

Sheehan, B., Kocks, C., Dramsi, S., Gouin, E., Klarsfeld, A.D., Mengaud, J., Cossart, P. (1994). Molecular and Genetic Determinants of the *Listeria monocytogenes* Infectious Process. *Current Topics in Microbiology*, 192: 187-216.

Siragusa, G.R., Dickson, J.S., Daniels, E.K. (1993). Isolation of *Listeria* spp. from Feedlot Cattle. *J. Food Protec.* 56: 102-105.

Ueno, H., Yokota, K., Arai, T., Muramatsu, Y., Taniyama, H., Iida, T., Morita, C. (1996). The Prevalence of *Listeria monocytogenes* in the Environment of Dairy Farms. *Microbiol. Immun.* 40:121-124.

Wadsworth, S.J., Goldfine, H. (1999). *Listeria monocytogenes* Phospholipase C-Dependent Calcium Signaling Modulates Bacterial Entry into J774 Macrophage-Like Cells. *Infect. Immunity*, 67: 1770-1778.

ISIRGANOTU YAPRAĞININ (*Folium urticae*) ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ

Nursel DOSTBİL¹ Sema AĞAOĞLU² Süleyman
ALEMDAR²

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kampüs-Van

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı Kampüs-Van

Özet: Bu çalışmada, ısırganotu yaprağı (*Folium urtica*)'nın bazı bakteriler üzerindeki antibakteriyal aktivitesi araştırıldı. Isırganotu yaprağının dietileter'de hazırlanmış ekstraktı *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium smegmatis* ve *Micrococcus luteus* bakteri suşları üzerinde disk diffüzyon yöntemiyle in vitro olarak denendi.

Sonuç olarak; ısırganotu yaprağının test suşlarından *S. aureus*, *E. faecalis* ve *M. smegmatis* üzerinde inhibitör etki gösterdiği, ancak diğer bakteriler üzerinde etkinliğinin olmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Isırganotu yaprağı, antibakteriyal aktivite.

The Antibacterial Activity of Common Nettle (*Folium urticae*)

Abstract: In this study, the antibacterial activity of common nettle (*Folium urticae*) on some bacteria was investigated. Extract of common nettle which is prepared in diethyl ether tested to standard bacterial strains of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium smegmatis* and *Micrococcus luteus* with disk diffusion method as in vitro.

As a result of analysis it is determined that common nettle has inhibitory activity on *S. aureus*, *E. faecalis* and *M. smegmatis* but has no inhibitory activity at the proliferation of other bacterial strains.

Keywords: Common nettle, antibacterial activity.

Giriş

Isırganotu (*Urtica dioica*), bazı urtica (*Urticaceae*) türlerinin kurutulmuş veya taze yapraklarıdır. Büyük ısırganotu (*U. dioica* L.) ve küçük ısırganotu (*U. urens* L.) türlerinin yaprakları Türkiye’de yaygın olarak yetişmektedir. Isırganotu’nun bileşiminde organik asitler (formik asit), histamin, asetil kolin, potasyum tuzları ve vitamin C bulunmaktadır. Isırganotu’ndan elde edilen bazı fraksiyonların ise antikoagulan bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Isırganotu’nun kök ve yaprakları tıp alanında kan temizleyici, iştah açıcı, idrar artırıcı olarak tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca *U. dioica* L. türünün yapraklı dalları sebze olarak değerlendirilmektedir (Baytop, 1984).

Bu çalışmada, ısırganotu yaprağının bazı bakteriler üzerindeki antibakteriyal etkinliği araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma materyalini oluşturan ısırganotu yaprağı (*Folium urticae*) doğal olarak yetiştiği bölgelerden toplandı ve sistematik kaynaklar yardımıyla botanik teşhisi yapıldı (Davis, 1984). Isırganotu örnekleri yabancı maddelerden temizlendikten sonra, distile su ile yıkandı, aseptik koşullarda kurutuldu. Daha sonra, laboratuvar değirmeninde ince olarak (1mm) öğütülüp, ağzı kapalı kaplarda muhafaza edildi (Hanafy and Hatem, 1991).

Çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* FML 5, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 15753, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067 ve *Micrococcus luteus* A 2971 bakteri suşları Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonundan sağlandı.

Bakteri kültürlerinin çoğaltılmasında Trypticase Soy Broth (Difco 0369-01-4), antibakteriyal aktivite denemelerinde ise Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM 337) besi yerleri kullanıldı.

Örnek Ekstraktının Hazırlanması

Örnek ekstraktının hazırlanmasında Hanafy ve Hatem (1991)’in bildirdikleri yöntem kullanıldı. Bu amaçla, 200g öğütülmüş ısırganotu yaprağı üzerine 500 ml dietileter ilave edildi. Karışım 15 dakika ara ile çalkalanarak 6 saat bekletildi. Filtrasyon işleminden sonra,

karişımın evaporatör (60 °C)'de eteri uğuruldu. Elde edilen yeşil-siyahımsı renkteki extre analizlerde seyreltilmeden kullanıldı. Örnek ekstraktları analizler sonuğlanıncaya kadar buzdolabında (+4 °C) muhafaza edildi.

Antibakteriyal Aktivite Testi

Çalışmada kullanılan bakteri suşları Trypticase Soy Broth'ta 24 saatlik kùltürleri hazırlanarak çoğaltıldı (10^8 - 10^9 kob/ml). Hazırlanan bu kùltürlerden 0.1 ml miktarında inokulum Mueller-Hinton Agar'a aktarıldı ve steril bir svab ile tüm plak yüzeyine yayıldı. Isırganotu ekstraktı ile doyurulmuş (50µg/disk) kağıt diskler (Whatman:1, 6mm) plak yüzeyine hafifçe bastırılarak yerleştirildi. Plaklar 35 ± 0.1 °C' de 48 saat inkübe edildikten sonra, disk etrafındaki gelişme olmayan bölgenin zon ęapı mm olarak ölçüldü. Denemeler her test suşu için iki paralelli olarak uygulandı (Anonymous, 1997).

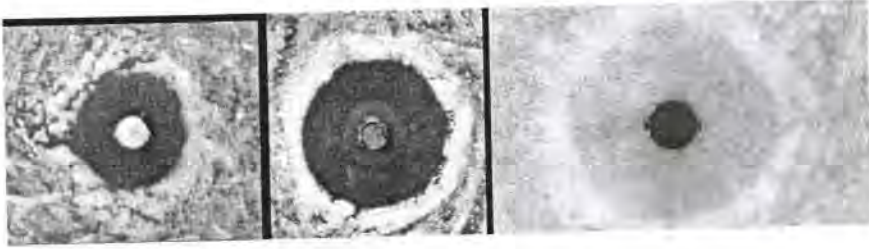
Bulgular

Isırganotu yaprağının antibakteriyal aktivite test sonuçları Tablo 1 ve şekil 1'de verilmiştir. Tablo 1 incelendiğinde; ısırganotu yaprağının test suşlarından *S. aureus*, *E. faecalis* ve *M. smegmatis* üzerinde inhibitör aktivite gösterdiği, diğer bakteriler (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *M. luteus*) üzerinde ise benzer bir etkinin oluşmadığı anlaşılmaktadır.

Tablo 1. Isırganotu yaprağının antibakteriyal aktivite test sonuçları

Bakteri suşu	İnhibisyon zonu (mm)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	30
<i>K. pneumoniae</i> FML 5	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 15753	13
<i>M. smegmatis</i> CCM 2067	22
<i>M. luteus</i> A 2971	-

-: İnhibitör etkisiz



a) *E. faecalis*

b) *M. smegmatis*

c) *S. aureus*

Şekil 1. Isırganotu yaprağının bakteri suşları üzerindeki inhibisyon zonları

Sonuç

Son yıllarda tıbbi bitkilerden elde edilen aktif maddelere olan ilgi ve bu konudaki çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Bu bitkilerin bazı türlerinden boyar madde ve ilaç olarak farmakoloji sahasında yararlanılmakta, bazı türleri ise gıda sanayinde baharat olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984)

Çalışma materyalini oluşturan ısırganotu, ülkemizde yaygın şekilde yetişmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda (Karapınar ve Aktuğ, 1986; Topal, 1989; Çon ve ark., 1998; Ağaoğlu, 1999; Ağaoğlu ve ark., 1999) bazı baharat ve şifalı otların antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır.

Aksu ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada, fermente Türk sucuğuna farklı oranlarda katılan ısırganotu (öğütülmüş)’nun 14 günlük olgunlaşma periyodunda laktik asit bakterileri, stafilokoklar ve mayaküf gelişimi üzerinde inhibitör etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında, ısırganotu yaprağının dietileter ile hazırlanan ekstraktı 6 bakteri suşu (*S. aureus*, *M. luteus*, *M. smegmatis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis*) üzerinde disk diffüzyon yöntemiyle denendi.

Antibakteriyal aktivite denemeleri sonucunda; ısırganotu yaprağının test suşlarından yalnızca *S. aureus*, *E. faecalis* ve *M. smegmatis* üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu, diğer bakteriler (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *M. luteus*) üzerinde benzer bir etkinin

oluşmadığı belirlendi. İnhibisyon zon çapları *S. aureus* 'ta 30 mm, *E. faecalis* ' te 13 mm, *M. smegmatis* 'te ise 22 mm olarak ölçüldü (Tablo 1 ve Şekil 1).

Çalışma bulguları irdelendiğinde, ısırganotu yaprağının bakteri suşları üzerindeki etkisinin farklı olduğu görülmektedir. Isırganotu, gıda zehirlenmelerinde önemli rol oynayan *S. aureus* üzerinde en fazla etkili olmuştur. Belirlenen bu değer, Aksu ve ark. (2002)'nın bulgularıyla örtüşmektedir.

Sonuç olarak, ısırganotu yaprağının bazı patojen bakterilere karşı gösterdiği inhibitör aktivitenin potansiyel bir özellik olarak dikkate alınmasının yararlı olacağı kanısındayız.

Kaynaklar

Ağaoğlu, S. (1999). The Effect of *Nigella Sativa* on Microflora Growth in Raw Meat Balls. *Bio Science Res Bul*, 15 (1): 9-13.

Ağaoğlu, S., Berktaş, M., Güdücüoğlu, H. (1999). Çörekotu (*Nigella Sativa*) Tohumunun Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma. *Yü Sağ Bil Derg*, 5(1): 15-17.

Aksu, İ. M., Kaya, M. (2002). Türk Sucuğu Üretiminde Isırganotu (*Urtica Dioica* L.) Kullanımının Sucuğun Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkisi. Türkiye VII. Gıda Kongresi Bildiri Kitapçığı, 847, Ankara.

Anonymous (1997). Necls. Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 6th Ed., Approved Standard M2-A6, 17(1), Replaces M2-A5, 13(24).

Baytop, T. (1984). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İ. Ü. Yayınları. No:3255, Eczacılık Fak. No: 40, İstanbul.

Çon, A. H., Ayar, A., Gökalp, H. Y. (1998). Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Çeşitli Bakterilere Karşı Antimikrobiyel Etkisi. *Gıda*, 23(3): 171-175.

Davis, P.H. (1984). Flora of Turkey and The East Aegean Island. Edinburg at The University Press, P635.

Hanafy, M. S., Hatem M. E. ,(1991). Studies on the Antimicrobial Activity of *Nigella Sativa* Seed (Black Cumin). *Journal of Ethnopharmacology*, 34: 275-278.

Karapınar, M., Aktuğ, Ş. E. (1986). Baharatların Laktik Asit Bakterilerinin Üremesi ve Laktik Asit Oluşturması Üzerine İnhibitif ve Stimülatif Etkileri. *E. Ü. Müh. Fak. Derg., Seri:B.*, 4: 79-87.

Topal, Ş. (1989). Sarmısak ve Soğanın Antimikrobiyal Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Bursa 1. Uluslararası Gıda Sempozyumu, Bildiri Kitapçığı, 450-461.

ANKARA PİYASASINDAN SAĞLANAN ÇİKOLATALARDA TEOBROMİN VE YAĞSIZ KAKAO KİTLESİ MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI

Gülderen YENTÜR¹

Buket ER¹

Betül ÇELİK²

¹ Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Besin Analizleri Bilim Dalı-Ankara

² Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Gıda Laboratuvarı-Ankara

Özet: Bu çalışmada, Ankara piyasasında satışa sunulan üç ayrı firmaya ait dört çeşitten (bitter, sütlü, fındıklı, antepfıstıklı) oluşan çikolata örneklerinde teobromin ve yağsız kakao kitlesi miktarlarının saptanması, bulunan sonuçların Türk Standartları Enstitüsü, TS 7800 değerlerine uygunluğunun araştırılması amaçlanmıştır.

Her firmadan 40 örnek olmak üzere üç firmaya ait olarak toplam 120 örnek üzerinde çalışılmıştır.

Teobromin miktarı spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Çikolatalarda yağsız kakao kitlesinin tayini için teobromin değerleri kullanılmıştır.

A firmasının bitter tipi çikolatalarında saptanan teobromin ve yağsız kakao kitlesi ortalama değerleri (% kütlece) sırasıyla 0.5895 ± 0.00017 ve 16.8500 ± 0.00258 'dir.

C firmasının bitter tipi çikolatalarında saptanan teobromin ve yağsız kakao kitlesi ortalama değerleri (% kütlece) sırasıyla 0.5636 ± 0.00016 ve 16.1090 ± 0.00433 'dür.

Üç ayrı firmaya ait (A, B, C) sütlü çikolata örneklerinde saptanan teobromin ve yağsız kakao kitlesi toplam ortalama değerleri (% kütlece) sırasıyla 0.2884 ± 0.00486 ve 8.2490 ± 0.13954 'dür.

Üç ayrı firmaya ait (A, B, C) sütlü ve fındıklı çikolata örneklerinde saptanan teobromin ve yağsız kakao kitlesi toplam ortalama değerleri (% kütlece) sırasıyla 0.2867 ± 0.00505 ve 8.1947 ± 0.14432 'dir.

Üç ayrı firmaya ait (A, B, C) sütlü ve antepfıstıklı çikolata örneklerinde saptanan teobromin ve yağsız kakao kitlesi toplam

ortalama değerleri (% k t lece) sırasıyla 0.3087 ± 0.02401 ve 8.1703 ± 0.14219 'dur.

Araştırmaımızda elde edilen bulgulara göre, çikolata  rneklelerinde toplam ortalama yağsız kakao kitlesi miktarları TS 7800 değerlerine uygun bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Çikolata, teobromin, yağsız kakao kitlesi.

Determination of Theobromine and Non-Fat Cocoa Solids Levels in the Chocolate Samples Sold in Ankara Local Markets, Turkey

Abstract: In this study, our aim was to determine levels of theobromine and non-fat cocoa solids in three different firms'chocolate samples that four types chocolates (bitter, milk type, milk and hazelnuts type, milk and pistachio type) sold in Ankara local markets and to evaluate whether theobromine and non-fat cocoa solids levels were within the Turkish Standard Institute, TS 7800 values or not. It has been worked on hundred twenty samples of three firms provided that each firm has fourty samples.

Determination of theobromine has been made by spectrophotometric method. The values of theobromine were used for determination of non-fat cocoa solids in chocolate samples.

The avarage levels (percentage of cocoa mass) of theobromine and non-fat cocoa solids were determined as 0.5895 ± 0.00017 , 16.8500 ± 0.00258 , respectively in bitter type chocolate samples of A firm.

The avarage levels (percentage of cocoa mass) of theobromine and non-fat cocoa solids were determined as 0.5636 ± 0.00016 , 16.1090 ± 0.00433 , respectively in bitter type chocolate samples of C firm.

The total avarage levels (percentage of cocoa mass) of theobromine and non-fat cocoa solids were determined as 0.2884 ± 0.00486 , 8.2490 ± 0.13954 , respectively in milk type chocolate samples of three different firms (A, B, C).

The total avarage levels (percentage of cocoa mass) of theobromine and non-fat cocoa solids were determined as 0.2867 ± 0.00505 , 8.1947 ± 0.14432 , respectively in milk and hazelnuts type chocolate samples of three different firms (A, B, C).

The total average levels (percentage of cocoa mass) of theobromine and non-fat cocoa solids were determined as 0.3087 ± 0.02401 , 8.1703 ± 0.14219 , respectively in milk and pistachio type chocolate samples of three different firms (A, B, C).

According to data obtained in our research, the levels of non-fat cocoa solids found in chocolate samples were within the TS 7800 values.

Key words: Chocolate, theobromine, non-fat cocoa solids.

Giriş

Çikolata, kakao yağı, şeker, süt veya süt tozu, izin verilen katkı maddeleri, toz kakao veya kakao kitlesi ile tekniğine uygun olarak hazırlanan bir gıda maddesidir (Şaroğlu ve ark., 1994).

Çikolatanın en önemli kalite kriterlerinden biri kakao yağıdır. Türk Standartları Enstitüsü Çikolata Standardı (TS 7800), Codex Alimentarius, Çikolata ve Kakaolu Ürünler Standardına göre, üzerinde "çikolata" ibaresi bulunan hiçbir üründe kakao ve süt yağından başka bir yağ kullanılamaz (TSE, 1990; Anon, 2003b).

Kimyasal olarak çikolata yağları, linoleik, oleik, palmitik ve stearik asitler kombinasyonunun gliserol esterleridir. Kakao yağı asit içeriğine rağmen, stabil ve kokuşma eğilimine dirençlidir. Yağsız kakao kitlesi ise ransiditeyi inhibe eden antioksidanları içermektedir (Alikonis, 1979).

Çikolatanın lezzetindeki acılık kakaodaki alkaloidli maddeler tarafından sağlanmaktadır. Kakaodaki alkaloidli maddeler metilksantin türevleridir. Bu metilksantinler aynı zamanda uyarıcı etkiye sahiptirler. Kakaodaki asıl alkaloidli madde teobromindir. Diğer alkaloidli maddeler ise teofilin ve kafeindir. Yağsız kakao kitlesinin % 3,7'si teobromin iken % 0,2'si kafeindir. İz miktarlarda teofilin içermektedir. Kakao içeriğinin tanımlanması, kakao içerikli ürünlerde önemlidir. Bu nedenle teobromin oranı kakao içeriğinin hesaplanmasında bir kriter olarak kullanılmaktadır (Şaroğlu ve ark., 1994; Mattissek, 1997; Naik, 2001).

Bu çalışmada, Ankara piyasasında satılan ve yaygın olarak tüketilmekte olan değişik firmalara ait çikolatalarda (bitter, sütlü, fındıklı, antepfıstıklı) teobromin ve yağsız kakao kitlesi miktarlarının belirlenmesi ve saptanan yağsız kakao kitlesi değerlerinin TS 7800

sınır değerlerine uygun olup olmadığının ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırmada, çeşitli marketlerde satışa sunulan 2002-2003 yılında üretilmiş olan 120 adet çikolata örneği kullanıldı. Örneklerin farklı noktalardan alınan farklı seri ve parti numaraları olan çikolatalar olmasına dikkat edildi. Analiz için seçilen çikolata örnekleri, Ankara piyasasında satışa sunulmuş olan üç farklı firma (A, B, C) için 40'ar adet olmak üzere, dört farklı tipteki çikolatalarından (bitter, sütlü, fındıklı, antepfıstıklı) oluşturuldu.

Çikolata analizlerinde teobromin ile yağsız kakao kitlesi miktarı tayinlerinde TürkStandartları Enstitüsü (TSE)'nin 7800 No'lu standardı kullanıldı (TSE, 1990).

Teobromin tayininde spektrofotometrik yöntem uygulandı. Çikolatalarda yağsız kakao kitlesinin tayini için teobromin değerleri kullanıldı (Schetty ve ark., 1969; Anon,1988; Schetty ve ark., 1992).

İstatistiksel analizlerde, her bir firmadaki çikolata çeşitleri arasındaki farklılığı araştırmak için tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Sadece sütlü, bitter çikolatalar için A ve C firmaları arasında farklılık iki yönlü t testi ile araştırıldı. Firmalar arasındaki farklılığı araştırmak için Tukey Çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Standart değerler ile firma analiz sonuçlarının karşılaştırılması güven aralıkları kullanılarak yapıldı (Daniel, 1991).

Bulgular

Tablo 1: A Firmasına Ait Dört Ayrı Çeşit (Bitter, Sütlü, Fındıklı, Antepfıstıklı) Çikolataların Teobromin Miktarları % (Kütlece)

Firma	Çeşit	N	$\bar{X} \pm S_x$	Min.	Max.
A	Bitter	10	$0.5895^b \pm 0.00017$	0.589	0.590
A	Sütlü	10	$0.3024^a \pm 0.00016$	0.302	0.303
A	Fındıklı	10	$0.2996^a \pm 0.00016$	0.299	0.300
A	Antepfıstıklı	10	$0.3675^a \pm 0.06917$	0.298	0.299
Toplam		40	0.3898 ± 0.02522	0.298	0.590
F: 15.650*					

*:p <0.05

a,b: Farklı harf taşıyan çeşitlerin ortalama değerleri arasındaki fark önemlidir.

Tablo 2: A Firmasına Ait Dört Ayrı Çeşit (Bitter, Sütü, Fındıklı, Antepfıstıklı) Çikolataların Yağsız Kakao Kitlesi Miktarları % (Kütüce)

Firma	Çeşit	N	X±Sx	Min.	Max.
A	Bitter	10	16.8500 ^b ±0.00258	16.84	16.86
A	Sütü	10	8.6460 ^a ±0.00340	8.63	8.66
A	Fındıklı	10	8.5780 ^a ±0.00416	8.56	8.59
A	Antepfıstıklı	10	8.5250 ^a ±0.00342	8.51	8.54
Toplam		40	10.6498±0.57326	8.51	16.86
F: 1447477.405*					

*:p <0.05

a,b: Farklı harf taşıyan çeşitlerin ortalama değeri arasındaki fark önemlidir.

Tablo 3: B Firmasına Ait Dört Ayrı Çeşit (Siyah Sütü, Sütü, Fındıklı, Antepfıstıklı) Çikolataların Teobromin Miktarları % (Kütüce)

Firma	Çeşit	N	X±Sx	Min.	Max.
B	Siyah Sütü	10	0.4880 ^c ±0.00026	0.487	0.489
B	Sütü	10	0.3111 ^{ab} ±0.00023	0.310	0.312
B	Fındıklı	10	0.3117 ^b ±0.00015	0.311	0.312
B	Antepfıstıklı	10	0.3104 ^a ±0.00016	0.310	0.311
Toplam		40	0.3553±0.01227	0.310	0.489
F: 182960.260*					

*:p <0.05

a,b,c,ab: Farklı harf taşıyan çeşitlerin ortalama değeri arasındaki fark önemlidir.

Tablo 4: B Firmasına Ait Dört Ayrı Çeşit (Siyah Sütü, Sütü, Fındıklı, Antepfıstıklı) Çikolataların Yağsız Kakao Kitlesi Miktarları % (Kütüce)

Firma	Çeşit	N	X±Sx	Min.	Max.
B	Siyah Sütü	10	13.9560 ^c ±0.00562	13.93	13.98
B	Sütü	10	8.9040 ^b ±0.00686	8.87	8.92
B	Fındıklı	10	8.8950 ^{ab} ±0.00269	8.87	8.92
B	Antepfıstıklı	10	8.8790 ^a ±0.00314	8.87	8.89
Toplam		40	10.1585±0.35109	8.87	13.98
F: 267679.754*					

*:p <0.05

a,b,c,ab: Farklı harf taşıyan çeşitlerin ortalama değeri arasındaki fark önemlidir.

Tablo 5: C Firmasına Ait Dört Ayrı Çeşit (Bitter, Sütlü, Fındıklı, Antepfıstıklı) Çikolataların Teobromin Miktarları % (Kütlece)

Firma	Çeşit	N	X±Sx	Min.	Max.
C	Bitter	10	0.5636 ^c ±0.00016	0.563	0.564
C	Sütlü	10	0.2517 ^b ±0.00015	0.251	0.252
C	Fındıklı	10	0.2489 ^a ±0.00023	0.248	0.250
C	Antepfıstıklı	10	0.2483 ^a ±0.00015	0.248	0.249
Toplam		40	0.3281±0.02177	0.248	0.564
F: 771525.783*					

*:p <0.05

a,b,c: Farklı harf taşıyan çeşitlerin ortalama değerleri arasındaki fark önemlidir.

Tablo 6: C Firmasına Ait Dört Ayrı Çeşit (Bitter, Sütlü, Fındıklı, Antepfıstıklı) Çikolataların Yağsız Kakao Kitlesi Miktarları % (Kütlece)

Firma	Çeşit	N	X±Sx	Min.	Max.
C	Bitter	10	16.1090 ^c ±0.00433	16.09	16.13
C	Sütlü	10	7.1970 ^b ±0.00367	7.18	7.21
C	Fındıklı	10	7.1110 ^a ±0.00314	7.10	7.12
C	Antepfıstıklı	10	7.1070 ^a ±0.00260	7.10	7.12
Toplam		40	9.3810±0.62203	7.10	16.13
F: 1646176.800*					

*.p <0.05

a,b,c: Farklı harf taşıyan çeşitlerin ortalama değerleri arasındaki fark önemlidir

Sonuç

Araştırmamızda kullandığımız çikolata örneklerinde saptanan teobromin miktarları tablo 1, 3, 5'de ve yağsız kakao kitlesi miktarları tablo 2, 4, 6'da gösterilmiştir.

A firmasına ait bitter, sütlü, fındıklı ve antepfıstıklı çikolatalarda tespit edilmiş olan toplam ortalama teobromin miktarları % (kütlece) 0.3898 ± 0.02522'dir. En düşük ve en yüksek değerler ise 0.298 ile 0.590 olarak belirlenmiştir (Tablo 1). A firmasına ait sütlü ve bitter

çikolatalarına ilişkin teobromin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

A firmasına ait bitter, sütlü, fındıklı ve antepfıstıklı çikolatalarda tespit edilmiş olan toplam ortalama yağsız kakao kitlesi miktarları % (kütlece) 10.6498 ± 0.57326 'dır. En düşük ve en yüksek değerler ise 8.51 ile 16.86 olarak belirlenmiştir (Tablo 2). A firmasına ait sütlü ve bitter çikolatalarına ilişkin yağsız kakao kitlesi miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

B firmasına ait siyah sütlü, sütlü, fındıklı ve antepfıstıklı çikolatalarda tespit edilmiş olan toplam ortalama teobromin miktarları % (kütlece) 0.3553 ± 0.01227 'dir. En düşük ve en yüksek değerler ise 0.310 ile 0.489 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). B firmasına ait siyah sütlü ve sütlü çikolatalara ilişkin teobromin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

B firmasına ait siyah sütlü, sütlü, fındıklı ve antepfıstıklı çikolatalarda tespit edilmiş olan toplam ortalama yağsız kakao kitlesi miktarları % (kütlece) 10.1585 ± 0.35109 'dur. En düşük ve en yüksek değerler ise 8.87 ile 13.98 olarak belirlenmiştir (Tablo 4). B firmasına ait siyah sütlü ve sütlü çikolatalara ilişkin yağsız kakao kitlesi miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

C firmasına ait bitter, sütlü, fındıklı ve antepfıstıklı çikolatalarda tespit edilmiş olan toplam ortalama teobromin miktarları % (kütlece) 0.3281 ± 0.02177 'dir. En düşük ve en yüksek değerler ise 0.248 ile 0.564 olarak belirlenmiştir (Tablo 5). C firmasına ait sütlü ve bitter çikolatalarına ilişkin teobromin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

C firmasına ait bitter, sütlü, fındıklı ve antepfıstıklı çikolatalarda tespit edilmiş olan toplam ortalama yağsız kakao kitlesi miktarları % (kütlece) 9.3810 ± 0.62203 'dür. En düşük ve en yüksek değerler ise 7.10 ile 16.13 olarak belirlenmiştir (Tablo 6). C firmasına ait sütlü ve bitter çikolatalarına ilişkin yağsız kakao kitlesi miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Türk Standartları Enstitüsüne göre yağsız kakao kitlesi, sütlü çikolatada kütlece en az % 5, bitter çikolatalarda kütlece en az %16 olmalıdır (TSE, 1990). Teobromin miktarı yağsız kakao kitlesinin hesaplanmasında kullanılmaktadır (Schetty ve ark., 1992).

A ve C firmalarına ait bitter çikolata örneklerinde saptanan teobromin ve yağsız kakao kitlesi miktarlarına ilişkin ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. A ve C firmalarına ait bitter çikolata örneklerinde saptanan ortalama teobromin ve yağsız kakao kitlesi miktarları standart değerlere (TS 7800) uygundur.

A, B, C firmalarına ait sütlü çikolatalardaki ortalama % (kütlece) teobromin miktarı 0.2884 ± 0.00486 ve yağsız kakao kitlesi miktarı 8.2490 ± 0.13954 olarak bulunmuştur ve teobromin ile yağsız kakao kitlesi miktarlarına ilişkin ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

A, B, C firmalarına ait fındıklı sütlü çikolatalardaki ortalama % (kütlece) teobromin miktarı 0.2867 ± 0.00505 ve yağsız kakao kitlesi miktarı 8.1947 ± 0.14432 olarak bulunmuştur ve teobromin ile yağsız kakao kitlesi miktarlarına ilişkin ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

A, B, C firmalarına ait antepfıstıklı çikolatalardaki ortalama % (kütlece) teobromin miktarı 0.3087 ± 0.02401 ve yağsız kakao kitlesi miktarı 8.1703 ± 0.14219 olarak bulunmuştur ve teobromin ile yağsız kakao kitlesi miktarlarına ilişkin ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

A, B, C firmalarına ait sütlü, fındıklı sütlü ve antep fıstıklı sütlü çikolata örneklerinde saptanan ortalama yağsız kakao kitlesi miktarlarının TS 7800'e uygun olduğu bulunmuştur.

Kullanılan üretim teknolojisinin farklılığı, hammadde kalitesi ile formülasyonlardaki değişiklik firmalar arasında farklılığa neden olmakla birlikte tüm firmalar için elde edilen sonuçlar TS 7800 ile uyum göstermektedir.

Çikolata yapımında formülasyon, kakao cinsi, toplam yağ miktarı, kakao yağı ve süt yağ oranı ile çikolata işleme şartları son derece önemli faktörlerdir. Bu ana değişkenlerdeki farklılık farklı kalitede çikolata üretimine neden olmaktadır (Anon, 2003a).

Çikolata ve kakaolu ürünler Türkiye ihracatında önemli bir potansiyele sahiptir. Ülke ekonomisine sağlayacağı yararlar bakımından bu potansiyelin en iyi şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

Alikonis, J.J., (1979). Candy Technology, 15-30, Avi Publishing Company, Westport, Connecticut.

Anonim (1988). Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metotları, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.

Anonim (2003a). Çikolata İmalatı ve Teknolojisi, Ülker Gıda San. Tic. A.Ş.

Anonim (2003b). Türk Gıda Kodeksi Çikolata ve Çikolata Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2003/23), Resmi Gazete, 17 Temmuz 2003 - Sayı:25171.

Daniel, N.W., (1991). Biostatistic, A Foundation For Analysis in the Health Sciences 5th Ed., John Wiley And Sons, New York.

Mattissek, R., (1997). Evaluation of Xantine Derivatives in Chocolate Nutritional and Chemical Aspects, *Zeit-Schrift-Fuer-Lebensmittel-Unters Forsch A*, 205, 175-184.

Naik, J., P., (2001). Improved High – Performance Liquid Chromatography Method to Determine Theobromine and Caffeine in Cocoa and Cocoa Products, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3579-3583.

Schetty, O., Anker, P., Hadorn, H., Junker, E., Kleinert, J., (1969). Schokolade, *Schweizerisches Lebensmittelbuch*, Fifth Ed., Vol.36 C., 16-20, Eidg Drucksachen-Und Materialzentrale, Bern.

Schetty, O., Anker, P., Hadorn, H., Junker, E., Kleinert, J., (1992). Schokolade, *Schweizerisches Lebensmittelbuch*, Fifth Ed., Vol.36, A., 25-26, Eidg Drucksachen-Und Materialzentrale, Bern.

Şaroğlu, Ş., Ergün, K., Ercoşkun, Ü., Boncuk, H., (1994). Ankara Piyasasında Satılan Bazı Çikolatalarda Kakao Kütlesi ve Kakao Yağının Tespiti, T.C. Tarım Ve Köy İşleri Bakanlığı Tarım Araştırmaları Genel Müdürlüğü Yayınları, No:007/020, Ankara.

Türk Standartları Enstitüsü (1990). Çikolata, Ts 7800, Ankara: Tse Yayınları.

İSTANBUL GARNİZONUNDAKİ ASKERİ BİRLİK VE KURUMLARA AİT SULARIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Ömer ÇAKMAK¹ İrfan EROL² Mustafa ÖZYURT³ F. Seda BİLİR ORMANCI² Ahmet YILDIZ¹ Nurettin ARDIÇ³ Ali ERDEMOĞLU³

¹1.nci Ordu 1 Nolu Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı-İstanbul

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Ankara

³Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi-İstanbul

Özet: Bu çalışmada; İstanbul Garnizonundaki askeri birlik ve kurumlar tarafından tüketilen içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesinin membran filtrasyon tekniği kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ocak-Aralık 2001 tarihlerini kapsayan bir yıllık bir sürede yürütülen bu çalışmada, İstanbul Garnizonundaki Askeri Birlik ve Kurumlarda içme ve kullanma amacı ile tüketilen 9993 şehir şebeke suyu, 213 kaynak suyu, 183 havuz suyu ve 111 deniz suyu örneği olmak üzere toplam 10.500 adet su örneği materyal olarak kullanılmıştır.

Aseptik koşullarda alınan içme ve kullanma suyu örneklerinde aerob mezofil genel canlı (AMGC) sayısı ile koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *Escherichia coli* varlığı Membran Filtrasyon Tekniği (MFT) kullanılarak saptanmıştır.

Bu çalışma kapsamında incelenen 10.206 içme ve kullanma suyu örneğinden (9993 şehir şebeke suyu, 213 kaynak suyu) 1717'sinin (% 16.8), 183 havuz suyu örneğinden 40'ının (% 21.9) ve 111 deniz suyu örneğinden 108'inin (% 97.3) AMGC sayısı, koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve/veya *Escherichia coli* varlığı yönünden ilgili standartlara uygun olmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında incelenen içme ve kullanma amaçlı şehir şebeke suları ve kaynak suları (pet şişe ve damacana suları) ile deniz suyu ve havuz sularına ait örneklerin birçoğunda fekal bulaşma indikatörü olan mikroorganizmaların saptanmış olmasının önemli halk sağlığı riski olarak algılanması ve gerekli düzenleme ve kontrollerin yapılması gerektiği görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: İçme suyu, kullanma suyu, AMGC, koliform, *E. coli*

Microbiological Analysis of Water Samples Obtained From Armed Military Forces in İstanbul

Abstract: The objective of this study was to determine the microbiological quality of the drinking and using water consumed by First Armed Forces in İstanbul by membran filtration technic.

A total of 10 500 water samples including 9 993 city tap water, 213 spring water, 183 pool water and 111 sea water samples consumed in First Armed Forces in İstanbul were taken during one year time of period from January to December 2001.

Drinking and using water samples were collected aseptically and analysed for the enumeration of total aerobic mesophilic microorganisms and for the presence of coliforms, fecal coliforms and *E. coli* using membran filtration technic.

As a result, 1 717 of 10 206 drinking and using water (16.8%), 40 of 183 pool water (21.9%) and 108 of 111 sea water samples (97.3%) were found not complying with the standarts concerning total aerobic mesophilic count, coliforms, fecal coliforms and *E. coli*

The tap, spring, sea and pool water samples tested in this study were found to represent a significant public health risk. In conclusion, drinking and using water should be controlled regularly by governmental agencies for the prevention of public health from waterborne diseases.

Key words: Drinking water, using water, TPC, coliforms, *E. Coli*

Giriş

Su, tüm canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için vazgeçilemez ve stratejik öneme sahiptir. İnsanların temel yaşam kaynaklarından olan sağlıklı içme ve kullanma sularının sürekli olarak temin edilmeleri tüm ülkelerin öncelikli konuları arasında yer almaktadır.

Son yıllarda yeryüzündeki su kaynakları hızla kirletilmiş ve bazı bölgelerde temiz ve sağlıklı su bulmak önemli bir sorun haline gelmiştir. WHO ve UNEP (1987) tüm dünyada 240 ırmak, 43 göl ve 61 yüzey suyunun incelenmesi amacıyla toplam 344 istasyonda gerçekleştirdiği bir projede, su kirliliğinin sadece az gelişmiş ülkelerin değil tüm dünya ülkelerinin ciddi bir problemi olduğu sonucu ortaya

çıkmuştur. Dünya genelinde günde ortalama 25.000-30.000 kişinin sağlıksız su kullanımı nedeniyle öldüğü, tüm ölümlerin 1/3'ü ve hastalıkların % 80'inin patojen mikroorganizmalarla kontamine suların tüketilmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Dirican ve Bilgel, 1993). Ayrıca kanalizasyon ve çöp gibi evsel kirlenme etkenleri de suda organik kirlenmeye neden olmakta, özellikle kanalizasyon sularının karıştığı sular başta kolera, tifo, dizanteri ve hepatit olmak üzere birçok bulaşıcı hastalığın insanlara geçişine yol açarak ciddi halk sağlığı tehlikesi oluşturmaktadır (Lipton ve Kadt, 1988; Güler ve Çobanoğlu, 1994a).

İçme suları ile ilgili olarak karşılaşılan en önemli sağlık riski suların insan ve hayvan dışkıları ile kontamine olmasıdır. Dışkı ile kontamine suların içilmesi veya besinlerin hazırlanmasında kullanılması enfeksiyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Bej ve ark., 1991; Coquard ve ark., 1999; Petit ve ark., 1999). Aynı zamanda kontamine yüzme, banyo ve temizlik amacıyla kullanılan sulardan kaynaklanan hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu kapsamda sularda indikatör mikroorganizmaların (toplam koliform bakteri, fekal koliform bakteri, *E.coli* saptanması suların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi yönünden önem taşımaktadır.

Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kaynak suyu olarak tüketilen suların (pet şişe ve/veya damacana suları) değişik oranlarda koliform bakterilerle kontamine oldukları saptanmıştır. Bu kapsamda, Warburton ve ark. (1986) su örneklerinin % 2.7'sinin, El-Abagy ve ark. (1988) % 25.0'inin, Mavridiou ve ark. (1994) % 7.4'ünün koliform bakteriler ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Mavridiou ve ark. (1994) analiz edilen örneklerin % 0.6'sından *E.coli* izole etmişlerdir.

Türkiye'de içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, Ankara İl Merkezindeki şehir şebekesi suyu, Ankara Garnizonu'nda bulunan askeri birliklere ait 58'i şehir şebeke suyu, 28'i kuyu suyu ve 25'i kaynak suyu olmak üzere toplam 111 su örneği PCR tekniğini kullanılarak incelenmiş ve örneklerin 37'sinden (%33.3) *E.coli* izole edilmiş, bunların % 25.9'unun şebeke suyu, % 32'sinin kaynak suyu örneklerine ait olduğu bildirilmiştir (Öğür, 2000).

Bu çalışmada; İstanbul Garnizonundaki askeri birlik ve kurumlar tarafından tüketilen içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesinin membran filtrasyon tekniği kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Ocak-Aralık 2001 tarihlerini kapsayan bir yıllık bir sürede yürütülen bu çalışmada, İstanbul Garnizonundaki Askeri Birlik ve Kurumlarda içme ve kullanma amacı ile tüketilen, 9993 şehir şebeke suyu, 213 kaynak suyu, 183 havuz suyu ve 111 deniz suyu örneği olmak üzere toplam 10.500 adet su örneği materyal olarak kullanıldı.

Aseptik koşullarda 500 ml.'lik renkli steril cam şişelere alınan veya orijinal ambalajlı (pet şişe ve damacana) içme ve kullanma suyu örneklerinde aerob mezofil genel canlı (AMGC) sayısı ile koliform bakteri, fekal koliform ve *Escherichia coli* varlığı Membran Filtrasyon Tekniği (MFT) kullanılarak saptandı. Bu yöntemde 0.45 µm por çapında steril selüloz nitrat membran filtreler (Sartorius) kullanıldı. Membran filtre aseptik koşullarda filtrasyon cihazına yerleştirildikten sonra huni kısmına 100 ml su örneği eklendi. Filtrasyon işlemi tamamlandıktan sonra alınan membran filtre, önceden hazırlanmış olan petrilere üzerine konuldu. Bu işlem her su örneği için 2 kez tekrarlandı. Çalışmada AMGC için Standard TTC besiyeri kullanıldı ve plaklar 20-22°C'de 72 saat ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaklarda üreyen kırmızı renkli (TTC redüksiyonu) kolonilerin tamamı sayılarak aerob mezofil genel canlı olarak değerlendirildi. Koliform ve fekal koliform bakteriler ile *E. coli*'lerin saptanmasında farklı sıcaklıklarda inkübe edilen Endo agar kullanıldı. Fekal (termotolerant) koliform bakterilerin saptanması için plaklar 44.5°C de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda membran filtre üzerinde gelişen düzgün kenarlı altın rengi-yeşil metalik parlaklı, koyu kırmızı renkli koloniler fekal koliform bakteri olarak değerlendirildi. Endo agarda yeşilimsi metalik parlaklık gösteren kolonilere İMVİC test uygulanarak pozitif reaksiyon veren örnekler *E. coli* olarak değerlendirildi (Anon, 1980; Anon, 1994; Anon, 1995; Cowman ve Kelsey, 1992; Greenberg ve ark., 1985; Hartman ve ark., 1992).

Örneklerin mikrobiyolojik kalitelerinin değerlendirmesi; "İçme ve Kullanma Suları" ile ilgili TS-266 ve Sağlık Bakanlığının 18 Ekim 1997 tarih ve 23144 Sayılı Resmi Gazete' de yayınlanan "Doğal Kaynak, Maden ve içme suları ile Tıbbi Suların istihsalı, Ambalajlanması ve Satışı Hakkında Yönetmelik" te belirtilen kriterlere göre yapıldı.

Bulgular

Bu çalışma kapsamında incelenen 10.206 içme ve kullanma suyu örneğinden (9993 şehir şebeke suyu, 213 kaynak suyu) 8489'ü (% 83.2) su kalitesi yönünden mevcut standartlara uygun bulunurken 1717'sinin (% 16.8) standartlara uygun olmadığı saptanmıştır. Ayrıca, 183 havuz suyu örneğinden 143'nün (% 78.1) TS-10870'e uygun olduğu, 40'ının (% 21.9) uygun olmadığı ve 111 deniz suyu örneğinden 3'ünün (% 2.7) standartlara uygun olduğu 108'nin (% 97,3) uygun olmadığı saptanmıştır. İlgili standartlara uygun olmayan örneklerden izole edilen AMGC, toplam koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E.coli*'nin örnek tiplerine göre dağılımı tabloda verilmiştir.

Standartlara uygun olmayan 1673 şehir şebeke suyu örneğinden 1224'ünde (% 73.2) total koliform bakteri, 302'sinde (% 18.0) fekal (termotolerant) koliform bakteri ve 136'sında (% 8.1) *E.coli* tespit edilmiş, ayrıca 1476 (% 87.7) örnekte standartlarda belirtilen değerlerin üzerinde AMGC saptanmıştır. Benzer şekilde kaynak suyu olarak tüketilen su (pet şişe ve damacana suları) örneklerinden 44'ünün (%20.7) mikrobiyolojik kalitesi mevcut standartlara göre uygun bulunmamış. Bu örneklerin % 72.7'sinin total koliform bakteri, % 34.1'inin fekal (termotolerant) koliform bakteri, % 6.8'inin *E.coli* içerdiği ve %75.0'inde AMGC sayısının standartlarda belirtilen değerlerin üzerinde olduğu saptanmıştır.

Tablo1: Standartlara uygun olmayan su örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları

Örnek tipi	Uygun olmayan örnek sayısı	AMGC n (%)	Toplam koliform n (%)	Fekal koliform n (%)	<i>E.coli</i> n (%)
Ş.Şebeke suyu	1673	1467 (%87.7)	1224 (%73.2)	302 (%18.0)	136 (%8.1)
Kaynak suyu*	44	33 (%75.0)	32 (%72.7)	15 (%34.1)	3 (%6.8)
Havuz suyu	40	36 (%90.0)	27 (%67.5)	14 (%35.0)	5 (%12.5)
Deniz suyu	108	30 (%27.8)	102 (%94.4)	103 (%95.4)	27 (%25.0)

*Damacana ve pet şişe suları "kaynak suyu" olarak belirtilmiştir.

Sonuç

Suların mikrobiyolojik kalitesiyle ilgili olarak değişik araştırıcılar tarafından yapılan çalışma bulgularını teyit eder nitelikteki bu çalışma sonuçları, toplum sağlığını doğrudan ilgilendiren içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesinin iyi olmadığını, ayrıca ülkemizde yapılan kontrollerin yetersizliğini göstermektedir.

Sonuç olarak, ülkemizde içme ve kullanma amaçlı şehir şebeke suları ve kaynak suları (pet şişe ve damacana suları) ile deniz suyu ve havuz sularına ait örneklerin birçoğunda fekal bulaşma indikatörü olan mikroorganizmaların saptanmış olması halk sağlığı açısından dikkate alınması gereken bir durumdur. İçme suyu olarak kullanılan suların seçiminde halk tarafından genel olarak renk, bulanıklık, koku, tat gibi özellikleri de dikkate alınmaktadır. Ancak bu çalışmada da ortaya konduğu gibi özellikle içme sularının önemli bir kısmı mikrobiyolojik yönden uygun niteliklere sahip değildir. Bu nedenle tüketiciler sağlıklı içme ve kullanma suyu konusunda bilinçlendirilmeli, yetkili kuruluşlarca alt yapıya ilişkin sorunlar giderilmeli ve sularının kontrolü etkin olarak yapılmalıdır.

Kaynaklar

Anon (1980). Council Directive no. 80/777/EEC of 15 July 1980 on the approximation of the laws of the member states relating to the exploitation and marketing of natural mineral waters. Official Journal of The European Communities, L 229: 1-10.

Anon (1990). Water quality-Detection and enumeration of coliform organisms, thermotolerant coliform organisms and presumptive *Escherichia coli*-Part 1: Membrane filtration method. ISO 9308-1.

Anon (1994). Microbiological Testing of Foods, Beverages and Pharmaceuticals. Application Notes. Sartorius. Goettingen.

Anon (1999). Mikrobiyolojik tanımlamanın kolay ve güvenilir yolu Sartonet bilgi notu, Ankara.

Bej, A. K., Mccarty, S. C., Atlas, R. M. (1991). Detection of Coliform Bacteria and *Escherichia coli* by Multiplex Polymerase Chain Reaction: Comparison with defined substrate and Plating methods for water quality monitoring. Appl. Environ. Microbiol., 57: 2429-2432.

Bertan, M., Güler, . (1995). Halk Sağlığı (Temel Bilgiler), Ankara.

- Coquard, D., Exinger, A., Jeltsch, J. M. (1999). Routine detection of Salmonella species in water : Comparative evaluation of the ISO and PROBELIA Polymerase Chain Reaction Methods. *JAOAC Int.*, 82: 871-876.
- Cowman, S., Kelsey, R. (1992). Bottled Water. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, Ed.: C. Vanderzant, D. F. Splittstoesser, American Public Health Association, p.: 1031-1036.
- Dirican, R., Bilgel, N. (1993). *Halk Sağlığı (Toplum Hekimliği)*, Bursa.
- El-Abagy, M. M., Dutka, B. J., Kamel, M. (1988). Incidence of Coliphage in Potable Water Supplies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 1632-1633.
- Grant, M.A. (1998). Analysis of Bottled Water for Escherichia coli and Total Coliforms. *J. Food Prot.*, 61:334-338.
- Greenberg, A.E., Trussel, R.R., Clescer, L.S (1985). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 16nd Ed. p.: 870-901. American Public Health Association Washington.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. (1994a). İnsan ve Hayvan Atıkları, Sıvı Atıklar. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No.: 28., Ankara.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. (1994b). Su Kirliliği. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No.: 12., Ankara.
- Hartman, P.A., Deibel, R.H., Sieverding, L.M. (1992). Enterococci. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, Ed.: C. Vanderzant, D.F. Splittstoesser, American Public Health Association, p.: 523-531.
- Lipton, M., Kadt, E. D. (1988). *Agriculture- Health Linkages*. WHO Offset Publication No:104., Geneva.
- Mavridou, A., Papapetropoulou, M., Boufa, P., Lambiri, M., Papadakis, J. A. (1994). Microbiological quality of bottled water in Greece. *Lett. Appl. Microbiol.*, 19: 213-216.
- Oğur, R. : Ankara il merkezindeki içme ve kullanma sularının polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile mikrobiyolojik analizlerinin yapılması.Uzmanlık Tezi, GATA-Ankara,2000
- Petit, F., Craquelin, S., Guespin-Michel, J., Buffet- Janvresse, C. (1999). Nucleic acid extraction from polluted estuarine water for detection of viruses and bacteria by PCR and RT-PCR Analysis. *Res. Microbiol.*, 150: 143-151.

Richards, J., Stokely, D., Hipgrave, P. (1992). Quality of drinking water. B. M. J., 304: 571.

Slade, P. J., Falah, M. A., Al-Ghady, A. M. (1986). Isolation of *Aeromonas hydrophila* from bottled waters and domestic water supplies in Saudia Arabia. J. Food Prot., 49: 471-476.

Türk Standartları Enstitüsü. (1997). TS-266.Sular –İçme ve Kullanma Suları. Ankara.

Warburton, D. W., Peterkin, P. I., Weiss, K. F., Johnston, M. A. (1986). Microbiological quality of bottled water sold in Canada, Can. J. Microbiol., 32: 891-893.

WHO. (1996). Guidelines for drinking water quality. Vol.:2 Health Criteria and Other Supporting Information. 2nd Edition . Geneva.

WHO and UNEP (United Nations Environment Programme). (1987). Global pollution and health. Results of Health- Related Environmental Monitoring. London.

SOĞUK OLARAK TÜKETİME SUNULAN BAZI HAZIR GIDALARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Ercan ÖNER

İrfan EROL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı-Ankara

Özet: Bu çalışma, Ankara'daki marketlerde soğuk olarak tüketime sunulan bazı hazır gıdaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu çerçevede, hayvansal gıda bazlı mayonez, Rus salatası, tavuk salatası, kadınbudu köfte, Arnavut ciğeri ve midye dolmadan oluşan toplam 120 gıda örneği, aerob mezofil genel canlı, laktobasil, mikrokok ve stafilokok, koagulaz pozitif stafilokok, enterobakteriler, koliform bakteriler, enterokok, maya ve küf, sülfid indirgeyen anaeroblar, *Salmonella* ve *Vibrio parahaemolyticus* yönünden incelenmiştir.

Analiz bulgularına göre, örneklerin tümünde aerob mezofil genel canlı sayıları örnek türüne bağlı olarak 10^4 - 10^7 kob/g arasında bulunmuştur. Koagulaz pozitif stafilokoklar, midye dolma örneklerinde saptama sınırı altında kalırken, diğer örneklerin % 20-47'sinde ortalama 10^3 - 10^5 kob/g düzeyinde saptanmıştır.

Enterobakteriler; örneklerin % 5-100'ünde ortalama 10^3 - 10^5 kob/g; koliform bakteriler % 5-90'ında ortalama 10^2 - 10^3 kob/g; enterokoklar ise, kadınbudu köfte ve midye dolma dışındaki örneklerin % 45-100'ünde ortalama 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde bulunmuştur.

Sülfid indirgeyen anaerob bakterilere yalnızca midye dolma örneklerinin % 20'sinde, 10^1 kob/g düzeyinde rastlanmıştır.

Salmonella'lar midye dolma dışındaki örneklerin % 10-30'undan izole edilmiştir. Ayrıca midye dolma örneklerinde *V. parahaemolyticus*'un varlığına da rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada incelenen hazır gıdaların hijyenik kalitesinin genelde düşük olduğu saptanmıştır. Patojen mikroorganizmalar ile kontamine hazır gıda tüketiminden

kaynaklanabilecek infeksiyon ve intoksikasyonların önlenmesi için, üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarda gerekli kontrol önlemlerinin alınması önerilir.

Anahtar kelimeler: Tüketime hazır gıda, mikrobiyolojik kalite.

Microbiological Quality of Some Ready-to-eat Foods

Abstract: This study was undertaken to determine the microbiological quality of some ready-to-eat foods obtained from retail markets in Ankara. A total of 120 samples based on food of animal origin such as; mayonnaise, mayonnaise based salad, chicken salad, meat ball, cooked liver, and filled shell-clam were analysed microbiologically for total aerobic count, lactobacilli, micrococci and staphylococci, coagulase positive staphylococci, enterobacteriaceae, coliforms, enterococci, yeast and moulds, sulfide reducing anaerobes, salmonellae and *Vibrio parahaemolyticus*.

The results showed that all samples contained total aerobic count at the mean range of 10^4 - 10^7 cfu/g. While the number of coagulase positive staphylococci in shell-clam samples were found under the detecting limit, in 20-47 % of the other samples were found contaminated with coagulase positive staphylococci at a mean range of 10^3 - 10^5 cfu/g.

Enterobacteriaceae and coliforms were detected in 5-100 % and 5-90 % of the samples at the mean range of 10^3 - 10^5 cfu/g and 10^2 - 10^3 cfu/g respectively. Except meat ball and shell-clam samples enterococci were found in 45-100 % of the samples at a mean amount of 10^2 - 10^3 cfu/g. Sulfide reducing anaerobes were detected only in 20 % of shell-clam samples at the level of 10^1 cfu/g.

Except shell-clams *Salmonella* was isolated from 10-30 % of the analysed samples and non of the shell-clam samples contained *V. parahaemolyticus*.

The results of this study indicate that hygienic quality of ready-to-eat foods tested were found unsatisfactory and to avoid of consumers from foodborne infections and intoxications hygiene rules have to be applied from production to consumption in all stages.

Key words : Ready-to-eat foods, microbiological quality.

Giriş

Artan sanayileşme ve hızlı şehirleşmeye bağlı olarak çalışan nüfusun sürekli artması, çalışma ve sosyo-ekonomik koşullar ile tüketim alışkanlıklarındaki değişimler sonucu, hazır gıda tüketimi de tüm dünyada giderek artmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, yapımda hijyenik kalitesi uygun olmayan hammadde kullanılması, pişirme sıcaklıklarının düşük olması, yüksek sıcaklıkta uzun süre muhafaza edilmesi ve bu aşamalarda oluşan çapraz bulaşmalara bağlı olarak (Bryan, 1988; Bryan ve ark. 1980; Flowers, 1988), tüketime hazır gıdaların başta *Salmonella*, enterotoksijenik stafilocok ve *E. coli* olmak üzere patojen mikroorganizmalarla önemli düzeylerde kontamine olduğu bildirilmiştir (Aran, 1988; Buchanan, 1991; Christiansen ve King, 1971; Göktan ve Tunçel, 1984; Gönül ve ark. 1996; Greenwood ve ark. 1984; Sokari, 1991). Değişik ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, patojen mikroorganizmalarla kontamine hazır gıda tüketiminden kaynaklanan infeksiyon ve intoksikasyonların halk sağlığı yönünden taşıdığı önemi ortaya koymaktadır (Duguid ve North, 1991; Echeverria ve ark. 1993).

Bu çalışma, tüketime hazır bazı gıdaların, insanlarda infeksiyon ve intoksikasyonlara yol açabilen veya gıdaların bozulmasına neden olan bazı mikroorganizmalar yönünden analiz edilerek mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Ankara'daki marketlerde soğuk olarak tüketime sunulan; mayonez, Rus salatası, tavuk salatası, kadınbudu köfte, Arnavut ciğeri ve midye dolma örneklerinin herbirinden 20'şer adet olmak üzere alınan toplam 120 gıda örneği bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

Aseptik koşullar altında herbirinden yaklaşık 200'er g alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örnekler; aerob mezofil genel canlı (AMGC), laktobasiller, mikrokok ve stafilocoklar, koagulaz pozitif stafilocoklar, enterobakteriler, koliform bakteriler, enterokoklar, maya-küf ve sülfid indirgeyen anaerobların sayısı ile *Salmonella* ve *Vibrio parahaemolyticus*'un (yalnızca midye dolmasında) varlığı yönünden incelenmiştir.

Bu çerçevede, herbir gıda örneğinden aseptik koşullarda steril plastik torbalar içerisine 10'ar g tartılıp üzerine 90'ar ml steril peptonlu su (%)

0.1) ilave edildikten sonra 2-3 dakika süre ile stomacher'da homojenize edilmiştir. Bu şekilde sağlanan ana homojenattan yine steril peptonlu su ile 10^{-8} 'e kadar desimal dilüsyonlar hazırlanarak ekime hazır hale getirilmiştir. Aerob mezofil genel canlı, laktobasil, mikrokok ve stafilocok aranmasında damla plak (drop plating) tekniği; Enterobacteriaceae, koliform bakteri, enterokok, maya ve küf aranmasında yayma plak tekniği; sülfid indirgeyen anaerobların aranmasında ise dökme plak tekniği kullanılmıştır (Baumgart, 1986). *Salmonella* izolasyonu 25 g örnekte ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyeri yerine ekim, biyokimyasal ve serolojik testleri içeren yöntem gereğince yapılırken (Flowers ve ark. 1992), *V. parahaemolyticus* aranması (sadece midye dolma örneklerinde) Salt-Polymixin buyyonda önerilen zenginleştirme tekniğine dayalı olarak yapılmıştır (Kaysner ve ark. 1992). Koagülaz pozitif stafilocoklar ise Baird-Parker agarda üreyen tipik ve atipik kolonilerden tüpte koagülaz testi yapılarak saptanmıştır (Bergdoll, 1989).

Bulgular

Analizi yapılan örneklerde aranılan mikroorganizmaların saptanma oranı Tablo 1'de, pozitif örneklerdeki mikroorganizmaların minimal, ortalama ve maksimal sayıları ise Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre örneklerin tamamında aerob mezofil genel canlı saptanırken, sayıları örnek türüne bağlı olarak ortalama 10^4 - 10^7 kob/g arasında bulunmuştur.

Koagülaz pozitif stafilocoklar midye dolma örneklerinde saptama sınırı altında kalırken, mayonez örneklerinin % 25'inden; Rus salatası örneklerinin % 35'inden; tavuk salatası örneklerinin % 47'sinden; kadınbudu köfte örneklerinin % 20'sinden ve Arnavut ciğeri örneklerinin % 35'inden ortalama 10^3 - 10^5 kob/g düzeylerinde saptanmıştır.

Yine en fazla tavuk salatası, Arnavut ciğeri ve mayonezde olmak üzere, incelenen örneklerin % 5-100'ünün enterobakteriler ile ortalama 10^3 - 10^5 kob/g düzeyinde; % 5-90'ının da koliform bakteriler ile ortalama 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde kontamine olduğu saptanmıştır.

Isı işlemini görmüş gıdalarda indeks özelliğe sahip olması nedeniyle önem taşıyan enterokokların sayısı, kadınbudu köfte ve midye dolma örneklerinde saptama sınırı altında kalırken, en fazla tavuk salatasında

olmak üzere diğ er örneklerin % 45-100'ünde ortalama 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde bulunmuştur.

Sülfit indirgeyen anaerob bakterilere yalnızca midye dolma örneklerinin % 20'sinde 10^1 kob/g düzeyinde rastlanmıştır.

Salmonella'lar mayonezden ve Rus salatasından % 15, tavuk salatasından % 20, kad nbudu köfteden % 10 ve Arnavut ciğ erinden % 30 oranında izole edilirken, midye dolma örneklerinde *Salmonella*'ların varlığına rastlanmamıştır. Ayrıca midye dolma örneklerinden *V. parahaemolyticus* da izole edilememiştir.

Sonuç

Sonuç olarak; bu çalışma kapsamında analiz edilen tüketime hazır soğuk gıdaların mikrobiyolojik kalitelerinin düşük olduğu ve özellikle içerdikleri *Salmonella* ve koagulaz pozitif staf lokoklar yönünden potansiyel halk sağlığı riski taşıdığı saptanmıştır. Bu tür gıdaların tüketiminden kaynaklanacak infeksiyon ve intoksikasyonlarının önlenebilmesi için; başta büyük mutfaklar olmak üzere gıda hazırlama ve servis yerlerinde; uygun hammadde seçimi, yapımda yeterli ısı işleminin uygulanması, çapraz kontaminasyonun önlenebilmesi, soğuk zincirin sürekliliğinin sağlanması, hijyenik servis ve personel hijyeni gibi konularda HACCP sisteminin titizlikle uygulanması önerilir.

Kaynaklar

Aran, N. (1988) İstanbul piyasasında tüketilen bazı hazır gıdaların tüketicisi sağlığı yönünden değerlendirilmesi. Gıda Sanayii, 6: 36-42.

Baumgart, J. (1986) Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. B.Behr 's Verlag, Berlin und Hamburg.

Bergdoll, M.S. (1989) *Staphylococcus aureus*. In: M.P. Doyle (ed) Foodborne bacterial pathogens. pp. 463-523. Marcel Dekker, Inc. NY.

Bryan, F.L. (1988) Risks associated with vehicles of food pathogens and toxins. J. Food Prot., 51: 498-508.

Bryan, F.L., Mc Naught, K., Blehm, K. (1980) Time temperature survey at a restaurant that specialized in barbequed food. *J. Food Prot.*, 43: 595-600.

Buchanan, R.L. (1991) Microbiological criteria for cooked ready-to-eat shrimp and crabmeat. *Food Technol.*, 45 (4) 157-160.

Christiansen, L. N., King, N. S. (1971) The microbial content of some salads and sandwiches at retail outlets. *J. Milk Food Technol.*, 36:315-316.

Duguid, J.P., North, R.A.E. (1991) Eggs and salmonella food poisoning: An evaluation. *J. Med. Microbiol.*, 34:65-72.

Echeverria, P., Jackson, L.R., Hoge, C.W., Arness, M.K., Dunnivant, G.R., Larsen, R.R. (1993) Diarrhea in U.S. troops deployed to Thailand. *J. Clin. Microbiol.*, 31: 3351-3352.

Flowers, R.S., D'Aoust, J.-Y., Andrews, W.H. and Bailey, J.S. (1992) *Salmonella*. In: Vanderzant, C. and Splittstoesser (Eds). *Compendium of the Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 3rd ed. D.F. American Public Health Assoc. Washington, D.C pp 371-404.

Göktaş, D., Tunçel, G. (1984) İzmir'de satılan hazır Rus salatalarının hijyenik durumu. *EÜ Müh. Fak. Derg.*, 12:21-28.

Gönül, Ş.A., Karapınar, M., Karagözlü, N. (1996) Piyasada satılan meze tipi soğuk yiyeceklerin mikrobiyolojik kaliteleri. *Tübitak Biol. Derg.* 20:263-271.

Greenwood, M.H., Coetzee, E.F., Ford, B.M., Gill, P., Hooper, W.L., Matthews, S.C.V., Patric, S. (1984) The microbiology of selected retail food products with an evaluation of viable counting methods. *J. Hyg. Camb.*, 92:67-77

Kaysner, A. C., Tamplin, M. L., Twedt, R.M. (1992) *Vibrio*. In: Vanderzant, C. , Splittstoesser, D.F. (Eds.) *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 3rd ed. American Public Health Assoc., Washington, D.C. pp. 451-473.

Sokari, T. (1991) Distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in eastern Nigeria. *Int. J. Food Microbiol.*, 12: 275-280.

Tablo 1: Gıda örneklerinde incelenen mikroorganizmalara saptanma oranları

Mikroorg.	Gıda Örneği (n: 120)											
	Mayonez (n: 20)		Rus salatası (n: 20)		Tavuk salatası (n: 20)		Kadınbudu köfte (n: 20)		Arnavut ciğeri (n: 20)		Midye Dolma (n: 20)	
	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek %'si	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek %'si	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek %'si	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek %'si	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek %'si	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek %'si
AMGC	20	100	20	100	20	100	20	100	20	100	20	100
Laktobasil	17	85	20	100	20	100	2	10	20	100	15	75
Mikrokok ve stafilokok	13	65	20	100	19	95	15	75	20	100	10	50
Koagülaz poz. Staf.	5	25	7	35	9	45	4	20	7	35	-	-
Enterobakteriler	16	80	13	65	20	100	1	5	16	80	13	65
Koliform bak.	14	70	13	65	18	90	1	5	15	75	13	65
Enterokok	9	45	14	70	20	100	-	-	10	50	-	-
Maya	19	95	20	100	20	100	9	45	20	100	16	80
Küf	7	35	-	-	9	45	1	5	16	80	-	-
Sülfid ind. Anaerob	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	20
Salmonella	3	15	3	15	4	20	2	10	6	30	-	-

Tablo 2: Gıda örneklerinde incelenen mikroorganizmaların sayısal değerleri

Mikroorganizma	Değer*	Gıda Örneği					
		Mayonez	Rus Salatası	Tavuk Salatası	Kadınbudu Köfte	Arnavut Çiğeri	Midye Dolma
AMGC	Min	1.8×10^4	4.8×10^4	5.4×10^4	1.0×10^4	6.2×10^4	2.0×10^3
	Ort	2.6×10^5	7.3×10^6	1.9×10^7	3.1×10^5	1.6×10^6	2.5×10^4
	Max	6.0×10^5	9.2×10^7	9.6×10^7	3.6×10^6	9.0×10^6	8.0×10^4
Laktobasil	Min	1.3×10^4	1.2×10^4	6.6×10^3	3.6×10^2	1.2×10^4	1.4×10^3
	Ort	1.4×10^5	1.7×10^6	9.6×10^6	1.7×10^3	8.4×10^5	1.4×10^4
	Max	4.8×10^5	1.1×10^7	8.0×10^7	3.2×10^3	4.6×10^6	3.4×10^4
Mikrokok ve Stafilokok	Min	1.0×10^3	1.2×10^3	1.4×10^3	1.4×10^3	1.6×10^3	2.0×10^2
	Ort	7.5×10^3	1.3×10^5	1.1×10^5	4.1×10^3	8.7×10^4	1.3×10^3
	Max	8.0×10^3	5.4×10^5	5.0×10^5	8.0×10^3	8.0×10^5	4.0×10^3
Koagülaz pozitif Stafilokok	Min	2.0×10^3	1.2×10^3	2.4×10^3	1.2×10^3	1.8×10^4	$< 2.0 \times 10^2$
	Ort	1.1×10^4	1.4×10^5	1.4×10^5	4.4×10^3	9.7×10^4	$< 2.0 \times 10^2$
	Max	3.2×10^4	3.6×10^5	3.6×10^5	8.0×10^3	3.2×10^5	$< 2.0 \times 10^2$
Enterobakteriler	Min	1.0×10^3	2.0×10^3	2.0×10^2	1.1×10^4	2.0×10^3	1.0×10^2
	Ort	4.6×10^3	1.1×10^5	1.4×10^4	1.1×10^4	2.4×10^3	2.7×10^3
	Max	4.9×10^4	1.1×10^6	4.8×10^4	1.1×10^4	8.0×10^3	8.8×10^3
Koliform Bakteri	Min	1.0×10^3	1.0×10^3	1.0×10^3	5.4×10^3	1.0×10^3	1.0×10^2
	Ort	4.1×10^3	7.6×10^3	2.6×10^3	5.4×10^3	1.0×10^3	9.1×10^3
	Max	3.6×10^4	2.0×10^4	8.2×10^3	5.4×10^3	6.4×10^3	2.5×10^3
Enterokok	Min	1.0×10^2	1.0×10^2	1.0×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$
	Ort	4.0×10^2	1.3×10^3	7.0×10^3	$< 1.0 \times 10^2$	3.8×10^2	$< 1.0 \times 10^2$
	Max	8.0×10^2	4.0×10^3	4.0×10^3	$< 1.0 \times 10^2$	1.8×10^3	$< 1.0 \times 10^2$
Maya	Min	1.0×10^2	9.0×10^2	2.0×10^2	1.0×10^2	2.0×10^2	1.0×10^2
	Ort	3.0×10^3	8.2×10^4	2.2×10^4	3.0×10^2	1.6×10^3	4.2×10^2
	Max	8.1×10^3	7.8×10^5	7.2×10^4	8.0×10^2	6.3×10^3	9.0×10^2
Küf	Min	1.0×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	1.0×10^2	1.0×10^2	1.0×10^2	$< 1.0 \times 10^2$
	Ort	2.7×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	1.2×10^3	1.0×10^2	5.7×10^3	$< 1.0 \times 10^2$
	Max	6.0×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	6.0×10^3	1.0×10^2	4.0×10^3	$< 1.0 \times 10^2$
Sülfid indirgeyen anaeroblar	Min	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	1.0×10^1
	Ort	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	2.7×10^1
	Max	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	$< 1.0 \times 10^1$	6.0×10^1

* Ortalama değerler saptama sınırı üzerinde olan örneklerle aittir.

YAZAR İNDEKSİ

- AĞAOĞLU, S. (471)
AKGÜN, S. (325)
AKKAYA, L. (67, 277)
AKSOY, A. (345)
AKSU, H. (305, 379)
AKYUVA, P. (421)
ALEMDAR, S. (67, 471)
ALİŞARLI, M. (67, 277)
ALTUN, S. (251)
ANAR, Ş. (421)
ARDIÇ, N. (487)
ARSLAN, A. (387)
ASLANTAŞ, Ö. (413)
ATEŞ ÖKSÜZTEPE, G. (2)
AYAZ, N. D. (355)
AYAZ, Y. (355)
AYÇİÇEK, H. (345)
AYDIN, A. (119)
AYDIN, F. (241)
AYGÜN, O. (413)
BİLİR ORMANCI, F. S. (29, 195, 231, 487)
BİNGÖL, E. B. (83, 119)
BOSTAN, K. (83, 119)
ÇAKMAK, Ö. (195, 487)
ÇALICIOĞLU, M. (57, 129, 387)
ÇARLI, K. T. (19)
ÇELİK, B. (477)
ÇETİNKAYA, F. (463)
ÇIBIK, R. (463)
DİDİNEN, B. I. (251)
DİKİCİ, A. (57, 129)
DİLER, A. (251)
DİLER, Ö. (251)
DOĞRUER, Y. (363)
DOSTBİL, N. (471)

DUMAN, B. (175)
DURMAZ, H. (261, 269, 429)
EKİCİ, K. (139, 167, 287, 455)
ER, B. (437, 477)
ERDEMOĞLU, A. (487)
ERKAN, M. E. (119, 305)
EROL, İ. (29, 93, 185, 195, 213, 221, 355, 487, 495)
ERTAŞ, H. B. (39)
EYİGÖR, A. (19)
EYİGÖR, M. (147)
GEDİKOĞLU, S. (147)
GÖNCÜOĞLU, M. (75)
GÖNÜLALAN, Z. (111)
GÜLMEZ, M. (47, 175)
GÜNER, A. (363)
GÜRBÜZ, Ü. (363)
GÜVEN, A. (47, 175, 335)
HILDEBRANT, G. (29)
İLHAK, O. İ. (57, 129, 313, 387)
İNAT, G. (75)
İŞLEYİCİ, Ö. (139, 167, 287)
KASIMOĞLU, A. (325)
KELEŞ, A. (363)
KILIÇEL, F. (261)
KLEER, J. (29)
KOÇER, A. (437)
KOLSARICI, N. (241)
KOLUMAN, A. (29, 75, 203)
KÖK, F. (39, 373)
KURŞUN, Ö. (221)
KÜPLÜLÜ, Ö. (75, 405)
MANCUSO, A. (1)
MERİÇ, İ. (241)
ÖKSÜZTEPE, G. A. (57, 313)
ÖKTEM, A.B. (437)
ÖNER, E. (413, 495)
ÖNER, S. (1)
ÖZAKIN, C. (147)

ÖZBEY, G. (39, 373)
ÖZDEMİR, H. (75, 185, 203)
ÖZDEMİR, M. (157)
ÖZYURT, M. (1)
PAMUK, Ş. (101, 147, 157)
PATIR, B. (313)
SAĞUN, E. (139, 269, 287, 429, 455)
SANCAK, H. (261, 269, 429)
SANCAK, Y. C. (139, 167, 277, 287)
SARIGÜZEL, D. (213)
SARIMEHMETOĞLU, B. (295, 405)
SAYGI, Ş. (345)
SEZER, Ç. (175, 335)
SIRIKEN, B. (101, 147, 157)
ŞEN, M. K. C. (421)
ŞİRELİ, U.T. (185)
TARAKÇI, Z. (261, 269, 429)
TAŞÇI, F. (397)
TAYFUR, M. (195)
TEMELLİ, S. (421)
TERZİ, G. (445)
TESTERECİ, H. (455)
TORUN, A. (93)
UÇAR, G. (363)
VATANSEVER, L. (175)
VURAL, A. (379)
YAVUZ, H. (157)
YENTÜR, G. (477)
YILDIRIM, Y. (75, 203, 295)
YILDIZ, A. (487)
YÖRÜK, İ. H. (455)
YURTYERİ, A. (29)

